

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202392469** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
**2023.10.30**

(22) Дата подачи заявки  
**2022.03.07**

(51) Int. Cl. *A61K 31/665* (2006.01)  
*A61K 38/12* (2006.01)  
*A61K 9/00* (2006.01)  
*A61P 11/00* (2006.01)  
*A61P 31/04* (2006.01)

---

(54) **КОМПЛЕКСЫ ФОСФОМИЦИНА И КОЛИСТИНА ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОТИВ СВЯЗАННЫХ С БИОПЛЕНКАМИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

---

(31) **21161202.3**

(32) **2021.03.08**

(33) **EP**

(86) **PCT/EP2022/055771**

(87) **WO 2022/189364 2022.09.15**

(71) Заявитель:  
**ЗАМБОН С.П.А (IT)**

(72) Изобретатель:

**Коломбо Даниэле, Падоани Глория,  
Ваилати Сильвия, Айецца Ноэми,  
Антонелли Альберто, Бонкомпаньи  
Селен, Джани Томмазо, Паллекки  
Лучия, Россолини Джан Мария,  
Мичиели Мария (IT)**

(74) Представитель:

**Медведев В.Н. (RU)**

---

(57) Настоящее изобретение относится к синергетическому фармакологическому антибиопленочному комплексу колистина и фосфомицина для применения в лечении бактериальной инфекции, вызванной образующим биопленку патогеном, выбранным из штаммов *A.baumannii*, *P.aeruginosa*, *S.maltophilia* и *K.pneumoniae*, предпочтительно в фазе роста биопленки, и, в частности, инфекций, связанных с заболеванием дыхательных путей, таких как хроническое заболевание дыхательных путей, включающее CF, NCFB и COPD, особенно у госпитализированных пациентов.

**202392469**

**A1**

**A1**

**202392469**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-579001EA/042

### **КОМПЛЕКСЫ ФОСФОМИЦИНА И КОЛИСТИНА ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОТИВ СВЯЗАННЫХ С БИОПЛЕНКАМИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

#### **Область техники, к которой относится изобретение**

Настоящее изобретение относится к синергетическому фармакологическому комплексу фосфомицина и колистина для применения в лечении связанных с биопленками бактериальных инфекций.

В частности, настоящее изобретение относится к синергетическому фармакологическому комплексу фосфомицина и колистина для применения в лечении заболевания, связанного с ассоциированными с биопленками бактериальными инфекциями, вызываемыми одним или более грамотрицательными образующими биопленку патогенами, предпочтительно выбранными из *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, особенно для применения в лечении трудноизлечимых респираторных заболеваний.

#### **Предпосылки создания изобретения**

Колистин и фосфомицин являются «старыми» антибиотиками, которые недавно снова привлекли к себе внимание из-за нехватки новых соединений для лечения инфекций, вызываемых патогенами с множественной лекарственной устойчивостью (MDR) (Karaiskos I. et al., Front Public Health. 2019; 7:151).

Колистин, также называемый полимиксином E, полимиксиновый антибиотик, продуцируемый некоторыми штаммами *Bacillus polymyxa*, состоит из катионного циклического гептапептида с трипептидной боковой цепью, ацилированной на N-конце жирной кислотой через  $\alpha$ -амидную связь (Reviews of Anti-Infective Agents CID 2005; 40: 1033-41). Он разрушает бактериальные мембраны, что приводит к гибели клеток.

Для клинического применения доступны две разные формы колистина: колистин сульфат, который вводят перорально для обеззараживания кишечника и местно в виде порошка для лечения бактериальных кожных и ушных инфекций, и колестиметат натрия (CMS), также называемый колестиметансульфатом, пентанатрий колестиметансульфатом и колестинсульфонилметатом, для парентерального (внутривенного, внутримышечного и интратекального/интравентрикулярного) введения и аэрозольной терапии.

Таким образом, колистин можно вводить в виде пролекарства в форме колестиметата натрия, который легко гидролизует с образованием сульфометилированных производных, а также колистина, активной формы лекарственного средства.

Колистин в последнее время стал играть решающую роль для лечения различных типов инфекций, например, пневмонии, бактериемии и инфекций мочевыводящих путей, вызванных грамотрицательными патогенами, экспрессирующими фенотип MDR, такими как, например, неферментирующие грамотрицательные патогены и карбапенем-

резистентные энтеробактерии.

Грамотрицательные бактерии названы так потому, что они имеют двойную мембрану, не сохраняющую окраску при окрашивании по Граму и через которую не могут проникнуть многие антибиотики. Грамотрицательные бактерии также более склонны к развитию множественной лекарственной устойчивости по сравнению с грамположительными патогенами.

У пациентов, страдающих кистозным фиброзом или другими хроническими респираторными заболеваниями, колистин обычно применяют для лечения инфекций, вызванных *P. aeruginosa* или другими неферментирующими грамотрицательными патогенами с MDR, такими как, например, *S. maltophilia* и *A. baumannii*.

Фосфомицин представляет собой антибиотик, который на протяжении многих десятилетий используется в Европейском союзе (ЕС) для лечения широкого спектра инфекций. Например, его принимают внутрь в виде гранул (содержащих фосфомицин в виде соли трометамола) или в виде капсул и порошка для пероральной суспензии (фосфомицин кальция), вводят путем инфузии (капельного введения) в вену или путем инъекции в мышцу. При приеме внутрь он в основном используется для лечения неосложненных инфекций мочевыводящих путей, вызванных бактериями, уязвимыми к антибактериальному действию фосфомицина. В некоторых странах ЕС он также используется для предотвращения инфекций, связанных с хирургическими или диагностическими процедурами в мочевыводящих путях. Инфузии фосфомицина разрешены для лечения пациентов всех возрастов с серьезными инфекциями, такими как остеомиелит (инфекция кости), осложненные инфекции мочевыводящих путей, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, менингит и бактериальные инфекции в крови, возникающие в результате других инфекций. Инфузия фосфомицина предназначена для использования, когда другие антибиотики не могут быть использованы или неэффективны. Фосфомицин для внутримышечных инъекций был разрешен для лечения или профилактики различных инфекций, включая инфекции мочевыделительной и репродуктивной систем (Рекомендации ЕМА/317719/2020 по ограничению использования фосфомициновых антибиотиков, 12 июня 2020 г.). Фосфомицин действует как зависящий от времени ингибитор фермента MupA, который катализирует первую коммитированную стадию синтеза пептидогликанов, основного компонента клеточной стенки бактерий.

