

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202392306** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
**2024.03.29**

(22) Дата подачи заявки  
**2023.09.14**

(51) Int. Cl. *A61K 38/12* (2006.01)  
*A61K 31/44* (2006.01)  
*A61K 31/724* (2006.01)  
*A61K 9/08* (2006.01)  
*A61K 9/20* (2006.01)  
*A61K 47/10* (2017.01)  
*A61K 47/26* (2006.01)  
*A61K 47/30* (2006.01)  
*A61P 31/04* (2006.01)

---

(54) **АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ КОМПОЗИЦИЯ ГРАМИЦИДИНА С, СПОСОБ ЕЕ  
ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ**

---

(31) **2022124429**

(32) **2022.09.15**

(33) **RU**

(71) Заявитель:  
**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ  
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ  
"ВАЛЕНТА-ИНТЕЛЛЕКТ" (RU)**

(72) Изобретатель:

**Балабаньян Вадим Юрьевич,  
Фазылов Марат Феликсович (RU)**

(74) Представитель:

**Квашнин В.П. (RU)**

---

(57) Изобретение относится к области медицины и химико-фармацевтической промышленности и касается новой антибактериальной композиции для приготовления раствора для местного и наружного применения, включающей грамицидин С и цетилпиридиния хлорид, 2-гидроксипропил-β-циклодекстрин в эффективных количествах, способа ее получения и применения.

**A1**

**202392306**

**202392306**

**A1**

# АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ КОМПОЗИЦИЯ ГРАМИЦИДИНА С, СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

## ОПИСАНИЕ

Изобретение относится к области медицины и химико-фармацевтической промышленности и касается новых лекарственных средств на основе грамицидина С.

### Предшествующий уровень техники

Одной из востребованной и эффективной терапии больных с инфекционно-воспалительными заболеваниями полости рта является использование топических лекарственных средств, при котором сводится к минимуму токсическое действие на организм и микробиоту человека (Карнеева О.В., Дайхес Н.А., Поляков Д.П. Протоколы диагностики и лечения острых тонзиллофарингитов // Русский медицинский журнал. 2015. № 6. С. 307–311).

Пациентам с инфекционно-воспалительными заболеваниями глотки рекомендуют назначение препаратов Граммидин<sup>®</sup> нео или Граммидин<sup>®</sup> с анестетиком нео (Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., Мокоян Ж.Т. Место топических антимикробных лекарственных средств в фармакотерапии инфекционно-воспалительных заболеваний глотки. РМЖ. 2017; 23:1739-1743.). Активными веществами препарата Граммидин<sup>®</sup> нео являются грамицидин С и цетилпиридиния хлорид.

Грамицидин С был впервые получен в СССР Ф в 1942 г. Он представляет собой циклический декапептид, включающий по два остатка аминокислот: L-валина, L-орнитина, L-лейцина, D-фенилаланина и L-пролина. Грамицидин С оказывает антибактериальное действие в отношении широкого спектра грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

Известны технические решения, в которых грамицидин С находится в твердой форме, лекарственные препараты с ним выпускаются в виде таблеток для рассасывания. (Патенты РФ №№ 2213558, 2160088, 2590980). Однако, грамицидин С практически не растворяется в воде, что снижает его биодоступность, поэтому предложены различные способы повышения его растворимости.

Известна фармацевтическая субстанция на основе грамицидина С, циклодекстрина и хитозана, в которой грамицидин С инкапсулирован в циклодекстрин с последующим образованием полиэлектrolитного комплекса с хитозаном (Патент РФ № 2733715). Компоненты находятся в следующих соотношениях в % масс.: грамицидин С (1-31,25),

циклодекстрина (2-62,5) и хитозана (6,25-97). Фармацевтическая субстанция имеет пролонгированное действие и повышенную растворимость за счет возможной инкапсуляции наиболее гидрофобной части D-фенилаланина в молекуле грамицидина С. При этом, технический эффект, на который направлено данное техническое решение, заключается в расширении средств данного назначения, а точные данные о повышении растворимости не приводятся.

В другой работе показано, что при сравнении химических сдвигов грамицидина С, циклодекстрина и их совместного комплекса, было обнаружено значительное изменение химического значения с 7,91 до 7,69 для протонов аминогруппы L-орнитина в молекуле грамицидина С в комплексе с циклодекстрином (Дранников А. А., Ватлин И. С., Трусова М. Е., Ди Мартино А., Кривошеков С. В., Гурьев А. М., Белоусов М. В. Исследование влияния способа получения комплексов включения грамицидина С и  $\beta$ -циклодекстрина на их технологические показатели. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2022; 11(2) С. 102–108. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-2-102-108>).

