

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046210**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.02.16

(21) Номер заявки
202291193

(22) Дата подачи заявки
2020.11.19

(51) Int. Cl. *A61K 31/115* (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)

(54) **СРЕДСТВО ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КОРОНАВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ВИРУСА ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА**

(31) **2020112322**

(32) **2020.03.26**

(33) **RU**

(43) **2022.07.14**

(86) **PCT/RU2020/050334**

(87) **WO 2021/194375 2021.09.30**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЛАСКАВЫЙ ВЛАДИСЛАВ
НИКОЛАЕВИЧ (RU)**

(72) Изобретатель:
**Ласкавый Владислав Николаевич,
Шурдов Михаил Аркадьевич (RU)**

(74) Представитель:
Романова Н.В. (RU)

(56) **RU-C1-2077882**

RABENAU H. F. Stability and inactivation of SARS coronavirus, *Med Microbiol Immunol.* 2005; 194(1): 1-6, especially, p. 4, table 2, [on-line], [retrieved on 2021-03-09]. Retrieved from <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00430-004-0219-0.pdf>>

KAMPF G. et al. Persistence of corona viruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents *J Hosp Infect.* 2020 Mar; 104(3): 246-251, Published online 2020 Feb 6

HONGSHUO SONG et al., Thermal stability and inactivation of hepatitis C virus grown in cell culture, *Virology Journal*, 2010, 7:40, p. 4, [on-line], [retrieved on 2021-03-09], Retrieved from <<https://virologyj.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1743-422X-7-40.pdf>>

LASKAVYI V.N. Profilaktika virusnogo (transmissivnogo) gastroenterite svinei v promyshlennykh kompleksakh: avtoreferat dip. doktora veterinarnykh nauk: 16.00.03. Saratovskaja n.-i. vet. stantsiia RASKHN. - Moscow, 1998, p. 22, <<https://www.dissercat.com/content/profilaktika-virusnogo-transmissivnogo-gastroenterita-svinei-v-promyshlennykh-kompleksakh/read>>

(57) Изобретение относится к медицине и ветеринарии, а более конкретно - к фармакологии и может использоваться для лечения вирусных инфекций, вызванных РНК-содержащими вирусами, имеющими липидную оболочку, в частности, коронавирусных инфекций и вируса иммунодефицита человека. Изобретение расширяет арсенал средств заявленного назначения. Техническим результатом является создание средства, обладающего внутриклеточным антисептическим действием, активизирующим выработку эндогенного муравьиного альдегида в организме человека и животных при отсутствии побочных эффектов и токсического действия. Технический результат достигается применением иммуномодулирующего средства для внутримышечных инъекций с однократной дозировкой 5 мл на инъекцию, содержащего муравьиный альдегид в количестве 0,073-0,075 мас.% в изотоническом растворе хлорида натрия в качестве средства для активизации антисептического действия муравьиного альдегида внутри клетки при лечении коронавирусных инфекций и вируса иммунодефицита человека.

B1**046210****046210 B1**

Изобретение относится к медицине и ветеринарии, а более конкретно - к фармакологии и может использоваться для лечения вирусных инфекций, вызванных РНК-содержащими вирусами, имеющими липидную оболочку, в частности, коронавирусных инфекций и вируса иммунодефицита человека. Изобретение расширяет арсенал средств заявленного назначения.

Известна композиция из высокоочищенного экстракта дрожжевой РНК, имеющей по массе не менее 75% фрагментов 25 ± 10 нуклеотидов, с чистотой предпочтительно, по меньшей мере, 99%, в сочетании с маннитом в пропорции по весу от 2:1 до 3:1 (см. патент РФ № 25971-50 по кл. МПК А61К31/7105, опуб. 10.09.2016), при этом экстракт дрожжевой РНК составляет не менее 50% от веса композиции. Композиция предназначена для лечения вирусных заболеваний, вызываемых вирусами семейств Orthomyxoviridae, Paramyxovirus, Hepatitis, семейства Herpesviridae, энтеровирусами и аденовирусами. Кроме того, модифицированная дрожжевая РНК способна ингибировать размножение вирусов гриппа, вируса гепатита С, генитального герпеса, вируса иммунодефицита человека, вируса Коксаки В.

Однако данный препарат не может полностью излечить от всех указанных вирусов, а может только снизить вирусную нагрузку. К тому же такое серьезное вмешательство в РНК не может не влиять на гомеостаз организма.

