

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В  
СООТВЕТСТВИИ С ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) Всемирная Организация  
Интеллектуальной Собственности  
Международное бюро

(43) Дата международной публикации  
30 марта 2023 (30.03.2023)

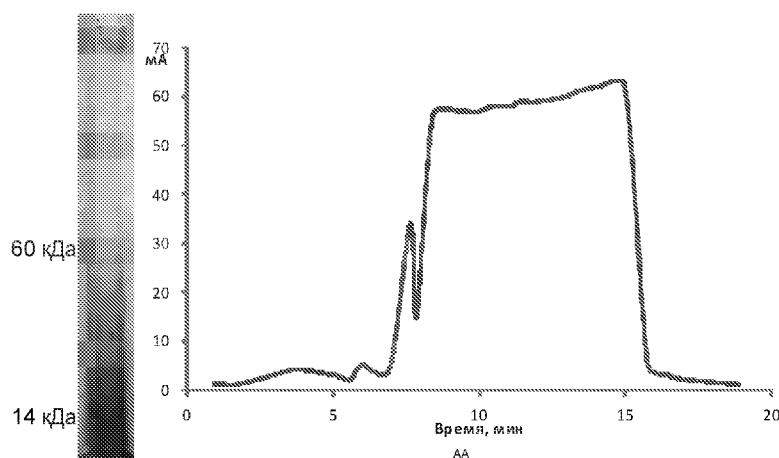


(10) Номер международной публикации  
**WO 2023/048596 A1**

- (51) Международная патентная классификация:  
A61K 35/66 (2015.01) A61P 3/08 (2006.01)  
A61K 47/08 (2006.01) A61P 3/00 (2006.01)
- (21) Номер международной заявки: РСТ/RU2022/050101
- (22) Дата международной подачи:  
28 марта 2022 (28.03.2022)
- (25) Язык подачи: Русский
- (26) Язык публикации: Русский
- (30) Данные о приоритете:  
2021127773 22 сентября 2021 (22.09.2021) RU
- (72) Изобретатель; и  
(71) Заявитель: ЛАСКАВЫЙ, Владислав Николаевич  
(LASKAVYI, Vladislav Nikolaevich) [RU/RU]; Усть-Курдюмская 4-174 Саратов, 410018, Saratov (RU).
- (74) Агент: ГЕМБИЦКАЯ, Елена Ивановна  
(GEMBIЦКАЯ, Elena Ivanovna); Посадского 228/244-59 Саратов, 410005, Saratov (RU).
- (81) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида национальной охраны): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU,

(54) Title: COMPOSITION FOR MAINTAINING A NORMAL STATE OF HOMEOSTASIS AND DRUG BASED THEREON

(54) Название изобретения: КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ПОДДЕРЖАНИЯ НОРМАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГОМЕОСТАЗА И ПРЕПАРАТ НА ЕЁ ОСНОВЕ



Фиг. 1

AA Time (mins)

(57) Abstract: The inventions relate to biotechnology, medicine and veterinary science. The problem of interest is the creation of a complex system for maintaining and stabilizing a normal state of homeostasis in a human or animal body. The invention makes it possible to improve the effectiveness of prophylactic measures to protect against possible infection in transmission hot zones. The claimed composition contains a water-soluble protein fraction having a molecular mass of 6-90 kDa, which is recovered from pathogen disintegration products, in an amount of 0.4-0.6 wt%, with the balance being a saline buffer solution or distilled water or physiological saline. The claimed drug contains: 0.2-0.3 wt% water-soluble protein fraction having a molecular mass of 6-90 kDa, recovered from pathogen disintegration products; 49.7-49.8 wt% solvent; and the balance 0.00018-0.06% saline formaldehyde solution.

(57) Реферат: Изобретения относятся к биотехнологии, медицине и ветеринарии. Проблемой является создание комплексной системы поддержания и стабилизации нормального состояния гомеостаза организма человека и животных. Позволяет повысить эффективности профилактических мероприятий при защите от возможного заражения в очагах инфекций. Композиция содержит водорастворимую белковую фракцию с молекулярной массой 6-90 кДа, выделенную из продуктов разрушения возбудителя заболевания в количестве 0,4-0,6% и солевой буферный раствор или дистиллированную воду или физиологический

[продолжение на следующей странице]

WO 2023/048596 A1

RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

- (84) Указанные государства** (если не указано иначе, для каждого вида региональной охраны): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Декларации в соответствии с правилом 4.17:**

- касающаяся права заявителя подавать заявку на патент и получать его (правило 4.17 (ii))

**Опубликована:**

- с отчётом о международном поиске (статья 21.3)
- в черно-белом варианте; международная заявка в поданном виде содержит цвет или оттенки серого и доступна для загрузки из PATENTSCOPE.

---

раствор - остальное. Препарат содержит, мас. %: водорастворимая белковая фракция с молекулярной массой 6-90 кДа, выделенная из продуктов разрушения возбудителя заболевания в количестве 0,2-0,3%, растворитель - 49,7-49,8 %, солевой раствор муравьиного альдегида 0,00018-0,06% концентрации – остальное.

## КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ПОДДЕРЖАНИЯ НОРМАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГОМЕОСТАЗА И ПРЕПАРАТ НА ЕЁ ОСНОВЕ

Группа изобретений относится к биотехнологии, медицине и ветеринарии, а именно к композиции, обладающей способностью поддержания нормального  
5 состояния гомеостаза и препарату для стабилизации гомеостаза на основе этой композиции и может быть использована для профилактики инфекционных заболеваний, вызванных бактериями, вирусами, грибами, простейшими и прионами за счёт завершённого фагоцитоза и снижения активности лимфоцитарного звена иммунитета. Группа изобретений расширяет арсенал профилактических средств,  
10 направленных на защиту организма в очагах инфекций и при угрозе распространения инфекционных заболеваний.

Гомеостаз (см., например, <http://wikipedia.org/wiki>) (от греч. *homoios* – подобный, тот же самый; *stasis*-состояние, неподвижность) – саморегуляция, способность открытой системы сохранять постоянство своего внутреннего  
15 состояния посредством скоординированных реакций, направленных на поддержание динамического равновесия.

Комплексные системы (например, организм человека) должны обладать гомеостазом, чтобы сохранять стабильность и существовать. Эти системы не только должны стремиться выжить, им также приходится адаптироваться к изменениям  
20 среды и развиваться. Применительно к организму человека и животных гомеостаз подразумевает (см., например, <http://xreferat.ru/66/800-1-gomeostaz.html>) – относительное динамическое постоянство внутренней среды (крови, лимфы, тканевой жидкости) и устойчивость основных физиологических функций (кровообращения, дыхания, терморегуляции, обмена веществ и т.д.).

25 Средств поддержания и сохранения нормального состояния гомеостаза авторам неизвестны.

Все существующие средства и способы, описанные в опубликованных источниках информации, направлены на решение задачи коррекции уже изменённого гомеостаза (см., например, патенты РФ № 2168335, 2274453, 2317820 и  
30 пр.).

В частности, известен способ коррекции нарушенного иммунного гомеостаза и лекарственное средство (см патент РФ № 2168335 по кл. МПК А61К39/02, опуб. 10.02.2000), заключающийся в том, что используют потенцированную форму вещества – антигена, участвующего в развитии патологических процессов.

Получают лекарство из этого антигена путём многократного разведения и встряхивания или растирания по гомеопатическому методу. В качестве исходного антигена используют вещество полипептидной структуры, вещество липополисахаридной структуры или вещество полинуклеотидной структуры.

5 Однако, данное изобретение направлено на решение задачи коррекции гомеостаза, нарушение которого связано с воздействием антигена.

Известен способ нормализации и стабилизации гомеостаза макрофагов при лечении онкологических заболеваний (см. патент РФ № 2317820 по кл. МПК А61К33/00, опуб. 27.02.2008), заключающийся в приёме воды «Ренорм» в суточной дозе 20-1500 мл. Установлено, что вода «Ренорм» способна модулировать функцию фагоцитирующих клеток и РФК-генерирующую активность цельной крови *in vitro* и *in vivo*.

Однако, данное изобретение решает задачу нормализации гомеостаза при лечении онкологических заболеваний.

15 Известны средства и способы оценки состояний гомеостаза, используемые для диагностики заболеваний (см., например, патенты РФ № 2127430, 2147124, 2234089 и пр.).

В частности, известен способ оценки состояния гомеостаза путём исследования биологической жидкости (патент РФ №2147124 по кл. МПК 20 G01N33/493, опуб. 27.03.2000), заключающийся в проведении сравнительного анализа зональных структур высушенных капель биологической жидкости и по параметрам зональных структур суточной капли определяют состояние гомеостаза как нормальное или патологическое.

Однако, метод не решает задачи поддержания нормального состояния гомеостаза.

25 Технической проблемой заявляемой группы изобретений является создание комплексной системы поддержания и стабилизации нормального состояния гомеостаза организма человека и животных, обеспечивающей защиту от инфекционных заболеваний за счёт завершённого фагоцитоза и снижения активности лимфоцитарного звена иммунитета.

30 Достижимый при этом технический результат заключается в повышении эффективности профилактических мероприятий при защите от возможного заражения в очагах инфекций, при угрозе распространения инфекционных

заболеваний, при иммунодепрессивных состояниях иммунной системы, связанных с отсутствием выработки специфических антител.

Для решения поставленной проблемы и достижения указанного технического результата предложена группа изобретений, а именно – композиция, обладающая

5 способностью поддержания нормального состояния гомеостаза, содержащая водорастворимую белковую фракцию с молекулярной массой 6-90 кДа, выделенную из продуктов разрушения возбудителя заболевания и растворитель при следующем соотношении компонентов (мас.%):

водорастворимая белковая фракция

10 с молекулярной массой 6-90 кДа,  
выделенная из продуктов разрушения  
возбудителя заболевания ..... 0,40-0,60  
растворитель ..... остальное

Для решения поставленной проблемы предложен также препарат для

15 стабилизации гомеостаза на основе композиции, обладающей способностью поддержания нормального состояния гомеостаза, характеризующийся тем, что он содержит водорастворимую белковую фракцию с молекулярной массой 6-90 кДа, выделенную из продуктов разрушения возбудителя заболевания, растворитель и дополнительно солевой раствор муравьиного альдегида 0,00018-0,06%

20 концентрации, при следующем соотношении компонентов, мас.%:

водорастворимая белковая фракция

с молекулярной массой 6-90 кДа,  
выделенная из продуктов разрушения  
возбудителя заболевания .....0,2-0,3

25 растворитель .....49,7-49,8  
солевой раствор муравьиного альдегида  
0,00018-0,06% концентрации.....остальное

В качестве растворителя композиция и препарат содержат или солевой буферный раствор или дистиллированную воду или физиологический раствор.

30 Препарат для стабилизации гомеостаза вводят однократно в дозе 3-6 мл на инъекцию. Препарат может быть введён дополнительно второй раз не менее, чем через 10 дней после первого введения.

В известных авторам источниках патентной и научно-технической информации не описано средств и методов, направленных на решение задачи профилактики нарушений гомеостаза, преимущественно – иммунного гомеостаза.

5 Общеизвестно, что все болезни являются проявлением нарушения гомеостаза (см., например, <http://ферментёр.com/psikhologiya/gomeostaz-normalnoe-postoianstvo.html>). Инфекционные заболевания - это результат проникновения в организм возбудителей инфекции (бактерий, вирусов, грибов, простейших, прионов). В большинстве случаев нормальная иммунная система справляется с этими заболеваниями.

10 В заявляемой группе изобретений предлагается с помощью специальной композиции на основе фракции белка, препарата на её основе и содержащего солевой раствор муравьиного альдегида низкой концентрации решить проблему предупреждения нарушений гомеостаза, проявляемых при любых инфекционных заболеваниях.