Фосфомицин-содержащие лекарственные средства доступны в большинстве стран ЕС и продаются под разными названиями; в частности, фосфомицин трометамол имеется в продаже под торговыми марками Monurol<sup>TM</sup> и Monuril<sup>TM</sup> (Zambon S.p.A.).

*A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae* оказались важными MDR оппортунистическими человеческими патогенами, ответственными за различные инфекции, возникающие главным образом, но не исключительно, у пациентов, страдающих от изнурительных состояний, например у пациентов с респираторными заболеваниями, включая хроническую обструктивную болезнь легких (COPD), кистозный

фиброз (CF) и бронхоэктазы без CF (NCFB). Кроме того, эти бактерии все чаще идентифицируются в отделениях интенсивной терапии (ICU) как ответственные за ИВЛ-ассоциированную пневмонию (VAP), влияющую на пребывание в ICU и смертность.

Инфекции, вызываемые *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, как правило, носят хронический характер и с трудом поддаются лечению из-за огромной способности этих бактериальных штаммов адаптироваться, существуя в виде адгезивных популяций, которые заключены в самопродуцируемую матрицу из внеклеточных полимерных веществ (EPS - биопленка). Фактически, рост биопленки дает этим бактериям ряд преимуществ и играет важную роль в патогенезе указанных выше респираторных заболеваний, их устойчивости к обычному лечению антибиотиками и рецидивах.

Фактически, по оценкам Центров по контролю за заболеваниями США, более 65% нозокомиальных инфекций вызваны биопленкообразующими патогенами, а 80% всех хронических инфекций связаны с наличием биопленок, которые, таким образом, представляют собой серьезную проблему для здоровья.

Следует отметить, что бактерии внутри биопленок гораздо более резистентны к антибиотикам, чем планктонные формы, и бактерии, которые могут быть восприимчивы к противомикробным агентам каким-либо образом, могут стать резистентными или толерантными к антибиотикам при формировании биопленки.

Несмотря на то, что на изучение эффективных методов для успешного лечения бактериальных инфекций, вызываемых появляющимися биопленкообразующими патогенами, было затрачено значительное количество времени и энергии, по-прежнему ощущается значительная нехватка хороших терапевтических вариантов, и, следовательно, в этой области сильно ощущается потребность в более эффективных методах лечения опосредованных бактериальными биопленками инфекций.

Таким образом, борьба с этими инфекциями является трудной, но она, тем не менее, может быть весьма эффективной в том, что касается искоренения и ограничения рецидивов, особенно у хронических пациентов.

Биопленки состоят из бактериальных микроколоний, распределенных в матрице. Основным компонентом биопленки являются EPS, в основном состоящие из белков (<1-2%), в том числе ферментов, ДНК (<1%), полисахаридов (1-2%) и РНК (<1%), и, помимо этих компонентов, из воды (до 97%), которая отвечает за поступление питательных веществ внутрь матрицы биопленки.

Другими компонентами биопленки являются: водные каналы, по которым транспортируются питательные вещества и метаболиты, и участки с плотной упаковкой клеток, которые могут составлять до 4-5% EPS матрицы.

Образование биопленки, например в *Pseudomonas aeruginosa*, недавно было исследовано (Blasi F. et al. *Respiratory Medicine*, 2016, 117: 190-197): это многостадийный процесс, начинающийся с прикрепления бактерий к живой или неживой поверхности, затем формируются микроколонии, которые приводят к образованию трехмерной структуры и началу ранней стадии формирования биопленки, и, наконец, происходит

созревание с последующим отслоением путем разрушения EPS. Во время формирования биопленки многие виды бактерий способны общаться между собой посредством специфического механизма, называемого «чувством кворума», который представляет собой систему межклеточных стимулов, способных координировать экспрессию различных генов.

Как было обнаружено в человеческих патогенах (например, *S. aureus*: Becker P. et al., *Appl. Env. Microbiology*, июль 2001 г., стр. 2958-2965, том 67, № 7. DOI: 10.1128/AEM.67.7. 2958-2965.2001), образование биопленок происходит за счет активации бактериальных механизмов и транскрипции генов, которые не характерны для планктонной фазы, что подтверждает необходимость других терапевтических подходов.

Как отмечалось выше, бактериальные биопленки представляют большую угрозу для здоровья населения, поскольку они снижают доступность к антибиотикам и иммунной системе человека и участвуют в ухудшении течения различных инфекционных заболеваний, вызываемых MDR бактериями, которые резистентны к недавно разработанным антибиотикам.

Поразительно, что согласно сообщениям антибиотики, используемые в настоящее время, могут уменьшить количество бактерий в биопленках, но они не могут полностью уничтожить биопленки, и, следовательно, часто происходит рецидив биопленочных инфекций, как указывают Ciofu O. et al (*Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1-15 doi: 10.3389/fmicb.2019.00913).

Поэтому в данной области остро ощущается потребность в эффективном уничтожении биопленкообразующих грамотрицательных бактерий.

Эти инфекции еще более проблематичны, потому что антибиотикотерапия, выбранная, например, путем тестирования чувствительности планктонных микроорганизмов, может не быть предсказуемой и, таким образом, может быть связана с неэффективностью лечения или повторным проявлением или рецидивом инфекции, как описано в Hoiby N. et al. (*ESCMID\* Guideline for the diagnosis and treatment of biofilm infections* 2014, *Clin. Microbiol. Infect.*, 2015; 21: S1-S25 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2014.10.024>).

Комбинация фосфомицина и колистина уже использовалась в клинической практике, например, в SIRIJATUPHAT R. et al. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 30/6/2014, 58(9):5598-5601, или рассматривалась, например, в TRINH TRANG. D. et al. *Pharmacotherapy*, 1/11/2019, 39(11):1077-1094. Результаты этих исследований противоречивы из-за недостаточного распространения стандартизированных анализов для изучения биопленок и отсутствия характеристик изолятов.

Таким образом, насколько известно, синергизм комбинации этих двух антибиотиков при инфекциях грамотрицательными бактериями в уже установленных биопленках никогда не был ясно продемонстрирован.

