

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

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро



(10) Номер международной публикации
WO 2013/019145 A2

(43) Дата международной публикации
07 февраля 2013 (07.02.2013)

WIPO | PCT

- (51) Международная патентная классификация:
A61K 35/12 (2006.01)
- (21) Номер международной заявки: PCT/RU2012/000578
- (22) Дата международной подачи:
18 июля 2012 (18.07.2012)
- (25) Язык подачи: Русский
- (26) Язык публикации: Русский
- (30) Данные о приоритете:
2011132483 02 августа 2011 (02.08.2011) RU
- (72) Изобретатели; и
(71) Заявители : МОРЕНКО, Елена Александровна
(MORENKO, Elena Aleksandrovna) [RU/RU]; ул.
Дзержинского, 138-3, Армавир, Краснодарский край,
352905, Армавир (RU). ПАЩЕНКО, Александр
Викторович (PASHHENKO, Aleksandr Viktorovich)
[RU/RU]; ул. Маркова, 327-35, Армавир,
Краснодарский край, 352913, Армавир (RU).
- (74) Агент: МОХОВ, Евгений Валерьевич (МОКНОВ,
Yevguenij Valyer'yevich); Высоковольтный проезд, 1/3-
192, Москва, 127566, Moscow (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, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, 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, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Опубликована:
— без отчёта о международной поиске и с повторной
публикацией по получении отчёта (правило 48.2(g))

(54) Title: BIOLOGICALLY ACTIVE PRODUCT FOR USE IN VETERINARY MEDICINE AND ANIMAL HUSBANDRY, METHOD FOR PRODUCING SAME AND METHODS FOR ENHANCING VIABILITY, STIMULATING GROWTH, STIMULATING IMMUNE FUNCTION AND ENHANCING THE GENERAL NON-SPECIFIC RESISTANCE OF LIVESTOCK

(54) Название изобретения : БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЙ ПРОДУКТ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ВЕТЕРИНАРИИ И ЖИВОТНОВОДСТВЕ, СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ И СПОСОБЫ ПОВЫШЕНИЯ ВЫЖИВАЕМОСТИ, СТИМУЛЯЦИИ РОСТА, ИММУНОСТИМУЛЯЦИИ И ПОВЫШЕНИЯ ОБЩЕЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

(57) Abstract: The invention relates to the field of veterinary medicine and animal husbandry and, more specifically, to a method for producing a biologically active product of natural origin for use in veterinary science and animal husbandry, which exhibits an immune-stimulating, immune-modulating and growth-stimulating effect as well as enhancing general non-specific resistance and exhibiting an adaptogenic effect and contains seeds or sprouts of plants of the grass family, fertilized fish roe, insect larvae and fertilized bird eggs in the early stages of development. The invention further relates to a biologically active product produced using the aforesaid method, and to methods for enhancing viability and stimulating growth in young livestock (a) and stimulating immune function and enhancing general non-specific resistance in livestock (b), which involve the intramuscular or subcutaneous administration of the biologically active product according to the invention to said livestock (in a carrier acceptable for veterinary use). The biologically active product according to the invention exhibits a pronounced growth-stimulating and immune-stimulating effect, is inexpensive to produce and does not contain toxic (carcinogenic) solvents.

(57) Реферат: Изобретение относится к области ветеринарной медицины и животноводства, а именно, к способу получения биологически активного продукта природного происхождения для применения в ветеринарии и животноводстве, обладающего иммуностимулирующим, иммуномодулирующим, ростостимулирующим, повышающим общую неспецифическую резистентность организма и адаптогенным действием, содержащего семена или проростки растений семейства злаковых, оплодотворенную икру рыб, личинки насекомых и оплодотворенные яйца птиц на ранних стадиях развития, к биологически активному продукту, полученному данным способом, а также к способам повышения выживаемости и стимуляции роста у молодняка сельскохозяйственных животных (а) и иммуностимуляции и повышения общей неспецифической резистентности организма сельскохозяйственных

[продолжение на следующей странице]

WO 2013/019145 A2

животных (б), включающим внутримышечное или подкожное введение указанным животным биологически активного продукта по изобретению сельскохозяйственным животным (в приемлемом для ветеринарного применения носителе). Биологически активный продукт в соответствии с изобретением обладает ярко выраженным ростостимулирующим и иммуностимулирующим действием, недорог в получении и не содержит токсичных (канцерогенных) растворителей.

Биологически активный продукт для применения в ветеринарии и животноводстве, способ его получения и способы повышения выживаемости, стимуляции роста, иммуностимуляции и повышения общей неспецифической резистентности организма сельскохозяйственных животных

ОПИСАНИЕ

Изобретение относится к области ветеринарной медицины, животноводства и зоотехнологии, а именно, к биологически активному продукту на основе компонентов природного происхождения, предназначенному для применения в ветеринарии и животноводстве, обладающему иммуностимулирующим, иммуномодулирующим, ростостимулирующим, стимулирующим общую неспецифическую резистентность организма действием, а также к способу получения указанного биологически активного продукта и к способам повышения выживаемости и стимуляции роста у молодняка сельскохозяйственных животных и иммуностимуляции и повышения общей неспецифической резистентности организма сельскохозяйственных животных, включающим внутримышечное или подкожное введение указанным животным биологически активного продукта в соответствии с изобретением.

В настоящее время из-за целого ряда объективных и субъективных причин (недостаточное белковое кормление сельскохозяйственных животных, действие различных вредных химических веществ (в частности, пестицидов, зачастую содержащихся в кормах для животных), повышенный радиационный фон и т.п.), очень часто возникают иммунодефицитные состояния и нарушения роста организма животных, особенно молодняка.

Для повышения защитных сил организма используются различные иммуностимуляторы; использование подобных средств в ветеринарии позволяет повышать защитные силы организма животных, что, в свою очередь, приводит к повышению иммунного ответа при вакцинациях (повышается эффективность вакцин) и усилению активности антибиотиков и других антимикробных средств.