15 Предлагается новый, неочевидный подход к решению проблемы поддержания нормального состояния гомеостаза, основанный на использовании определённой фракции белка, выделенной из возбудителей инфекционных заболеваний, при этом данная фракция обеспечивает защиту организма от заболеваний без активизации лимфоцитарного звена иммунитета.

20 Общеизвестно существование двух теорий иммунной защиты организма человека и животных:

- путём активизации фагоцитарного звена иммунитета, основоположником которой является Мечников И.И. В 1883 г. он изложил основы новой фагоцитарной теории в докладе «О целебных силах организма» в Одессе на VII съезде естествоиспытателей и врачей и опубликовал их в печати. Были впервые высказаны основные положения фагоцитарной теории, которые И. И. Мечников развивал в последующем на протяжении всей своей жизни. Хотя сам факт поглощения живыми клетками других частиц был описан многими натуралистами задолго до ученого, однако только он дал блестящее толкование огромной роли фагоцитов в защите организма от болезнетворных микробов (см. например, <http://studentmedic.ru/referats>);

30 - путём активизации лимфоцитарного звена (путём выработки антител), основоположником которой являлся П.Эрлих. Были открыты антитела и антигены, выявлены механизмы гуморальной устойчивости организма против некоторых патогенных микроорганизмов и их токсинов (дифтерия, столбняк и др.).

В 1908 г. Шведская академия удостоила Нобелевской премии по медицине совместно Мечникова И.И. - основателя клеточного направления и Эрлиха П. - олицетворявшего гуморалистские идеи того времени. Они были удостоены премии в качестве «признания их работ по иммунитету».

5           Сегодня учение о фагоцитозе - это совокупность представлений о свободных и фиксированных клетках костномозгового происхождения, которые, обладая мощным цитотоксическим потенциалом, исключительной реактивностью и высокой мобилизационной готовностью, выступают в первой линии эффекторных механизмов иммунологического гомеостаза.

10           В организме человека фагоцитирующую функцию выполняют несколько типов клеток. Прежде всего, это те клетки, которые осуществляют защиту при каких-либо инфекциях – макрофаги, моноциты и нейтрофилы. В меньшей степени она представлена у эозинофилов и базофилов. Кроме того, общеизвестным является тот факт, что в различных тканях фагоцитирующую функцию берут на себя (помимо  
15           вездесущих макрофагов) специфические клеточные элементы данной ткани, например: фиброкласты, остеокласты, клетки микроглии.

В предлагаемой группе изобретений проведёнными исследованиями показано, что белковая фракция проникает в иммунокомпетентные органы (печень, селезёнку, костный мозг).

20           Данная белковая фракция, проникая в фагоцитирующие клетки, обеспечивает завершённый фагоцитоз, а, проникая в лимфоцитарные клетки, обеспечивает иммуносупрессию.

Нами установлено, что присутствующая в клетках иммунокомпетентных органов белковая фракция играет роль связующего звена, общего для фагоцитарной  
25           и антительной защиты, является фактором невосприимчивости организма к бактериальным, вирусным, грибковым инфекциям, заболеваниям, вызываемым простейшими и к прионным инфекциям.

Таким образом, в заявляемой группе изобретений впервые решена задача поддержания нормального состояния гомеостаза, обеспечивающего профилактику  
30           инфекционных заболеваний за счёт завершённого фагоцитоза и иммуносупрессии лимфоцитарного звена иммунитета.

Заявляемая группа изобретений, решающая проблему поддержания нормального состояния гомеостаза за счёт завершённого фагоцитоза, позволит создать эффективные профилактические препараты, отсутствующие в мире в

настоящее время, против таких опасных заболеваний как туберкулёз, СПИД, малярия, прионные инфекции и других, которые не могут решены традиционными подходами (только усилением антительной защиты).

5 Сказанное позволяет сделать вывод о наличии «изобретательского уровня» в заявляемой группе изобретений.

Группа изобретений поясняется иллюстрациями, где:

- на фиг. 1 – представлена электрофореграмма и хроматограмма композиции на основе белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза бычьего вида *M.bovis* (штамм №8);

10 - на фиг. 2 – хроматограмма композиции на основе белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза (смеси фильтратов убитых нагреванием культур микобактерий туберкулеза человеческого и бычьего видов);

- на фиг. 3 – хроматограмма композиции на основе белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя лейкоза крупного рогатого скота (вируса ВЛКРС);

- на фиг. 4 – хроматограмма композиции на основе белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя кандидоза (грибка *Candida albicans* штамм № 253);

20 - на фиг. 5 – хроматограмма композиции на основе белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя токсоплазмоза (штамм «РН» *Toxoplasma gondii*);

- на фиг.6 и фиг. 7 – представлен результат конфокальной микроскопии, доказывающий факт проникновения композиции на основе белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза бычьего вида *M.bovis*, в перитонеальные клетки (фиг.5) и клетки селезёнки (фиг.6);

- на фиг. 8 – 25 – представлены результаты флуоресцентной микроскопии, доказывающие факт присутствия и сохранения белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя заболевания, в иммунокомпетентных органах (клетках костного мозга, селезёнки, печени) мыши, а именно:

30 - на фиг. 8, 9 – представлены мазки отпечатки костного мозга, характеризующие факт присутствия через 7 дней (фиг. 8) и сохранения в течение 21 дня (фиг. 9) белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза бычьего вида *M.bovis*;



- на фиг. 10, 11 – представлены мазки отпечатки селезёнки, характеризующие факт присутствия через 7 дней (фиг. 10) и сохранения в течение 21 дня (фиг. 11) белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза бычьего вида *M.bovis*;
- 5           - на фиг. 12, 13 – представлены мазки отпечатки печени, характеризующие факт присутствия через 7 дней (фиг. 12) и сохранения в течение 21 дня (фиг. 13) белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза бычьего вида *M.bovis*;
- 10           - на фиг.14, 15 – представлены мазки отпечатки костного мозга, характеризующие факт присутствия через 7 дней (фиг. 14) и сохранения в течение 14 дней (фиг. 15) белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя лейкоза крупного рогатого скота;
- 15           - на фиг.16, 17 – представлены мазки отпечатки селезёнки, характеризующие факт присутствия через 7 дней (фиг. 16) и сохранения в течение 14 дней (фиг. 17) белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя лейкоза крупного рогатого скота;
- 20           - на фиг. 18, 19 – представлены мазки отпечатки печени, характеризующие факт присутствия через 7 дней (фиг. 18) и сохранения в течение 14 дней (фиг. 19) белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя лейкоза крупного рогатого скота;
- 25           - на фиг. 20, 21 – представлены мазки отпечатки костного мозга, характеризующие факт присутствия через 14 дней (фиг. 20) и сохранения в течение 21 дня (фиг. 21) белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя кандидоза;
- 30           - на фиг. 22, 23 – представлены мазки отпечатки селезёнки, характеризующие факт присутствия через 14 дней (фиг. 22) и сохранения в течение 21 дня (фиг. 23) белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя кандидоза;
- на фиг. 24, 25 – представлены мазки отпечатки печени, характеризующие факт присутствия через 14 дней (фиг. 24) и сохранения в течение 21 дня (фиг. 25) белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя кандидоза.
- Композицию, обладающую способностью поддержания нормального состояния гомеостаза, готовят следующим образом.
- Получают продукты разрушения возбудителя заболевания бактериальной, вирусной или грибковой этиологии, простейших и прионных инфекций. Для этого

возбудитель заболевания (например, микобактерии *M.bovis*, вирус лейкоза крупного рогатого скота, грибки *Candida albicans*, простейшие *Toxoplasma gondi* и пр.) культивируют на селективной питательной среде по общепринятой для каждого возбудителя методике. Затем полученные клетки бактерий или грибков, или культуры клеток с вирусным материалом, или культуры простейших микроорганизмов подвергают разрушению любым общепринятым для конкретного возбудителя методом (путём замораживания-оттаивания, механически и др.). В результате получают суспензию, которую подвергают центрифугированию с выделением надосадочной жидкости, содержащей продукты разрушения возбудителя и представляющей собой смесь белков, липидов, полисахаридов и пр.

Для получения белковой фракции жидкость с продуктами разрушения возбудителя осаждают соевым раствором (например, сульфатом аммония) и центрифугируют. Надосадок удаляют, а осадок перерастворяют в растворителе, например, соевом буферном растворе или дистиллированной воде или физиологическом растворе или другом растворителе. Проводят диализ, доводят pH раствора до 7,0-7,4, после чего определяют концентрацию белка общепринятыми методами, в частности – методом Лоури.

Для определения молекулярной массы полученного белка проводят электрофорез в 12,5% растворе полиакриламидного геля.

Жидкостную хроматографию высокого давления (HPLC) проводили, в частности, на жидкостном хроматографе «Стайер», с использованием спектрофотометрического детектора A214 (длина волны 214 нм). Для разделения использовали колонку BioSep-SEC-S 2000 5 мкм 145A, 300x7,8 мм. В качестве элюента применяли 0,01М фосфатно-соевой буфер, скорость потока - 1 мл в минуту, либо 0,01М фосфатно-соевой буфер с 0,025 % раствором азидата натрия pH 6,8 и при скорости потока 2 мл в минуту.

В качестве стандартов использовали бычий сывороточный альбумин с молекулярной массой 64 – 70 кДа, лактоферрин с молекулярной массой 75 – 80 кДа и папаин с молекулярной массой 20 кДа.

Учитывали такие стандартные показатели, как время задержки образца на колонке или время ретракции (RT, мин), интенсивность пиков по высоте (mAU) и относительно количественное содержание вещества, которое определялось как % отношения каждого пика к общей площади пиков (A, %).

В качестве продуктов разрушения возбудителя туберкулёза использовали ППД-туберкулин для млекопитающих, полученный из штамма *M.bovis* №8 и представляющий собой прозрачную жидкость светло-коричневого цвета (см. Инструкцию по применению туберкулина очищенного (ППД) для  
5 млекопитающих, утверждённую заместителем Руководителя Россельхознадзора 30.09.2011).

Кроме этого, в качестве продуктов разрушения возбудителя туберкулёза использовали смесь фильтратов убитых нагреванием культур микобактерий туберкулеза человеческого и бычьего видов, осажденных трихлоруксусной  
10 кислотой, предназначенную для массовой туберкулинодиагностики в виде пробы Манту (см., например, <http://privivka.spb.ru/vaccination/90>), а также Диаскинтест - внутрикожный диагностический тест, представляющий собой рекомбинантный белок, содержащий два связанных между собой антигена - ESAT6 и CFP10, характерных для вирулентных штаммов микобактерий туберкулеза (*Mycobacterium*  
15 *Tuberculosis* и *Mycobacterium Bovis*).

В качестве продуктов разрушения возбудителя лейкоза использовали антиген вируса лейкоза крупного рогатого скота, представляющий собой также прозрачную жидкость (см. Наставление по применению набора для серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота, утверждённое  
20 Департаментом ветеринарии Министерства сельского хозяйства и продовольствия РФ 03.02.97).

**Пример № 1.** Пример приготовления продуктов разрушения возбудителя кандидоза – грибка *Candida albicans* (штамм № 253).

Штамм *Candida albicans* № 253 засевают в пробирки с агаром Сабуро и  
25 культивируют в термостате при 28°C в течение 3 суток. Выросшую культуру смывают физиологическим раствором, высевают в бактериологические матрасы с питательным агаром Сабуро, приготовленным с использованием солевого раствора Хенкса. Проводят культивирование в термостате при 28°C в течение 6 суток. Полученную культуру смывают стерильной дистиллированной водой из расчёта 25  
30 мл на каждый матрас. Определяют концентрацию спор методом подсчёта в камере Горяева. Концентрацию спор доводят до  $4,5 \cdot 10^8$ - $5,5 \cdot 10^8$  микробных клеток в 1 см<sup>3</sup> дистиллированной водой.

