

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202390967** (13) **A1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**(43) Дата публикации заявки
2024.10.31(51) Int. Cl. **G01N 21/31** (2006.01)
C12N 1/12 (2006.01)
C12R 1/89 (2006.01)(22) Дата подачи заявки
2023.04.24(54) **СПОСОБ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В
БИОМАССЕ CHLORELLA VULGARIS IPPAS C-2019**(96) **2023000068 (RU) 2023.04.24**

(72) Изобретатель:

(71) Заявитель:
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ "ПЕНЗЕНСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ" (ФГБОУ ВО
"ПГУ") (RU)****Курдюков Евгений Евгеньевич,
Митишев Александр Владимирович,
Моисеева Инесса Яковлевна,
Водопьянова Ольга Александровна,
Моисеев Яков Петрович (RU)**

(57) Изобретение относится к химико-фармацевтической и биотехнологической промышленности и может быть использовано в центрах контроля качества лекарственных средств, контрольно-аналитических лабораториях, биотехнологических предприятиях, а также ВУЗах для контроля накопления вторичных метаболитов в процессе культивирования и при проведении количественного определения суммы флавоноидов в биомассе хлореллы (*Chlorella vulgaris* IPPAS C-2019). Проводят экстракцию этиловым спиртом в концентрации 95% воздушно-сухого сырья точной навеской массой 1 г, измельченного до размера частиц 0,125-0,160 мм, в соотношении "сырье-экстрагент" - 1:50 в течение 60 мин на кипящей водяной бане. Получают спиртовое извлечение из биомассы хлореллы штамма C-2019 однократной экстракцией. Количественное определение суммы флавоноидов в биомассе хлореллы штамма C-2019 проводят при длине волны 413 нм в пересчете на рутин. Содержание суммы флавоноидов (X в процентах) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot m_0 + 100 \cdot 50 \cdot 2 \cdot 25 \cdot 100}{A_0 \cdot m + 2 \cdot 50 \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где A - оптическая плотность испытуемого раствора; A₀ - оптическая плотность раствора стандартного образца рутина; m₀ - масса стандартного образца рутина, г; m - масса сырья, г; W - потеря в массе при высушивании, %. В случае отсутствия стандартного образца рутина содержание суммы флавоноидов (X в процентах) для расчета целесообразно использовать теоретическое значение его удельного показателя поглощения E_{1%¹см}:

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{231 \cdot m + 2 \cdot (100 - W)},$$

где A - оптическая плотность раствора; 231 - удельный показатель поглощения стандартного образца рутина при 413 нм; m - навеска сырья, г; W - влажность сырья, %. Способ позволяет количественно определить сумму флавоноидов в биомассе хлореллы штамма C-2019 в пересчете на рутин.

A1**202390967****202390967****A1**

СПОСОБ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ФЛАВОНОИДОВ В БИОМАССЕ *CHLORELLA VULGARIS* IPPAS C-2019

Изобретение относится к химико-фармацевтической и биотехнологической промышленности и может быть использовано в центрах контроля качества лекарственных средств, контрольно-аналитических лабораториях, биотехнологических предприятиях, а также ВУЗах для контроля накопления вторичных метаболитов в процессе культивирования и при проведении количественного определения суммы флавоноидов в биомассе хлореллы (*Chlorella vulgaris* IPPAS C-2019).

Действующая система контроля качества лекарственных препаратов растительного происхождения требует постоянного усовершенствования подходов к стандартизации биологически активных соединений (БАС) с использованием современных методов анализа и актуальных данных об их физико-химических, спектральных и фармакологических свойствах, позволяющих объективно и селективно определять содержание целевых веществ (1).

Различные штаммы микроводоросли *Chlorella*, являются объектами, которые в последнее время привлекают внимание как коммерчески ценные источники широкого спектра соединений (2,3). Богатый состав объясняет возможность использования в фармацевтической и клинической практике.