Циклодекстрины являются производными крахмала и широко используются в фармацевтической промышленности благодаря своей специфической структуре с полостью, подходящей для включения других молекул. Это специфическое свойство циклодекстринов широко применяется в фармации для изменения высвобождения лекарственного вещества, маскировки негативных органолептических свойств, а также  $\beta$  для улучшения его растворимости в воде (Патент РФ №2099354). Однако циклодекстрины, как природные, такие как  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , так и различные синтетические производные, такие как гидроксипропилпроизводные  $\beta$ ,  $\gamma$  и метилированные  $\beta$ -циклодекстрины, сульфобутиловые эфиры  $\beta$ -циклодекстрина и т.д., отличающиеся по структуре, соответственно, по свойствам и применению, не обеспечивают равнозначное улучшение необходимых свойств для разных фармацевтически активных субстанций.

В частности, было обнаружено, что комплексообразование грамицидина С с  $\beta$ -циклодекстрином увеличивает растворимость лекарственного средства в воде и обеспечивает длительное высвобождение грамицидина С при рН = 4,3 в течение по меньшей мере 48 ч. Однако при более высоком уровне рН высвобождение практически отсутствовало (Drannikov, A. A. (2020). Influence of gramicidin S and [beta]-cyclodextrin complexation techniques on the drug release. Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XXI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л. П. Кулёва и Н. М. Кижнера, посвященной 110-

летию со дня рождения профессора А. Г. Стромберга, 21–24 сентября 2020 г., Томский политехнический университет, С. 525-526.).

Недостатком комплекса грамицидина С с  $\beta$ -циклодекстрином является отсутствие высвобождения грамицидина С при рН выше 4,3, что делает его неприменимым практически для всех физиологических сред, в том числе при его растворении в обычной воде с нейтральным рН для полоскания горла.

Известны жидкие лекарственные формы на основе грамицидина С и цетилпиридиния хлорида (патенты РФ №№ 2627423, 2749902). Данные композиции включают в своем составе этанол, что существенно ограничивает их использование водителям автотранспорта, беременным и другим категориям граждан.

Наиболее близким по составу к заявляемой антибактериальной композиции является лекарственный препарат Граммидин<sup>®</sup> нео в виде таблеток для рассасывания, обладающий антибактериальным действием, состав которого принят в качестве прототипа ([https://www.vidal.ru/drugs/grammidin\\_neo\\_\\_20563](https://www.vidal.ru/drugs/grammidin_neo__20563)).

Граммидин<sup>®</sup> нео имеет следующий состав веществ в композиции:

грамицидин С дигидрохлорид – 3,20 мг (в пересчете на грамицидин С – 3 мг);  
цетилпиридиния хлорида моногидрат – 1,05 мг (в пересчете на цетилпиридиния хлорид – 1 мг);

кремния диоксид коллоидный – 5 мг;

тальк – 60 мг;

ацесульфам калия – 15 мг;

ароматизатор мятный – 25 мг;

сорбитол – 1065,75 мг;

магния стеарат – 25 мг.

Общая масса таблетки составляет 1200 мг.

Данный препарат нашел широкое применение в медицинской практике для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний полости рта и глотки, ангины, фарингита, тонзиллита, пародонтоза, гингивита и стоматита. Граммидин<sup>®</sup> нео является комбинированным лекарственным средством, уменьшающим воспаление, оказывающим противомикробное действие, смягчающим неприятные ощущения в горле, облегчающим глотание, при рассасывании вызывает гиперсаливацию, что способствует механическому очищению полости рта и глотки от микроорганизмов.

Настоящее изобретение в отличие от прототипа представляет собой таблетки для приготовления раствора для местного и наружного применения. Замена таблеток для

рассасывания на раствор для полоскания рассматривается в качестве эффективной с медицинской и экономической точек зрения превентивной меры при инфекциях верхних дыхательных путей (Sakai M., Shimbo T., Omata K. et al.; Great Cold Investigators-I. Cost-effectiveness of gargling for the prevention of upper respiratory tract infections. BMC Health Serv. Res. 2008; 8: P. 258). При ирригационных процедурах возникает значительная площадь контакта раствора со слизистой оболочкой, создаются благоприятные условия для лучшего местного воздействия (Е.В. Носуля. Полоскание в комплексном лечении тонзиллофарингитов. Терапевтический архив 10, 2014, с. 128-131). При полоскании более эффективно происходит очищение за счет дыхательных движений жидкостью в полости рта, интенсивность которых регулируются самим больным. Также расширяется диапазон применения раствора, который можно применять не только для полоскания горла, но у целей наружного применения в качестве местного антибактериального средства.

Сложностью получения такого раствора является практически отсутствие растворимости грамицидина С в воде. Решением данной проблемы могло бы стать повышение растворимости грамицидина С в воде с рН 5,5 и более.