Осуществляют разрушение полученных спор методом 20-ти кратного замораживания и оттаивания. Полученную суспензию центрифугируют при 3000

об/мин. в течение 30 минут. Надосадочную жидкость сливают. Она представляет собой продукты разрушения возбудителя кандидоза и состоит из растворимого белково-полисахаридного комплекса.

**Пример № 2.** Приготовление композиции.

5 Из надосадочной жидкости, полученной в результате разрушения возбудителя, готовят белковую фракцию следующим образом.

Для этого берут 100 мл надосадочной жидкости, добавляют 42 г сульфата аммония для осаждения белка, центрифугируют при 4500 об/мин. в течение 20 мин. Надосадок удаляют, а осадок перерастворяют в 1 мл 0,01М раствора фосфатно-  
10 солевого буфера. Диализуют при помощи диализной мембраны с диаметром пор 3500 Да в 0,01М растворе фосфатно-солевого буфера в течение 24 часов, доводят рН раствора до 7,2-7,4, после чего определяют концентрацию белка методом Лоури на биохимическом анализаторе StatFax 3300.

15 Выбор значений показателя рН растворителя объясняется значением показателя в клетках организма. Общеизвестно (см., например, <http://zenslim.ru/content>), что в клетках организма рН имеет значение около 7,0, во внеклеточной жидкости – 7,4.

При получении белковой фракции из продуктов разрушения возбудителя кандидоза она составляла 5 мг/мл, возбудителя туберкулёза – 4,8 мг/мл, возбудителя  
20 лейкоза – 4,38 мг/мл.

Для обоснования граничных значений концентрации белковой фракции был проведён ряд экспериментов, аналогично описанному в примере 2. Во всех случаях концентрация белка была в пределах от 4,0 мг/мл до 6,0 мг/мл.

25 **Пример № 3.** Результаты электрофореза и HPLC – хроматографии показали следующее.

В композиции на основе белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза бычьего вида *M.bovis* (штамм №8) основные белки имели молекулярную массу 14-16 кДа, 60-64кДа и 90 кДа (см. фиг.1).

30 В композиции на основе белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза (смеси культур микобактерий туберкулеза человеческого и бычьего видов) основные белки имели молекулярную массу 15-20 кДа (см. фиг. 2, таблица 1).

Результат хроматографии композиции на основе белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза

№ п/п	Время, мин	Высота, mAU	Площадь, mAU*сек	Разрешение, n, n+1	A, %	M масса, кДа
	18,54	100,18	3234,48	0,00	100	15-20

5 В композиции из рекомбинатного белка (диаскинтеста) основные белки имели молекулярную массу 9 кДа.

10 Из хроматограммы композиции на основе белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя лейкоза крупного рогатого скота (вируса ВЛКРС) следует (см. фиг.3, таблица 2), что она состоит из 3-х фракций белка. По времени ретракции можно судить, что молекулярная масса белков составляет более 80 кДа.

Таблица 2

Результат хроматографии композиции на основе белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя лейкоза

№ п/п	Время, мин	Высота, mAU	Площадь, mAU*сек	Разрешение, n, n+1	A, %	M масса, кДа
	4,854	1,65	19,79	3,04	7,5	Более 80
	6,261	3,33	74,18	1,12	28,2	Более 80
	6,881	7,43	169,14	0	64,3	Более 80

5

Результаты HPLC – хроматографии (см. фиг.4 и таблицу 3) композиции на основе белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя кандидоза (грибка *Candida albicans* штамм № 253) показали, что композиция состоит из 6 различных белковых структур. По времени ретракции можно судить, что основные белки имеют молекулярную массу 15 -20 кДа. Относительное количественное содержание данных белков составляет 5,7; 56,5 и 8,7 % соответственно.

10

Таблица 3.

15

Результат хроматографии композиции на основе белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя кандидоза

№ п/п	Время, мин	Высота, mAU	Площадь, mAU*сек	Разрешение, n, n+1	A, %	M масса, кДа
1.	7,653	1,37	84,00	4,22	3,13	80
2.	14,43	0,07	152,54	1,24	5,68	20
3.	16,2	31,41	1519,69	1,54	56,54	20
4.	17,91	7,04	234,22	1,45	8,71	15
5.	19,21	1,52	47,69	2,69	1,77	менее 6
6.	22,01	13,42	649,54	0,00	24,17	менее 6

Из хроматограммы (см.фиг. 5, таблица 4) композиции на основе белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя токсоплазмоза (штамм «RH» *Toxoplasma gondii*) следует, что композиция состоит из одной фракции белка с молекулярной массой 65 кДа.

20

Таблица 4.

Результат хроматографии композиции на основе белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя токсоплазма

№ п/п	Время, мин	Высота, mAU	Площадь, mAU*сек	Разрешение, n, n+1	A, %	М масса, кДа
	5,4829	95,05	621,54	0,00	100	Более 65

5

**Пример № 4.** Для доказательства факта проникновения композиции в иммунокомпетентные органы проводили эксперимент по взаимодействию композиции, меченой флюоресцеинизотиоцианатом (ФИТЦ), с перитонеальными и лимфоидными клетками. Обоснование эффекта проникновения композиции в перитонеальные и лимфоидные клетки показано на примере композиций на основе водорастворимой белковой фракции из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза. При этом, использовали композиции с молекулярными массами 9 кДа, 14 кДа, 64 кДа и 90 кДа.

Конъюгирование композиций с флюоресцеинизотиоцианатом проводили по общепринятой методике. Выделение и культивирование перитонеальных макрофагов и клеток селезенки морской свинки также проводилось по стандартным методикам.

Исследуемые суспензии перитонеальных клеток и клеток селезенки разводили до конечной концентрации  $1.0 \times 10^9$  кл/мл. К 100 мкл полученных суспензий стерильно добавляли композицию, меченую ФИТЦ, и культивировали при 37°C в течение 48 часов. После инкубации готовили влажные препараты для микроскопии.

Микроскопические исследования проводили на микроскопе «Leica DM 2500» в режиме темного поля и флуоресценции и на конфокальном микроскопе Leica TCS-SP5 (Leica Microsystems, Германия). Для возбуждения флуоресценции использовали аргоновый лазер, излучающий на длинах волн 458 и 543 нм и гелий-неоновый лазер, излучающий на длине волны 633 нм.

Результаты эксперимента показали, что фракции туберкулина с большой молекулярной массой (90кДа) локализовывались на внешних мембранных структурах фагоцитирующих клеток и не обладали ярко выраженной биологической активностью. Установлено, что белковые фракции 9-14 кДа обладали способностью проникать во внутриклеточное пространство фагоцитирующих клеток и ярко

выраженной биологической активностью. Белковая фракция из туберкулина, меченого ФИТЦ, проникала как в перитонеальные клетки (см. фиг. 6), так и в лимфоциты (см. фиг. 7), однако интенсивность флуоресценции в лимфоидных клетках была более низкой по сравнению с перитонеальными. Это может  
 5 опосредованно говорить о менее интенсивном проникновении туберкулина, меченого ФИТЦ, в лимфоидные клетки.

**Пример № 5.** Приготовление препарата на основе композиции осуществляют следующим образом.

10 Готовят солевой раствор муравьиного альдегида в концентрации 0,036%. Для этого берут 0,1 мл медицинского раствора муравьиного альдегида (формальдегида) 36,5% концентрации, добавляют его в 99,9 мл изотонического раствора хлористого натрия 0,9% концентрации. Смесь перемешивают. Конечная концентрация формальдегида будет составлять 0,036%.

15 Затем смешивают в равных частях полученный солевой раствор муравьиного альдегида и композицию на основе белковой фракции из продуктов разрушения конкретного возбудителя.

Конечная концентрация компонентов препарата будет следующей, мас. %:

водорастворимая белковая фракция	
с молекулярной массой 6-90 кДа,	
20 выделенная из продуктов разрушения	
возбудителя заболевания .....	0,3%
солевой буферный раствор.....	49,7
солевой раствор муравьиного альдегида	
0,036 % концентрации .....	остальное

25

**Пример № 6.**

Факт проникновения композиции и препарата на основе этой композиции, а также факт сохранения её в иммунокомпетентных органах изучали на белых мышах.

30 При этом, осуществляли конъюгирование композиций с флюорисцеинизотиоционатом (ФИТЦ).

В эксперимент были взяты 63 мышки массой 20-25 грамм. Животных разбили на 7 групп (по 9 голов в каждой).

Животным трёх групп осуществляли внутримышечное введение по 0,1 мл композиции на основе белковой фракции, меченой ФИТЦ, а животным других трёх



групп - по 0,1 мл препарата на основе данной композиции, 7 группа была контрольной, животным этой группы вводили по 0,1 мл физиологического раствора.

Наименование групп с указанием вводимых компонентов приведены ниже.

Наименование группы	Вводимый компонент
1 группа (n=9)	Композиция на основе белковой фракции из продуктов разрушения возбудителя кандидоза, меченая ФИТЦ
2 группа (n=9)	Препарат на основе композиции, содержащей белковую фракцию из продуктов разрушения возбудителя кандидоза, меченой ФИТЦ
3 группа (n=9)	Композиция на основе белковой фракции из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза, меченая ФИТЦ
4 группа (n=9)	Препарат на основе композиции, содержащей белковую фракцию из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза, меченой ФИТЦ
5 группа (n=9)	Композиция на основе белковой фракции из продуктов разрушения возбудителя лейкоза, меченая ФИТЦ
6 группа (n=9)	Препарат на основе композиции, содержащей белковую фракцию из продуктов разрушения возбудителя лейкоза, меченой ФИТЦ
7 группа (n=9)	Физиологический раствор

5

Через 7, 14 и 21 день проводили убой по 3 мыши из группы и постмортально были получены мазки отпечатки костного мозга, селезёнки и почки.

Микроскопию мазков проводили на микроскопе Leica DMi 3000B с использованием режима флуоресценции. Захват и анализ изображения достигается с помощью цифровой видеокамеры LeicaDFC420C и программы LeicaApplicationSuite.

10 Результаты показали следующее.

Композиция на основе белковой фракции сохраняется в иммунокомпетентных органах разное время в зависимости от типа возбудителя. В частности, белковая фракция, выделенная из продуктов разрушения возбудителей туберкулёза и лейкоза, присутствует в клетках костного мозга, селезёнки и печени до 7 дней (см. фиг. 8, 10, 12, 14, 16, 18), а белковая фракция, выделенная из продуктов разрушения возбудителя кандидоза – до 14 дней (см. фиг. 20, 22, 24).

15

Вместе с тем, введение препаратов, изготовленных на основе вышеуказанных композиций, позволяет увеличить время сохранения в иммунокомпетентных органах белковых фракций, выделенных из продуктов разрешения возбудителя лейкоза до 14 дней (см. фиг. 15, 17, 19), а белковых фракций, выделенных из продуктов разрушения возбудителей туберкулёза и кандидоза – до 21 дня (срок наблюдений) (см. фиг 9, 11, 13, 21, 23, 25).

#### Пример № 7.

Для обоснования молекулярной массы используемых белковых фракций в композиции и препарате проводили биохимические и гематологические исследования крови лабораторных животных, в качестве которых использовали морских свинок и кроликов.

Использовали препарат, содержащий белковую фракцию из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза, в частности – туберкулина, имеющую различные молекулярные массы, а именно – 9 кДа, 16 кДа, 64 кДа и 90 кДа.