Комплекс БАС (аминокислоты, полиненасыщенные жирные кислоты, фенольные соединения, пигменты: хлорофиллы α и β , каротиноиды, витамины группы В, А, С, Е, а также ароматические соединения) биомассы хлореллы оказывает противовоспалительное, противомикробное, антиоксидантное и ранозаживляющее действие. Согласно данным источников литературы, экстракты хлореллы, полученные с использованием полярных и неполярных растворителей, проявляют антибактериальную активность в отношении *E. coli*, *Bacillus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Salmonella sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Klebsiella sp.* и *Enterococcus sp.*, *C. botulini*, *V. Cholerae* (4,5). Антимикробную активность экстрактов связывают с различными веществами, такими как фенольные соединения, жирные кислоты, пигменты, полисахариды, галогенированные углеводороды.

Одним из перспективных продуцентов, способных накапливать данные вещества, является новый штамм *Chlorella vulgaris* Beyerinck ИФР С-2019. Штамм отличается высокой скоростью роста и проявляет хорошо выраженные антагонистические свойства при плотности клеток в культуре более 10 млн./мл, гибель бактерий наступает через 6-10 часов культивирования.

Обзор литературы показал недостаточную степень изученности и возможности стандартизации биомассы хлореллы. Отечественные исследователи ссылаются на работы зарубежных ученых, где описывается изучение биомассы *Chlorella vulgaris* методами ВЭЖХ и спектрофотометрии из метанольных, бутанольных, этанольных и ацетоновых экстрактов, которыми определены 7 фенольных соединений, таких как рутин, галловая кислота, катехин, кверцетин и другие.

В настоящее время для идентификации и количественного определения флавоноидов в лекарственных растениях используют спектрофотометрические методы (6). Они быстры, удобны и не требуют сложного оборудования.

Наиболее близким к заявленному способу является способ количественного определения суммы флавоноидов, в пересчете на катехин методом спектрофотометрии при 510 нм. Принимая во внимание, что пробоподготовка для исследования более трудоемка, а метод многостадийен, кроме того валидация данной методики не проводилась, актуальным является продолжение исследований в этом направлении. Данный способ определения флавоноидов был взят как прототип для предлагаемой методики (7,8).

В связи с этим целью изобретения является разработка способа количественного определения суммы флавоноидов биомассы хлореллы штамма С-2019, обладающего простой и безопасной пробоподготовкой, высокой специфичностью и точностью.

Техническим результатом является создание способа количественного определения суммы флавоноидов в биомассе хлореллы (*Chlorella vulgaris* Beyerinck ИФР С-2019) в пересчете на рутин. Технический результат достигается тем, что экстракцию сырья осуществляют однократно, в качестве экстрагента используют этиловый спирт в концентрации 95% в соотношении «сырье-экстрагент» - 1:50, время экстракции – извлечение на кипящей водяной бане в течение 60 мин, степень измельчения сырья – 0,125 – 0,160 мм. Количественное определение суммы флавоноидов в биомассе хлореллы проводят при длине волны 413 нм в пересчете на рутин. Содержание суммы флавоноидов (X в процентах) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 50 \cdot 2 + 25 \cdot 100}{A_0 \cdot m \cdot 2 + 50 \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

где: А – оптическая плотность испытуемого раствора; A_0 – оптическая плотность раствора стандартного образца рутина; m_0 – масса стандартного образца рутина, г; m – масса сырья, г; W – потеря в массе при высушивании, %.

В случае отсутствия стандартного образца рутина содержание суммы флавоноидов (X в процентах) для расчета целесообразно использовать теоретическое значение его удельного показателя поглощения $E_{1\text{ см}}^{1\%}$:

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{231 \cdot m \cdot 2 \cdot (100 - W)}$$

где A – оптическая плотность раствора; 231 - удельный показатель поглощения стандартного образца рутина при 413 нм; m – навеска сырья, г; W – влажность сырья, %.

При изучении спектральных характеристик было выявлено, что именно рутин определяет характер кривой поглощения спиртового извлечения из биомассы хлореллы штамма С-2019. Определено, что в УФ-спектре спиртового извлечения биомассы хлореллы штамма С-2019 наблюдается bathochromic сдвиг длинноволновой полосы флавоноидов (Фиг. 1), как и в случае, рутина (Фиг. 1), где кривая 1 на Фиг. 1 демонстрирует раствор рутина в присутствии алюминия хлорида, а кривая 2 – раствор спиртового извлечения из биомассы хлореллы штамма С-2019 в присутствии алюминия хлорида соответственно.