Из уровня техники известен способ комплексной активизации деятельности защитных сил организма животного, включающий внутримышечное или подкожное введение биогенного стимулятора, содержащего 30 г тканевой эмульсии из тел личинок зоофильных мух (вольфартова муха, зеленая овечья (мясная, падальная) муха, весенняя синяя муха), 10,0 г меда пчелиного натурального майского, 59,8 г 0,9% раствора поваренной соли и 0,2 г формалина (патент РФ RU 2400242 С1 «Способ комплексной активизации деятельности защитных систем организма», дата начала действия патента 15.07.2009 (заявка RU 2009127292/15), опубл. 27.09.2010 (патентообладатель и автор изобретения – Моисеев О.И. (RU)).

Указанное средство вводят больному животному внутримышечно или подкожно из расчета 0,02-0,05 мл/кг массы тела, предпочтительно, по ½ части дозы слева и справа от позвоночного столба в дорсальные мышцы поясницы, или подкожно с правой и с левой стороны шеи, или по 1/6 части дозы в шести местах вокруг очага патологии, или сочетанно по 1/8 части дозы в мышцы поясницы справа и слева от позвоночного столба и по 1/8 части дозы в шести местах вокруг патологического очага, однократно или несколько раз с интервалом в 5-7 суток.

В качестве консерванта указанное средство содержит формалин – водный раствор формальдегида, для которого в литературе неоднократно была показана канцерогенность, мутагенность и цитотоксичность – как в отношении человека, так и в отношении животных (см., например, Lewis B.B. (1981)); данное обстоятельство затрудняет возможность практического применения композиции по RU 2400242 С1 в ветеринарной медицине и в животноводстве.

В патенте РФ RU 2264221 С1 «Способ приготовления комплексного иммунного модулятора», опубл. 20.11.2005 (авторы изобретения – Погодаев В.А. (RU), Моренко Е.А. (RU), Киц Е.А. (RU), патентообладатель – Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Ставропольский государственный аграрный университет" (RU)) раскрыт способ приготовления иммунного модулятора, включающий охлаждение отобранных оплодотворенных неинфицированных яиц при температуре 2-4°C до 7 дней, гомогенизацию, разбавление физиологическим раствором яичной массы, бактерицидную обработку, консервацию раствором фенола до его 0,3%-ной концентрации, с последующей фильтрацией целевого продукта, отличающийся тем, что

яичную массу разбавляют физиологическим раствором в соотношении 1:5, затем проводят термическую обработку на водяной бане при температуре 70-80°C в течение 1 часа и перед консервацией целевой продукт охлаждают в бактерицидной камере под лампой с ультрафиолетовым облучением в течение 30-40 минут.

Хотя указанный препарат, полученный способом в соответствии с RU 2264221 C1, действительно может использоваться в ветеринарии и животноводстве в качестве иммуномодулирующего средства, однако содержащийся в нём в качестве консерванта фенол, как неоднократно было показано в литературе, также обладает ярко выраженными канцерогенными и мутагенными свойствами, что затрудняет использование данного препарата в ветеринарной практике в той же степени, что и в случае препарата по патенту RU 2400242 C1.

Данный недостаток (наличие в готовом препарате фенола или формалина, известных своей канцерогенностью, мутагенностью и цитотоксичностью) присущ и техническому решению, раскрытому в патенте RU 2345523 C2 «Способ комплексной активизации деятельности защитных приспособлений организма животного» (авторы изобретения - Погодаев В.А. (RU), Моренко Е.А. (RU), Пономарев О.В. (RU), Моисеев О.Н. (RU), Клименко А.И. (RU), Овчаров А.П. (RU), патентообладатель - Государственное научное учреждение Россельхозакадемии Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт (ГНУ СКЗНИВИ) (RU)), в соответствии с которым осуществляют введение животному биогенного стимулятора, причем в качестве биогенного стимулятора используют лекарственное средство, содержащее, г или масс. %: тканевая эмульсия из тел трутней пчелиного расплода - 20,0 г (или 20 масс. %), мед пчелиный натуральный свежий - 20,0 г (или 20 масс. %), 0,9% раствор натрия хлорида - 59,7 г (или 59,7 масс. %), а также формалин или фенол (в качестве консерванта) - 0,3 г (0,3 масс. %); указанное средство вводят подкожно или внутримышечно справа и слева от позвоночного столба в дорсальные мышцы, справа и слева шеи, бедра или других частей тела по 1/2-й части дозы из расчета 0,05-0,08 мл/кг массы тела.

Известен также (патент РФ RU 2258522 C1, опубл. 20.08.2005, авторы изобретения – Луцук С.Н. (RU), Беляев В.А. (RU), Салущева М.С. (RU), Ручий О.С. (RU), Сафоновская Е.В. (RU), патентообладатель — Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Ставропольский

государственный аграрный университет (RU)) способ приготовления препарата для стимуляции организма животных из личинок трутней, включающий сбор личинок трутней, их гомогенизацию с добавлением стабилизирующей среды, отличающийся тем, что перед гомогенизацией личинки трутней замораживают при температуре -4°C - 5°C в течение 12-14 часов, затем размораживают в течение 3-5 минут до $+18^{\circ}\text{C}$, при этом в качестве стабилизирующей среды используют 5% раствор глюкозы в соотношении 1:10, с добавлением 5% раствора хлороформа или 2% салициловой кислоты с последующей сублимацией, причем сублимацию проводят в вакуумной камере при температуре подогрева полок до $+30^{\circ}\text{C}$ - $+45^{\circ}\text{C}$, при этом при достижении температуры препарата $+20^{\circ}\text{C}$ - $+22^{\circ}\text{C}$ температуру полок снижают до $+25^{\circ}\text{C}$ и производят досушивание в течение 22-24 часов.

Препарат, полученный в соответствии с RU 2258522 C1, может содержать остаточные количества растворителя — хлороформа, который, как было неоднократно показано в литературе, также обладает канцерогенными, мутагенными, эмбриотоксическими и тератогенными свойствами, а также может приводить к выкидышам у беременных самок домашних (сельскохозяйственных) животных; кроме того, препарат, полученный способом в соответствии с RU 2258522 C1, характеризуется ограниченным спектром применения и невысокой биологической активностью.