Известна композиция для лечения тяжелых форм вирусных инфекций в виде таблеток (см. 2559179 по кл. МПК А61К9/10, опуб. 10.08.2015), содержащая рекомбинантный интерферон, выбранный из группы: рекомбинантный интерферон-альфа, рекомбинантный интерферон-бета, рекомбинантный интерферон-гамма; антиоксиданты, выбранные из группы: мексидол, эмоксипин, дибунол, альфа-липовая кислота, карнитина хлорид; аминокислоты, выбранные из группы: ацетилцистеин, цистеин, лизин, аргинин; регенеранты анаболического действия, выбранные из группы: калия оротат, рибоксин, метилурацил, а также формирующую основу.

Однако, при использовании такого сложносоставного препарата имеются ограничения. Препарат следует с осторожностью применять при заболеваниях печени, тяжелых депрессивных заболеваниях и/или при суицидальных мыслях в анамнезе, при эпилепсии и беременности.

Необходимо соблюдать осторожность при лечении препаратом пациентов, получающих противосудорожные средства, пациентов с сердечной недостаточностью III-IV стадии по классификации NYHA и у больных с кардиомиопатией, с нарушениями функции костного мозга, анемией или тромбоцитопенией.

Известно антисептическое средство против гриппа (см. патент РФ № 2355391 по кл. МПК А61К31/045, опуб. 20.05.2009), содержащее катионное поверхностно-активное вещество, низкомолекулярный гликоль или глицерин, соль аммония и конституенс, карбамид, а в качестве соли аммония дополнительно - азотнокислый аммоний, при определенном соотношении компонентов. В качестве катионного поверхностно-активного вещества используют дидецилдиметиламмоний бромид, или дидецилдиметиламмоний хлорид. В качестве низкомолекулярного гликоля используют триэтиленгликоль, или 1,2-пропиленгликоль, или полипропиленгликоль. В качестве конституенса содержит воду, или 8-20%-ный водный раствор этилового или изопропилового спирта. Изобретение обеспечивает повышение биоцидной активности целевого продукта при длительном хранении, расширение спектра действия, снижение раздражающих свойств и токсичности.

Однако, это средство может использоваться только для уничтожения вирусов, находящихся вне организма. И это средство не предполагается для лечения вирусных заболеваний.

Известно также средство для профилактики и лечения вирусных инфекций, вызываемых РНК-содержащими вирусами, предпочтительно вирусами гриппа А или риновирусами (см. патент РФ № 2524304 по кл. МПК А61М15/00, опуб. 27.07.2014). Средство содержит в качестве активной части соль о-ацетилсалициловой кислоты, а в качестве целевой добавки - аминокислоту, выбранную из группы, включающей лизин, аргинин, орнитин, диаминомасляную кислоту. Средство предназначено для аэрозольного введения путём ингаляций через нос или рот.

Основным недостатком данного средства является то, что применение ацетилсалициловой кислоты может вызывать сильное раздражение дыхательных путей. И даже снижение такой возможности при помощи комплекса соли о-ацетилсалициловой кислоты с аминокислотой, полностью не исключают возможности аллергических реакций.

Большой риск при применения данной композиции существует у людей, в анамнезе которых есть указания на крапивницу, ринит, вызванные приемом ацетилсалициловой кислоты и других НПВС, гемофилия, геморрагический диатез, гипопротромбинемия, расслаивающая аневризма аорты, портальная гипертензия, дефицит витамина К, печеночная и/или почечная недостаточность, дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, синдром Рейе, детский возраст (до 15 лет - риск развития синдрома Рейе у детей с гипертермией на фоне вирусных заболеваний), повышенная чувствительность к ацетилсалициловой кислоте и другим салицилатам.

Ацетилсалициловая кислота даже в небольших дозах уменьшает выведение мочевой кислоты из организма, что может стать причиной остро приступа подагры у предрасположенных пациентов.

Следует отметить, что ацетилсалициловая кислота часто вступает в лекарственное взаимодействие с другими препаратами, например с блокаторами кальциевых каналов, средствами, ограничивающими поступление кальция или увеличивающими выведение кальция из организма или при одновременном

применении снижается эффективность диуретиков (спиронолактона, фуросемида) и т.д.

Наиболее близким к заявляемому является иммуномодулирующее средство, содержащее активное начало и целевые добавки (см. патент РФ № 2077882 по кл. МПК А61К 31/115, опуб. 27.04.1997). В качестве активного начала оно содержит формальдегид, а в качестве целевых добавок NaCl и дистиллированную воду, при этом оно представляет собой инъекционный раствор, содержащий, мас. %: формальдегид 0,07-0,24, NaCl 0,9-0,95, дистиллированная вода - остальное до 100%.