### **Сущность изобретения**

Соответственно, авторы настоящего изобретения столкнулись с проблемой лечения

бактериальных инфекций, вызываемых грамотрицательными патогенами, образующими биопленки, предпочтительно выбранными из *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, где указанная инфекция особенно трудно поддается лечению из-за наличия биопленок, которые, как известно, придают резистентность и/или толерантность к лечению антибиотиками.

После длительной серии испытаний и экспериментов авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что комплекс колистина и фосфомицина обладает синергетической антибиопленочной активностью против ряда образующих биопленки клинических изолятов *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*; предпочтительно, когда инфекция вызвана *S. maltophilia*.

Антибиопленочная активность комплекса колистина и фосфомицина в отношении образующих биопленку штаммов *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae* подтверждает целесообразность использования указанного комплекса антибиотиков для лечения бактериальной колонизации хозяина, приводящей к рецидивирующим инфекциям, а также для лечения обострений, вызываемых вышеперечисленными патогенами, особенно у госпитализированных пациентов с респираторными заболеваниями, включая, например, хроническую обструктивную болезнь легких (COPD), кистозный фиброз (CF) и бронхоэктазы без CF (NCFB) и ИВЛ-ассоциированную пневмонию (VAP) и их обострения.

В соответствии с особенно предпочтительным вариантом осуществления комплекс по настоящему изобретению особенно полезен для лечения инфекций, вызываемых бактериями с множественной лекарственной устойчивостью (MDR).

#### **Подробное описание изобретения**

Таким образом, первый вариант осуществления настоящего изобретения представляет собой синергетический фармакологический антибиопленочный комплекс колистина и фосфомицина для применения в лечении бактериальной инфекции, вызванной одной или несколькими образующими биопленки грамотрицательными бактериями, предпочтительно выбранными из группы, состоящей из: *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, при этом указанные патогены находятся в фазе роста биопленки, т.е. входят в состав уже сформированной биопленки. Еще одним аспектом настоящего изобретения является синергетический фармакологический антибиопленочный комплекс колистина и фосфомицина для применения в лечении бактериальной инфекции, вызванной одним или несколькими биопленкообразующими патогенами, выбранными из *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, где инфекция связана с респираторным заболеванием, в частности с хроническим респираторным заболеванием. Предпочтительно инфекция вызывается *S. maltophilia*.

Представленные результаты исследования, т.е. способность бороться с бактериями в биопленках, уже образовавшихся в определенном участке организма, имеют особое значение при лечении рецидивирующих инфекций легких или обострений указанных инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями и/или бактериями с

множественной лекарственной устойчивостью.

В соответствии с настоящим изобретением под фармакологическим комплексом колистина и фосфомицина подразумевается комбинация колистина и фосфомицина при либо одновременном, либо совместном введении обоих активных ингредиентов, которые могут быть упакованы в набор, содержащий подходящие дозы колистина и фосфомицина или их физический комплекс в фармацевтической композиции, включающей подходящие эксципиенты.

Например, при бактериальных инфекциях в соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения, т.е. при инфекциях, связанных с хроническими респираторными заболеваниями, колистин предпочтительно вводят ингаляционным путем, тогда как фосфомицин предпочтительно вводят перорально или парентерально, например внутривенно.

Соответственно, в предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения набор из частей включает колистин в виде порошка, подходящего для растворения и введения предпочтительно в дозе 75 мг или 150 мг по меньшей мере один раз, предпочтительно два раза в день через небулайзер, и фосфомицин в дозе, подходящей для ежедневного введения перорально или парентерально.

Средства, подходящие для солиubilизации и разбавления колистина и/или фосфомицина, хорошо известны специалистам в данной области техники и могут представлять собой стерильный физиологический раствор или просто стерильную дистиллированную воду.

Бактериальная инфекция, вызванная одним или несколькими биопленкообразующими патогенами, выбранными из *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, может быть обнаружена с использованием стандартных методов выделения или коммерческих анализов, например, у пациентов с трудно поддающимися лечению респираторными заболеваниями, например, у пациентов, страдающих COPD, CF, NCFB и VAP и их обострениями, особенно когда эти пациенты являются госпитализированными пациентами.

Описанные выше аспекты основаны на наблюдении синергетического взаимодействия между колистином и фосфомицином, которое обеспечивает значительную антибиопленочную активность в отношении уже установленных биопленок биопленкообразующих грамотрицательных патогенных инфекций, причем указанные патогены предпочтительно выбирают из группы, состоящей из штаммов *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, и более предпочтительно *S. maltophilia*.

Как уже отмечалось выше, бактериальные инфекции, вызываемые образующими биопленки бактериями, труднее лечить и устранить по сравнению с бактериальными инфекциями, при которых бактерии все еще находятся в планктонной фазе роста, по более чем одной причине.

Во-первых, биопленки представляют собой своего рода физический барьер для лекарств, и бактерии, заключенные в них, могут быть менее чувствительными по

сравнению с планктонными бактериями. Кроме того, в биопленках не происходит активного деления бактерий, и они менее чувствительны к лекарственным средствам также и по этой причине. Из-за этой сниженной чувствительности может потребоваться использование повышенных концентраций антибиотиков, что не всегда возможно из-за высокой токсичности обычно используемых антибиотиков.

Кроме того, было показано, что некоторые компоненты биопленки, такие как рамнолипиды, маскируют иммунный ответ нейтрофилов (Jensen P.O. et al. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2010, 59 292-305), тем самым снижая врожденный иммунный ответ.

Кроме того, локальный воспалительный ответ, вызываемый бактериями в биопленках и некоторыми компонентами биопленок, сам по себе приводит к повреждению тканей, способствуя тем самым непрерывному распространению инфекции.

Это делает синергизм, обнаруженный между колистином и фосфомицином на грамотрицательных бактериях, в уже сформированных биопленках, важным терапевтическим инструментом, поскольку позволяет снизить дозу антибиотика по сравнению с дозой, необходимой для искоренения таких инфекций при использовании каждого антибиотика в отдельности.

Данное открытие, более подробно описанное в экспериментальной части, особенно актуально, поскольку протестированные штаммы представляют разные генотипы, были выделены из инфекций в разных частях организма и проявляют резистентность к наиболее распространенным антибиотикам, особенно резистентность к карбапенемам, которая в настоящее время представляет серьезную клиническую проблему для антимикробной химиотерапии (Bush K, Bradford PA. *Clin Microbiol Rev.* 2020 Feb 26;33(2):e00047-19. <https://doi:10.1128/CMR.00047-19>).