Изучение УФ-спектра (Фиг.1) спиртового раствора СО рутина показало, что максимум поглощения в присутствии раствора алюминия хлорида наблюдается при 414 нм. В УФ-спектре спиртового извлечения из биомассы хлореллы штамма в присутствии раствора алюминия хлорида (Фиг.1) также обнаруживается при длине волны 413 нм максимум поглощения, который практически соответствует максимуму поглощения спиртового раствора рутина. Данный факт позволяет проводить спектрофотометрическое определение суммы флавоноидов в биомассе хлореллы штамма С-2019 при аналитической длине волны 413 нм.

При разработке методики было изучено влияние на выход флавоноидов следующих факторов: экстрагент, соотношение сырье: экстрагент, длительность экстракции (табл. 1).

В таблице 1 представлена зависимость выхода флавоноидов биомассы хлореллы штамма С-2019 от экстрагента. В результате эксперимента в качестве оптимального экстрагента нами был выбран 95% этиловый спирт, так как выход действующих веществ из сырья при его использовании максимален.

Далее нами был изучен вопрос относительно продолжительности экстракции на кипящей водяной бане, в таблице 1 представлена зависимость выхода флавоноидов биомассы хлореллы штамма С-2019 от времени экстракции на кипящей водяной бане, при этом было выбрано время экстракции 60 минут.

Результаты исследований по выбору оптимального соотношения «сырье-экстрагент» приведены в таблице 1. Из таблицы видно, что оптимальный выход действующих веществ наблюдается при соотношении «сырье-экстрагент» - 1:50, далее значения уменьшаются, по этой причине данное соотношение было выбрано нами в качестве оптимального.

Таблица 1 – Оптимальные показатели экстрагирования суммы флавоноидов из биомассы хлореллы С-2019 при длине волны 413 нм

Экстрагент	Соотношение «сырье: экстрагент»	Время экстракции, мин	Степень измельчения, мм	Значение оптической плотности, D	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, %
Тип экстрагента					
Ацетон	1:50	45	0,125-0,160	0,16	0,72±0,011
Спирт этиловый	1:50	45	0,125-0,160	0,45	1,49±0,031
Гептан	1:50	45	0,125-0,160	0,20	1,12±0,023
Гексан	1:50	45	0,125-0,160	0,01	0,04±0,002
Петролейный эфир	1:50	45	0,125-0,160	0,32	1,41±0,036
Время экстракции					
Спирт этиловый	1:50	45	0,125-0,160	0,44	1,11±0,010
Спирт этиловый	1:50	60	0,125-0,160	0,66	1,62±0,025
Спирт этиловый	1:50	90	0,125-0,160	0,38	0,83±0,012
Спирт этиловый	1:50	120	0,125-0,160	0,29	0,61±0,011
Сырье:экстрагент					
Спирт этиловый	1:30	60	0,125-0,160	0,25	1,32±0,032
Спирт этиловый	1:50	60	0,125-0,160	0,48	1,58±0,028
Спирт этиловый	1:100	60	0,125-0,160	0,45	1,45±0,033

Учитывая, что увеличение числа операций на стадии пробоподготовки ведет к возрастанию ошибки, выбор сделан в пользу одностадийного процесса экстракции с подтверждением требуемой точности количественного определения.

Таким образом, было определено, что оптимальными параметрами экстракции являются: однократное извлечение 95% этиловым спиртом на кипящей водяной бане в течение 60 минут в соотношении «сырье-экстрагент» - 1:50.

Принимая во внимание тот факт, что рутин имеет схожие специфические спектральные характеристики с извлечением биомассы хлореллы штамма С-2019, а максимумы поглощения раствора рутина и спиртового извлечения биомассы хлореллы штамма С-2019 находятся в области 413 нм, целесообразным является определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин при длине волны 413 нм.

Способ реализуется следующим образом.