Приведенные аналоги показывают, что создание противовирусных средств является далеко не решенной задачей. Поэтому поиск новых средств защиты от вирусных инфекций весьма актуален.

Технической проблемой заявляемого изобретения является создание эффективного инъекционного средства для лечения коронавирусных инфекций и вируса иммунодефицита человека.

Техническим результатом является создание средства, обладающего внутриклеточным антисептическим действием, активизирующим выработку эндогенного муравьиного альдегида в организме человека и животных при отсутствии побочных эффектов и токсического действия.

Технический результат достигается применением иммуномодулирующего средства для внутримышечных инъекций с однократной дозировкой 5 мл на инъекцию, содержащего муравьиный альдегид в количестве 0,073-0,075 мас. % в изотоническом растворе хлорида натрия в качестве средства для активизации антисептического действия муравьиного альдегида внутри клетки при лечении коронавирусных инфекций и вируса иммунодефицита человека.

В зависимости от тяжести заболевания средство вводят по различным схемам: либо 1 раз в день в течение 7 дней, либо дважды, при этом второй раз или на 7 сутки после первого введения или через месяц после первого введения. Средство можно вводить на 2-й, 3-й и 10-й день после первого введения. В особо сложных случаях средство вводят 3 раза с интервалом между каждым введением 12 часов, затем через одни или двое суток вводят ещё 5 раз с интервалом между каждым введением 12 часов, затем через сутки после последнего введения средство вводят однократно, затем через трое суток осуществляют повторное однократное введение, после чего через пять суток после последнего введения проводят завершающее однократное введение средства.

В известных авторам источниках патентной и научно-технической информации не описано средства для лечения коронавирусных инфекций и вируса иммунодефицита человека на основе активизации выработки внутриклеточного эндогенного муравьиного альдегида. При этом, его новая функция и предлагаемое назначение не вытекают с очевидностью из его ранее известных свойств. Способы введения средства нигде ранее не описывались.

В настоящее время не существует универсального антисептического препарата, который мог бы уничтожать возбудителей инфекционных заболеваний (вирусов) внутри клеток организма человека и животных без негативного влияния на гомеостаз. Существующие антисептические средства применяются, как правило, для инактивации патогенов во внешней среде.

Большой интерес вызывает муравьиный альдегид (формальдегид) - одно из простейших соединений в природе. Это вещество относится к асептическим средствам химической природы (органическим соединениям) для уничтожения возбудителей инфекционных заболеваний во внешней среде, как химический консервант для клеток и ткани в гистологии и патологической анатомии.

В настоящее время установлено, что в живых организмах имеется эндогенный формальдегид, который является естественным метаболитом и участвует во многих биохимических реакциях организма. Концентрация эндогенного формальдегида может достигать 0,2-0,5 мМ, и его содержание в крови 0,05-0,1 мМ (M. Casanova, H. D. Heck, J. I. Everitt, W. W. Harrington, J. A. Popp. Formaldehyde concentrations in the blood of Rhesus monkeys after inhalation exposure//Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc. 1988, 26,715; X. Song, X. Han, F. Yu, J. Zhang, L. Chen, C Lv, A reversible fluorescent probe based on C[double bond, length as m-dash]N isomerization for the selective detection of formaldehyde in living cells and in vivo//The Analyst 2018,143, 429; Human Endogenous Formaldehyde as an Anticancer Metabolite: Its Oxidation Downregulation May Be a Means of Improving Therapy Yuri L. Dorokhov Ekaterina V. Sheshukova Tatiana E. Bialik Tatiana V. Komarova//BioEssays 2018, 1800136). Известно, что формальдегид легко проникает во все клетки и легко удаляется при превышении концентрации его физиологической нормы. Физиологический уровень формальдегида в организме постоянно поддерживается за счет непрерывного действия клеточных ферментов, окисляющих формальдегид в трех отдельных путях с участием P450 монооксигеназ, митохондриальной АлДГ2 и с участием гена, кодирующего ADH5, или формальдегиддегидрогеназы (Dorokhov Y. L. Metabolic methanol: molecular pathways and physiological role//Physiol. Rev. 2015. 95(2), 603-644; Yuri L. Dorokhov Ekaterina V. Sheshukova Tatiana E. Bialik Tatiana V. Komarova Human Endogenous Formaldehyde as an Anticancer Metabolite: Its Oxidation Downregulation May Be a Means of Improving Therapy//BioEssays 2018, 1800136). Формальдегид образуется в печени при действии микросомальной диметилазы, при биотрансформации дигалоидпроизводных метана и метилметакрилата (Малютина Н.Н., Тараненко Л.А. Патофизиологические и клинические аспекты воздействия метанола и формальдегида на организм человека//Современные проблемы науки и образования. - 2014. - № 2.; URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=12826> (дата обращения: 17.03.2020)). Формальдегид используется организмом для синтеза тимидиновых, пуриновых и других кислот, образуется при разрушении серина и в