В первом варианте исследований препарат содержал следующие компоненты, мас. %:

	Водорастворимая белковая фракция	
	с молекулярной массой 9 кДа,	
	выделенная из туберкулина, .....	0,25
20	солевой буферный раствор .....	49,75
	солевой раствор муравьиного альдегида	
	0,036% концентрации .....	остальное

Во втором варианте исследований препарат содержал следующие компоненты, мас. %:

25	Водорастворимая белковая фракция	
	с молекулярной массой 16 кДа,	
	выделенная из туберкулина, .....	0,25
	солевой буферный раствор .....	49,75
	солевой раствор муравьиного альдегида	
30	0,036% концентрации .....	остальное

Аналогичный состав препарата был и при использовании белковой фракции с молекулярной массой 64 кДа и 90 кДа.

Морским свинкам препарат вводили в количестве по 0,3 мл препарата на одно животное, а кроликам – по 2 мл. У морских свинок брали кровь из сердца до и после

введения препарата, а у кроликов – из краевой ушной вены. Для исследований получали гепаринизированную плазму.

Биохимические и гематологические параметры определяли по унифицированным методикам.

- 5 Результаты биохимических исследований представлены в таблицах 5 и 6, при этом в таблице 5 – при введении препарата, содержащего белковую фракции из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза с размерами молекулярной массы 16 кДа и 64 кДа, а в таблице 6 – с размерами 9 кДа и 90 кДа.

Таблица 5

- 10 Результаты биохимических исследований крови морских свинок при введении препарата, содержащего белковую фракцию из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза с молекулярными массами 16 кДа и 64 кДа

Наименование биохимических показателей	16 кДа				64 кДа			
	Контроль		Опыт		Контроль		Опыт	
	М	m	М	m	М	m	М	m
АСТ, мккат	1,21	0,4	0,76	0,1	1,24	0,3	1,64	0,4
АЛТ, мккат	0,54	0,1	0,52	0,1	0,59	0,2	0,64	0,3
Коэффициент Де Ритиса	2,52	0,9	1,83	0,5	2,83	0,7	3,84	1,3
Креатинкиназа, мккат	9,08	1,3	6,35	2,0	8,98	1,0	22,40	11,8
ЛДГ, мккат	1,20	0,2	2,08	0,8	1,38	0,2	2,72	0,7
Индекс ферментемии	13,0	4,1	6,90	1,8	12,33	2,7	12,40	5,4
ГГТ, мккат	0,12	0,04	0,13	0,005	0,20	0,1	0,15	0,05
Щел. фосфатаза, мккат	0,68	0,1	0,83	0,1	0,90	0,1	1,17	0,1
Кисл. фосфатаза, мккат	0,28	0,1	0,19	0,05	0,22	0,05	0,14	0,04
Индекс фосфатаз	3,00	0,6	5,58	1,3	6,62	1,8	16,65	8,9
Общий белок, г/л	51,72	5,5	49,61	7,0	47,14	3,4	41,65	3,8
Альбумин, г/л	29,62	2,6	29,75	1,8	31,34	1,8	29,54	0,9
Глобулин, г/л	22,10	3,6	19,86	6,0	15,80	2,8	12,10	3,4
Альбумин/Глобулин	1,47	0,2	4,71	3,4	2,67	0,6	3,76	1,3
Мочевина, ммоль/л	6,66	0,7	7,58	0,8	7,86	0,8	11,19	1,7
Мочевая кислота, мкмоль/л	218,10	64,9	108,00	5,7	207,01	32,7	142,95	7,6
Креатинин, мкмоль/л	44,20	4,6	71,17	4,2	40,59	6,3	49,21	5,1
Белок/Мочевина	134,28	20,0	109,55	13,1	111,06	14,8	70,02	14,2
Глюкоза, ммоль/л	4,10	0,4	4,98	0,6	4,04	0,2	5,22	0,3
Холестерин общий, ммоль/л	1,36	0,1	1,94	0,2	1,34	0,1	1,46	0,2
Хс-ЛПВП, ммоль/л	0,73	0,3	1,09	0,1	0,72	0,1	0,88	0,2
Хс-ЛПНП, ммоль/л	0,29	0,2	0,51	0,2	0,19	0,1	0,06	0,04
Хс-ЛПОНП, ммоль/л	0,48	0,02	0,40	0,04	0,50	0,02	0,54	0,1
Триглицериды, ммоль/л	1,06	0,05	0,87	0,1	1,10	0,05	1,18	0,2

Индекс атерогенности	2,43	1,2	0,78	0,2	1,69	0,6	0,84	0,3
Кальций ионизир., ммоль/л	2,67	0,3	2,33	0,2	2,60	0,2	1,50	0,1
Фосфор неорг., ммоль/л	9,51	0,8	7,50	0,4	8,43	0,6	5,52	0,3
Билирубин общий, мкмоль/л	12,78	2,2	16,34	6,3	11,37	2,7	18,67	8,9
Билирубин прямой, мкмоль/л	3,34	1,6	10,28	7,1	2,89	0,8	6,57	2,5
Билирубин не прямой, мкмоль/л	9,44	1,8	6,06	2,7	8,48	2,5	12,10	8,9

Таблица 6

Результаты биохимических исследований крови при введении препарата, содержащего белковую фракцию из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза с молекулярными массами 9 кДа (морские свинки) и 90 кДа (кролики)

Наименование биохимических показателей	9 кДа				90 кДа			
	Контроль		Опыт		Контроль		Опыт	
	М	m	М	m	М	m	М	m
АСТ, мккат	1,13	0,2	1,26	0,1	1,48	0,1	0,73	0,1
АЛТ, мккат	0,86	0,2	0,73	0,1	1,10	0,09	0,52	0,07
Коэффициент Де Ритиса	1,24	0,3	1,75	0,2	1,34	0,04	1,38	0,2
Креатинкиназа, мккат	12,28	0,6	17,54	0,8	70,58	15,2	5,42	0,5
ЛДГ, мккат	4,45	0,3	2,00	0,3	11,02	3,0	3,25	0,6
Индекс ферментемии	3,93	0,4	14,81	0,9	8,57	1,3	3,36	0,3
ГГТ, мккат	0,12	0,1	0,10	0,1	0	0	0,07	0,03
Щел. фосфатаза, мккат	0,92	0,3	0,94	0,1	4,13	0,3	4,29	0,7
Кисл. фосфатаза, мккат	0,12	0,1	0,15	0,1	2,38	0,2	2,11	0,4
Индекс фосфатаз	9,40	1,2	10,05	0,9	1,75	0,1	2,31	0,8
Общий белок, г/л	63,98	1,5	49,17	0,5	56,36	3,1	51,85	1,8
Альбумин, г/л	39,54	0,7	34,77	0,6	32,25	1,6	40,66	7,2
Глобулин, г/л	24,44	1,6	14,40	0,8	24,12	4,4	11,19	6,0
Альбумин/Глобулин	4,10	0,6	3,21	0,4	1,47	0,3	6,57	2,7
Мочевина, ммоль/л	10,41	0,4	9,82	0,5	4,23	0,4	2,18	0,3
Мочевая кислота, мкмоль/л	140,67	1,5	139,49	1,4	83,61	8,1	52,81	0,4
Креатинин, мкмоль/л	18,36	1,4	40,42	0,8	50,37	1,1	59,21	3,9
Белок/Мочевина	112,04	3,3	86,90	1,2	225,03	14,6	416,85	65,2
Глюкоза, ммоль/л	5,41	0,4	4,57	0,2	12,73	1,7	10,93	0,2
Холестерин общий, ммоль/л	1,15	0,2	1,19	0,2	2,09	0,6	1,30	0,2
Хс-ЛПВП, ммоль/л	0,34	0,1	0,41	0,1	0,46	0,08	0,54	0,07
Хс-ЛПНП, ммоль/л	0,48	0,2	0,44	0,1	0,99	0,2	0,30	0,1
Хс-ЛПОНП, ммоль/л	0,32	0,1	0,33	0,1	0,63	0,1	0,45	0,07
Триглицериды, ммоль/л	0,71	0,1	0,72	0,1	1,38	0,2	0,99	0,1
Индекс атерогенности	2,30	0,2	2,08	0,3	3,30	0,5	1,40	0,2

Кальций ионизир., ммоль/л	1,50	0,4	2,01	0,1	3,91	0,2	2,76	0,2
Фосфор неорг., ммоль/л	3,55	0,4	2,12	0,2	4,09	0,1	3,17	0,6
Билирубин общий, мкмоль/л	15,42	0,8	14,3 9	0,7				
Билирубин прямой, мкмоль/л	3,29	0,5	2,62	0,4				
Билирубин непрямой, мкмоль/л	12,13	0,9	11,7 7	0,6				

Результаты гематологических исследований представлены в таблицах 7 и 8.

Таблица 7.

5 Результаты гематологических исследований крови морских свинок при введении препарата, содержащего белковую фракцию из продуктов разрушения возбудителя туберкулеза с молекулярными массами 16 кДа и 64 кДа

Наименование гематологических показателей	Контроль		16 кДа		64 кДа	
	М	м	М	м	М	м
Гемоглобин, г/л	121,08	5,2	117,67	2,8	111,91	2,5
Лейкоциты, Г/л	10,72	2,6	5,95	0,6	6,95	1,3
Эритроциты, Т/л	3,58	0,2	5,22	1,0	3,60	0,7
Тромбоциты, Г/л	267,70	45,5	474,44	170,1	359,74	80,8
Базофилы, Г/л	0,06	0,04	0	0	0,02	0,02
Базофилы, %	0,50	0,2	<b>0</b>	<b>0</b>	0,20	0,2
Эозинофилы, Г/л	0,26	0,1	0,41	0,2	0,18	0,1
Эозинофилы, %	3,30	0,8	7,20	2,4	3,00	1,7
Гетерофилы, Г/л	0,24	0,1	0,15	0,02	0,12	0,04
Гетерофилы, %	2,50	0,7	2,6	0,5	2,00	0,8
Палочкоядерные нейтрофилы, Г/л	0,37	0,1	0,17	0,05	0,13	0,1
Палочкоядерные нейтрофилы, %	3,20	0,6	3,00	1,0	2,40	1,0
Сегментоядерные нейтрофилы, Г/л	2,46	0,7	1,13	0,2	<b>0,54</b>	<b>0,1</b>
Сегментоядерные нейтрофилы, %	21,50	2,3	20,80	4,9	<b>8,60</b>	<b>1,8</b>
Лимфоциты, Г/л	7,11	1,6	4,00	0,9	5,47	1,1
Лимфоциты, %	67,00	3,6	64,80	7,1	<b>78,40</b>	<b>3,2</b>
Моноциты, Г/л	0,24	0,1	0,10	0,03	<b>1,74</b>	<b>0,3</b>
Моноциты, %	2,10	0,4	1,6	0,4	5,20	2,2

10 Примечание: жирным шрифтом показаны достоверные отличия от контроля, заливкой - достоверные различия опытных групп между собой

Таблица 8

Результаты гематологических исследований крови морских свинок при введении препарата, содержащего белковую фракцию из продуктов разрушения возбудителя туберкулёза с молекулярной массой 9 кДа

5

Наименование гематологических показателей	Контроль		9 кДа	
	М	m	М	m
Гемоглобин, г/л	68,50	1,8	111,50	1,5
Лейкоциты, Г/л	13,42	0,9	12,62	0,9
Эритроциты, Т/л	2,04	0,3	3,36	0,3
Тромбоциты, Г/л	200,00	2,6	208,00	2,5
Базофилы, Г/л	0,09	0,06	0,02	0,02
Базофилы, %	0,75	0,2	0,50	0,2
Эозинофилы, Г/л	0,43	0,2	0,30	0,2
Эозинофилы, %	3,50	0,3	3,25	0,3
Гетерофилы, Г/л	0,23	0,1	0,12	0,1
Гетерофилы, %	1,50	0,2	1,50	0,2
Палочкоядерные нейтрофилы, Г/л	0,28	0,1	0,25	0,2
Палочкоядерные нейтрофилы, %	3,25	0,2	2,75	0,3
Сегментоядерные нейтрофилы, Г/л	2,28	0,4	1,78	0,4
Сегментоядерные нейтрофилы, %	19,50	0,7	20,50	0,8
Лимфоциты, Г/л	8,82	0,8	6,78	0,7
Лимфоциты, %	69,00	0,7	68,75	0,7
Моноциты, Г/л	0,42	0,2	0,25	0,1
Моноциты, %	2,50	0,3	2,75	0,4

Из таблиц 5-8 видно, что введение препарата с белковой фракцией с размерами молекулярной массы 9 кДа изменяет биохимические и гематологические параметры.