Известен из уровня техники (EP 0818202 A1 «DNA-RNA hybrid and a DNA preparation, methods of obtaining said hybrid and preparation from sturgeon milt, and a pharmaceutical compound based on said DNA-RNA hybrid», авторы изобретения ANOSOVA Lidia Grigorievna (RU), BEZJULEV Vyacheslav Vladimirovich (RU), NESTEROVA Evgenia Ivanovna (RU), заявитель – NAUCHNO-PROIZVODSTVENNOE PREDPRIYATIE «FARMEK» (RU), а также соответствующие патенты РФ (RU 2108796 C1 и RU 2108797 C1)) способ получения препарата гибридной ДНК-РНК, обладающего иммунотропной и противовирусной активностью, путём обработки исходного клеточного материала, отличающийся тем, что клеточный материал (молоки осетровых рыб) гомогенизируют, обрабатывают детергентом, осаждают белок, очищают от примесей, инкубируют в течение 20-90 мин. при давлении 1,5-2 атмосферы, температуре $+105^{\circ}\text{C}$ - $+115^{\circ}\text{C}$ и pH 8,5-9,0, сбрасывают давление и инкубируют продукт при температуре $+55^{\circ}\text{C}$ - $+60^{\circ}\text{C}$ и при pH 5,5-7,5 в течение 1-4 час., с последующим осаждением и промывкой спиртом (EP 0818202 A1, RU 2108796 C1), а также способ получения препарата гибридной ДНК-РНК, обладающего

иммунотропной и противовирусной активностью, путем обработки исходного клеточного материала, отличающийся тем, что сырьё (молоки осетровых рыб) гомогенизируют, клеточный материал инкубируют, проводят детергентную депротеинизацию, солевую денатурацию высвободившихся белков, затем – ультразвуковую обработку при температуре +10°C - +18°C в атмосфере воздуха в присутствии одно-, двух- или трехкомпонентной системы, выбранной из группы солей металлов, окислителей, углеводов, восстановителей и солей металлов с переменной валентностью, с последующей очисткой и выделением целевого продукта, имеющего молекулярную массу 300-500 кДа, содержание РНК от 3 до 5%, белка от 0,7 до 1,5%, металлов переменной валентности не более 0,001% при соотношении азот/фосфор от 1,0 до 1,5, (EP 0818202 A1, RU 2108797 C1).

В EP 0818202 A1 раскрыта также фармацевтическая композиция, содержащая от 0,5% до 5% продукта (препарата), полученного указанным выше способом, совместно с фармацевтически приемлемым растворителем (до 100%).

Хотя для препарата в соответствии с EP 0818202 A1, RU 2108796 C1 и RU 2108797 C1 показано в экспериментах *in vitro* и *in vivo* наличие противовирусной активности (включая активность в отношении вируса герпеса, вируса гриппа, аденовирусов и ВИЧ), а также наличие цитотоксической и иммунотропной активности, тем не менее, сведения, относящиеся к возможности применения данного препарата у сельскохозяйственных животных, в EP 0818202 A1 и в соответствующих патентах РФ RU 2108796 C1 и RU 2108797 C1 отсутствуют.

Известен также из уровня техники способ получения пищевой, или фармацевтической, или бальнеологической, или косметической рецептуры (патент RU 2204381 C2 «Способ получения пищевой, или фармацевтической, или бальнеологической, или косметической рецептуры», дата начала действия патента 11.05.2000 (заявка RU 2000111793/14), опубл. 12.04.2006 (авторы изобретения - Децина А.Н. (RU), Сироткина Т.Б. (RU), патентообладатель - Децина А.Н. (RU))), включающий отдельное приготовление концентрата питательных и биологически активных компонентов и основы, разбавление концентрата основой путем смешивания указанных частей рецептур между собой для приготовления их готовых форм, фасовку, хранение и последующее использование готовых рецептур, отличающийся тем, что концентрат питательных и биологически активных компонентов, содержащий гомогенат трутневого

расплода, или гомогенат спермы, и/или икру серых морских ежей, или икру асцидий, и/или сперму асцидий, или молоки и/или икру рыб, или сперму петуха, или гомогенат эмбрионов птиц и/или компоненты яиц птиц, или цельное молозиво млекопитающих, или гомогенат гонад морского гребешка, или гомогенат мужских и/или женских гонад мидий, или питательную среду, снятую с культуры клеток лейкоцитов человека и/или животных, находящуюся в стадии логарифмического роста и содержащую ростовые факторы и продукты метаболизма указанных клеток лейкоцитов, приготавливают с суммарной осмотической активностью не менее 2000 мОсм/л путем введения регуляторов осмотической активности; содержание каждого компонента в указанном концентрате кратно его содержанию в конечной рецептурной форме при ее получении путем разбавления концентрата основой; после приготовления основы и концентрата питательных и биологически активных компонентов указанные части средства фасуют в тару и хранят отдельно: основу - при комнатной температуре, а концентрат - при комнатной температуре или в условиях холодильника, причем при приготовлении готовых рецептурных форм концентрат питательных и биологически активных веществ смешивают с основой средства непосредственно перед применением.

Хотя в соответствии с частными формами воплощения изобретения согласно патенту RU 2204381 C2 может быть, в частности, получен концентрат для приготовления фармацевтического иммуностимулирующего средства для перорального применения (см. RU 2204381 C2, описание, стр.6, Пример 7) и фармацевтическое иммуностимулирующее средство для перорального применения (см. RU 2204381 C2, описание, стр.7, Пример 18), однако наличие иммуностимулирующей и ростостимулирующей активности у фармацевтического препарата, который может быть получен предложенным в соответствии с RU 2204381 C2 способом (см. RU 2204381 C2, описание, стр.7, Пример 18), в патенте RU 2204381 C2 не подтверждено.