меньшей степени других аминокислот. При попадании в кровь через ряд ферментативных превращений в печени окисляется до муравьиной кислоты, одновременно в печени образуется метиловый спирт. Далее муравьиная кислота метаболизируется под действием формилдегидрогеназы до CO₂ или вовлекается в систему тетрагидрофолиевой кислоты в обмен одноуглеродных остатков. Формальдегид легко взаимодействует с белками, аминами, амидами, нуклеопротеидами, нуклеиновыми кислотами (Малютина Н.Н., Тараненко Л.А. Патофизиологические и клинические аспекты воздействия метанола и формальдегида на организм человека//Современные проблемы науки и образования. - 2014. - № 2.; URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=12826> (дата обращения: 17.03.2020)).

Он обнаруживается во всех внутренних жидкостях человека и животных в небольших количествах и только в моче его на 20% больше, чем, например, в крови, что указывает на основной способ его выведения из организма.

Исследования показали, что низкие концентрации формальдегида (например, 10 ммоль/л) способствуют пролиферации клеток HeLa. Однако, когда концентрация формальдегида достигает 62,5 ммоль/л, он ингибирует рост клеток.

Определенная концентрация формальдегида в организме важна для жизнедеятельности клеток, так как эндогенный формальдегид является важным метаболитом, однако, в случае сильного повышения концентрации, он может действовать и как генотоксин (Richard J. Hopkinson, Christopher J. Schofield. Deciphering Functions of Intracellular Formaldehyde: Linking Cancer and Aldehyde Metabolism // Biochemistry 2018, 57, 6, 904-906).

На примере вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней, который относится к коронавирусам, установлено, что формалин инактивирует вирус в концентрации 0,01% (Stepanek J., Mensik J., Pospisil Z., Rozkony V. Vliv formalinu a betapropiolaktonuna infekcnost a antigenicitu puvodce virovegastroenterit du prasat (VGR)//Veter. Med. (CSSR). - 1973. - V. 18. -#5. - P. 269-280). Под действием формалина при 37°C этот вирус теряет свою патогенность уже через 150 минут (Bohl E.H. Transmissible gastroenteritis virus (classical enteric variant)//Virus Infec. Procines. Amsterdam ect. - 1989. - P. 139-153). Другие коронавирусы (вирусы гепатита мышей, инфекционного бронхита кур, инфекционного перитонита кошек, вирусы гастроэнтерита и респираторных инфекций у крупного рогатого скота, гастроэнтерита человека и др.) также чувствительны к формальдегиду.

Разработанное средство представляет собой раствор муравьиного альдегида в изотоническом растворе хлорида натрия, полученный с использованием методов приготовления препаратов, активная составляющая которых растворена в носителе в сверхмалой дозе и используемая концентрация не вызывает токсического эффекта у нормальных клеток.

Препарат оказывает комплексное воздействие на организм и способствует поддержанию гомеостаза. Он относится к новому классу препаратов, способствующих активации антигенспецифического иммунного ответа, при развитии которого достигается полная элиминация инфекционного агента из организма.

По нашему мнению, парентеральное введение экзогенного муравьиного альдегида (формальдегида) приводит к увеличению его концентрации в лимфе и крови человека. Это, в свою очередь, нарушает отток формальдегида из клеток организма в межклеточное пространство, что приводит к повышению его количества внутри клеток в соответствии с одним из правил Ле Шателье-Брауна, которое гласит, что при повышении концентрации одного из продуктов реакции равновесие сдвигается в направлении образования исходных веществ (влево). Благодаря этому происходит инактивация вирусов внутри клеток.

Водный раствор муравьиного альдегида - прозрачная бесцветная жидкость со своеобразным острым запахом, смешивающаяся с водой и спиртом во всех соотношениях.

Муравьиный альдегид - представитель класса альдегидов HCOH. Представляет собой бесцветный газ с резким запахом, мол. массой 30,03, плотность его при 20°C равна 0,815, температура плавления 92°C, температура кипения 19,2°C. Хорошо растворим в воде, спирте.

