



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **111857** (13) **C2**  
(51) МПК**A61K 31/14** (2006.01)**A61P 31/04** (2006.01)**A61L 2/16** (2006.01)**A61L 101/32** (2006.01)**A01N 33/12** (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки:	<b>а 2014 04625</b>	<b>(73)</b> Власник(и):	<b>Гуменюк Микола Іванович,</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки:	<b>29.04.2014</b>		вул. Клінічна, 23-25, кв. 173, м. Київ, 03110 (UA)
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід:	<b>24.06.2016</b>	<b>(74)</b> Представник:	<b>Павловський Федір Геннадійович,</b>
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку:	<b>10.11.2015, Бюл.№ 21</b>		<b>реєстр. №319</b>
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>24.06.2016, Бюл.№ 12</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	Илюхин В.И. Проблемы соответствия антибиотикочувствительности in vitro и эффективности химиотерапии инфекций, вызванных патогенными буркхольдериями / В.И. Илюхин, Т.В. Сенина, М.Н. Трушкина, Е.В. Шубникова, Ю.В. Антонов // Антибиотики и химиотерапия. - 2009. - N 7-8. - С. 19-23 Thibault F. M Antibiotic susceptibility of 65 isolates of Burkholderia pseudomallei and Burkholderia mallei to 35 antimicrobial agents / F. M. Thibault, E. Hernandez, D. R. Vidal, M. Girardet, J. D. Cavallo //Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2004. – Vol. 54. – №. 6. – P. 1134-1138 Kenny D. J. In Vitro Susceptibilities of Burkholderia mallei in Comparison to Those of Other PathogenicBurkholderia spp. / D. J. Kenny, P. Russell, D. Rogers, S. M. Eley, R. W. Titball, // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 1999. – Vol. 43. – №. 11. – P. 2773-2775 UA 92941 U, 10.09.2014 Мороз В. М. Чутливість мікрофлори, що колонізує венозні та уретральні катетери, до антибіотиків та антисептиків / В.М. Мороз, В.П. Ковальчук, В.М. Кондратюк, Т.І. Антонець // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2008. – №. 11. – С. 1-4 Проблеми та еволюція епідемічного процесу і паразитарних систем провідних інфекцій сучасності: тези доповідей XV з'їзду мікробіологів, епідеміологів, паразитологів України, Харків, 23-25 листопада 2011 р. // Аннали Мечниковського інституту. - 2011. - № 4. - С. 76-77
<b>(72)</b> Винахідник(и):	<b>Гуменюк Микола Іванович (UA), Деркач Наталія Миколаївна (UA), Горovenko Наталія Григорівна (UA)</b>		

UA 111857 C2

**(54) ЗАСТОСУВАННЯ ДЕКАМЕТОКСИНУ ЯК ПРОТИМІКРОБНОГО ЗАСОБУ ПРОТИ БАКТЕРІЙ РОДУ BULKHOLDERIA**

---

**(57) Реферат:**

Винахід належить до застосування декаметоксину як протимікробного засобу проти бактерій виду *Burkholderia ambifaria*, *Burkholderia anthina*, *Burkholderia cenosepacia*, *Burkholderia dolosa*, *Burkholderia gladioli*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia multivorans*, *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia pyrrocinia*, *Burkholderia stabilis*, *Burkholderia vietnamiensis*.

Винахід стосується нового використання декаметоксину.

*Burkholderia* - рід прямих або злегка зігнутих грам-негативних бактерій, що виділені в самостійний рід з роду *Pseudomonas* на підставі молекулярно-генетичних досліджень. Представлені 20 видами, найбільш відомий своїми патогенними представниками, такими як *Burkholderia mallei*, збудник сапу, хвороби коней та тварин, *Burkholderia pseudomallei*, збудник меліоїдозу, та *Burkholderia cepacia*, збудник легеневих інфекцій у хворих на кістозний фіброз. Рухливі, за винятком *B. mallei*, завдяки наявності декількох полярно розташованих джгутиків. Аероби. Широко поширені у природі в ґрунті, у воді, на рослинах.