Из патента Румынии RO 118115 В «Biologically active substance, process for preparing the same, utilization of the biologically active substance» (дата начала действия патента 06.06.2000, опублик. 28.02.2003, автор изобретения и патентообладатель - CIUNRIL MIRCEA (RO)) (в объеме реферата) известно биологически активное вещество (биологически активный продукт) для лечения инфекционных заболеваний печени, содержащее 4,84-7,97 масс. % глутамина; 4,10-8,45 масс. % фенилаланина; 3,76-5,23 масс. % аспарагина; 2,04-4,44 масс. % лизина; 1,50-2,79 масс. % треонина; 2,72-3,10 масс. % пролина; 1,65-

3,10 масс. % аланина; 1,80-2,54 масс. % валина; 1,37-2,59 масс. % изолейцина; 1,41-3,04 масс. % тирозина; 1,91-3,61 масс. % аргинина; 0,83-1,17 масс. % гистидина.

Также в RO 118115 В раскрыт способ получения биологически активного продукта, включающий сбор яиц и куколок непарного шелкопряда (латинское название (лат.) *Lymantria dispar*), личинок колорадского жука (лат. *Leptinotarsa decemlineata*) и взрослых особей западного майского жука (лат. *Melolontha melolontha*), их стерилизацию, измельчение на электрической мельнице на скорости 2500-5000 оборотов в минуту (вплоть до получения однородной гомогенной массы светло-серого цвета), фильтрацию указанной массы через тканый фильтр с диаметром отверстий (пор) от 200 до 250 мкм, изолирование остатков (фильтрата?), фильтрацию с помощью вакуумного фильтра (вплоть до получения светло-серой суспензии), лиофилизацию и распыление, с получением порошка-лиофилизата, и применение указанного биологически активного вещества (биологически активного продукта) для приготовления лекарственного средства (медикамента) для лечения инфекционных заболеваний печени.

Биологически активный продукт в соответствии с RO 118115 В предназначен только для лечения инфекционных заболеваний печени; возможность применения данного продукта в качестве иммуностимулирующего, иммуномодулирующего и ростостимулирующего ветеринарного средства не показана.

Патент РФ RU 2157232 С1 «Препарат и способ его получения» (опубл. 10.10.2000, авторы изобретения и патентообладатели – Лукницкий Ф.И. (RU), Потапов А.М. (RU), Валов Г.Ю. (RU)) раскрывает препарат, обладающий иммуностимулирующим и адаптогенным действием; указанный препарат содержит водно-спиртовой экстракт активного начала растительного происхождения (активные компоненты зародышей пшеницы), при соотношении ингредиентов в указанном препарате, масс. %:

этиловый спирт – 30 – 40;

Вода – 58 – 68;

токоферолы из зародышей пшеницы – 0,0003 – 0,001;

витамин В₆ - 0,005-0,01;

иные гидратированные компоненты из зародышей пшеницы – остальное.

Патент RU 2157232 С1 раскрывает также способ получения указанного иммуностимулирующего и адаптогенного препарата на основе зародышей пшеницы, включающий в себя обработку зародышей растворителем (30-50% водным раствором

этилового спирта) при комнатной температуре в течение по крайней мере 20 минут, отделение экстракта (декантацией, фильтрацией или сочетанием декантации и фильтрации), термическую обработку (нагревание экстракта при температуре +60°C - +70°C в течение по крайней мере 40 минут), выделение активного начала и очистку конечного продукта (фильтрацией через активированный уголь).

Конечный продукт, полученный способом в соответствии с патентом RU 2157232 С1, содержит большие количества этилового спирта, что делает нежелательным его курсовое ветеринарное применение для лечения (обработки) крупного сельскохозяйственного скота; кроме того, нагревание до температуры +60°C - +70°C в течение по крайней мере 40 минут может приводить к разрушению существенной части биологически активных веществ, содержащихся в зародышах пшеницы.

Представляется также полезным дополнить полезные свойства комплекса биологически активных веществ из зародышей пшеницы, содержащихся в препарате по патенту RU 2157232 С1, полезными свойствами биологически активных веществ, содержащихся в других видах растений и животных.

В патенте РФ RU 2395289 С1 «Способ приготовления биогенного стимулятора из личинок трутневого расплода пчёл», дата начала действия патента 24.11.2008 (заявка RU 2008146271/15), опубл. 27.07.2010, авторы изобретения - Погодаев Владимир Аникеевич (RU), Клименко Александр Иванович (RU), Зубенко Александр Александрович (RU), Фетисов Леонид Николаевич (RU), Клименко Владимир Александрович (RU), Погодаев Алексей Владимирович (RU), патентообладатель - Государственное научное учреждение Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт Российской академии сельскохозяйственных наук (RU)) предложен способ приготовления биогенного стимулятора, включающего 50% биологически активной массы из личинок трутней, 49,7% раствора хлорида натрия и 0,3% консерванта, отличающийся тем, что для приготовления препарата соты с живым здоровым трутневым расплодом возрастом 18-22 дня выдерживают в холодильнике при температуре 3-4°C в течение 5-6 дней, затем соты с расплодом вскрывают и отбирают личинок трутней одинакового размера, светло-серого цвета, после чего личинок трутней измельчают в стерильной лабораторной мельнице, разводят стерильным раствором хлорида натрия с концентрацией 0,9% в пропорции 1:1 и автоклавируют при температуре внутри котла +120°C и давлении пара в рубашке 1,5 атмосферы в течение 1

ч, затем массу отфильтровывают через 2 слоя марли в стерильную мерную посуду, доводят стерильным раствором хлорида натрия с концентрацией 0,9% до первоначального объема, добавляют консервант (фенол), разливают при соблюдении правил асептики и антисептики в подготовленные стерильные флаконы и герметично закупоривают их, автоклавируют при 120°C и давлении пара в рубашке 1,5 атмосферы в течение 20 мин.

Недостаток раскрытого в RU 2395289 C1 способа заключается в необходимости длительного (в течение 1 часа) автоклавирования препарата при высокой температуре (+120°C) и давлении в 1,5 раза выше атмосферного; указанные условия автоклавирования приводят к практически полной деградации биологически активных веществ в препарате.