Изотонический раствор натрия хлорида для инъекций - бесцветная прозрачная жидкость солоноватого вкуса с концентрацией натрия хлорида 0,85-0,95%. Раствор стерилен, апирогенен.

Хлорид натрия - кубические кристаллы или белый кристаллический порошок соленого вкуса, без запаха. Растворим в воде (1:3).

Заявляемое средство представляет собой прозрачную бесцветную жидкость без запаха, слегка солоноватого вкуса.

Средство готовят следующим образом.

Берут 2 весовых части 36,5-37,5%-ного медицинского раствора муравьиного альдегида, добавляют его в 998 весовых частей стерильного 0,85-0,95%-ного раствора хлорида натрия для инъекций до получения концентрации муравьиного альдегида в средстве 0,073-0,075%. Средство хранят в темном месте при температуре 15-35°C.

Пример 1. Берут 0,2 мл 37%-ного медицинского раствора муравьиного альдегида, добавляют его в 99,8 мл стерильного 0,9%-ного (или 0,95%-ного) изотонического раствора хлорида натрия. Смесь растворов тщательно перемешивают. Конечная концентрация муравьиного альдегида в полученном средстве

ве будет составлять 0,074 мас. %.

Пример 2. Берут 0,2 мл 36,5%-ного медицинского раствора муравьиного альдегида, добавляют его в 99,8 мл стерильного 0,9%-ного (или 0,95%-ного) изотонического раствора хлорида натрия. Смесь растворов тщательно перемешивают. Конечная концентрация муравьиного альдегида в полученном средстве будет равна 0,073 мас. %.

Пример 3.

Способность экзогенного формальдегида активизировать выработку эндогенного формальдегида была исследована при помощи инкубации клеток с меченым ^{14}C формальдегидом. Использовали меченый формальдегид с удельной активностью 1,7 ТБк/М и объемной активностью 10,1 ГБк/л (5,9 мМ раствор) и радиохимической чистотой 98%. Для получения растворов с необходимой концентрацией использовали свежий 37% формальдегид фирмы Sigma, США.

В качестве отрицательного контрольного образца были использованы образцы клеток, которые не инкубировали с радиоактивно-меченым формальдегидом.

Радиоактивность образцов измеряли на β -счетчике Tri-Carb 2800 TR (PerkinElmer, США) в сцинтилляторе "ULTIMA GOLD LLT" (Perkin Elmer, США). Аликвоту образца (0,1 мл) тщательно смешивали со сцинтиллятором (0,9 мл), и радиоактивность измеряли в течение не более чем 2-х часов после приготовления смеси.

Клетки культивировали на поверхности полистирольных 48 луночных планшетов.

В качестве клеточных культур были использованы первичные фибробласты десны человека и клетки аденокарциномы шейки матки HeLa. Клетки культивировали в культуральной среде IMDM с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки и антибиотика (пенициллин и стрептомицин) в атмосфере 6% CO_2 , 37°C.

При проведении эксперимента клетки рассаживали в 48-луночные полистирольные планшеты с диаметром лунки 1 см, в количестве 12 тысяч клеток на лунку, в трех повторах для каждого типа образца (в 0,5 мл культуральной среды). После 24 часов инкубации после посева клеток убирали культуральную среду, клетки споласкивали 0,5 мл физиологического раствора и вносили в контрольные и экспериментальные лунки физиологический раствор без или с формальдегидом и инкубировали с клетками в течение 30 мин, 1 и 2 часов (конечная концентрация 0,11%, 0,074%, 0,014%, 0,0028% и 0,00056% (пятикратные разведения), 10.000 имп/мин в лунку). Для исследования действия формальдегида в культуральной среде, в контрольные и экспериментальные лунки с 450 мкл культуральной среды вносили 50 мкл (1/10 объема) раствора формальдегида в физиологическом растворе (концентрации формалина в 10 раз больше, чем упомянуто ранее, в результате получали растворы формальдегида в той же концентрации, как и в случае инкубации клеток в физиологическом растворе). После инкубации из супернатантов отбирали две аликвоты по 100 мкл среды (дубли) для определения общей внесенной радиоактивности, затем удаляли растворы формальдегида, клетки двукратно отмывали фосфатным буфером и обрабатывали 0,25% раствором трипсина (Sigma, США) для того, чтобы диссоциировать клетки с поверхности культурального пластика. Суспензию клеток осаждали центрифугированием при 800g в течение 10 мин, отбирали аликвоты из трипсинового супернатанта. Осадок клеток ресуспендировали в 220 мкл физиологического раствора и отбирали 2 аликвоты по 100 мкл для определения радиоактивности образцов.