10 В группе 9 кДа (см. таблицу 6) из 31 биохимического показателя достоверные изменения обнаружены по 9 из них (29% параметров). Снижена концентрация общего белка, альбуминов, глобулинов, соотношение белок/мочевина, повышена концентрация креатинина. Кроме того, повышена активность креатинкиназы и значения индекса ферментемии, снижена активность ЛДГ и концентрация  
15 фосфатионов.

Указанные изменения свидетельствуют об интенсификации энергетического обмена за счет аэробного окисления и о торможении пластического обмена. Азотистый и пигментный обмены сбалансированы. Интенсивность углеводного и

минерального обменов имеет тенденцию к снижению, но остается в пределах референтных значений.

Повышена концентрация гемоглобина, содержание эритроцитов и тромбоцитов (см. таблицу 8), что согласуется с выводом об интенсификации энергетического обмена за счет аэробного окисления.

В группе 16 кДа (см. таблицу 5) из 31 биохимического показателя достоверные изменения обнаружены лишь по трем из них (менее 10% параметров). В целом метаболический статус остался на исходном уровне при незначительном увеличении катаболизма. Выраженных гематологических изменений не наблюдается (см. таблицу 7).

В группе 64 кДа (см. таблицу 5) из 31 показателя достоверные изменения обнаружены по пяти из них (около 16% параметров). Концентрация глюкозы повышена. Снижена концентрация мочевой кислоты, ионизированного кальция, неорганического фосфора, а также отношение общего белка к мочеvine. Подобная динамика может быть результатом увеличения экскреции указанных веществ с мочой.

В гематограмме (см. таблицу 7) наблюдается агранулоцитарный сдвиг, свидетельствующий об усилении клеточного иммунитета за счет макрофагов.

В группе 90 кДа (см. таблицу 6) из 27 исследованных биохимических параметров достоверные изменения регистрируются по 15 позициям, что составляет 55,5%. Выявленная динамика биохимических параметров свидетельствует об увеличении интенсивности как пластического, так и энергетического обмена с преобладанием первого, об увеличении интенсивности белкового и углеводного обменов, о снижении интенсивности пуринового обмена. Липидный обмен изменялся незначительно.

Выбор диапазона молекулярных масс (от 6 кДа до 90 кДа) обусловлен следующим. Общеизвестно (см., например, <http://xumuk.ru/encyklopedia/2/3228.html>), что белками считаются полипептидные соединения с относительной молекулярной массой больше 6 кДа. Таким образом, нижняя граница молекулярной массы в заявляемой композиции объясняется возможностью существования водорастворимой белковой фракции возбудителя именно с таким низким значением молекулярной массы, которое будет способно приводить к нормализации гомеостаза.

Верхняя граница значений молекулярной массы (90 кДа) была подобрана экспериментальным путём. При введении препарата с молекулярной массой 90 кДа наблюдаются значительные изменения биохимических показателей (до 55,5%), что отражено в таблице 5 и примере 7 данного описания.

5           **Пример № 8**, доказывающий эффективность профилактических мероприятий при защите животных от возможного заражения туберкулёзом в очаге инфекции.

Исследования проводились в хозяйстве, неблагополучном по туберкулёзу.

10           Диагноз был поставлен на основе патологоанатомических изменений, характерных для туберкулёза: заглочные и средостенные лимфатические узлы были увеличены, бугристые, на разрезе наблюдались известковые отложения; в лёгких были обнаружены капсулированные известковые узелки.

Диагноз на туберкулёз был подтверждён бактериологически.

15           На протяжении двух лет в хозяйстве проводились систематические аллергические исследования для выявления заражённых животных, которые сдавались на убой. Из 460 голов крупного рогатого скота за два года было вынужденно убито 388 (84,4%) голов, в том числе коровы и телята, у которых в большинстве случаев регистрировалась генерализованная форма туберкулёза.

20           На этом фоне вновь нарождающееся поголовье телят (в возрасте 3-5 дней) было обработано заявляемым препаратом для стабилизации гомеостаза на основе композиции, содержащей белковую фракцию из продуктов разрушения микобактерий *M.bovis* (из туберкулина) с молекулярной массой 16 кДа со следующим содержащим компонентов, мас. %:

25	Водорастворимая белковая фракция с молекулярной массой 16 кДа, выделенная из туберкулина, .....	0,25
	солевой буферный раствор .....	49,75
	солевой раствор муравьиного альдегида 0,036% концентрации .....	остальное

30           Препарат вводили в соответствии с заявляемым способом сохранения нормального состояния гомеостаза: внутримышечно однократно в дозе 5 мл на голову.

Всего было обработано 55 телочек.

За животными вели наблюдения в течение 3-х лет. Животные находились постоянно в контакте со всеми инфицированными и больными животными.



Ни одно животное не заразилось и не заболело туберкулёзом, даже после отёла.

У 10 полугодовальных телочек, из которых 5 были обработаны препаратом в 3-5 дневном возрасте, и 5 были необработанными (контрольные), брали кровь и определяли количество лимфоцитов и уровень глобулинов.

У контрольных и опытных животных количество лимфоцитов было одинаковым: соответственно  $1,63 \pm 0,30$  и  $1,55 \pm 0,31$ .

Уровень глобулинов в сыворотке крови у контрольных животных был в 2,6 раза выше по сравнению с опытными и составлял  $4,9 \pm 0,7$  (у опытных –  $1,9 \pm 1,2$ ). Это является свидетельством развития иммуносупрессии лимфоцитарного звена иммунитета и приводит к снижению выработки антител. Данные результаты свидетельствуют о защите животных от инфекции за счёт активизации завершённого фагоцитоза.

**Пример № 9**, обосновывающий активизацию завершённого фагоцитоза.

Одновременно с этим проводили исследования по определению фагоцитарного звена иммунитета: определяли фагоцитарное число, фагоцитарную активность и фагоцитарный индекс по общепринятым методикам.

Формировали опытную и контрольную группы телят по принципу аналогов. У телят брали кровь в 2 - 3-х дневном возрасте и определяли показатели фагоцитоза.

Телятам опытной группы в возрасте 3-5 дней вводили препарат, описанный в примере № 8, а телятам контрольной группы вводили физиологический раствор.

Через 25-30 дней производили повторное взятие крови и определение показателей фагоцитоза. Результаты представлены в таблице 9.

25

Таблица 9

Показатели фагоцитоза

Телята	Результаты фагоцитоза		
	Фагоцитарное число (у.е.)	Фагоцитарная активность (%)	Фагоцитарный индекс (у.е.)
до 3-х дней (необработанные)	$1,9 \pm 0,14$	$51,0 \pm 5,9$	$3,4 \pm 0,5$
25-30 дней (контрольные)	$7,7 \pm 1,1$	$82,0 \pm 4,5$	$9,1 \pm 0,8$

25-30 дней (опытные)	$2,5 \pm 0,31$	$54,0 \pm 1,5$	$4,6 \pm 0,6$
-------------------------	----------------	----------------	---------------

Из таблицы 9 следует, что введение препарата обеспечивает стабилизацию гомеостаза по фагоцитарному числу (до введения  $1,9 \pm 0,14$ , после введения  $2,5 \pm 0,31$  – разница недостоверна), фагоцитарной активности (до введения  $51,0 \pm 5,9$ , после введения  $54,0 \pm 1,5$  – разница недостоверна), фагоцитарному индексу (до введения  $3,4 \pm 0,5$ , после введения  $4,6 \pm 0,6$  – разница недостоверна). Телята опытной группы оставались устойчивы к заражению туберкулёзом на протяжении 3-х лет (срок наблюдения).

У животных контрольной группы эти показатели достоверно изменились, что свидетельствует о нарушении гомеостаза и, как следствие, телята в дальнейшем заразились туберкулёзом.

В экспериментах, проведённых на лабораторных животных (морских свинках и крысах) доказано, что введение препарата обеспечивает завершённость фагоцитоза путём активизации внутриклеточного кислороднезависимого, кислородзависимого киллинга микобактерий и снижение активности миелопероксидазы.

#### **Пример № 10.**

Для обоснования верхней границы процентного содержания в препарате раствора муравьиного альдегида были проведены исследования по использованию растворов в концентрациях 0,055% и 0,07% в сочетании с белковой фракцией из продуктов разрушения возбудителя кандидоза.

Исходя из хроматографических исследований белковой фракции, выделенной из продуктов разрушения возбудителя кандидоза (см. фиг. 3 и таблицу 3 данного описания), основные белки имеют молекулярную массу 15-20 кДа, что составляет 70,9% от всего количественного содержания белков.

25       Препарат содержал следующие компоненты, мас. %:

Водорастворимая белковая фракция

с молекулярной массой 20 кДа,

выделенная из продуктов разрушения грибка *Candida albicans* .. 0,27

солевой буферный раствор ..... 49,73

30       солевой раствор муравьиного альдегида

0,07% концентрации .....остальное

Препарат вводили морским свинкам в количестве по 0,3 мл препарата на одно животное. У морских свинок брали кровь из сердца до и после введения препарата и получали гепаринизированную плазму. Определяли биохимические и гематологические параметры, аналогично описанным в примере №7.

- 5 В таблицах 10 и 11 представлены результаты биохимических и гематологических исследований крови морских свинок при введении препарата, содержащего раствор муравьиного альдегида в концентрации 0,07% и белковую фракцию из продуктов разрушения возбудителя кандидоза с молекулярной массой 20 кДа.

10

Таблица № 10.