Патогенні *Burkholderia* належать до збудників небезпечних інфекцій та є потенційними агентами біотероризму. Збудники сапу і меліоїдозу викликають важкі інфекційні захворювання з аспіраційних, аліментарних і контактним механізмом інфікування. Зараження виникає в результаті контакту з інфікованою водою, їжею, ґрунтом. Поширення збудників можливо за рахунок завезення хворих тварин, акваріумних риб, ґрунту, води, а також харчових продуктів, контамінованих цими збудниками. Інтерес дослідників до вивчення *Burkholderia* зберігається дотепер, що пояснюється низкою причин.

Збудник меліоїдозу, *Burkholderia pseudomallei*, здатний викликати важкі захворювання у людей і тварин, знаходиться у природі, головним чином у Південно-східній Азії, Північній Австралії, деяких районах Африки, Північній і Центральній Америки. Хоча історично меліоїдоз вважається відносно рідкісним захворюванням, за останній період його частота зросла в ряді країн у зв'язку із збільшенням відвідувань туристами ендемічних по даній інфекції регіонів світу і вдосконаленням методів лабораторної діагностики. Також привертає увагу і поширення збудника сапу *Burkholderia mallei*, який здатний викликати гострі та хронічні захворювання у людей, професійно зайнятих доглядом за тваринами.

На даний час значно зросла настороженість щодо можливості застосування *B. pseudomallei* і *B. mallei* як можливих агентів біотероризму. З об'єктів навколишнього середовища в процесі епідеміологічного моніторингу виділяються фенотипічно і генотипічно родинні *B. pseudomallei* і *B. mallei* збудники *B. cepacia*-комплексу та *Burkholderia thailandensis*.

Для усіх відомих видів бактерій *Burkholderia* характерна висока стійкість до антибактеріальних засобів, усіх їх об'єднує висока резистентність до антибактеріальних препаратів, у тому числі і до антибіотиків. Ця природна стійкість забезпечує їм виживаність у зовнішньому середовищі і створює складності при лікуванні захворювань.

В даний час боротьба з інфекціями в усьому світі набуває особливого характеру, так як розширення міжнародних контактів, туризм та міжнародна торгівля створює великі можливості для поширення з ендемічних природних вогнищ рідких видів патогенних видів мікроорганізмів, зокрема збудників сапу і меліоїдозу, що належать до роду *Burkholderia*. Останнім часом значно зріс інтерес до діагностики та лікування даних захворювань в ряді країн Європи та Америки, тому що особливості збудників роду *Burkholderia* дозволяють їм створювати відносно стійкі вторинні вогнища інфекції при попаданні цих збудників в інші кліматичні умови. Крім того, відмічається, що захворювання у людей часто протікає у важкій формі і важко піддається лікуванню. Так, тільки в госпіталі Хан-Кен-Сіті (Таїланд) за 3,5 року перебувало на лікуванні 220 хворих з діагнозом меліоїдоз. При цьому у 127 осіб захворювання протікало з явищами септицемії, летальність в цій групі хворих склала 90 %, незважаючи на проведенне лікування сучасними антибіотиками.

*B.cepacia* і *B.thailandensis* - бактерії, генетично і імунологічно близькі до збудника сапу і меліоїдозу, але при цьому не патогенні для людини і тварин. *B.cepacia* може викликати опортуністичні захворювання у хворих з імунодефіцитними станами, особливо небезпечна при муковісцидозі.

Наявність у природі бактерій, генетично і імунологічно близьких до збудників сапу і меліоїдозу, але при цьому не патогенних для людини і тварин, є давно встановленим фактом. Однак, лише в останнє десятиліття, завдяки підвищеному інтересу до проблеми захворюваності меліоїдозом в світі, виділення і вивчення біохімічних характеристик *Burkholderia* поширилося на величезну кількість культур, виділених за допомогою селективних середовищ з об'єктів зовнішнього середовища ендемічних територій. У ході цих досліджень особливу увагу приділено вивченню *B.pseudomallei*-подібних штамів, основна відмінність яких із збудником меліоїдозу полягає в авірулентності для лабораторних тварин і більш високій біохімічній активності стосовно моносахаридів з групи пентоз. Основні діагностичні ознаки у цих культур і у вірулентних типових штамів *B.pseudomallei* були ідентичні. У 1998 році ці мікроорганізми були виділені в самостійний вид *Burkholderia-B.thailandensis*. В даний час цей термін став загальноновизнаним.