Задачей заявляемого технического решения является разработка антибактериального комплекса грамицидина С с улучшенной растворимостью и новой стабильной антибактериальной композиции в виде таблеток для приготовления раствора для местного или наружного применения на его основе.

Задача решается тем, что добиться повышенной растворимости грамицидина С в воде удалось включением в матрицу 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина грамицидина С или его фармацевтически приемлемой соли и цетилпиридиния хлорида или его моногидрата, который является поверхностно-активным веществом. Такое сочетание трех компонентов в виде заявленного комплекса грамицидина С позволило повысить его растворимость до степени, достаточной для приготовления эффективного антибактериального раствора для местного или наружного применения.

Грамицидин С и его фармацевтически приемлемые соли оказывают выраженное противомикробное действие в отношении возбудителей инфекционных заболеваний полости рта и глотки. Грамицидин С может использоваться в виде фармацевтически приемлемых солей, например, таких как гидрохлориды, гидробромиды, сульфаты, фосфаты, бензоаты, лактаты, цитраты, малеаты, фумараты, сукцинаты, тартраты, малонаты, салицилаты и др. (RU 2749902 C2). В качестве предпочтительной соли может быть указана соль, представляющая собой дигидрохлорид.

Цетилпиридиния хлорид (цетилпиридиния хлорид моногидрат) - антисептик из группы четвертичных аммониевых оснований, обладает переменной противогрибковой активностью, бактерицидным действием в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, эффективен в отношении некоторых вирусов. Цетилпиридиния хлорид оказывает дезинфицирующее действие на слизистую оболочку.

2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин представляет собой циклический олигосахарид, молекулы которого по своей форме напоминают тор или полый внутри усеченный конус. Внутри тора гидроксильных групп нет, поэтому внутренняя полость является гидрофобной, а внешняя оболочка — гидрофильной. Неожиданно выбор данного циклодекстрина в сочетании с цетилпиридиния хлоридом позволил преодолеть проблемы связанные с зависимостью растворимости грамицидина С от pH.

Антибактериальный комплекс согласно настоящему изобретению включает 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина, грамицидин С или его фармацевтически приемлемую соль (в пересчете на грамицидин С), цетилпиридиния хлорид или его моногидрат (в пересчете на цетилпиридиния хлорид) в массовых соотношениях 6-100:3:1. Предпочтительное соотношение составляет 25:3:1.

Антибактериальная фармацевтическая композиция, выполненная в виде таблетки для приготовления раствора для местного или наружного применения, включает указанный комплекс и набор фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ.

Более подробно, антибактериальная фармацевтическая композиция, выполненная в виде таблетки для приготовления раствора для местного или наружного применения, имеет следующий состав:

антибактериальный комплекс 10,00-104,00 мг

маннитол – 230,0-270,0 мг

кросповидон – 30,0-36,0 мг

сорбитол – 29,0-35,0 мг

аспартам – 6,0-10,0 мг;

полиэтиленгликоль 4000 – 3,0-5,0 мг.

Таблетки могут дополнительно включать, по крайней мере, один ароматизатор, предпочтительно в количестве – 6-13 мг. Например, по крайней мере, один ароматизатор может быть выбран из группы: малиновый, клубничный, абрикосовый, мятный, грушевый, яблочный, лимонный, коричный и т.п.

Еще одним объектом изобретения является способ получения заявляемой антибактериальной композиции, который проводится в несколько стадий.

На первой стадии берут необходимые навески цетилпиридиния хлорида (или его моногидрата) и 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина, добавляют воду, перемешивают до образования прозрачного раствора, добавляют к нему грамицидин С или его фармацевтически приемлемую соль, перемешивают в течение 40-50 минут до получения прозрачного или слабо опалесцирующего раствора, замораживают полученный раствор и проводят лиофильное высушивание. Образуется комплекс из грамицидина С, цетилпиридиния хлорида и 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина. На данной стадии важен порядок добавления реагентов.

На второй стадии смешивают полученный комплекс с указанными в составе вспомогательными веществами, перемешивают путем встряхивания и далее прессуют в таблетки, предназначенные для получения раствора для местного или наружного применения.

Еще одним объектом изобретения является применение заявляемой антибактериальной композиции как местного или наружного антибактериального средства, заключающееся в растворении антибактериальной композиции в воде и применении раствора по необходимому назначению: ополаскивании горла, протирании мест, требующих дезинфекции и т.п. Полученный раствор может быть использован, например, при ангинах, фарингите, тонзиллите, пародонтозе, гингивите, стоматите и т.п.