Результаты биохимических исследований крови морских свинок при введении препарата, содержащего раствор муравьиного альдегида в концентрации 0,07% и белковую фракцию из продуктов разрушения возбудителя кандидоза с молекулярной массой 20 кДа

5

Параметры	Контроль		Опыт	
	М	м	М	м
АСТ, мккат	2,13	0,2	0,32	0,1
АЛТ, мккат	0,77	0,1	0,51	0,1
Коэффициент Де Ритиса	3,09	0,2	0,76	0,1
Креатинкиназа, мккат	25,53	0,9	33,64	0,8
ЛДГ, мккат	4,45	0,3	8,73	0,3
Индекс ферментемии	8,67	0,3	5,04	0,3
ГГТ, мккат	0,26	0,05	0,13	0,04
Щелочная фосфатаза, мккат	1,49	0,1	1,97	0,1
Кислая фосфатаза общая, мккат	3,58	0,2	0,51	0,1
Кислая фосфатаза тартратрезистентная, мккат	0,11	0,05	0,22	0,1
Индекс фосфатаз	0,43	0,05	4,45	0,2
Общий белок, г/л	55,52	0,5	70,20	0,8
Альбумин, г/л	36,44	0,4	37,71	0,5
Глобулин, г/л	19,08	0,4	32,49	0,8
Альбумин/Глобулин	2,03	0,1	1,71	0,2
Мочевина, ммоль/л	5,34	0,2	4,31	0,2
Мочевая кислота, мкмоль/л	152,69	1,02	181,08	1,3
Креатинин, мкмоль/л	50,57	0,6	46,66	0,6
Белок/Мочевина	177,88	1,1	289,87	2,0
Глюкоза, ммоль/л	5,28	0,2	6,26	0,2
Холестерин общий, ммоль/л	1,82	0,1	1,27	0,1
Хс-ЛПВП, ммоль/л	0,52	0,1	0,92	0,1
Хс-ЛПНП, ммоль/л	0,80	0,1	0	0
Хс-ЛПОНП, ммоль/л	0,49	0,04	0,58	0,1
Триглицериды, ммоль/л	1,08	0,1	1,26	0,1
Индекс атерогенности	2,55	0,2	0,23	0,1
Кальций ионизированный, ммоль/л	2,30	0,1	1,62	0,1
Фосфор неорганический, ммоль/л	13,02	0,3	1,47	0,1
Билирубин общий, мкмоль/л	23,04	0,9	7,29	0,4
Билирубин прямой, мкмоль/л	16,44	0,8	1,89	0,2
Билирубин не прямой, мкмоль/л	6,60	0,4	5,40	0,4

Таблица №11

Результаты некоторых гематологических исследований крови морских свинок при введении препарата, содержащего раствор муравьиного альдегида в концентрации 0,07%

5 и белковую фракцию из продуктов разрушения возбудителя кандидоза с молекулярной массой 20 кДа.

Параметры	Контроль		Опыт	
	М	м	М	м
Базофилы, %	0,50	0,1	0,17	0,1
Эозинофилы, %	1,17	0,2	0,83	0,2
Гетерофилы, %	2,17	0,2	2,50	0,3
Палочкоядерные нейтрофилы, %	1,50	0,2	1,50	0,2
Сегментоядерные нейтрофилы, %	21,50	0,7	16,83	0,4
Лимфоциты, %	70,33	0,8	76,33	0,5
Моноциты, %	2,83	0,2	2,50	0,1

Из полученных данных биохимических исследований (см. таблицу 10) следует, что введение препарата, содержащего раствор муравьиного альдегида в концентрации 0,07%, приводит к значительному изменению гомеостаза – из 31 исследованных биохимических параметров достоверные изменения регистрируются по 23 позициям, что составляет 74,2%. Изменения касаются как белкового, углеводного, липидного и минерального обменов.

15 Гематологические исследования свидетельствуют об изменении и некоторых параметров иммунного статуса животных (см. таблицу 11).

Введение препарата, содержащего раствор муравьиного альдегида в концентрации 0,055% приводит к незначительному изменению гомеостаза – из 31 исследованных биохимических параметров достоверные изменения были обнаружены по 7 позициям, что составляет 22,6%.

#### 20 **Пример № 11.**

Для обоснования нижней границы процентного содержания в препарате раствора муравьиного альдегида были проведены исследования на морских свинках по определению биохимических параметров крови при введении разных концентраций раствора муравьиного альдегида: 0,036%; 0,018%; 0,0018%; 0,00018%; 25 0,000018%.

Полученные данные свидетельствуют, что введение концентраций от 0,036% до 0,00018% не изменяет биохимические параметры, характеризующие белковый, липидный, углеводный и минеральный обмены веществ. Концентрация формальдегида в размере 0,000018% приводит к незначительным изменениям

параметров - из 31 исследованных биохимических параметров достоверные изменения были обнаружены по 6 позициям, что составляет 19%.

5 Таким образом, заявляемая группа изобретений позволяет решить задачу предупреждения нарушений гомеостаза, проявляемых при любых инфекционных заболеваниях за счёт использования определённой фракции белка, выделенной из возбудителей инфекционных заболеваний и обеспечивающей защиту организма за счёт завершённого фагоцитоза без активизации лимфоцитарного и фагоцитарного звеньев иммунитета и нарушений белкового, углеводного, липидного и минерального обменов.

10 Группа изобретений позволит расширить арсенал профилактических средств, направленных на защиту организма человека и животных в очагах инфекций и при угрозе распространения инфекционных заболеваний.

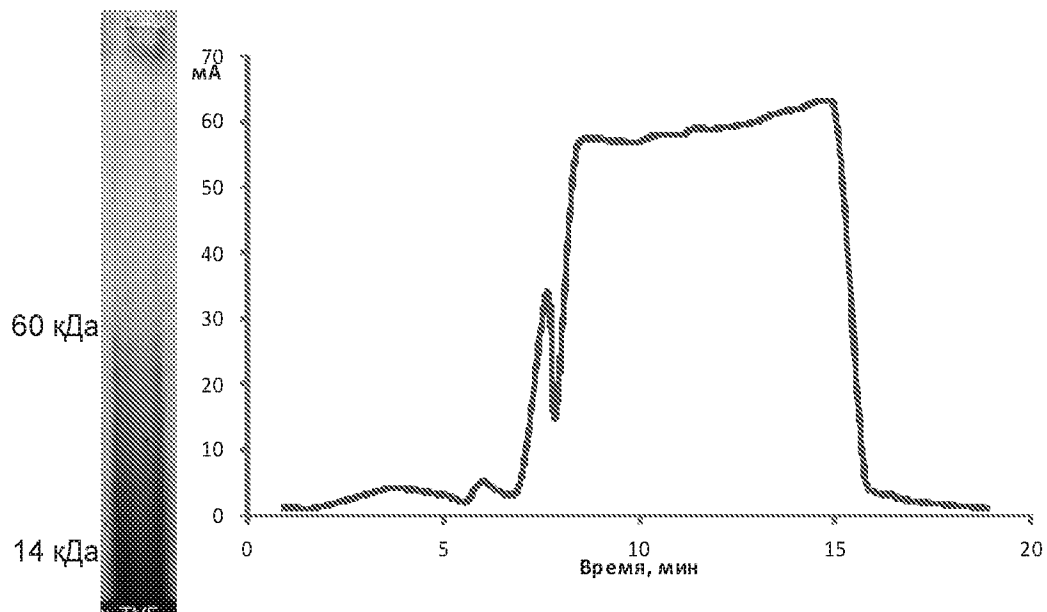
## ФОРМУЛА ГРУППЫ ИЗОБРЕТЕНИЙ

1. Композиция для поддержания нормального состояния гомеостаза, характеризующаяся тем, что она содержит водорастворимую белковую фракцию с молекулярной массой 6-90 кДа, выделенную из  
 5 продуктов разрушения возбудителя заболевания и растворитель при следующем соотношении компонентов (мас.%):

	водорастворимая белковая фракция	
	с молекулярной массой 6-90 кДа,	
	выделенная из продуктов разрушения	
10	возбудителя заболевания .....	0,4-0,6%
	растворитель.....	остальное

2. Препарат на основе композиции для поддержания нормального состояния гомеостаза по п.1, характеризующийся тем, что он содержит водорастворимую белковую фракцию с молекулярной массой 6-90 кДа,  
 15 выделенную из продуктов разрушения возбудителя заболевания, растворитель и дополнительно солевой раствор муравьиного альдегида 0,00018-0,06% концентрации, при следующем соотношении компонентов, мас.%:

	водорастворимая белковая фракция	
	с молекулярной массой 6-90 кДа,	
	выделенная из продуктов разрушения	
20	возбудителя заболевания .....	0,2-0,3%
	растворитель.....	49,7-49,8
	солевой раствор муравьиного альдегида	
25	0,00018-0,06% концентрации .....	остальное



Фиг. 1



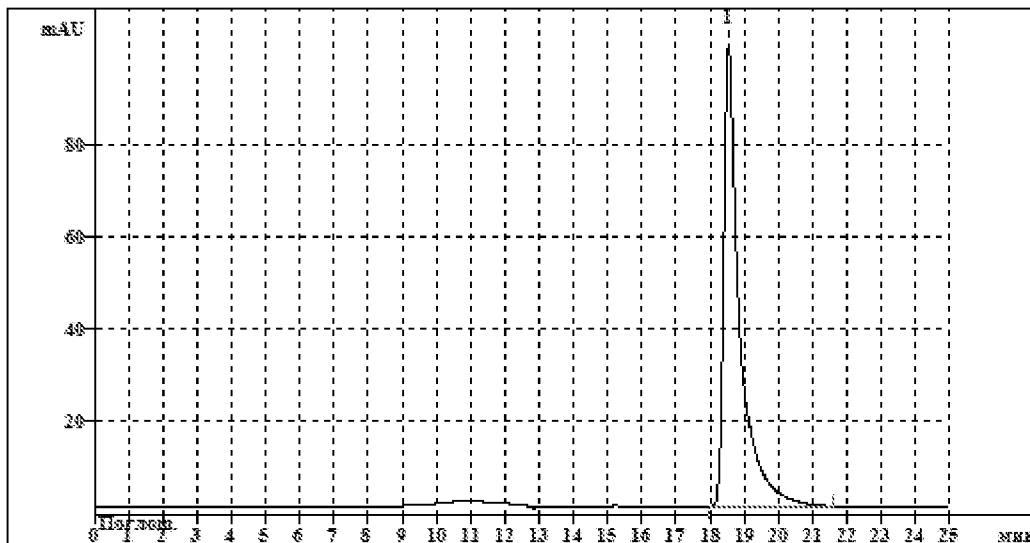
Дата: 23/10/2014 13:08:07  
 Автор отчета: 11  
 Хроматограмма: Туберкулин Кувская Биофабрика  
 Дата запуска: 23/10/2014 12:18:59  
 Файл: c:\Ярослав\ВЭЖХ\Белки\141023121859  
 Дата записи: 23/10/2014 12:43:59 Изменен!  
 Метод: УФ-С-18.mtw  
 Дата записи: 23/10/2014 12:19:14  
 Оператор анализа: 11  
 Номер анализа: 1860

ПРОБА:

Пробника №: 1  
 Объем: 20.0 мкл  
 Разведение: 1.00  
 Количество: 1.00

КОЛОНКА: Bio Sep S-2000 300x7.80 мм  
 Размер: 2.0x300 мм

ПОПРАВКА ФАЗА А: Ацетонитрил  
 Скорость подачи: 2.00 мл/мин  
 МПа



РЕЗУЛЬТАТЫ РАСЧЕТА

Фиг. 2

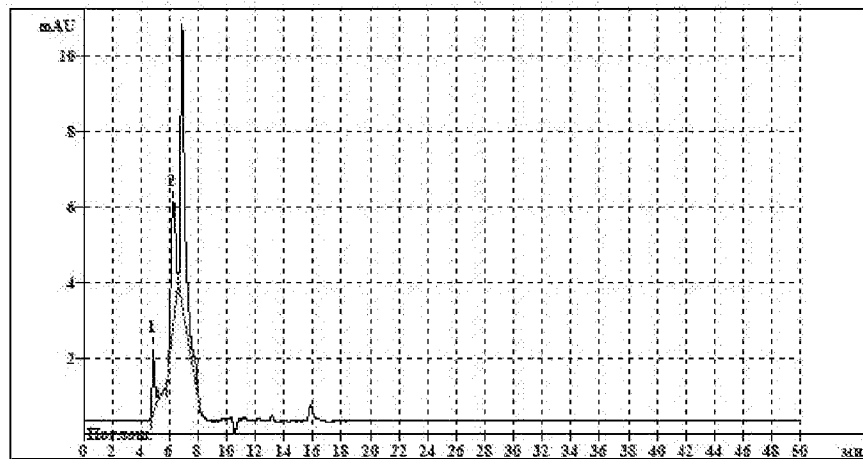
Дата: 07/11/2014 12:24:56  
Автор отчета: 11  
Хроматограмма: ПБ  
Дата запуска: 22/10/2014 14:01:58  
Файл: c:\Ярослав\БСХХ\Белам\141029140158  
Дата записи: 22/10/2014 14:51:59 Изменен!  
Метод: УФ-С-18.mtw  
Дата записи: 22/10/2014 11:12:11  
Оператор анализа: 11  
Номер анализа: 1869