Аналогичный недостаток (необходимость длительного нагревания и выдерживания продукта (препарата) при высоких температурах, близких к +100°C, приводящая к деградации биологически активных веществ в препарате) характерен и для способа получения препарата, повышающего резистентность животных, раскрытого в патенте РФ RU 2264222 C1 «Способ получения препарата для повышения резистентности организма животных» (дата начала действия патента 08.12.2003, заявка RU 2003135681/15, авторы изобретения – Евглевский А.А. (RU), Лебедев А.Ф. (RU), Евглевская Е.П. (RU), Коломийцев С.М. (RU), Панькова С.Ю. (RU), Рыжкова Г.Ф. (RU), Русакова Н.М. (RU)).

В патенте РФ RU 2414919 C1 «Способ приготовления препарата для повышения общей и специфической резистентности организма животных» (дата начала действия патента 06.07.2009, заявка RU 2009125832/15, авторы изобретения - Беляев Валерий Анатольевич (RU), Сафоновская Евгения Вячеславовна (RU), Переверзева Валерия Николаевна (RU), патентообладатель - Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Ставропольский государственный аграрный университет" (RU)), предлагаем в качестве ближайшего аналога настоящего изобретения, предложен способ приготовления препарата для повышения общей и специфической резистентности организма животных, где указанный препарат получают из личинок трутней в возрасте от 5 до 14 суток. Предложенный в соответствии с RU 2414919 C1 способ включает в себя сбор личинок трутней в возрасте от 5 до 14 суток, замораживание их в течение 3-5 минут при

температуре -4 - -5°C в течение 12-14 часов, с последующим размораживанием до +18°C и гомогенизацией, с последующим добавлением стабилизирующей среды, ацетилсалициловой кислоты и проведением сублимации (причём сублимацию проводят в вакуумной камере при температуре подогрева полок до +30°C - +45°C, при этом при достижении температурой препарата +20°C - +22°C температуру полок снижают до +25°C) и досушиванием в течение 22-24 часов, отличающийся тем, что в качестве селеноорганического соединения используют диацетофенонилселенид, а стабилизирующей среды используют среду высушивания - сахарозо-желатиновую смесь, включающую 10% сахарозы и 5% желатина в соотношении гомогената и среды высушивания 1:10, при этом личинки трутней берут в возрасте от 5 до 14 суток, гомогенизацию проводят в течение 3-5 мин, а диацетофенонилселенид добавляют после гомогенизации в количестве 3,5 - 4 мг на 100 мл гомогената, затем гомогенат и ацетилсалициловую кислоту в количестве 0,2% к объему, вымешивают 2-3 мин, осуществляют фильтрование через 4-5 слоев стерильной марли, помещают в термостат при температуре 50-55°C на 35-40 мин, причем по истечении установленного времени препарат перемещают в другой термостат при 37°C на 8 часов. Указанный цикл повторяют трижды с последующим охлаждением до комнатной температуры и добавлением в стерильных условиях стерильной среды высушивания, фасовкой, замораживанием при температуре -50°C и сублимацией.

Указанный способ, хотя и лишён недостатков, присущих способам получения препаратов в соответствии с RU 2395289 C1, RU 2264222 C1 и RU 2157232 C1, характеризуется, однако, очень сложной и многостадийной технологией получения препарата. В связи с этим, актуальность создания иммуностимулирующего, ростостимулирующего, адаптогенного и повышающего общую неспецифическую резистентность организма ветеринарного препарата, не содержащего токсичных и/или канцерогенных веществ и при этом сравнительно простого и недорогого в получении, сохраняется.

Краткое описание чертежей:

Фиг. 1: Живая масса поросят (от рождения и до 6 месяцев) при применении препарата (в сравнении с контрольной группой)

Фиг. 2: Сохранность (выживаемость) поросят при применении препарата (% в сравнении с контрольной группой)

Фиг. 3: Живая масса телят от рождения и до 6 месяцев при применении препарата (в сравнении с контрольной группой)

Фиг. 4: Сохранность (выживаемость) телят при применении препарата, % (в сравнении с контрольной группой)

Фиг. 5: Показатели иммунитета (иммунограмма) животных опытной и контрольной групп.

Сущность изобретения:

В рамках настоящего изобретения авторам удалось разработать биологически активный продукт природного происхождения для применения в ветеринарии и животноводстве, обладающий иммуностимулирующим, иммуномодулирующим, ростостимулирующим, повышающим общую неспецифическую резистентность организма и адаптогенным действием, существенно более простой в получении в сравнении с препаратами, известными из уровня техники, и при этом лишенный недостатков, присущих известным из уровня техники решениям.

Биологически активный продукт в соответствии с изобретением содержит полный спектр биологически активных веществ из тканей животного и растительного происхождения, обладающих иммуностимулирующим, иммуномодулирующим, повышающим общую неспецифическую резистентность организма и адаптогенным действием, повышает продуктивность животных (при сохранении оптимальных показателей белкового, минерального и липидного обмена веществ), позволяет животным лучше адаптироваться к действию стресс-факторов, не накапливается в органах и тканях животных (т.е. отсутствует кумулятивный эффект), имеет натуральное происхождение (что обеспечивает преимущества в отношении безопасности использования данного препарата, в сравнении с синтетическими иммуностимуляторами и стимуляторами роста, применяемыми в ветеринарии и животноводстве), и может успешно применяться у всех видов сельскохозяйственных животных различных половозрастных групп – для повышения выживаемости и роста молодняка, для сглаживания осложнений после вакцинации, для комплексного лечения инфекционных и протозойных заболеваний у сельскохозяйственных животных, и т.п.