Насколько известно, это первая демонстрация прямого синергизма между колистином и фосфомицином на бактериях в биопленках.

В соответствии с настоящим изобретением термин «колистин» включает колистин и его фармацевтически приемлемые соли и/или пролекарства, такие как колистин сульфат и колестиметат натрия.

Кроме того, в соответствии с настоящим изобретением термин «фосфомицин» включает фосфомицин и его фармацевтически приемлемые соли, такие как фосфомицин трометамол (также известный как фосфомицин трометамин), фосфомицин кальция и динатрий фосфомицин.

Структура биопленок и методы, подходящие для их изучения, были недавно рассмотрены Macià et al. (Macià MD et al., 2014 Oct;20(10):981-90. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12651>) и Verderosa et al. (Verderosa A.D. et al., *Frontiers in Chemistry*, 28 ноября 2019 г. <https://doi:10.3389/fchem.2019.00824>.) в связи с тем, что инфекции такого типа имеют все более важное значение во всем мире, и в частности в ICU (отделения интенсивной терапии). Следует отметить, что биопленкообразующие патогены демонстрируют характерные особенности, в том числе устойчивость к антибиотикам, которые резко отличаются от тех, которые проявляются в планктонной



фазе роста того же патогена. Эти различия объясняют, почему многие антибиотики, которые эффективны против планктонных - быстрорастущих - бактерий, неэффективны против них, когда они заключены в биопленки из внеклеточного полимерного вещества (EPS), где они также имеют сниженную скорость роста.

На самом деле, когда бактериальная клетка переключается на фазу роста биопленки, она претерпевает фенотипический сдвиг в поведении, при котором большие наборы генов по-разному регулируются и экспрессируются (Blasi F. et al. *Respiratory Medicine*, 2016, 117: 190-197).

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что комбинация колистина и фосфомицина показывает удивительно заметный синергизм против образующих биопленки грамотрицательных патогенов в уже установленных биопленках, где указанные патогены выбраны из группы, состоящей из: *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, и предпочтительно при использовании высоких концентраций лекарственного средства, достижимых в жидкости эпителиальной выстилки (ELF) после ингаляции, что является предпочтительным путем введения при лечении респираторных заболеваний.

Без привязки к конкретной научной теории полагают, что наблюдаемая синергетическая антибиопленочная активность может быть связана с различными механизмами, такими как повышенное проникновение обоих антибиотиков в EPS, или прямая синергетическая активность в отношении образования биопленки или снижения роста бактерий.

В соответствии с настоящим изобретением термины «синергетический» и «синергетически» применительно к эффекту колистина и фосфомицина, используемых в комплексе (одновременно или последовательно), относятся к более сильному антибактериальному эффекту, достигаемому в отношении лечения указанных выше бактерий только колистином или только фосфомицином. В некоторых вариантах осуществления эффект колистина и фосфомицина, используемых в комплексе (одновременно или последовательно), превосходит простое суммирование эффектов каждого агента, вводимого по отдельности, т.е. присутствует эффект, который превосходит ожидания, основанные на аддитивных эффектах. Статистические методы, такие как те, которые более подробно описаны в экспериментальной части, доступны в данной области для выявления синергизма или простого аддитивного эффекта.

Активность колистина и фосфомицина, используемых в комплексе, и наблюдаемый синергизм особенно важны при лечении инфекций, вызванных бактериями с множественной лекарственной устойчивостью (MDR), против которых новые разработанные антибиотики оказались менее эффективными или вообще неэффективными.

Колистин и фосфомицин фармакологического комплекса по настоящему изобретению можно вводить в любом порядке, отдельно или одновременно, с перекрывающимися или неперекрывающимися периодами введения и одинаковыми или

разными способами введения.

Например, колистин и фосфомицин можно вводить одновременно в одной лекарственной форме или, альтернативно, колистин и фосфомицин можно вводить в отдельных лекарственных формах в любом порядке, одновременно или последовательно, с перекрывающимися или неперекрывающимися периодами введения, одинаковыми или разными путями введения.

Совместное или раздельное введение фармакологического комплекса колистина и фосфомицина имеет эффект уничтожения патогенов, выбранных из *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, выращенных в биопленках, причем указанный эффект оказывается неожиданно и на удивление большим, чем тот, который наблюдается, когда биопленки подвергаются воздействию только колистина или только фосфомицина, что подтверждается в экспериментальной части заявки. Соответственно, эффект этого комплекса был определен как «синергетический».

Используемые в комплексе колистин и фосфомицин можно вводить пациенту в виде одной или нескольких фармацевтических композиций.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению содержат колистин и/или фосфомицин вместе с подходящим для фармацевтического применения носителем, состоящим из одного или нескольких эксципиентов. Например, фармацевтические композиции по изобретению могут включать как колистин, так и фосфомицин вместе с подходящим для фармацевтического применения носителем, состоящим из одного или нескольких эксципиентов, т.е. фармацевтические композиции для одновременного введения как колистина, так и фосфомицина; или фармацевтические композиции по изобретению могут включать фосфомицин вместе с подходящим для фармацевтического применения носителем, состоящим из одного или нескольких эксципиентов; или фармацевтические композиции по изобретению могут включать колистин вместе с подходящим для фармацевтического применения носителем, состоящим из одного или нескольких эксципиентов, т.е. отдельные фармацевтические композиции для последовательного или одновременного введения колистина и фосфомицина.

В соответствии с настоящим изобретением термин «эксципиент» включает любое инертное вещество, добавляемое к фармацевтической композиции для дополнительного облегчения введения активного ингредиента.

В соответствии с настоящим изобретением термин «носитель» включает любое вещество, подходящее в качестве носителя для доставки колистина и/или фосфомицина в подходящее место *in vivo* или *in vitro*.

Фармацевтически приемлемые эксципиенты хорошо известны специалистам в данной области и могут быть использованы для получения фармацевтических композиций, включающих колистин и/или фосфомицин, в форме, подходящей для введения субъекту. Приемлемые способы получения фармацевтических композиций по изобретению хорошо известны специалистам в данной области.

Еще одним объектом настоящего изобретения является способ лечения

бактериальной инфекции, вызванной одним или несколькими биопленкообразующими патогенами, выбранными из *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, у нуждающегося в этом субъекта, который включает введение субъекту комплекса колистина и фосфомицина, при этом комплекс обладает синергетической активностью в отношении бактерий в уже установленных биопленках.