Аналитическую пробу сырья хлореллы штамма С-2019 измельчают до размера частиц 0,125 – 0,160 мм. Примерно 1 г биомассы, помещают в колбу со шлифом, вместимостью 100 мл и заливают 50 мл спирта этилового 95%. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на лабораторных весах, с точностью до 10 мг. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане 60 мин. Затем колбу охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы колбы. Извлечения фильтруют через бумажный беззольный фильтр (красная лента). 2 мл извлечения (раствор А) количественно переносят в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 2 мл раствора алюминия хлорида 3% в спирте 95% и через 10 мин- 2 капли разведенной уксусной кислоты. Объем раствора доводят до метки спиртом этиловым 95% и оставляют на 30 мин (раствор Б). В качестве раствора сравнения используют раствор, приготовленный при тех же условиях, но без алюминия хлорида.

Приготовление раствора стандартного образца рутин: 20 мг (точная навеска) рутин, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, взвешивают и растворяют при нагревании на водяной бане в 50 мл спирта 95%, охлаждают, взвешивают, недостающий объем раствора восполняют спиртом этиловым 95% и перемешивают (раствор А стандартного образца рутин). 2 мл раствора стандартного образца рутин (раствора) количественно переносят в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 2 мл спиртового раствора алюминия хлорида 2% и через 10 мин - 1 каплю разведенной уксусной кислоты 30%. Объем раствора доводят до метки спиртом этиловым 95% и оставляют на 30 мин (раствор Б стандартного образца рутин). В качестве раствора сравнения используют раствор, приготовленный при тех же условиях, но без алюминия хлорида.

Содержание суммы флавоноидов (X в процентах) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A + m_0 + 100 + 50 + 2 + 25 + 100}{A_0 + m + 2 + 50 + 25 + (100 - W)}$$

где: А – оптическая плотность испытуемого раствора; А₀ – оптическая плотность раствора стандартного образца рутин; m₀ – масса стандартного образца рутин, г; m – масса сырья, г; W – потеря в массе при высушивании, %.

В случае отсутствия стандартного образца рутин содержание суммы флавоноидов (X в процентах) для расчета целесообразно использовать теоретическое значение его удельного показателя поглощения E₁^{1%}_{см}.

$$X = \frac{A + 50 + 25 + 100}{231 * m + 2 + (100 - W)}$$

где А – оптическая плотность раствора; 231 - удельный показатель поглощения стандартного образца рутин при 413 нм; m – навеска сырья, г; W – влажность сырья, %.

Предлагаемый способ поясняется следующими примерами.

Пример 1.

Аналитическую пробу сырья хлореллы штамма С-2019 (выращенной полунепрерывным способом на модифицированной питательной среде Тамия) измельчают до размера частиц 0,125 – 0,160 мм. 1,0031 г биомассы, помещают в колбу со шлифом, вместимостью 100 мл и заливают 50 мл спирта этилового 95%. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на лабораторных весах, с точностью до 10 мг. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане 60 мин. Затем колбу охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы колбы. Извлечения фильтруют через бумажный беззольный фильтр (красная лента). 2 мл извлечения (раствор А) количественно переносят в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 2 мл раствора алюминия хлорида 3% в спирте 95% и через 10 мин- 2 капли разведенной уксусной кислоты. Объем раствора доводят до метки спиртом этиловым 95% и оставляют на 30 мин (раствор Б). В качестве раствора сравнения используют раствор, приготовленный при тех же условиях, но без алюминия хлорида.

Приготовление раствора стандартного образца рутин: 19,98 мг (точная навеска) рутин, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, взвешивают и растворяют при нагревании на водяной бане в 50 мл спирта 95%, охлаждают, взвешивают, недостающий объем раствора восполняют спиртом этиловым 95% и перемешивают (раствор А стандартного образца рутин). 2 мл раствора стандартного образца рутин (раствора) количественно переносят в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 2 мл спиртового раствора алюминия хлорида 2% и через 10 мин - 1 каплю разведенной уксусной кислоты 30%. Объем раствора доводят до метки спиртом этиловым 95% и оставляют на 30 мин (раствор Б стандартного образца рутин). В качестве раствора сравнения используют раствор, приготовленный при тех же условиях, но без алюминия хлорида.