## ПРОБА:

Пробирка №: 1  
Объем: 20.0 мкл  
Разведение: 1.00  
Количество: 1.00

КОЛОНКА: Big Sep S-2000 300x7.80 мм  
Размер: 2.0x300 мм

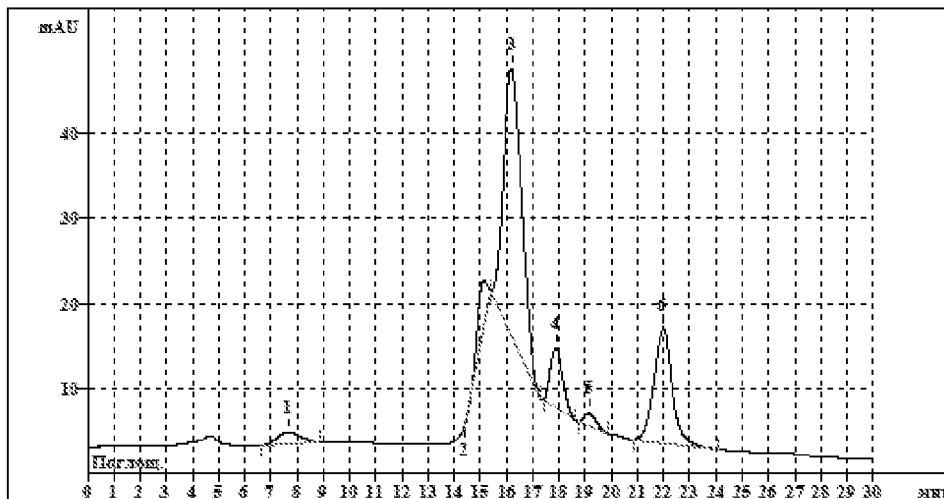
ПОШЕЧНАЯ ФАЗА А: Ацетонитрил  
Скорость подачи: 2.00 мл/мин  
МПа



РЕЗУЛЬТАТЫ РАСЧЕТА  
Метод расчета: Заказной  
Стандарт: Нет

Фиг. 3

ДРОБА: 1 мл/мин 214 нм  
 Пробирка №: 1  
 Объем: 20.0 мл  
 Разведение: 1.00  
 Количество: 1.00  
 КОЛОНКА: BioSep-SEC-2000  
 Размер: 2.0x60 мм  
 ПОДВИЖНАЯ ФАЗА А: фосфатно солевой буфер  
 Скорость подачи: 1.00 мл/мин  
 МПа



РЕЗУЛЬТАТЫ РАСЧЕТА  
 Метод расчета: Закавыной

Фиг. 4

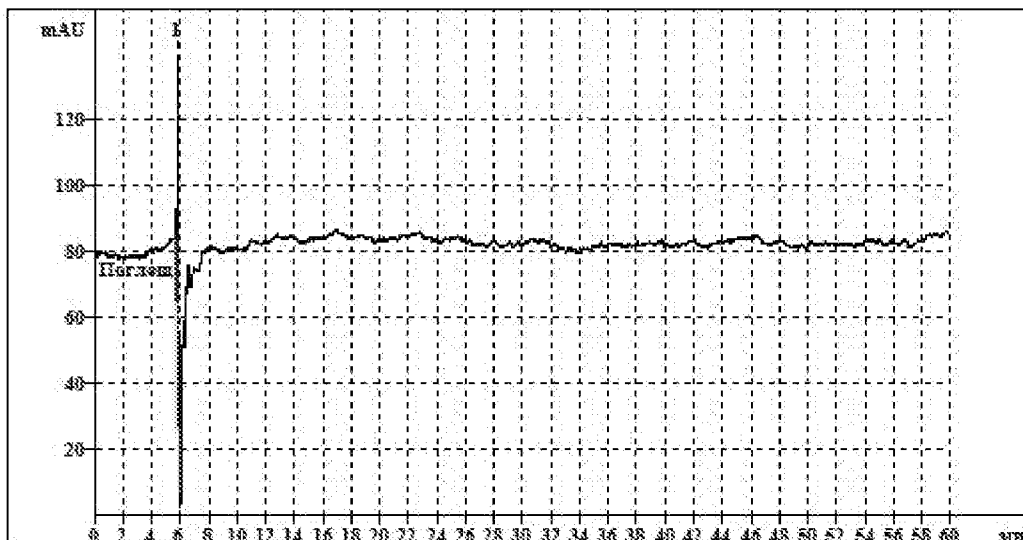
Дата: 26/11/2014 08:40:22  
 Автор отчета: 11  
 Хроматограмма: тохорлазма condii  
 Дата запуска: 21/11/2014 14:20:39  
 Файл: c:\Ярослав\БЭХХ\Белки\141121142039  
 Дата записи: 21/11/2014 15:20:40 Изменен!  
 Метод: Белки.mtw Пики вручную!  
 Дата записи: 29/01/2014 17:32:35  
 Оператор анализа: 11  
 Номер анализа: 1878

ПРОБА: PBS 0,1M 0,025 % азид натрия 214 нм 2 мл/мин

Прошивка №: 1  
 Объем: 20.0 мкл  
 Разведение: 1.00  
 Количество: 1.00

КОЛОНКА: Bio Sep S-2000 300x7.80 мм  
 Размер: 2.0x300 мм

ПОПЫХНАЯ ФАЗА А: 0.1 M PBS .025 % азид натрия рН 6,8  
 Скорость подачи: 2.00 мл/мин  
 МПА



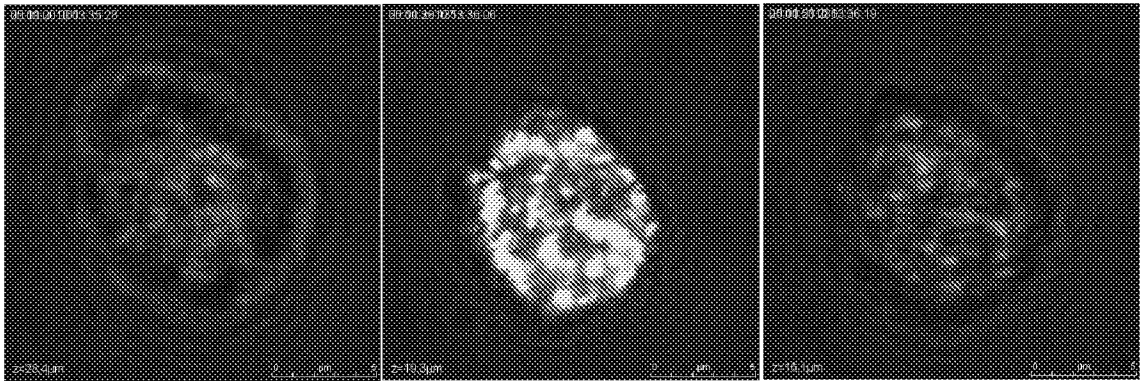
РЕЗУЛЬТАТЫ РАСЧЕТА

Метод расчета: Заказной  
 Стандарт: Нет

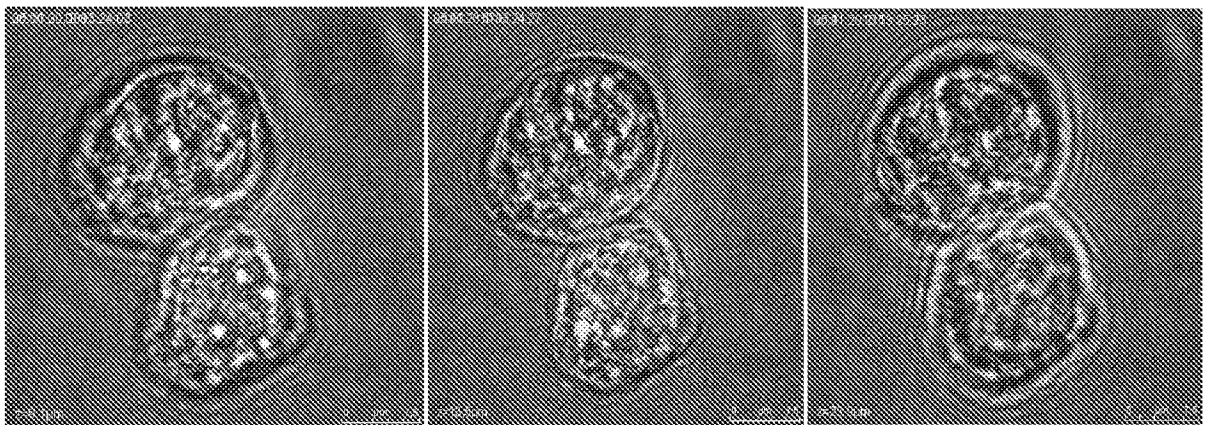
№	Время мин	Высота mAU	Площадь mAU*сек	K'	Разведение n, n+1	TI	Конц. мкг/мл
1	5.829	95.85	621.54	0.00	0.80	17983	31.82