После получения данных о радиоактивности образцов определяли процентное содержание формальдегида во фракции исходя из удельной радиоактивности и исходного объема образца. Концентрации формальдегида во фракции определяли исходя из удельной молярной радиоактивности растворов формальдегида.

Таблица 1

Накопление формальдегида в клетках
Инкубация в физиологическом растворе

Концентрация добавленного формальдегида, %	Первичные фибробласты десны человека, % от добавленного*			Клетки аденокарциномы шейки матки HeLa, % от добавленного*		
	Супернатант*	Трипсиновый элюат	Клетки	Супернатант**	Трипсиновый элюат	Клетки
	*	элюат				
0,11	100	3.71±0,45	1.73±0,23	100	2.41±0,11	1.85±0,25
0,074	100	5.16±0,85	2.12±0,33	100	3.32±0,27	2.75±0,18
0,014	100	3.41±0,44	3.11±0,27	100	3,44±0,19	2.65±0,11
0,0028	100	1.73±0,23	1.26±0,11	100	2.14±0,08	1,34±0,05
0,00056	100	0.45±0,03	0.53±0,04	100	0,57±0,04	0,62±0,04

* в таблице приведены средние значения \pm ошибка среднего. ** радиоактивность супернатанта принята за 100%.

Как видно из табл. 1, инкубирование клеток с формальдегидом, растворенном в физиологическом растворе, в концентрации 0,074% активизирует выработку эндогенного формальдегида на первичных

фибробластах десны человека на 18,4%, а в аденокарциноме шейки матки на 32% по сравнению с инкубацией клеток в растворе формальдегида в концентрации 0,11%.

Следует отметить, что аналогичные результаты получены при инкубации клеток с формальдегидом, разведенном в культуральной среде. Так, инкубирование клеток с раствором формальдегида в концентрации 0,074% активизирует выработку эндогенного формальдегида на первичных фибробластах десны человека на 20,6%, а в аденокарциноме шейки матки на 30,2% по сравнению с инкубацией клеток в растворе формальдегида в концентрации 0,11% (табл. 2).

Таблица 2

Накопление формальдегида в клетках
Инкубация в культуральной среде

Концентрация добавленного формальдегида, %	Первичные фибробласты десны человека, % от добавленного*			Клетки аденокарциномы шейки матки HeLa, % от добавленного*		
	Супернатант*	Трипсиновый элюат	Клетки	Супернатант**	Трипсиновый элюат	Клетки
0,11	100	1.77±0,16	1.35±0,09	100	1.83±0,12	1.92±0,16
0,074	100	2.33±0,34	1.7±0,11	100	2.54±0,14	2.75±0,18
0,014	100	1.36±0,15	1.25±0,13	100	1,92±0,11	1.52±0,09
0,0028	100	0.56±0,16	0.55±0,07	100	0.45±0,06	0,64±0,13
0,00056	100	0.23±0,03	0.25±0,02	100	0,20±0,02	0,28±0,03

* в таблице приведены средние значения ± ошибка среднего. ** радиоактивность супернатанта принята за 100%.

Таким образом, исследования показали, что только использованный 0,074% формальдегид по сравнению с другими концентрациями (0,11%, 0,028%, 0,00052% и 0,014%) способен активизировать в клетках первичных фибробластов человека и аденокарциномы шейки матки HeLa выработку эндогенного формальдегида, что соответствует правилу Ле Шателье-Брауна. Оно гласит, что при повышении концентрации одного из продуктов реакции (в нашем случае экзогенного формальдегида в концентрации 0,074%) равновесие сдвигается в направлении увеличения образования исходного (эндогенного) формальдегида в клетках.

Ниже приведены примеры использования средства.

С лечебной целью средство вводят внутримышечно по 5 мл в одной инъекции, при этом схемы введения могут быть различными. А именно:

по первой схеме средство вводят дважды: на 1 и 7 сутки после первого введения;

по второй схеме - также дважды, но с интервалом один месяц;

по третьей схеме - на, 2-й, 3-й и 10-й день после первого введения;

по четвертой схеме средство вводят 3 раза с интервалом между каждой инъекцией 12 часов, затем через 1-2 суток вводят ещё 5 раз с интервалом между каждой инъекцией 12 часов. Затем через сутки после последней инъекции препарат вводят однократно, затем через трое суток осуществляют повторное однократное введение, после чего проводят завершающую однократную инъекцию через пять суток после последнего введения;

по пятой схеме - 1 раз в день в течение семи дней.