Технический результат изобретения заключается в создании новой стабильной антибактериальной композиции для приготовления раствора для местного и наружного применения на основе комплекса грамицидина С, имеющего улучшенную растворимость, что расширяет арсенал доступных антибактериальных лекарственных средств для наружного применения, в уменьшении количества необходимых вспомогательных веществ более чем в 3 раза, в новом способе получения антибактериальной композиции, в применении антибактериальной композиции в виде раствора, которой позволяет обработать значительную площадь слизистой оболочки и наружных поверхностей, без излишнего эффекта саливации, более эффективно очищать полость рта за счет дыхательных движений, интенсивность которых регулируются самим больным, свести к минимуму токсическое действие на организм и микробиоту человека за счет отсутствия приема раствора внутрь организма.

Была изучена стабильность заявляемой антибактериальной композиции в тесте ускоренного хранения, при температуре  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  и относительной влажности воздуха  $75 \pm 5\%$  в трех видах упаковки: стрип из пленки буфлен (PAP/PE/ALU/PE), стрип из пленки ПЭТ/Ф/ПЭТ/ПЭ, блистеры белые (PVC/ALU). Показано, что в пленке буфлен

(PAP/PE/ALU/PE) и пленке ПЭТ/Ф/ПЭТ/ПЭ заявляемая фармацевтическая композиция выдерживает данный тест в течение 6 мес. без потери активных компонентов, что соответствует двум годам хранения в обычных условиях (Таблица 2).

Была изучена антибактериальная активность заявляемой антибактериальной композиции *in vitro*. Было установлено, что заявляемая фармацевтическая обладает антимикробной активностью в отношении всех исследованных штаммов *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus aureus*. Вспомогательные вещества в составе композиции не препятствовали высвобождению действующих веществ грамицидина С и цетилпиридиния хлорида и не влияли на их бактерицидное действие. Полученные значения МПК и МБК, в подавляющем большинстве случаев различающиеся не более, чем в 4 раза для разных штаммов (Таблица 3), демонстрируют наличие у антибактериальной композиции высокой бактерицидной активности в отношении типичных возбудителей инфекционно-воспалительной патологии ЛОР-органов и, в частности, патологии ротоглотки, что позволяет эффективно ее применять в клинической практике для местного и наружного применения.

Использованные приборы:

- весы лабораторные электронные AR 2140, Adventurer™ (Швейцария) и AUW-220D (Shimadzu, Япония);
- установка для получения воды очищенной УВО-0,2 (Россия);
- система получения воды Simplicity Water Purification System (Millipore, США);
- климатическая камера CM 5/100-80 ТВО (ООО «СМ Климат», Россия);
- лабораторный идентификатор процесса распадаемости (ЗАО «Фармаген», Россия);
- настольный лабораторный пресс Korsch тип еко (Erweka, Германия);
- блистерная машина TOP BLISTER (Farmalabor Srl, Италия);
- автоматическая блистерная машина DPP-150 Al-plastic automatic blister packing machine, Zhejiang Jiangnan Pharmaceutical Machinery Co. (Китай).
- ручной импульсный аппарат CNT-200 (запайщик пакетов) (CAS Corporation, Корея);
- хроматограф высокого давления LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) с диодно-матричным детектором и колонкой Gemini C6-Phenyl 4,6x250 мм (размер частиц сорбента 5 мкм) (Phenomenex, США) с предколонкой размером 3,0 мм, заполненной тем же сорбентом;

- лиофильная сушилка ЛС-1000; ООО «Проинтех», Россия. Скорость сушки не менее 100 г/ч. Температура конденсатора -50°C, мощность 6 кг льда. Рабочее давление в вакуумной камере сушилки 6,67 Па (5·10<sup>-2</sup> мм рт. ст.);

- холодильник Electrolux ENA38933W, температура морозильного отделения -22°C.

Изобретение иллюстрируется следующими примерами, но не ограничивается ими.

Пример 1. Составы антибактериальной композиции.

*Состав 1.*

грамицидин С – 3 мг;

цетилпиридиния хлорид – 1 мг;

2-гидроксипропил-β-циклодекстрин – 25 мг.

*Состав 2.*

грамицидина С дигидрохлорид – 3,2 мг (в пересчете на грамицидин 3,0 мг);

цетилпиридиния хлорида моногидрат – 1,05 мг (в пересчете на цетилпиридиния хлорид 1,0 мг);

2-гидроксипропил-β-циклодекстрин – 25 мг

*Состав 3.*

грамицидин С – 3 мг;

цетилпиридиния хлорид – 1 мг;

2-гидроксипропил-β-циклодекстрин – 25 мг.

маннитол – 256,75 мг;

кросповидон – 33 мг;

сорбитол – 32 мг;

аспартам (E951) – 8 мг;

ароматизатор «зеленое яблоко» – 8 мг;

ароматизатор «корица» – 5 мг;

полиэтиленгликоль 4000 – 4 мг.

*Состав 4.*

грамицидин С – 3 мг;

цетилпиридиния хлорид – 1 мг;

2-гидроксипропил-β-циклодекстрин – 6 мг.