Отчет выдан программой Мультискрин  
 © 1993-2008 S&O Амстердам

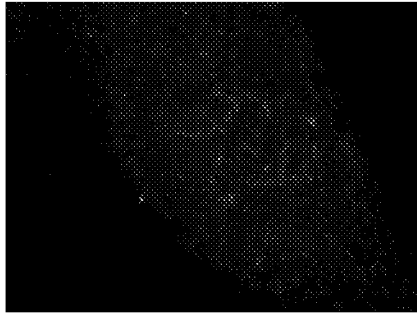
Фиг. 5



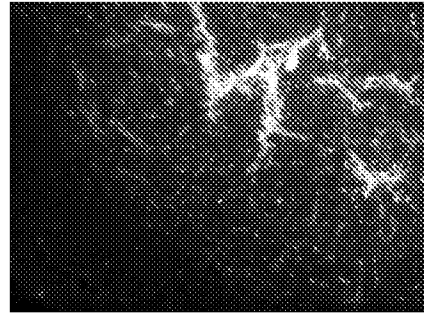
Фиг. 6



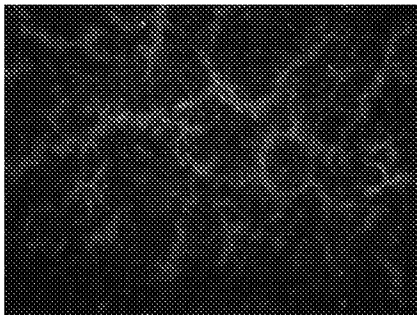
Фиг. 7



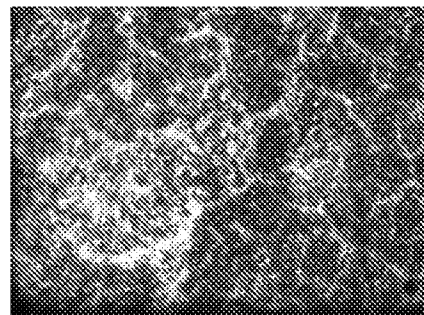
Фиг. 8



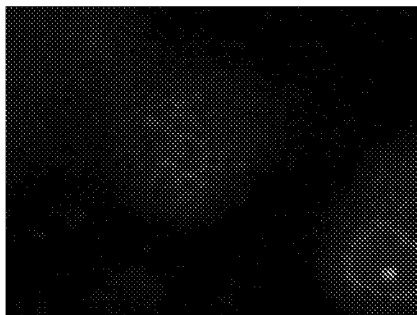
Фиг. 9



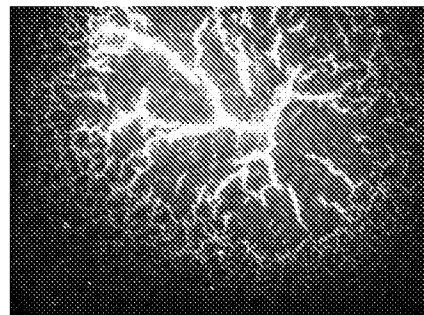
Фиг. 10



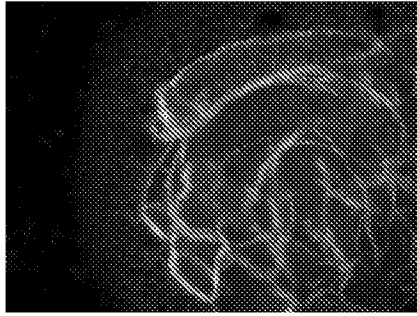
Фиг. 11



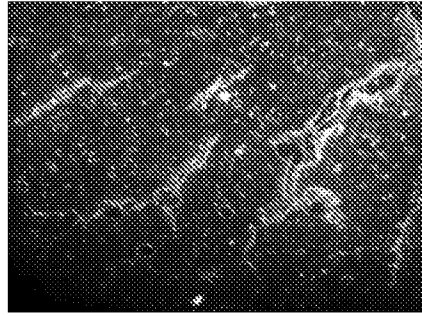
Фиг. 12



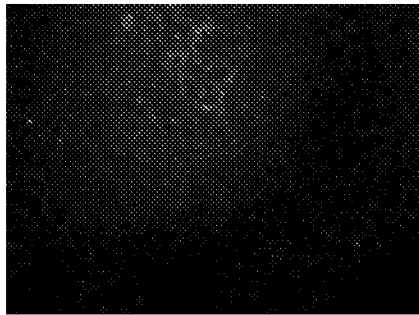
Фиг. 13



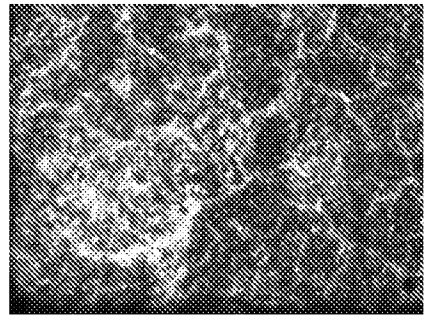
Фиг. 14



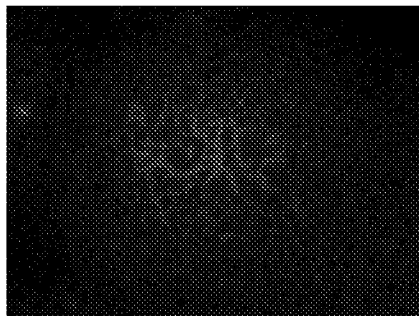
Фиг. 15



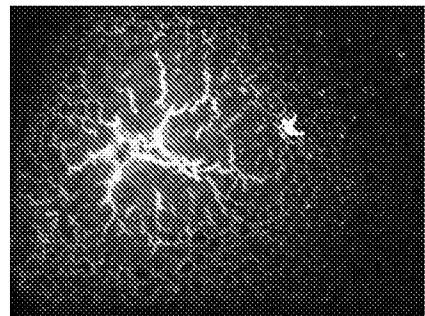
Фиг. 16



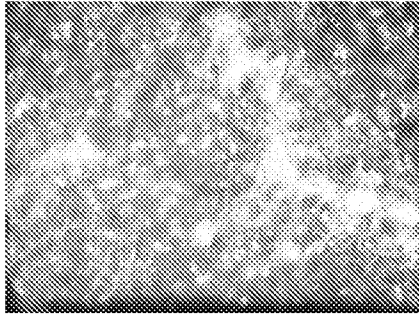
Фиг. 17



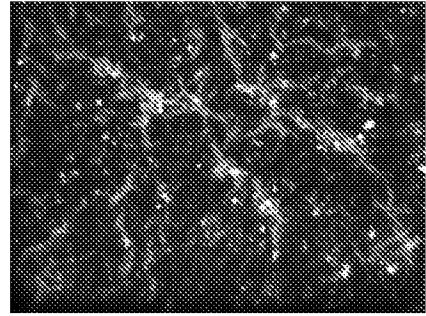
Фиг. 18



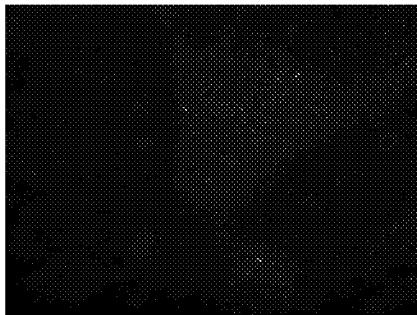
Фиг. 19



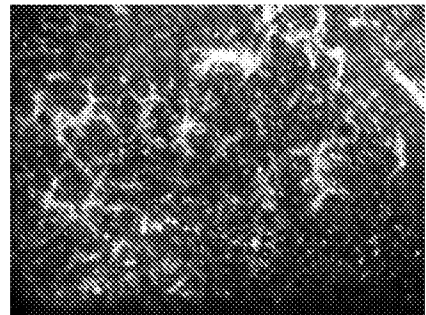
Фиг. 20



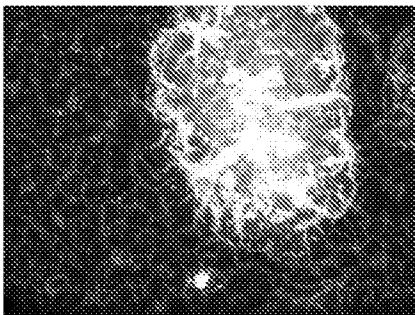
Фиг. 21



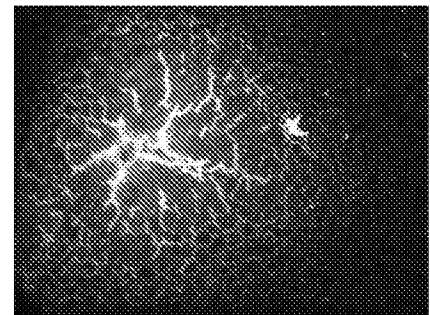
Фиг. 22



Фиг. 23



Фиг. 24



Фиг. 25



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/RU 2022/050101

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 35/66 (2015.01) A61K47/08 (2006.01) A61P 3/08 (2006.01) A61P3/00 (2006.01) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K 35/66, A61P 3/08, 3/00 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PatSearch (RUPTO Internal), USPTO, PAJ, Espacenet, Information Retrieval System of FIPS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	RU 2631607 C1 (LASKAVYI VLADISLAV NIKOLAEVICH) 25.09.2017, pages 6-7, example 1, the claims	1, 2
X	RU 2560684 C1 (FEDERALNOE GOSUDARSTVENNOE BIUDZHETNOE NAUCHNOE UCHREZHDENIE "SARATOVSKII NAUCHNO- ISSLEDOVATELSKII VETERINARNYI INSTITUT" (FGBNU "SARATOVSKII NIVI")) 20.08.2015, the claims, abstract, pages 4-5	1
A	RU 2317820 C2 (DAABUL SAFUAN AKHMED) 27.02.2008, the claims	1, 2
A	RU 2629338 C1 (DZHAN ALAM) 28.02.2017	1, 2
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 24 June 2022 (24.06.2022)		Date of mailing of the international search report 14 July 2022 (14.07.2022)
Name and mailing address of the ISA/ RU Facsimile No.		Authorized officer Telephone No.

**ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ**

Номер международной заявки

PCT/RU 2022/050101

<p><b>A. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ</b></p> <p><i>A61K 35/66</i> (2015.01)  <i>A61K 47/08</i> (2006.01)  <i>A61P 3/08</i> (2006.01)  <i>A61P 3/00</i> (2006.01)</p> <p>Согласно Международной патентной классификации МПК</p>																	
<p><b>B. ОБЛАСТЬ ПОИСКА</b></p> <p>Проверенный минимум документации (система классификации с индексами классификации)</p> <p>A61K 35/66, A61P 3/08, 3/00</p> <p>Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки</p> <p>Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)</p> <p>PatSearch (RUPTO Internal), USPTO, PAJ, Espacenet, Information Retrieval System of FIPS</p>																	
<p><b>C. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Категория*</th> <th>Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей</th> <th>Относится к пункту №</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>RU 2631607 C1 (ЛАСКАВЫЙ ВЛАДИСЛАВ НИКОЛАЕВИЧ) 25.09.2017, страницы 6-7, пример 1, формула</td> <td>1, 2</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>RU 2560684 C1 (ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ "САРАТОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ" (ФГБНУ "САРАТОВСКИЙ НИВИ")) 20.08.2015, формула, реферат, страницы 4-5</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>RU 2317820 C2 (ДААБУЛЬ САФУАН АХМЕД) 27.02.2008, формула</td> <td>1, 2</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>RU 2629338 C1 (ДЖАН АЛАМ) 28.02.2017</td> <td>1, 2</td> </tr> </tbody> </table>			Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №	X	RU 2631607 C1 (ЛАСКАВЫЙ ВЛАДИСЛАВ НИКОЛАЕВИЧ) 25.09.2017, страницы 6-7, пример 1, формула	1, 2	X	RU 2560684 C1 (ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ "САРАТОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ" (ФГБНУ "САРАТОВСКИЙ НИВИ")) 20.08.2015, формула, реферат, страницы 4-5	1	A	RU 2317820 C2 (ДААБУЛЬ САФУАН АХМЕД) 27.02.2008, формула	1, 2	A	RU 2629338 C1 (ДЖАН АЛАМ) 28.02.2017	1, 2
Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №															
X	RU 2631607 C1 (ЛАСКАВЫЙ ВЛАДИСЛАВ НИКОЛАЕВИЧ) 25.09.2017, страницы 6-7, пример 1, формула	1, 2															
X	RU 2560684 C1 (ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ "САРАТОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ИНСТИТУТ" (ФГБНУ "САРАТОВСКИЙ НИВИ")) 20.08.2015, формула, реферат, страницы 4-5	1															
A	RU 2317820 C2 (ДААБУЛЬ САФУАН АХМЕД) 27.02.2008, формула	1, 2															
A	RU 2629338 C1 (ДЖАН АЛАМ) 28.02.2017	1, 2															
<p><input type="checkbox"/> последующие документы указаны в продолжении графы C. <input type="checkbox"/> данные о патентах-аналогах указаны в приложении</p>																	
<p>* Особые категории ссылочных документов:</p> <p>“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным</p> <p>“D” документ, цитируемый заявителем в международной заявке</p> <p>“E” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее</p> <p>“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)</p> <p>“O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.</p> <p>“P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета</p> <p>“T” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение</p> <p>“X” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности</p> <p>“Y” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста</p> <p>“&amp;” документ, являющийся патентом-аналогом</p>																	
<p>Дата действительного завершения международного поиска</p> <p>24 июня 2022 (24.06.2022)</p>		<p>Дата отправки настоящего отчета о международном поиске</p> <p>14 июля 2022 (14.07.2022)</p>															
<p>Наименование и адрес ISA/RU:                  Федеральный институт промышленной собственности,                  Бережковская наб., 30-1, Москва, Г-59,                  ГСП-3, Россия, 125993                  Факс: (8-495) 531-63-18, (8-499) 243-33-37</p>		<p>Уполномоченное лицо:                  Быковская С.                  Телефон № 8(495)531-64-81</p>															