Еще одним объектом настоящего изобретения является способ лечения бактериальной инфекции, вызванной одним или несколькими биопленкообразующими патогенами, выбранными из *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, у нуждающегося в этом субъекта, который включает одновременное введение комплекса, включающего колистин и фосфомицин, при этом указанный комплекс обладает синергетическим действием на бактерии в уже установленных биопленках.

Еще одним объектом настоящего изобретения является способ лечения бактериальной инфекции, вызванной биопленкообразующим патогеном, выбранным из *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, у нуждающегося в этом субъекта, который включает раздельное введение комплекса, включающего колистин и фосфомицин, при этом комплекс обладает синергетическим действием на бактерии в биопленке.

В соответствии с настоящим изобретением термины «индивидуум», «субъект» и «пациент» используются взаимозаменяемо для обозначения представителя вида млекопитающих, предпочтительно человека, страдающего конкретным заболеванием, расстройством или состоянием.

В соответствии с настоящим изобретением термин «антибиопленочный» означает ингибирование или подавление (образования) или персистенцию биопленки в образующих биопленку бактериях в фазе роста биопленки. Другими словами, представленный комплекс обладает активностью в отношении грамтрицательных патогенов, выбранных из *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, в уже установленных биопленках, в которых они обычно менее чувствительны к лекарственным средствам.

В соответствии с настоящим изобретением термин «антибиопленочный агент» включает колистин и фосфомицин.

Формирование биопленки в жизненном цикле биопленкообразующих бактерий можно определить стандартными методами, такими как анализ методом “шахматной доски”, более подробно описанный в экспериментальной части. (Pollini S. et al. *J Antimicrob Chemother* 2018; 73: 2388-2395, doi:10.1093/jac/dky185), или при помощи стандартизированных моделей биопленок *in vitro*, таких как система крышек Nunc-TSP® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), как описано в Harrison JJ, et al. (*Nat Protoc.* 2010;5(7):1236-1254. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.71>).

В соответствии с настоящим изобретением «бактериальная инфекция» относится к любой ситуации, в которой присутствие микробной популяции (популяций) вредно для млекопитающего-хозяина. Таким образом, субъект «страдает» от микробной инфекции,

когда чрезмерное количество микробной популяции присутствует в организме или на теле субъекта, или когда эффектом присутствия микробной популяции(популяций) является повреждение клеток или другой ткани субъекта. В частности, «бактериальная инфекция» относится к инфекции, вызванной штаммом бактерий, для которого подходит применение синергетического антибиопленочного фармакологического комплекса колистина и фосфомицина, описанного в настоящей заявке.

В соответствии с настоящим изобретением термин «нозокомиальная инфекция» относится к внутрибольничной инфекции (НАИ), которая представляет собой инфекцию, приобретенную в больнице или другом медицинском учреждении. Чтобы подчеркнуть как больничные, так и внебольничные условия, ее иногда вместо этого называют инфекцией, связанной с оказанием медицинской помощи (НАИ или НСАИ). Такой инфекцией можно заразиться в больницах, домах престарелых, реабилитационных центрах, амбулаторных или других клинических учреждениях.

В соответствии с настоящим изобретением термины «лечить», «осуществлять лечение» и «лечение» относятся к уменьшению, снижению, ограничению или ослаблению степени, интенсивности, распространенности бактериальной инфекции или связанных с ней болезненных состояний и симптомов, вызываемых одним или несколькими биопленкообразующими патогенами, выбранными из штаммов *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, что достигается путем уменьшения, ингибирования или подавления роста, репликации и/или размножения, или уничтожением или разрушением указанных бактерий на теле или в организме субъекта.

В соответствии с настоящим изобретением термин «фармакологический комплекс» относится либо к фиксированной комбинации колистина и фосфомицина в одной лекарственной форме, либо к нефиксированной комбинации, либо к набору из частей для комбинированного введения, при этом колистин и фосфомицин, как определено выше, можно вводить одновременно, независимо в одно и то же время или по отдельности в пределах временных интервалов, которые позволяют компонентам комбинации проявлять синергетический эффект.

Для композиций по настоящему изобретению можно использовать любой подходящий путь введения, включая пероральный, парентеральный (подкожный, внутримышечный, интраперитонеальный или внутривенный) и ингаляционный путь, предпочтительно ингаляционный путь.

В соответствии с настоящим изобретением термины «пероральный» или «перорально» относятся к введению в организм через рот, при этом абсорбция происходит в одном или нескольких из следующих участков организма: рот, желудок, тонкий кишечник и небольшие кровеносные сосуды слизистой оболочки полости рта.

Неограничивающие примеры лекарственных форм в соответствии с настоящим изобретением для перорального введения включают, например, таблетки, таблетки с покрытием, грануляты, пилюли, капсулы, жидкости, гели, сиропы, суспензии и т.п. для перорального приема человеком. Подходящие носители для перорального введения

хорошо известны в данной области.

Для парентерального введения фармацевтические композиции по изобретению могут быть сформулированы, например, в водных растворах, таких как физиологически совместимые буферы или физиологический солевой буфер. Композиции для инъекций могут быть представлены в виде стандартных лекарственных форм, например, в ампулах, или в многодозовых контейнерах с необязательно добавленным консервантом.

Для введения путем ингаляции фармацевтические композиции по изобретению могут быть сформулированы в виде растворов, суспензий и сухого порошка и доставляться с использованием обычных средств, чтобы обеспечить пациенту оптимальные количества частиц с размером в подходящем диапазоне.

В соответствии с особенно предпочтительным вариантом осуществления изобретения лечение указанных выше инфекций осуществляется ингаляционным путем. Действительно, введение путем ингаляции позволяет достичь высоких концентраций лекарственного средства в жидкости эпителиальной выстилки (ELF) при минимизации системной токсичности. В частности, колистин предпочтительно вводят ингаляционным путем.

Альтернативно, комбинация колистина и фосфомицина может быть обеспечена путем введения одного лекарственного средства ингаляционным путем, т.е. колистина, а другого системно, т.е. перорально или парентерально. Особенно предпочтительной является комбинация лекарственных средств, в которой колистин вводят ингаляционным путем, а фосфомицин вводят перорально или парентерально.