Количество инъекций в схемах может быть увеличено в соответствии с тяжестью заболевания.

Пример 4. Коронавирусная инфекция свиней (трансмиссивный гастроэнтерит свиней), регистрируется у свиноматок, поросят сосунов и поросят-отъемышей.

В неблагополучных по трансмиссивному гастроэнтериту хозяйствах у свиноматок после опороса проявляется легочная форма заболевания, у поросят-отъемышей регистрируется одновременно легочная и кишечная, а у поросят-сосунов - кишечная.

Провели опыт на 16 свиноматках-аналогах с 153 новорожденными поросятами в одном из корпусов-маточников, где регистрировался трансмиссивный гастроэнтерит. Для этого приготовили 0,074%-ный раствор муравьиного альдегида. Первой группе животных (8 свиноматок с 75 новорожденными поросятами) вводили 0,074% раствор муравьиного альдегида из расчета 5 мл свиноматке и 2 мл каждому поросенку. Контрольной группе (8 свиноматок с 78 новорожденными поросятами) вводили аналогичный объем физиологического раствора. Средство вводили дважды: на первые и 7 сутки после первого введения.

За животными вели клиническое наблюдение до двухнедельного возраста, регистрировали клиническое проявление трансмиссивного гастроэнтерита и гибель животных. Полученные результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3
Результаты введения свиноматкам 0,074% раствора муравьиного альдегида

Группа	Применяемый препарат	Количество		Заболело		Пало	
		свиноматок	поросят	поросят	%	поросят	%
	0,074%-ный раствор муравьиного альдегида	8	75	18	24,0	6	8,0
	Физиологический раствор	8	78	58	74,4	37	47,4

Результаты исследований показали, что введение 0,074%-ного раствора муравьиного альдегида одновременно свиноматкам и новорожденным пороссятам достоверно обеспечивало снижение заболеваемости и падежа порослят-сосунов от трансмиссивного гастроэнтерита. Это действие при двухзвенной цепи (свиноматки и новорожденные пороссята) необходимо рассматривать с двух позиций. Первое введение препарата свиноматкам обеспечивало снижение количества возбудителей в организме матерей, уменьшая дозу инфекта для новорожденных. А введение препарата пороссятам обеспечивало лечебный эффект.

Как видно из таблицы, заболеваемость снизилась на 50% (74,4-24,0), что было связано с профилактическим эффектом, снизившим количество вируса у матерей, а падеж снизился в 6 раз в связи с лечебным эффектом после введения препарата пороссятам.

Пример 5. Доказательство антисептического действия средства на примере вирусной инфекции иммунодефицита (СПИД). Исследования проводились на 6 добровольцах.

При этом, первым пяти пациентам средство вводили в дозе 5 мл на 2-й, 3-й и 10-й день после первого введения, а последнему (шестому) пациенту средство вводили в дозе 5 мл дважды, причём второй раз через месяц после первого введения.

Результаты лечения:

Пациент 1, исходная вирусная нагрузка - 750000 РНК/мл, вирусная нагрузка через два месяца после лечения - 2187 РНК/мл, отмечено снижение вирусной нагрузки в 342 раза.

Пациент 2, исходная вирусная нагрузка - 150201 РНК/мл, вирусная нагрузка через два месяца после лечения - 1230 РНК/мл, отмечено снижение вирусной нагрузки в 122 раза.

Пациент 3, исходная вирусная нагрузка - 97171 РНК/мл, вирусная нагрузка через два месяца после лечения - 1101 РНК/мл, отмечено снижение вирусной нагрузки в 88 раз.

Пациент 4, исходная вирусная нагрузка - 78122 РНК/мл, вирусная нагрузка через два месяца после лечения - 1037 РНК/мл, отмечено снижение вирусной нагрузки в 75 раз.

Пациент 5, исходная вирусная нагрузка - 78122 РНК/мл, вирусная нагрузка через два месяца после лечения - 1837 РНК/мл, отмечено снижение вирусной нагрузки в 42,5 раза.

Пациент 6, исходная вирусная нагрузка - и 182 РНК/мл, вирусная нагрузка через два месяца после лечения - 1165 РНК/мл, отмечено снижение вирусной нагрузки в 9 раз.

У всех пациентов отмечено резкое снижение вирусной нагрузки за счет антисептического воздействия препарата на клеточном уровне без отрицательного действия на организм и при отсутствии токсического эффекта.

Пример 6. Больной М., 46 лет - коронавирусная инфекция SARS-CoV-2 (на основании анамнеза, клинических признаков и рентгенограммы).