В соответствии с заявляемым изобретением, семена или проростки растений семейства злаковых (предпочтительно, проростки в возрасте 5-7 дней таких растений, как рожь посевная (*Secale cereale*), овес посевной (*Avea sativa*), ячмень обыкновенный (*Hordeum*

vulgare), пшеница обыкновенная (*Triticum vulgare*) и кукуруза (*Zea mays*)), оплодотворенную икру рыб (предпочтительно, рыб, которые разрешены для промышленного отлова и икра которых не является ядовитой, наиболее предпочтительно, сазана (*Cyprinus carpio*), карпа (*Cyprinus carpio*), толстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix*), красноперки (*Scardinius erythrophthalmus*) и форели (*Salmo species*)), личинки насекомых (предпочтительно, мух (*Muscidae*), коконопрядов (*Lasiocampidae*), комаров-дергунов (*Chironomidae*), трубочников (*Tubificidae*), комаров-пискунов (*Culicidae*) и пчелиных (*Apidae*)) и оплодотворенные яйца птиц (предпочтительно, птиц отряда куриных (*Galliformes*), птиц отряда утиных (*Anatidae*) или птиц отряда гусеобразных (*Anseriformes*)) на ранних стадиях развития подвергают инкубации, с последующим охлаждением (предпочтительно, охлаждение осуществляют при температуре +7°C - +9°C, в течение 4-12 часов), гомогенизацией, разбавлением гомогената 0,9% раствором хлорида натрия в пропорции 1:2-1:5, пастеризацией, фильтрацией, добавлением консерванта, добавлением криопротектора, розливом во флаконы, лиофилизацией и стерильной укупоркой.

Предпочтительно, в рамках настоящего изобретения пастеризацию осуществляют на водяной бане, при температуре +56°C - +70 °C, в течение 1,5-3 часов; предпочтительно, в качестве криопротектора в рамках настоящего изобретения используют 1-5% маннитол, или 1-5% сахарозу, или 1-5% глюкозу, или 1-5% лактозу, или 1-5% трегалозу. В наиболее предпочтительном (однако, не ограничивающем объем притязаний в соответствии с настоящим изобретением) воплощении, состав биологически активного продукта содержит:

- семена или проростки растений семейства злаковых – 20-35 масс. %;
- оплодотворенную икру рыб – 15-20 масс. %;
- личинки насекомых – 15-20 масс. %;
- оплодотворенные яйца птиц – 20-25 масс. %;
- фармацевтически приемлемый носитель – остальное (до 100 %).

Непосредственно перед использованием препарат разбавляют 0,9% раствором NaCl или стерильной апиrogenной дистиллированной водой для инъекций.

Биологически активный продукт, полученный в соответствии с настоящим изобретением, может дополнительно содержать приемлемые в ветеринарии наполнители, эксципиенты, консерванты (в частности, в качестве консерванта в рамках

настоящего изобретения может быть использован нипагин в виде 0,01-0,1% раствора) и другие вспомогательные компоненты, и пригоден для внутримышечного или подкожного введения нуждающимся в этом сельскохозяйственным животным.

Представленные ниже примеры отражают частные варианты воплощения изобретения и служат лишь для иллюстрации заявляемого изобретения, а не для ограничения объема притязаний.

Пример 1. Получение биологически активного продукта в соответствии с изобретением.

(1) Семена и проростки (в возрасте 5-7 дней) ржи посевной (лат. *Secale cereale*), или овса посевного (лат. *Avea sativa*), или ячменя обыкновенного (лат. *Hordeum vulgare*), или пшеницы обыкновенной (лат. *Triticum vulgare*), или кукурузы (лат. *Zea mays*), в количестве 35 г, (2) оплодотворенную икру рыб, выбранную из икры сазана (лат. *Syrpinus carpio*, дикая форма), икры карпа (лат. *Syrpinus carpio*, домашняя форма), икры толстолобика (лат. *Hypophthalmichthys molitrix*), икры красноперки (лат. *Scardinius erythrophthalmus*) и икры форели (лат. *Salmo species*), в количестве 18 г, (3) личинки насекомых на ранних стадиях развития (в возрасте 5-9 дней), выбранные из личинок мух (лат. *Muscidae*), личинок коконопрядов (*Lasiocampidae*), личинок комаров-дергунов (*Chironomidae*), личинок трубочников (*Tubificidae*), личинок комаров-пискунов (*Culicidae*) и личинок пчелиных (*Apidae*), в количестве 20 г, и (4) оплодотворенные яйца птиц, выбранные из оплодотворенных яиц птиц отряда куриных (*Galliformes*), оплодотворенных яиц птиц отряда утиных (*Anatidae*) или оплодотворенных яиц птиц отряда гусеобразных (*Anseriformes*), подвергали инкубации (в естественных условиях или в инкубаторных устройствах, при температуре +37,3°C - +37,5°C, в течение 5-7 дней), в количестве 25 г, затем охлаждали до температуры +8°C и гомогенизировали с использованием ультразвукового гомогенизатора или гомогенизатора высокого давления.

Полученный гомогенат разбавляли 0,9% раствором NaCl (физиологический раствор), в соотношении «гомогенат:0,9% NaCl», равном 1:3, затем помещали (для осуществления пастеризации) на 2 часа на водяную баню, при температуре +58°C; полученный продукт фильтровали в стерильных условиях с использованием фильтров из полотна иглопробивного термоскрепленного для фильтрования молока в соответствии с ТУ 17-14-255, с диаметром фильтрующей поверхности 30 мм, добавляли к фильтрату

консервант (0,25 мл 0,05% нипагина), криопротектор (5% маннитол), разливали по 10 мл во флаконы для пенициллина, лиофилизировали в течение 60 часов при температуре -60°C с последующим вакуумным обезвоживанием в течение 20 часов при температуре полки -40°C, скорости нагревания 4-6°C/час и конечной температуре препарата +25°C, и затем герметично и стерильно укупоривали.

Срок хранения продукта, полученного в соответствии с Примером 1, составил 6-8 месяцев (при температуре от +5°C до +7°C).

Пример 2. Биологическая (ростостимулирующая, иммуностимулирующая и повышающая общую неспецифическую резистентность организма) активность продукта в соответствии с изобретением.

Биологическая активность продукта (препарата) в соответствии с заявляемым изобретением была изучена на двух видах сельскохозяйственных животных – свиньи домашние (*Sus scrofa domestica*) и коровы домашние (*Bos taurus taurus*). Препарат, полученный в соответствии с примером 1, разбавляли дистиллированной водой для инъекций или 0,9% раствором хлорида натрия и вводили животным опытных групп (телята и поросята в возрасте 2, 5 и 8 дней) подкожно или внутримышечно, справа и слева от позвоночного столба в дорсальные мышцы, справа и слева шеи, бедра, грудную мышцу под передней конечностью или других частей тела по ½ части дозы из расчета 0,05 — 0,1 мл/кг массы тела; животным контрольной группы вводили соответствующее количество 0,9% раствора натрия хлорида.