Содержание суммы флавоноидов (X в процентах) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье, вычисляют по формуле:

$$X = \frac{0,486 + 0,01998 + 100 + 50 + 2 + 25 + 100}{0,754 + 1,0031 + 2 + 50 + 25 + (100 - 6,02)}$$

где: 0,486 – оптическая плотность испытуемого раствора; 0,754 – оптическая плотность раствора стандартного образца рутин; 0,01998 – масса стандартного образца рутин, г; 1,0031 – масса сырья, г; 6,02 – потеря в массе при высушивании, %.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин = 1,37%.

Пример 2.

При необходимости определения суммы флавоноидов в биомассе хлореллы штамма С-2019 в отсутствии стандартного образца рутин, необходимо провести все действия из примера 1 до приготовления раствора стандартного образца рутин.

После измерения оптической плотности извлечения из биомассы хлореллы штамма С-2019 при длине волны 413 нм, содержание суммы флавоноидов (X в процентах) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье вычисляются по формуле, используя значение удельного показателя поглощения при 413 нм – 231.

$$X = \frac{0,486 \cdot 50 + 25 \cdot 100}{231 \cdot 1,0031 \cdot 2 + (100 - 6,02)}$$

где 0,486 – оптическая плотность раствора; 231 – удельный показатель поглощения стандартного образца рутин при 413 нм; 1,0031 – навеска сырья, г; 6,02 – влажность сырья, %.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин = 1,39%.

Все результаты были статистически обработаны. Ошибка единичного количественного определения составила $\pm 2,917\%$.

Таким образом, предлагаемый способ количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в биомассе хлореллы штамма С-2019 с использованием спектрофотометрии разработан впервые для данного вида сырья и обладает следующими преимуществами:

1. Разработанный метод является специфичным и селективным, а также позволяет проводить экстракцию сырья однократно, поскольку в качестве экстрагента используется 95% этиловый спирт, позволяющий исчерпывающе извлекать целевые вещества (флавоноиды).

2. Пересчет суммы флавоноидов идет на специфическое для биомассы хлореллы штамма С-2019 вещество – рутин.

3. Ошибка единичного определения предлагаемого способа составляет $\pm 2,917\%$, что свидетельствует об объективности разработанного способа.

Этот способ можно применять в центрах контроля качества лекарственных средств, контрольно-аналитических лабораториях, на биотехнологических и фармацевтических предприятиях, а также ВУЗах для контроля накопления вторичных метаболитов в процессе культивирования и при проведении количественного определения суммы флавоноидов в биомассе хлореллы (*Chlorella vulgaris* IPPAS С-2019).

ИСТОЧНИКИ ИНФОРМАЦИИ

1. Куркин В.А. Фармакогнозия. Учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). – 3-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт»; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2016. – 1279 с.

2. Barkia I., Saari N., Manning S. R. Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. *Marine Drugs*. – 2019. – Vol.17. – №5. – P. E304. DOI: 10.3390/md17050304.

3. Falaise C., François C., Travers M. A., Morga B., Haure J. Antimicrobial compounds from eukaryotic microalgae against human pathogens and diseases in aquaculture. *Marine Drugs*. – 2016. – №14. – P. 159. DOI: 10.3390/md14090159.

4. Syed Shabudeen P.S., Arasu A. The Uses of *Chlorella Vulgaris* as Antimicrobial Agent and as a Diet: the Presence of Bio-active Compounds which Caters the Vitamins, Minerals in General // *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*. – 2015. – Vol.7. – № 1. – P. 185.

5. Silva S. *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements* – UK: Academic Press – 2018. – P. 190.

6. Куркина А.В., Савельева А.Е., Куркин В.А. Количественное определение суммы флавоноидов в цветках бархатцев отклоненных // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2021. – Т.55. – №2. – С. 46–50. DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-2-46-50.

7. Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals // *Food Chem*. – 1999. – № 64. – P. 555-559.

8. Dantas D.M.M., Cahú T.B., Oliveira C.Y.B., et al. *Chlorella vulgaris* functional alcoholic beverage: Effect on propagation of cortical spreading depression and functional properties // *PLoS One*. – 2021. – Vol.16. – № 8. – P. e0255996. DOI: 10.1371/journal.pone.0255996.