Еще один вариант осуществления настоящего изобретения относится к способу терапевтического лечения бактериальной инфекции, вызванной образующим биопленку грамотрицательным патогеном, предпочтительно выбранным из группы, состоящей из *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, у субъекта, нуждающегося в этом, который включает либо введение комбинации колистина и фосфомицина, отдельно или одновременно, либо введение фармацевтической композиции, включающей эффективные количества колистина и фосфомицина вместе с по меньшей мере одним подходящим эксципиентом, при этом указанная комбинация имеет синергетический антибиопленочный эффект.

Такое терапевтическое лечение может включать введение эффективного количества колистина, составляющего примерно от 0,075 миллиона единиц до 12 миллионов единиц (т.е. от около 6 мг до около 960 мг), предпочтительно примерно от 0,5 миллиона единиц до 12 миллионов единиц (т.е. от около 40 мг до около 960 мг); эффективное количество фосфомицина может варьироваться от 0,1 до 5 г/день, более предпочтительно от 1 мг до 3 мг/день.

Количество колистина и фосфомицина для применения по настоящему изобретению может варьироваться в зависимости от пути введения, выбранного вида композиции, индивидуальных особенностей пациента, продолжительности лечения и характера сопутствующей терапии.

В любом случае синергетически эффективное количество фармакологического комплекса колистина и фосфомицина может вызывать уменьшение, снижение, ограничение или ослабление степени, интенсивности, распространенности бактериальной инфекции или связанных с ней симптомов, вызванных одним или несколькими биопленкообразующими патогенами, выбранными из *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*.

В соответствии с одним вариантом осуществления количество колистина и фосфомицина, достаточное для синергетического эффекта на бактериальную инфекцию, вызванную биопленкообразующим патогеном, выбранным из штаммов *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, может варьироваться, например, с учетом физических характеристик пациента, тяжести симптомов у субъекта, формы инфекции, типа бактерий и бактериальной нагрузки, фармацевтических композиций и средств, используемых для введения лекарственного средства. Конкретная доза для данного субъекта обычно устанавливается по решению лечащего врача.

Однако, в качестве примера, эффективное количество колистина может составлять примерно от 0,075 млн единиц до 12 млн единиц (т.е. около 6 мг - 960 мг), предпочтительно примерно от 0,5 млн единиц до 12 млн единиц (т.е. около 40 мг - 960 мг) для введения в виде разовой дозы или в виде нескольких дробных доз; эффективное количество фосфомицина может варьироваться от 0,1 до 5 г/день или, предпочтительно, может составлять от 1 до 3 г/день, для введения в виде разовой дозы или в виде нескольких дробных доз.

В зависимости от способа введения дозу можно вводить сразу или постепенно в течение определенного периода времени, например, внутривенно или путем ингаляции.

В соответствии с настоящим изобретением термины «доза», «стандартная доза», «дозировка», «эффективная доза» и соответствующие термины относятся к физически дискретным единицам, которые содержат заданное количество активного ингредиента, рассчитанное для получения или индукции желаемого терапевтического эффекта. Таким образом, разовая доза представляет собой заданное количество колистина или фосфомицина, которое вводят пациенту.

Лечение комбинацией лекарственных средств по настоящему изобретению следует продолжать до тех пор, пока это требуется для получения терапевтического эффекта в соответствии с изобретением.

Определение синергетического взаимодействия между колистином и фосфомицином было основано на результатах, полученных с использованием анализов, описанных ниже; был определен антибиопленочный синергизм между колистином и фосфомицином *in vitro*, как более подробно описано в следующих примерах.

### **Экспериментальная часть**

#### Пример 1. Материалы и методы

##### Бактериальные штаммы

Исследовали семнадцать граммотрицательных клинических изолятов, включая *A.*

baumannii (n=3), P. aeruginosa (n=5), S. maltophilia (n=3) и K. pneumoniae (n=6) (представленные в Таблице 1).

Штаммы были отобраны как репрезентативные для различных генотипов и фенотипов резистентности (т.е. мультилокусное типирование последовательностей или MLST-тип, колистин и фосфомицин, MDR фенотип). У большинства из них выражена приобретенная резистентность к карбапенемам из-за продукции карбапенемаз, которые в настоящее время представляют собой серьезную клиническую проблему для антимикробной химиотерапии (Bush K, Bradford PA, цитируемый выше).

Характеристики испытанных изолятов представлены в Таблице 1.

Таблица 1

Характеристики изолятов A. baumannii, P. aeruginosa, S. maltophilia, E. coli и K. pneumoniae

Изолят	Вид	Источник <sup>a</sup>	MLST-тип <sup>b</sup>	Профиль резистентности <sup>c</sup>
FZ1	A. baumannii	CVC	ST2	MEM, IPM, CIP
FZ2	A. baumannii	BSI	ST78	MEM, IPM, CIP
FZ83	A. baumannii	LRTI	ST2	MEM, IPM, CIP, CST
FZ18	P. aeruginosa	LRTI	ST235	C/T, CAZ, FEP, MEM, IPM, AMK, CIP
FZ34	P. aeruginosa	BSI	ST175	TZP, CAZ, FEP, CIP, CST
FZ45	P. aeruginosa	BSI	ST111	C/T, TZP, CAZ, FEP, MEM, IPM, CIP
FZ98	P. aeruginosa	SP	ST646	CIP, CST
FZ139	P. aeruginosa	LRTI	ST111	C/T, MEM, IPM, AMK, CIP
FZ6	S. maltophilia	BSI	ST300	-
FZ8	S. maltophilia	CF	ST34	-
FZ85	S. maltophilia	LRTI	ST87	-
FZ11	E. coli	UTI	ST73	-
FZ123	E. coli	UTI	ST405	TZP, CAZ, FEP, MEM, IPM, AMK, CIP
FZ128	E. coli	RS	ST167	TZP, CAZ, FEP, MEM, IPM, AMK, CIP
FZ80	K. pneumoniae	UTI	ST512	TZP, CAZ, FEP, MEM, IPM, CIP
FZ103	K. pneumoniae	LRTI	ST512	TZP, CAZ, FEP, MEM, IPM, CIP, CST
FZ105	K. pneumoniae	BSI	ST258	TZP, CAZ, FEP, MEM, IPM, CIP, CST
FZ106	K. pneumoniae	BSI	ST258	TZP, CAZ, FEP, MEM, IPM, CIP, CST
FZ108	K. pneumoniae	UTI	ST258	TZP, CAZ, FEP, MEM, IPM, CIP, CST
FZ141	K. pneumoniae	UTI	ST2502	TZP, CAZ, FEP, MEM, IPM, AMK, CIP

а) CVC - инфекция, связанная с центральным венозным катетером; BSI - инфекция кровотока; LRTI - инфекция нижних дыхательных путей; SP - мокрота; CF - кистозный фиброз; UTI - инфекция мочевыводящих путей; RS - ректальный мазок.