маннитол – 256,75 мг;

кросповидон – 33 мг;

сорбитол – 32 мг;

аспартам (Е951) – 8 мг;  
ароматизатор «груша» – 6 мг;  
полиэтиленгликоль 4000 – 4 мг.

*Состав 5.*

грамицидин С – 3 мг;  
цетилпиридиния хлорид – 1 мг;  
2-гидроксипропил-β-циклодекстрин – 100 мг.  
маннитол – 256,75 мг;  
кросповидон – 33 мг;  
сорбитол – 32 мг;  
аспартам (Е951) – 8 мг;  
ароматизатор «зеленое яблоко» – 8 мг;  
ароматизатор «корица» – 5 мг;  
полиэтиленгликоль 4000 – 4 мг.

*Состав 6.*

грамицидин С – 3 мг;  
цетилпиридиния хлорид – 1 мг;  
2-гидроксипропил-β-циклодекстрин – 25 мг.  
маннитол – 256,75 мг;  
ароматизатор «зеленое яблоко» – 8 мг;  
ароматизатор «корица» – 5 мг.

*Состав 7.*

грамицидин С – 3 мг;  
цетилпиридиния хлорид – 1 мг;  
2-гидроксипропил-β-циклодекстрин – 25 мг.  
маннитол – 260,0 мг;  
кросповидон – 35,0 мг;  
аспартам – 10 мг  
полиэтиленгликоль 4000 – 5,0 мг.

*Состав 8.*

грамицидин С – 3 мг;  
цетилпиридиния хлорид – 1 мг;  
2-гидроксипропил-β-циклодекстрин – 15 мг.  
маннитол – 252 мг;

кросповидон – 33 мг;  
сорбитол – 30 мг;  
аспартам (Е951) – 6 мг;  
полиэтиленгликоль 4000 – 4 мг.

*Состав 9.*

граммицидин С – 3 мг;  
цетилпиридиния хлорид – 1 мг;  
2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин – 10 мг.  
маннитол – 241,75 мг;  
кросповидон – 33 мг;  
сорбитол – 32 мг;  
аспартам (Е951) – 8 мг;  
ароматизатор «зеленое яблоко» – 8 мг;  
ароматизатор «корица» – 5 мг;  
полиэтиленгликоль 4000 – 4 мг.

Пример 2. Получение заявляемой антибактериальной композиции.

На весах отвешивают 0,213 г цетилпиридиния хлорида и 5,088 г 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина помещают в стакан вместимостью 50 мл, добавляют 7,3 мл воды. Стакан ставят на магнитную мешалку и перемешивают до получения прозрачного раствора. Затем в полученный раствор добавляют 0,639 г грамицидина С и перемешивают до получения прозрачного или слабо опалесцирующего раствора в течение 40-50 мин. Полученный раствор переносят в морозильную камеру и замораживают при  $-22^{\circ}\text{C}$ . Замороженный раствор затем лиофильно высушивают. Полученный комплекс измельчают в фарфоровой ступке и просеивают через сито (0,5 мм). К полученному комплексу последовательно добавляют 53,71 г брикетированного маннитола; 0,8356 г измельченного и просеянного ПЭГ 4000; 6,897 г кросповидона; 6,688 г сорбитола; по 1,6772 г аспартама и ароматизатора «зеленое яблоко» и 1,045 г ароматизатора «корица», перемешивают путем встряхивания 5-20 мин. Порядок действий будет аналогичным для других соотношений компонентов. Потеря массы при просеивании порядка 1%. Полученную композицию прессуют в таблетки для приготовления раствора для местного и наружного применения. Получают фармацевтическую композицию, соответствующую Составу 3 Примера 1. Сравнение с прототипом показано в таблице 1.

Составы 1,2,4-9 готовили аналогичным образом, добавляя компоненты фармацевтической композиции в указанных в Примере 1 пропорциях не изменяя порядок их смешивания. Для приготовления каждой композиции цетилпиридиния хлорид брался в количестве 0,2-0,3 г, грамицидина С – в 3 раза больше по массе. Остальные компоненты после приготовления антибактериального комплекса добавлялись в соответствии с указанными составами в Примере 1.

Растворимость грамицидина С определяли следующим образом. Готовили насыщенный раствор из антибактериальной композиции (Составы 1-9 Примера 1) добавляя избыток грамицидина С и заявляемой композиции, чтобы через 30 мин после перемешивания на магнитной мешалке оставался видимый осадок, фильтровали от осадка через фильтр с размерами пор 0,22 мкм и в полученном растворе количественно методом ВЭЖХ определяли содержание грамицидина С по методике в соответствии с описанием примера 3. Было обнаружено, что для разных составов композиций после их растворения в воде содержание в ней грамицидина С в 8 и более раз выше в сравнении с раствором грамицидина С.