На протяжении 6 месяцев от начала эксперимента ежемесячно регистрировали массу тела животных в опытной и в контрольной группах (в каждой группе - по 20 животных) и ее прирост, сохранность (выживаемость) животных в опытной и в контрольной группах через 1, 2, 4 и 6 месяцев после начала эксперимента.

Для телят опытной и контрольной групп (в возрасте 4-6 месяцев) были исследованы также показатели иммунной системы, включая количество (% отношение к общему числу лимфоцитов) В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов, а также уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), α -глобулинов, β -глобулинов и γ -глобулинов в плазме крови.

Результаты применения препарата у молодняка сельскохозяйственных животных приведены в Таблице 1 и на Фиг. 1-5.

Таблица 1. Значения показателей иммунитета (иммунограмма) животных опытной и контрольной групп (телята в возрасте 4-6 месяцев).

	Опытная группа	Контрольная группа	Нормальные (физиологические) значения
В-лимфоциты, %	29,5	19,2	20-40
Т-лимфоциты, %	25,3	16,4	15-30
ЦИК, %	18,6	12,3	10-20
α -глобулины, г/л	5,3	3,3	5-10
β -глобулины, г/л	12,2	8,8	5-15
γ -глобулины, г/л	38,4	20,5	20-40

В результате эксперимента установлено, что к моменту окончания периода исследования (соответствовал 6-месячному возрасту животных, взятых в эксперимент) разница в живой массе между животными опытной и контрольной групп составляла 13,7 кг для поросят и 12,5 кг – для телят; различие в сохранности (выживаемости) между животными опытной и контрольной групп составляло 6% для поросят и 13% - для телят. Уровень В-лимфоцитов у животных опытной группы (получавшей продукт в соответствии с изобретением) оказался на 53,65% выше, чем у животных контрольной группы; уровень Т-лимфоцитов в опытной группе оказался на 54,27% выше, чем в контрольной группе; уровень ЦИК (циркулирующих иммунных комплексов) в опытной группе оказался на 51,22% выше, чем в контрольной группе; уровень альфа-глобулинов в опытной группе оказался на 60,61% выше, чем в контрольной группе; уровень бета-глобулинов в опытной группе оказался на 38,64% выше, чем в контрольной группе; наконец, уровень гамма-глобулинов в опытной группе оказался на 87,32% выше, чем в контрольной группе животных.

Представленные результаты исследований *in vivo* убедительно подтверждают наличие иммуностимулирующей, адаптогенной и повышающей общую неспецифическую резистентность организма активности у заявляемого биологически активного продукта.

Формула изобретения:

1. Способ получения биологически активного продукта природного происхождения для применения в ветеринарии и животноводстве, обладающего иммуностимулирующим, иммуномодулирующим, ростостимулирующим, повышающим общую неспецифическую резистентность организма и адаптогенным действием, отличающийся тем, что семена или проростки растений семейства злаковых, оплодотворенную икру рыб, личинки насекомых и оплодотворенные яйца птиц на ранних стадиях развития подвергают инкубации, с последующим охлаждением, гомогенизацией, разбавлением гомогената 0,9% раствором хлорида натрия в пропорции 1:2-1:5, пастеризацией, фильтрацией, добавлением консерванта, добавлением криопротектора, розливом во флаконы, лиофилизацией и укупоркой.
2. Способ получения биологически активного продукта по п.1, отличающийся тем, что проростки растений семейства злаковых представляют собой проростки в возрасте 5-7 дней.
3. Способ получения биологически активного продукта по п.2, отличающийся тем, что семена или проростки растений семейства злаковых выбирают из семян или проростков ржи посевной (*Secale cereale*), овса посевного (*Avea sativa*), ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare*), пшеницы обыкновенной (*Triticum vulgare*) и кукурузы (*Zea mays*).
4. Способ получения биологически активного продукта по п.1, отличающийся тем, что икру рыб выбирают из икры сазана (*Cyprinus carpio*, дикая форма), икры карпа (*Cyprinus carpio*, домашняя форма), икры толстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix*), икры красноперки (*Scardinius erythrophthalmus*) и икры форели (*Salmo species*).
5. Способ получения биологически активного продукта по п.1, отличающийся тем, что личинки насекомых на ранних стадиях развития представляют собой личинки в возрасте 5-9 дней.
6. Способ получения биологически активного продукта по п.5, отличающийся тем, что личинки насекомых выбирают из личинок мух (*Muscidae*), личинок коконопрядов (*Lasiocampidae*), личинок комаров-дергунов (*Chironomidae*), личинок трубочников (*Tubificidae*), личинок комаров-пискунов (*Culicidae*) и личинок пчелиных (*Apidae*).