Формула изобретения

Способ количественного определения суммы флавоноидов в биомассе хлореллы (*Chlorella vulgaris* IPPAS С-2019) путем экстракции сырья органическими растворителями с последующей пробоподготовкой и определения оптической плотности методом спектрофотометрии, отличающийся тем, что получают извлечение из биомассы хлореллы штамма С-2019 однократной экстракции этиловым спиртом 95% воздушно-сухого сырья точной навеской массой 1 г, измельченного до размера частиц 0,125 – 0,160 мм, в соотношении «сырье-экстрагент» - 1:50 в течение 60 мин, количественное определение суммы флавоноидов в биомассе хлореллы проводят при длине волны 413 нм в пересчете на рутин и содержание суммы флавоноидов (X в процентах) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 50 \cdot 2 \cdot 25 \cdot 100}{A_0 \cdot m \cdot 2 \cdot 50 \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где: А – оптическая плотность испытуемого раствора; А₀ – оптическая плотность раствора стандартного образца рутина; m₀ – масса стандартного образца рутина, г; m – масса сырья, г; W – потеря в массе при высушивании, %.

В случае отсутствия стандартного образца рутина содержание суммы флавоноидов (X в процентах) для расчета целесообразно использовать теоретическое значение его удельного показателя поглощения $E_{1\text{ см}}^{1\%}$.

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{231 \cdot m \cdot 2 \cdot (100 - W)},$$

где А – оптическая плотность раствора; 231 - удельный показатель поглощения стандартного образца рутина при 413 нм; m – навеска сырья, г; W – влажность сырья, %.

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

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

Номер евразийской заявки:

202390967**А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:**

МПК:

G01N 21/31 (2006.01)
C12N 1/12 (2006.01)
 C12R 1/89 (2006.01)

СПК:

G01N 21/31
C12N 1/125
 C12R 2001/89

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

G01N 21/00, 21/31, A61K 36/05, C12N 1/12, C12R 1/89

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

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
Y	RU 2603099 C1 (ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ "ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ" (ФГБОУ ВПО "ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ") (RU)) 2016-11-20 реферат, с. 3, 4, формула	1
Y	МИТИШЕВ А.В. и др. Фармакотехнологические исследования биомассы <i>Chlorella vulgaris</i> C-2019 как перспективного источника получения антибактериальных веществ. РАЗРАБОТКА И РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ. 2022. Т. 11, № 2, опубликовано 2022-05-22, с. 53-58 https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-2-53-58 реферат, с. 55, раздел "Материалы и методы"	1
Y	МТАКИ К. et al. Assessment of antioxidant contents and free radical-scavenging capacity of <i>Chlorella vulgaris</i> cultivated in low cost media. APPLIED SCIENCES.10(23):8611, опубликовано 2020-12-01, с. 1-11 https://doi.org/10.3390/app10238611 реферат, с. 4	1
Y	RU 2701726 C1 (ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ "САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ" МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (RU)) 2019-10-01 реферат, с. 5-9, формула	1

 последующие документы указаны в продолжении графы

* Особые категории ссылок 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

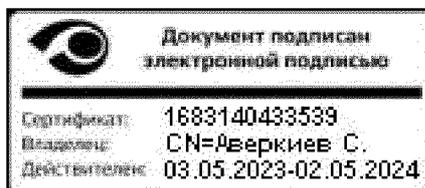
«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

«&» - документ, являющийся патентом-аналогом

«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: 21 февраля 2024 (21.02.2024)

Уполномоченное лицо:
 Начальник Управления экспертизы



С.Е. Аверкиев

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ
(дополнительный лист)

Номер евразийской заявки:

202390967

ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ (продолжение графы В)

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
У	RU 2747417 C1 (ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ "САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ" МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (RU)) 2021-05-04 реферат, с. 4-9, формула	1
У	RU 2751189 C1 (ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ "САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ" МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (RU)) 2021-07-12 реферат, с.5-10, формула	1
У	KZ 30638 A4 (РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ НА ПРАВЕ ХОЗЯЙСТВЕННОГО ВЕДЕНИЯ "ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ И ВИРУСОЛОГИИ" КОМИТЕТА НАУКИ МИНИСТЕРСТВА ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН (KZ)) 2015-12-15 с. 6	1