Найбільш ефективними хіміопрепаратами проти патогенних *Burkholderia* є тетрациклін, фторхінолони, комбіновані сульфаніламідні. Так у літературі (Илюхин В.И., Сенина Т.В., Трушкина М.Н., Шубникова Е.В., Антонов Ю.В., Андропова Н.В. Проблемы соответствия антибиотикочувствительности *in vitro* и эффективности химиотерапии инфекций, вызванных патогенными буркгольдериями.- Антибиотики и химиотерапия, 2009. - N 7-8. - С. 19-23.) зазначається, що при лікуванні сапу і меліодозу найкращі результати були отримані при використанні котримоксазолу, далі в порядку убутання ефекту - доксицикліну, ципрофлоксацину і цефтазидиму.

Декаметоксин - це хімічна сполука, хімічна назва 1,10-декаметиле-біс (N, N-диметил-ментоксикарбонілметил)-амонію дихлорид, білий кристалічний порошок зі слабким запахом, легко розчинний у воді, за хімічною структурою і антимікробній дії близький до етонію...

У літературі вказується, що декаметоксин має виражену бактерицидну дію на стафілококи, стрептококи, дифтерійну і синьогнійну палички, капсульні бактерії, віруси, має фунгіцидну дію на дріжджі, дріжджоподібні гриби, збудників епідермофітії, трихофітії, мікроспорії, еритразми, деякі види пліснявих грибів (аспергіли, пеніцили). Його застосовують для лікування гнійничкових бактерійних і грибкових захворювань шкіри (абсцеси, гнійні рани, кандидоз та ін.), мікробної екземи, гнійно-запальних уражень м'яких тканин (абсцеси, карбункули, флегмони, фурункули, рани, що гнояться, панариції, гнійні кон'юнктивіти, гінгівіти, періодонтити, тонзиліти, отити), при носійстві стафілококів і дифтерійних паличок.

Аналіз авторами, зроблений по публікаціях по декаметоксину, показав, що у рівні техніки відсутні дані щодо впливу декаметоксину на бактерії роду *Burkholderia*.

Задачею корисної моделі є нове застосування декаметоксину як протимікробного засобу.

Задача вирішується застосуванням декаметоксину як протимікробного засобу проти бактерій роду *Burkholderia*.

Крім того, задача вирішується застосуванням декаметоксину як протимікробного засобу проти бактерій виду *Burkholderia ambifaria*, *Burkholderia anthina*, *Burkholderia cenocepacia*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia dolosa*, *Burkholderia gladioli*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia multivorans*, *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia pyrracinia*, *Burkholderia stabilis*, *Burkholderia vietnamiensis*.

Для вивчення дії декаметоксину проти бактерій роду *Burkholderia* авторами було проведено дослідження. Дослідження дії декаметоксину проти бактерій роду *Burkholderia* та порівняльні дослідження дії такого еталонного протимікробного засобу як хлоргексидину біглюконату, проводили за загальноприйнятими методами серійних розведень у твердому живильному середовищі та методом дифузії в агар (метод "колодязів"). При застосуванні методу серійних розведень у твердому живильному середовищі розчин декаметоксину та розчин хлоргексидину біглюконату змішували з відповідним для даного тест-штаму агаром у співвідношенні 1:9. Для цього у флакони розливають по 13,5 мл розплавленого і охолодженого до 45°-48 °С агару, додають по 1,5 мл досліджуваного розчину (із певною його концентрацією), перемішують і вливають у чашку Петрі. У чашку з контролем замість досліджуваної сполуки додають 1,5 мл бульйону. Поверхню агару ділять на кілька секторів, кожний з яких засівають бляшкою одним із тест-штамів мікроорганізмів. Результати враховують через 18-24 год. інкубації в термостаті при 37 °С. За МІК досліджуваного препарату вважають ту його концентрацію, яка затримує ріст мікроорганізмів на поверхні агару (поодинокі колонії). За МБК препарату вважають те його розведення, де на поверхні живильного середовища відсутні колонії мікробів.