б) В соответствии с схемами MLST Пастера и Ахтмана.

с) АМК - амикацин; С/Т - цефтолозан/тазобактам (тазобактам при фиксированной концентрации 4 мкг/мл); CAZ - цефтазидим; CIP - ципрофлоксацин; CST - колистин; FER - цефепим; IPM - имипенем; MEM - мепропенем; TZP - пиперациллин/тазобактам (тазобактам при фиксированной концентрации 4 мкг/мл)

#### Активные ингредиенты

В экспериментальной части настоящего изобретения термин “колистин” относится к колистин сульфату (в соответствии с международными рекомендациями по тестированию антимикробной чувствительности, разработанными Институтом клинических и лабораторных стандартов - CLSI и Европейским комитетом по тестированию антимикробной чувствительности - EUCAST).

В экспериментальной части настоящего изобретения термин “фосфомицин” относится к динатриевой соли фосфомицина (в соответствии с международными рекомендациями по тестированию антимикробной чувствительности, разработанными Институтом клинических и лабораторных стандартов - CLSI и Европейским комитетом по тестированию антимикробной чувствительности - EUCAST).

#### Определение минимальных ингибирующих концентраций (MIC)

Тестирование на чувствительность к противомикробным препаратам осуществляли в соответствии с рекомендациями Института клинических и лабораторных стандартов [CLSI\_M07 2018, CLSI\_M100 2020]. В частности, MIC колистина определяли методом микроразведений в бульоне, а MIC фосфомицина определяли методом разведения в агаре (с добавлением 25 мкг/мл глюкозо-6-фосфата, как рекомендовано). Все данные были получены по меньшей мере в двух независимых экспериментах, при осуществлении третьего эксперимента в случае расхождения значений MIC более чем на 1 log<sub>2</sub> разведения. *E. coli* ATCC 29522 и *P. aeruginosa* ATCC 27853 использовали для целей контроля качества.

#### Тестирование чувствительности биопленки

Тестирование чувствительности биопленки осуществляли с использованием стандартизированной модели биопленки *in vitro*, системы крышек Nunc-TSP® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), как описано ранее (Harrison JJ, et al. Nat Protoc. 2010;5(7):1236-1254. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.71>). Вкратце, биопленки выращивали в бульоне Мюллера-Хинтона со стандартизованным содержанием катионов (CAMHB) (статические условия, 35°C) в течение 24 часов, за исключением *A. baumannii*, для которого требовался 7-дневный рост в ежедневно обновляемой среде (Pollini S et al. J. Antimicrob. Chemother. 2018 Sep 1;73(9):2388-2395. <https://doi.org/10.1093/jac/dky185>). Затем предварительно сформированные биопленки подвергали воздействию фосфомицина, колистина и комбинаций фосфомицина/колистина в течение 24 часов (статические условия, 35°C) для тестирования чувствительности биопленки.



Минимальные концентрации фосфомицина и колистина для эрадикации биопленки (МВЕС) определяли, как описано ранее (см. Macià et al., выше), при этом МВЕС определяется как самая низкая концентрация антибиотика, предотвращающая видимый рост бактерий в восстановительной среде.

Анализ биопленки методом шахматной доски осуществляли, как описано ранее (Bonarace CR, et al., *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2002;44(4):363-366. [https://doi.org/10.1016/S0732-8893\(02\)00473-X](https://doi.org/10.1016/S0732-8893(02)00473-X)), используя предварительно сформированные биопленки в качестве бактериального инокулята. Вкратце, после 24 часов воздействия антибиотика на биопленку крышки с пробкой удаляли и осуществляли обработку ультразвуком, а через 24 часа при 35°C проверяли наличие/отсутствие бактериального роста в среде. Синергетическую активность комбинаций колистин/фосфомицин оценивали путем расчета индекса фракционной концентрации эрадикации биопленки (FBECI), где значение FBECI  $\leq 0,5$  указывает на синергетический эффект (Wang L. et al *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10, 2252, doi: 10.3389/fmicb.2019.02522). Данные были получены в двух независимых экспериментах с шестью повторами на каждое условие для каждого эксперимента. Среднее значение использовалось для анализа данных.

В завершение, все штаммы подвергали количественной оценке чувствительности биопленки с использованием высоких концентраций лекарственных средств, достижимых при ингаляции. Предварительно сформированные биопленки подвергали воздействию трех концентраций фосфомицина и трех концентраций колистина, отдельно или в комбинации. Антибиопленочную активность оценивали путем разрушения биопленки обработкой ультразвуком и определения среднего количества жизнеспособных клеток на пробку (КОЕ/пробка), как описано ранее (Pollini S. et al. *J Antimicrob Chemother* 2018; 73: 2388-2395, doi:10.1093/jac/dky185; Ciacci\_N. et al., *Antibiotics* 2019, 8:101; doi:10.3390/antibiotics8030101). Были проведены предварительные эксперименты, чтобы определить оптимальный диапазон тестируемых концентраций антибиотиков для каждого штамма. Данные получали по меньшей мере в двух независимых экспериментах с шестью повторами для каждого условия в каждом эксперименте. Статистический анализ осуществляли с использованием непарного t-критерия с поправкой Уэлча (GraphPad Prism version 7.0, San Diego, CA, USA) для сравнения антибиопленочной активности комбинаций фосфомицина/колистина с используемыми по отдельности лекарственными средствами.

#### Пример 2. Активность комбинаций колистина/фосфомицина против биопленок

Значения МВЕС фосфомицина и колистина были каждый раз выше, чем соответствующие значения МІС для всех испытываемых штаммов: т.е. МІС50=64 мкг/мл vs МВЕС50=>1024 мкг/мл, и МІС90=>1024 мкг/мл vs МВЕС90=>1024 мкг/мл для фосфомицина; МІС50=4 мкг/мл vs МВЕС50=512 мкг/мл, и МІС90=32 мкг/мл vs МВЕС90=>1024 мкг/мл для колистина (Таблица 1).