Были получены варианты таблеток с массой 370 мг или другой массой, которые могут ограничиться лишь доступным набором форм для таблеточного пресса. Таблетки распадались менее чем за 3 мин в тесте распадаемости в соответствии с ГФ XIV ОФС.1.4.2.00013.15.

Пример 3. Определение стабильности антибактериальной композиции.

С целью оценки более отдаленных химических эффектов и оценки влияния на стабильность ГЛФ кратковременных отклонений от условий естественного хранения («ускоренное старение») произведена закладка опытных образцов таблеток заявляемой антибактериальной композиции (по 20 таблеток на точку) в трех видах первичной упаковки для хранения при температуре  $40\pm 2^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $75\pm 5\%$ . Образцы анализировали через 22 дня, 45 суток, 3 и 6 месяцев.

Испытание проводили в соответствии со стандартной методикой «Стабильность и сроки годности лекарственных средств в соответствии с ГФ XIV ОФС.1.1.0009.18.

Количественный анализ содержания компонентов выполнен на хроматографе высокого давления фирмы Shimadzu с диодно-матричным детектором и колонкой Gemini C6-Phenyl 4,6×250 мм (размер частиц сорбента 5 мкм) и предколонкой (3 мм) заполненной тем же сорбентом (Phenomenex, США) в градиентном режиме элюирования смесью 0,1 М раствора однозамещенного фосфата натрия с рН3,0 (подвижная фаза А) и метанола

(подвижная фаза Б), скорость подачи элюента 1 мл/мин, дозируемый объём проб 20 мкл, длина волны детектирования 220 нм; температура термостата колонок комнатная.

Таблетки антибактериальной композиции составов 1-9 Примера 1 были упакованы в два вида упаковки: материал комбинированный Буфлен (состав материала: PAF/PE/ALU/PE); материал комбинированный ПЭТ/Ф/ПЭТ/ПЭ.

Результаты изучения стабильности антибактериальной композиции в условиях «ускоренного старения» в трех видах упаковки при температуре  $40\pm 2^\circ\text{C}$  и относительной влажности  $75\pm 5\%$  представлены в Таблице 2 (Состав 3). Полученные результаты свидетельствуют о стабильности ГЛФ в каждой из упаковок. Содержания действующих веществ при ускоренном хранении антибактериальной композиции Составов 1, 2, 4-9 Примера 1 отличались не более чем на 10% от Состава 3.

Пример 4. Определение антибактериальной активности заявляемой антибактериальной композиции.

Для подтверждения антибактериальных свойств заявляемой антибактериальной композиции (Состав 3, Пример 1) в сравнении с грамицидином С и цетилпиридиния хлоридом были использованы штаммы микроорганизмов, являющиеся возбудителями инфекций ЛОР-органов. Одними из основных возбудителей инфекций ЛОР-органов, считаются *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus aureus*. В исследовании использовали штаммы клинических изолятов с охарактеризованной антибактериальной резистентностью различной степени широты:

Эталонный штамм – *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6303;

Клинические изоляты – *Streptococcus pneumoniae* 711/58 серотип 4, *Streptococcus pneumoniae* 7670 серотип 13, *Streptococcus pneumoniae* 7779 серотип 13, *Streptococcus pneumoniae* 1068 серотип 19 А, *Streptococcus pneumoniae* 8074 серотип 6 ABCD;

Эталонный штамм – *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P;

Клинические изоляты – *Staphylococcus aureus* 758 (MRSA), *Staphylococcus aureus* 952 (MSSA), *Staphylococcus aureus* 402 (MRSA), *Staphylococcus aureus* 299 (MRSA), *Staphylococcus aureus* 176 (MRSA).

Определение антимикробной активности тестируемых объектах проводили методом микроразведений в планшетах с определением основного количественного показателя, характеризующего микробиологическую активность антибактериальных препаратов – величины минимальной подавляющей концентрации (МПК).

Приготовленные рабочие растворы тестируемых объектов (итоговая концентрация по действующему веществу от 256 мкг/мл до 1 мкг/мл) вносили в 96-луночные планшеты. В каждую лунку, содержащую необходимое количество раствора исследуемого объекта, добавляли инокулюм штамма микроорганизма в заданной концентрации. В качестве положительного контроля использовали лунки, содержащие питательную среду инокулированную микроорганизмом, в качестве отрицательного контроля использовали лунки с питательной средой.

После добавления всех агентов планшеты закрывали крышками и инкубировали в термостате. Через 19 ч после инкубации результаты учитывали визуально в проходящем свете, при достаточном росте тест-микроорганизма, то есть при явном помутнении или изменении цвета питательной среды. Минимальной подавляющей концентрации исследуемых объектов соответствовала лунка с наименьшей концентрацией исследуемых объектов без признаков видимого роста тест-микроорганизмов (прозрачный бульон или цвет среды не изменился).