Метод дифузії в агар (метод "колодязів") оснований на здатності лікарських речовин проникати у товщу агару. Чашки Петрі, встановлені на суворо горизонтальну поверхню, заливають двома шарами твердого живильного середовища. Нижній шар - 10 мл розтопленого "голодного" агару АГВ, верхній шар - живильне середовище для відповідного тест-штаму. Після охолодження нижнього шару агару на ньому встановлюють на рівній відстані один від одного не більше шести тонкостінних циліндрів (внутрішній діаметр - 6,0±0,1 мм, висота -10,0±0,1 мм). Навколо циліндрів заливають верхній шар - 13,5 мл розтопленого та охолодженого до 45 °С-48 °С агару, змішаного з посівною дозою тест-мікроорганізму (1,5 мл мікробної зависі, тієї концентрації, що відповідає виду мікроорганізму). Після охолодження верхнього шару агару циліндри виймають стерильним пінцетом і в отримані лунки вміщують 0,25-0,3 мл досліджуваного препарату та зразків контролю. Облік результатів проводять через 24 год. Шляхом вимірювання зони пригнічення росту, включаючи діаметр лунок. Вимірювання проводять з точністю до 1 мм, при цьому орієнтуються на повну відсутність видимого росту.

Бактерицидну (МБЦК) дію препарату відносно до музейних штамів та клінічних ізолятів бактерій визначали за допомогою кривої "час знищення". При цьому культури бактерій вирощують в присутності протимікробного препарату і визначають життєздатність

мікроорганізмів через різні проміжки часу шляхом висіву їх на тверде поживне середовище. Будують криву загибелі бактерій у часі. Для встановлення бактерицидної активності ми застосували мікрометод з використанням стерильних полістиролових планшет на 96 лунок. Із добових тест-культур бактерій робили суспензію за стандартом мутності ( $10^4$  КОУ/мл) в рідкому поживному середовищі - м'ясопептонному бульйоні (МПБ). В кожну лунку вносили суспензію тест-мікроба та досліджуваній препарат у співвідношенні 1:1, культивували суміш в термостаті при 37 °С. Через певні проміжки часу (1 годину, 3 години та 24 години) із кожної лунки робили висів на тверде поживне середовище (цукровий агар). Облік результатів проводили через добу культивування і визначали вплив досліджуваного препарату за наявністю або відсутністю росту тест-штамів на твердому поживному середовищі.

Результати досліджень формалізували по активності відносно бактерій роду *Burkholderia* на чотири види активності: відсутність активності; низька активність; добра активність; висока активність.

Всі досліди супроводжували відповідними контролюми: контролем середовища на стерильність; контролем росту культури в середовищі без препарату. Досліди проводились двічі з кожною концентрацією препарату і досліджуваною культурою мікроорганізмів з метою отримання достовірних результатів.

В таблиці наведені дані результатів досліджень по активності різних концентрацій декаметоксину та хлоргексидину біглюконату на різні види бактерій роду *Burkholderia*.

Позначення, які використані у таблиці, означають наступне:

- «-» відсутність активності;
- «+» низька активність;
- «++» добра активність;
- «+++» висока активність

Для вивчення впливу декаметоксину щодо інфекцій, викликаних бактеріями роду *Burkholderia*, було проведено терапію групи 40 хворих з встановленою негоспітальною пневмонією (НП), віком від 18 до 70 років (середній вік 45 років), із них 26 (75 %) чоловіків та 14 (35 %) жінок. Збудником НП в цій групі хворих є *Burkholderia cepacia*.

Найбільш характерними клінічними проявами у хворих на момент госпіталізації були: лихоманка 24 хворих (60 %), продуктивний кашель 9 хворих (22 %) та малопродуктивний 31 (78 %), причому "сильний" характер кашлю визначався у 22 хворих (55 %). Біль в грудній клітці спостерігався 22 (56 %) хворих, із них виражений у 10 (45 %) та помірний у 12 (55 %); задишка була у 25 (63 %) пацієнтів, виражена у 10 (40 %) та помірна 15 (60 %). Синдром інтоксикації та асептизація частіше проявлялись такими симптомами, як слабкість, пітливість та головний біль.