Анализ биопленки методом шахматной доски показал синергизм комбинаций

фосфомицина/колистина со всеми протестированными штаммами. Интересно, что синергетическая антибиопленочная активность комбинаций фосфомицина/колистина, по-видимому, не является видоспецифической и не связана с МИС фосфомицина и колистина (например, штаммы *P. aeruginosa* FZ34 и FZ45 показали аналогичные МИС фосфомицина и колистина, но разный ответ на воздействие комбинации лекарственных средств) (Таблица 2). Никакого антагонизма не наблюдалось.

Количественные анализы антибиопленочной активности (с использованием высоких концентраций лекарственных средств, достижимых в ELF после ингаляции) продемонстрировали значительный антибиопленочный синергизм комбинаций фосфомицина/колистина против всех протестированных штаммов, за исключением двух штаммов *P. aeruginosa* (т.е. FZ34 и FZ45), для которых наблюдалась тенденция, предполагающая синергизм, хотя статистическая значимость не была достигнута. Неоднородность бактериальной популяции, растущей в биопленках, может хотя бы частично объяснить этот результат.

В целом, значения МИС фосфомицина и колистина не были прогностическими для концентраций лекарственных средств, проявляющих антибиопленочный синергизм против конкретного штамма, подчеркивая сложность ответа биопленки на воздействие антибиотика и разницу между ответом биопленки и чувствительностью к антибиотику.

Таблица 2

Результаты анализов биопленки методом шахматной доски с комбинациями фосфомицина/колистина

Штамм	Вид	Фосфомицин		Коллистин		FBESI
		МИС (мкг/мл)	МВЕС (мкг/мл)	МИС (мкг/мл)	МВЕС (мкг/мл)	
FZ1	<i>A. baumannii</i>	512	>1024	0.5	64	<b>0.4</b>
FZ2	<i>A. baumannii</i>	>1024	>1024	1	>1024	<b>0.5</b>
FZ83	<i>A. baumannii</i>	64	>1024	8	128	<b>0.3</b>
FZ18	<i>P. aeruginosa</i>	64	>1024	4	>1024	<b>0.5</b>
FZ34	<i>P. aeruginosa</i>	>1024	>1024	4	>1024	<b>0.5</b>
FZ45	<i>P. aeruginosa</i>	>1024	>1024	4	>1024	<b>1</b>
FZ98	<i>P. aeruginosa</i>	64	>1024	512	>1024	<b>0.6</b>
FZ139	<i>P. aeruginosa</i>	8	>1024	4	>1024	<b>0.8</b>
FZ6	<i>S. maltophilia</i>	64	>1024	4	>1024	<b>0.1</b>
FZ8	<i>S. maltophilia</i>	128	>1024	4	>1024	<b>0.3</b>
FZ85	<i>S. maltophilia</i>	32	>1024	16	>1024	<b>0.8</b>
FZ80	<i>K. pneumoniae</i>	128	>1024	0.5	64	<b>0.6</b>
FZ103	<i>K. pneumoniae</i>	32	>1024	8	64	<b>0.1</b>
FZ105	<i>K. pneumoniae</i>	16	>1024	128	256	<b>0.1</b>
FZ106	<i>K. pneumoniae</i>	64	>1024	32	256	<b>0.2</b>
FZ108	<i>K. pneumoniae</i>	128	>1024	32	>1024	<b>0.1</b>
FZ141	<i>K. pneumoniae</i>	≤0.25	4	2	8	<b>0.4</b>

Аббревиатуры: МИС - минимальная ингибирующая концентрация; МВЕС - минимальная концентрация для эрадикации биопленки; FBESI - индекс фракционной концентрации эрадикации биопленки. FBESI значения интерпретировали следующим образом: FBESI ≤0,5, синергизм; FBESI > 0,5-1, аддитивный эффект; FBESI >1-4,0,

---

отсутствие взаимодействия; FBESI >4,0, антагонизм. FBESI значения, указывающие на синергизм или аддитивный эффект, выделены жирным шрифтом

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Синергетическая фармакологическая комбинация колистина и фосфомицина для применения в лечении бактериальной инфекции, вызванной одним или несколькими грамотрицательными образующими биопленку патогенами, предпочтительно выбранными из группы, состоящей из: *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, где указанные патогены находятся в фазе роста биопленки.

2. Комбинация для применения по п. 1, где бактериальная инфекция связана с респираторным заболеванием, предпочтительно хроническим респираторным заболеванием.

3. Комбинация для применения по п. 2, где указанное хроническое респираторное заболевание выбрано из группы, состоящей из: хронической обструктивной болезни легких (COPD), кистозного фиброза (CF), не связанного с кистозным фиброзом (NCFB), ИВЛ-ассоциированной пневмонии (VAP) и их обострений.

4. Комбинация для применения по любому из пп. 1-3, где указанная бактериальная инфекция представляет собой рецидивирующую инфекцию.

5. Комбинация для применения по любому из пп. 1-4, где указанная бактериальная инфекция поражает госпитализированных пациентов или пациентов отделения интенсивной терапии.

6. Комбинация для применения по любому из пп. 1-5, где указанные патогены представляют собой бактерии с множественной лекарственной устойчивостью.

7. Комбинация для применения по любому из пп. 1-6, где колистин и фосфомицин вводят в любом порядке, отдельно или одновременно, с перекрывающимися или неперекрывающимися периодами введения, одним и тем же или разными путями введения.

8. Комбинация для применения по п. 7, где указанный путь введения представляет собой ингаляционный путь.

9. Комбинация для применения по п. 7, где колистин вводят ингаляционным путем, а фосфомицин вводят пероральным или парентеральным путем.

10. Набор из частей, включающий флакон с колистином и флакон с фосфомицином, необязательно в комбинации со средством для разбавления, для совместного введения синергетической комбинации колистина и фосфомицина.

11. Набор из частей по п. 10, где колистин разбавляют для введения ингаляционным путем, а фосфомицин разбавляют для введения пероральным или парентеральным путем.

12. Применение синергетического фармакологического комплекса колистина и фосфомицина для получения антибиопленочного лекарственного средства для лечения грамотрицательных инфекций, вызванных патогеном, предпочтительно выбранным из группы, состоящей из: *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia* и *K. pneumoniae*, где указанный патоген находится в фазе роста биопленки.