После определения МПК были сделаны высевы со всех лунок без признаков видимого роста на чашки Петри с плотной питательной средой для определения МБК. Минимальная бактерицидная концентрация — это минимальная концентрация антибиотика в питательной среде, при которой проявляется его бактерицидное действие по отношению к возбудителю. За МБК принимают концентрацию, обеспечивающую гибель 99,99% клеток микробной популяции.

Результаты определения антибактериальной активности представлены в Таблице 3. По результатам проведенного исследования установлено, что фармацевтическая композиция обладает антимикробной активностью в отношении всех исследованных штаммов *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus aureus*. Наличие вспомогательных веществ в антибактериальной композиции не препятствовали высвобождению действующих веществ Грамицидина С и Цетилпиридиния и не влияли на их бактерицидное действие. Полученные значения МПК и МБК, в подавляющем большинстве случаев различающиеся не более, чем в 4 раза, демонстрируют наличие у антибактериальной композиции высокой бактерицидной активности в отношении типичных возбудителей инфекционно-воспалительной патологии ЛОР-органов и, в частности, патологии ротоглотки, что позволяет эффективно ее применять в клинической практике.

Таблица 1. Состав вспомогательных веществ заявляемой антибактериальной композиции и сравнение с прототипом.

№	Заявляемая фармацевтическая композиция (состав 3)	Масса, мг	Прототип «Граммидин® нео»	Масса, мг
1	Маннитол	256,75	кремния диоксид коллоидный	5
2	Кросповидон	33	тальк	60
3	Сорбитол	32	ацесульфам калия	15
4	2-гидроксипропил-β-циклодекстрин	25	ароматизатор мятный	25
5	аспартам (Е951)	8	сорбитол	1065,75
6	ароматизатор «зеленое яблоко»	8	магния стеарат	25
7	ароматизатор «корица»	5		
8	полиэтиленгликоль 4000	4		

Таблица 2. Данные стабильности антибактериальной композиции (Состав 3 Пример 1) в тесте ускоренного хранения (40°C, 75% влажности). Вид упаковки 1 - стрип из пленки буфлен (PAP/PE/ALU/PE); 2 – стрип из пленки ПЭТ/Ф/ПЭТ/ПЭ.

Вид упаковки	Срок хранения, сут				
	0	22	45	90	180
	Содержание действующих веществ, исходные значения грамицидин С – 3 мг; цетилпиридиния хлорид – 1 мг; допускается разброс значений ±10%				
1	2,94±0,05	3,12±0,07	3,07±0,02	3,10±0,01	2,99±0,06
	1,14±0,02	1,11±0,03	0,96±0,01	1,09±0,03	1,15±0,03
2	2,94±0,05	3,01±0,04	3,09±0,05	3,07±0,09	3,04±0,01
	1,14±0,02	1,04±0,02	0,98±0,02	1,08±0,05	1,15±0,00

Таблица 3. Антибактериальная активность заявляемой антибактериальной композиции в сравнении с грамицидином С и цетилпиридиния хлоридом

№ п/п	Тест микроорганизм	Грамицидин С		Цетилпиридиния хлорид		Фармацевтическая композиция	
		МПК	МБК	МПК	МБК	МПК	МБК
1.	<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303	4	8	8	8	4	4
2.	<i>Streptococcus pneumonia</i> 711/58 серотип 4	16	16	16	32	8	16
3.	<i>Streptococcus pneumonia</i> 1068	4	4	16	16	4	4
4.	<i>Streptococcus pneumonia</i> 7670	4	4	8	16	4	4

5.	<i>Streptococcus pneumonia</i> 7779	4	4	8	16	4	4
6.	<i>Streptococcus pneumonia</i> 8074	4	4	8	16	4	4
7.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P	2	2	2	2	2	2
8.	<i>Staphylococcus aureus</i> 176	4	8	2	8	4	8
9.	<i>Staphylococcus aureus</i> 299	4	8	4	4	4	8
10.	<i>Staphylococcus aureus</i> 402	2	8	2	4	2	4
11.	<i>Staphylococcus aureus</i> 758	2	2	2	4	2	2
12.	<i>Staphylococcus aureus</i> 952	2	8	2	2	2	4