Вид мікроорганізму	Концентрації декаметоксину				Концентрації хлоргексидина біглюконату			
	0,02 %	0,05 %	0,1 %	0,2 %	0,02 %	0,05 %	0,1 %	0,2 %
<i>Burkholderia cepacia</i>	+	++	+++	+++	-	-	+	+
<i>Burkholderia mallei</i>	+	++	+++	+++	-	-	+	+
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	+	++	+++	+++	-	-	+	+
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	+	++	+++	+++	+	+	+	+
<i>Burkholderia multivorans</i>	+	++	+++	+++	+	+	++	++
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	+	++	+++	+++	-	+	+	+
<i>Burkholderia dolosa</i>	+	++	+++	+++	+	+	++	++
<i>Burkholderia stabilis</i>	+	++	+++	+++	+	+	+	+
<i>Burkholderia ambifaria</i>	+	++	+++	+++	-	-	+	+
<i>Burkholderia anthina</i>	+	++	+++	+++	-	-	+	+
<i>Burkholderia purrocinia</i>	+	++	+++	+++	-	-	+	+
<i>Burkholderia gladioli</i>	+	++	+++	+++	+	+	+	++

Діагноз пневмонія у всіх пацієнтів підтверджувався даними рентгенологічного обстеження у 2-х проекціях (пряма та бокова). При дослідженні загальноклінічного аналізу крові лейкоцитоз виявлений у 21 (52,5 %) хворого, при цьому в 18 (45 %) випадків мав місце паличкоядерний зсув лейкоцитарної формули вліво. Прискорення ШОЕ перед початком лікування відмічено у 30 (75 %) хворих на пневмонію.

Лікування проводили з використанням розчину декаметоксину концентрацією 0,02 %. Введення препарату проводили методом ультразвукових інгаляцій по 5-20 мл 1-2 рази на день.

В більшості хворих відмічалась позитивна динаміка: зменшення задишки та болю в грудній клітці, вираженість інтоксикаційного синдрому. На 3-5 добу відмічена значна позитивна динаміка при оцінці характеру мокротиння. У більшості пацієнтів (75 %) нормалізувалась температура тіла, зменшились ознаки дихальної недостатності. Задишка зберігалась у 30 %

хворих, які характеризували її як "незначну". Не дивлячись на те, що у 75 % пацієнтів зберігався кашель, він змінив свій характер із "сильного" на помірний" чи "слабкий".

При об'єктивному обстеженні хворих НП, також відмічена позитивна аускультативна динаміка, вологі дрібнопухирцеві хрипи вислуховувались у 43 % випадків. На 7-10 добу ознаки захворювання зберігались у невеликої кількості пацієнтів. Скарги на помірний кашель пред'являли 14 % хворих.

Таким чином, позитивний ефект після проведення терапії декамтоксином відмічалась у 41 % хворих. Середній термін терапії становив 7 діб.

У всіх пацієнтів переносимість терапії препаратом була хороша. У хворих не виникало негативних побічних реакцій, які б змусили відмінити препарат.

Аналогічні дослідження були проведені з іншими групами хворих при застосуванні розчинів декамтоксину концентрацією 0,05 %, 0,1 % та 0,2 %. Результати терапії були практично позитивні. У більшості пацієнтів переносимість цих концентрацій була добра, небажаних побічних ефектів не виявлено. Середній строк терапії складав 5 діб.

Таким чином, можна зробити висновки:

1. декамтоксин проявляє гарну антимікробну активність проти бактерій роду *Burkholderia*,
2. зі збільшенням концентрації декамтоксину антимікробна активність підвищується.
3. декамтоксин проявляє бактерицидну активність на всі види бактерій роду *Burkholderia*.

Наведені приклади здійснення корисної моделі лише пояснюють винахід, але не обмежують його.

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Застосування декамтоксину як протимікробного засобу проти бактерій виду *Burkholderia ambifaria*, *Burkholderia anthina*, *Burkholderia cenocepacia*, *Burkholderia dolosa*, *Burkholderia gladioli*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia multivorans*, *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia pyrrocinia*, *Burkholderia stabilis*, *Burkholderia vietnamiensis*.

---

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601