Клинические признаки: высокая температура (38-39,2°C), непродуктивный упорный кашель, дыхательная недостаточность с болью в грудной клетке, недомогание, умеренная головная боль.

Рентгенограмма грудной полости: наличие в периферических отделах легочных полей мелких очагов воспаления.

Лечение антибиотиками в течение трех дней не дало результатов.

Было проведено лечение по следующей схеме. Средство вводили в дозе 5 мл. Проведено три инъекции препарата через каждые 12 часов, затем через сутки еще пять инъекций препарата через каждые 12 часов. Затем через сутки вводили одну инъекцию препарата, через трое суток еще одну и через пять суток после предыдущей инъекции вводили завершающую инъекцию.

Результат: клинические признаки исчезли, на рентгенограмме отсутствовали очаги воспаления. Отмечалось отсутствие побочных эффектов и токсического действия препарата.

Пример 7. Больной С, 35 лет - коронавирусная инфекция (на основании анамнеза и клинических признаков).

Клинические признаки: температура тела 37,2-37,7°C, непродуктивный упорный кашель, недомогание, умеренная головная боль. Больной был в контакте с людьми с подтвержденным диагнозом - коронавирусная инфекция. Лечение антибиотиками в течение 10 дней не дало результатов.

Был проведен курс лечения по следующей схеме: внутримышечно в дозе 5 мл один раз в сутки в течение семи дней.

Результат: клинические признаки исчезли, наступило полное выздоровление. Отмечено отсутствие побочных эффектов и токсического действия препарата.

Пример 8. Больной С, 56 лет, диагностирован COVID-19 (методом ПЦР).

Клинические признаки на момент начала лечения: температура 39,2, двустороннее поражение лёгких (по 25% с каждой стороны) по данным компьютерной томографии (КТ), сухой кашель, боль в загрудинном пространстве, общая слабость, потливость, не чувствует запахи. С первого дня заболевания принимал антибиотики без видимого результата.

На 3-й день заболевания было начато лечение заявляемым средством по следующей схеме: средство вводили по 5 мл ежедневно в течение 7 дней с интервалом 24 часа. При этом, антибиотики больше не использовались.

Результат.

На 2-й день кашель усилился и перешел в стадию влажного. Температура снизилась до 37,4, прошла головная боль. На 3 день с начала терапии температура нормализовалась (36,6), болевые симптомы прошли. Общее состояние улучшилось. Пациент отмечает прилив сил, отсутствие потливости. На 7 день объективно пациент фиксировал полное выздоровление.

На 14 день после начала терапии заявляемым средством была проведена КТ легких. Заключение по результатам исследования - здоров. Никаких следов воспаления или остаточных проявлений не выявлено. Контрольный тест ПЦР - отрицательный.

Пример 9. Больной Р., 46 лет, диагностирован COVID-19 (методом ПЦР).

Клинические признаки на момент начала лечения: температура 39,6, двустороннее поражение лёгких (20% и 30%) по данным КТ, сухой кашель, боль в загрудинном пространстве, общая слабость, потливость, постоянная головная боль, не чувствует запахи.

Лечение заявляемым средством было начато на 5-й день заболевания. Средство вводили по 5 мл ежедневно в течение 7 дней с интервалом 24 часа. При этом, антибиотики больше не использовались.

Результат.

На 2 день с начала лечения заявляемым средством кашель усилился и перешел в стадию влажного. Температура снизилась до 37,0, прошла головная боль. На 3 день с начала терапии температура нормализовалась (36,6), болевые симптомы прошли. Общее состояние улучшилось. Пациент отмечает активное отхождение мокроты из лёгких, прилив сил, отсутствие потливости. На 7 день объективно пациент фиксировал полное выздоровление.

На 14 день после начала терапии заявляемым средством была проведена КТ легких. Заключение по результатам исследования - здоров. Никаких следов воспаления или остаточных проявлений не выявлено. Контрольный тест ПЦР - отрицательный.

Таким образом, средство обладает внутриклеточным антисептическим действием, активизирует выработку эндогенного муравьиного альдегида в организме человека и животных при отсутствии побочных эффектов и токсического действия.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Применение иммуномодулирующего средства для внутримышечных инъекций с однократной дозировкой 5 мл на инъекцию, содержащего муравьиный альдегид в количестве 0,073-0,075 мас.% в изотоническом растворе хлорида натрия в качестве средства для активизации антисептического действия муравьиного альдегида внутри клетки при лечении коронавирусных инфекций и вируса иммунодефицита человека.