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Антибактериальный комплекс, характеризующийся тем, что состоит из 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина, грамицидина С или его фармацевтически приемлемой соли (в пересчете на грамицидин С), цетилпиридиния хлорида или его моногидрата (в пересчете на цетилпиридиния хлорид) в массовом соотношении 6-100:3:1.
2. Антибактериальный комплекс по п. 1, характеризующийся тем, что массовое соотношение компонентов составляет 25:3:1.
3. Антибактериальная композиция для приготовления раствора для местного или наружного применения, характеризующаяся тем, что она выполнена в форме таблетки, содержащей антибактериальный комплекс по п. 1 в качестве активного начала и маннитол, кросповидон, сорбитол, аспартам, полиэтиленгликоль 4000 в качестве вспомогательных компонентов при следующем содержании компонентов в мг:  
антибактериальный комплекс 10,0-104,0 мг  
маннитол – 230,0-270,0 мг  
кросповидон – 30,0-36,0 мг  
сорбитол – 29,0-35,0 мг  
аспартам– 6,0-10,0 мг;  
полиэтиленгликоль 4000 – 3,0-5,0 мг.
4. Антибактериальная композиция по п. 3, характеризующаяся тем, что она дополнительно содержит в качестве вспомогательных веществ, по крайней мере один ароматизатор.
5. Способ получения антибактериальной композиции для приготовления раствора для местного или наружного применения по п. 3 или 4, характеризующийся тем, что получают антибактериальный комплекс по п. 1 путем растворения цетилпиридиния хлорида или его моногидрата и 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрина в воде, перемешивания до прозрачного раствора, добавления к раствору грамицидина С или его фармацевтически приемлемой соли, перемешивания в течение 40-50 минут до получения прозрачного или слабо опалесцирующего раствора, замораживания раствора, лиофильного высушивания с последующим добавлением к полученному комплексу вспомогательных веществ, перемешиванием и таблетированием.
6. Применение композиции по п. 3 для получения антибактериального средства местного или наружного действия в виде водного раствора.

**ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ**

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

**202392306**А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:  
См. дополнительный лист

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

А61К 38/00, 38/12, 31/00, 31/44, 31/724, 9/00, 9/08, 9/20, 47/00, 47/10, 47/26, 47/30, А61Р 31/00, 31/04

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)  
Espacenet, EAPATIS, Google, Embase

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
Y	RU 2733715 C2 (АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО "ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПАНИЯ ОБНОВЛЕНИЕ" (RU)) 2020-10-06 стр.4 строки 45-47-стр.5 строки 1-12, стр.5 строки 35-48, стр.7 строки 13-48	1-6
Y	RU 2633635 C1 (ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "ВАЛЕНТА-ИНТЕЛЛЕКТ" (RU)) 2017-10-16 стр.4 строки 21-28, стр.5 строки 1-18, пункты 1, 3, 4 формулы изобретения	1-6
Y	US 5120720 A (PITNA JOSEF et al) 1992-06-09 пример 4, пункты 1, 2, 8, 9 формулы изобретения	1-6
Y	DRANNIKOV A. A. Influence of gramicidin S and [beta]-cyclodextrin complexation techniques on the drug release. Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XXI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л. П. Кулёва и Н. М. Кижнера, посвященной 110-летию со дня рождения профессора А. Г. Стромберга, 21–24 сентября 2020 г., г. Томск, Изд-во ТПУ, С. 525-526. стр.525	1-6
Y	CA 1314225 C (AMERICAN MAIZE PROD CO) 1993-03-09 стр.3 строки 11-16, стр.7 строки 21-23, Пример 2, пункты 1, 2, 5 формулы изобретения	1-6
Y	RU 2749902 C2 (ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "ВАЛЕНТА-ИНТЕЛЛЕКТ" (RU)) 2021-06-18 стр.12 строки 23-32, Таблица 5, пункты 20, 40 формулы изобретения	1-6

 последующие документы указаны в продолжении графы

\* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

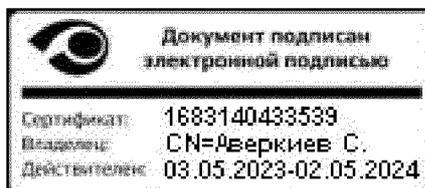
«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

«&amp;» - документ, являющийся патентом-аналогом

«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: 25 января 2024 (25.01.2024)

Уполномоченное лицо:  
Начальник Управления экспертизы

С.Е. Аверкиев

**ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ**  
**(дополнительный лист)**

Номер евразийской заявки:

**202392306**

КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ (продолжение графы А)

МПК:

*A61K 38/12* (2006.01)  
*A61K 31/44* (2006.01)  
*A61K 31/724* (2006.01)  
*A61K 9/08* (2006.01)  
*A61K 9/20* (2006.01)  
*A61K 47/10* (2017.01)  
*A61K 47/26* (2006.01)  
*A61K 47/30* (2006.01)  
*A61P 31/04* (2006.01)

СПК:

**A61K 38/12**  
**A61K 31/44**  
**A61K 31/724**  
**A61K 9/08**  
**A61K 9/20**  
**A61K 47/10**  
**A61K 47/26**  
**A61K 47/30**  
**A61P 31/04**