7. Способ получения биологически активного продукта по п.5, отличающийся тем, что оплодотворенные яйца птиц выбирают из оплодотворенных яиц птиц отряда куриных (Galliformes), оплодотворенных яиц птиц отряда утиных (Anatidae) или оплодотворенных яиц птиц отряда гусеобразных (Anseriformes).
8. Способ получения биологически активного продукта по п.1, отличающийся тем, что инкубацию осуществляют в естественных условиях или в инкубаторных устройствах, при температуре $+37,3^{\circ}\text{C}$ - $+37,5^{\circ}\text{C}$, в течение 5-7 дней.
9. Способ получения биологически активного продукта по п.1, отличающийся тем, что охлаждение осуществляют при температуре $+7^{\circ}\text{C}$ - $+9^{\circ}\text{C}$, в течение 4-12 часов.
10. Способ получения биологически активного продукта по п.1, отличающийся тем, что пастеризацию осуществляют на водяной бане, при температуре $+56^{\circ}\text{C}$ - $+70^{\circ}\text{C}$, в течение 1,5-3 часов.
11. Способ получения биологически активного продукта по п.1, отличающийся тем, что фильтрацию осуществляют при помощи фильтров из полотна иглопробивного термоскрепленного для фильтрования молока в соответствии с ТУ 17-14-255, с диаметром фильтрующей поверхности не менее 27-30 мм.
12. Способ получения биологически активного продукта по п.1, отличающийся тем, что в качестве консерванта используют 0,01-0,1% раствор нипагина.
13. Способ получения биологически активного продукта по п.1, отличающийся тем, что в качестве криопротектора используют 1-5% маннитол, или 1-5% сахарозу, или 1-5% глюкозу, или 1-5% лактозу, или 1-5% трегалозу.
14. Способ получения биологически активного продукта по п.1, отличающийся тем, что лиофилизацию биологически активного продукта осуществляют путем замораживания при температуре -60°C в течение 18 часов, с последующим вакуумным обезвоживанием в течение 20 часов, при температуре полки -40°C , при скорости нагревания $4-6^{\circ}\text{C}/\text{час}$ и конечной температуре $+25^{\circ}\text{C}$.
15. Биологически активный продукт природного происхождения для применения в ветеринарии и животноводстве, обладающий иммуностимулирующим, иммуномодулирующим, ростостимулирующим, стимулирующим общую неспецифическую резистентность организма действием, отличающийся тем, что получен способом по любому из п.п.1-14.

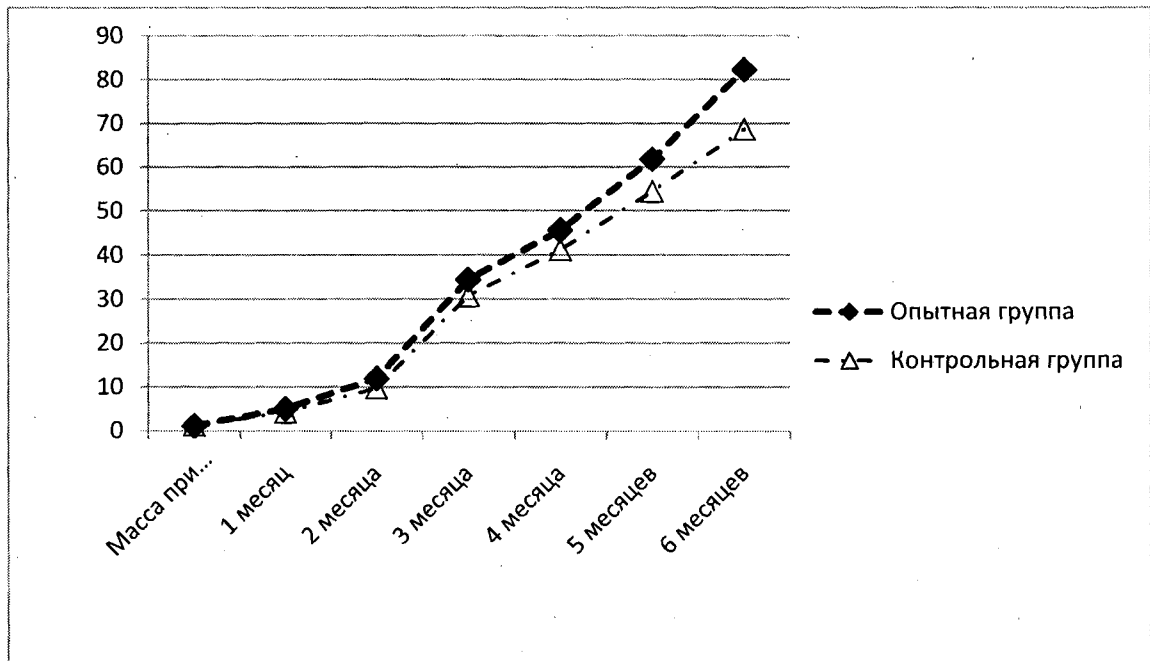
- 16.** Биологически активный продукт по п.15, отличающийся тем, что дополнительно содержит приемлемые в ветеринарии наполнители, эксципиенты, консерванты и другие вспомогательные компоненты.
- 17.** Биологически активный продукт по п.15, отличающийся тем, что выполнен в форме раствора для внутримышечных инъекций.
- 18.** Биологически активный продукт по п.15, отличающийся тем, что выполнен в форме раствора для подкожных инъекций.
- 19.** Биологически активный продукт по п.15, отличающийся тем, что выполнен в форме порошка-лиофилизата для приготовления раствора для внутримышечных или подкожных инъекций.
- 20.** Биологически активный продукт по любому из п.п.15-19, отличающийся тем, что содержит:
- семена или проростки растений семейства злаковых – 20-35 масс. %;
 - оплодотворенную икру рыб – 15-20 масс. %;
 - личинки насекомых – 15-20 масс. %;
 - оплодотворенные яйца птиц – 20-25 масс. %;
 - фармацевтически приемлемый носитель – остальное (до 100%).
- 21.** Биологически активный продукт по п.20, отличающийся тем, что в качестве фармацевтически приемлемого носителя содержит 0,9% раствор натрия хлорида.
- 22.** Биологически активный продукт по п.20, отличающийся тем, что в качестве фармацевтически приемлемого носителя содержит воду дистиллированную (стерильную апиrogenную) для инъекций.
- 23.** Биологически активный продукт по п.20, отличающийся тем, что дополнительно содержит нипагин в качестве консерванта.
- 24.** Биологически активный продукт по п.20, отличающийся тем, что дополнительно содержит криопротектор, выбранный из маннитола, или лактозы, или сахарозы, или трегалозы, или глюкозы.
- 25.** Способ повышения выживаемости и стимуляции роста у молодняка сельскохозяйственных животных, включающий внутримышечное или подкожное введение указанным животным биологически активного продукта по п.п.15-24 в приемлемом для ветеринарного применения носителе.

26. Способ по п.25, отличающийся тем, что биологически активный продукт вводят подкожно или внутримышечно, справа или слева от позвоночного столба животного в дорсальные мышцы, справа и слева от шеи, бедра, в грудную мышцу под передней конечностью, по $\frac{1}{2}$ дозы, из расчета 0,05-0,1 мл/кг массы тела животного.

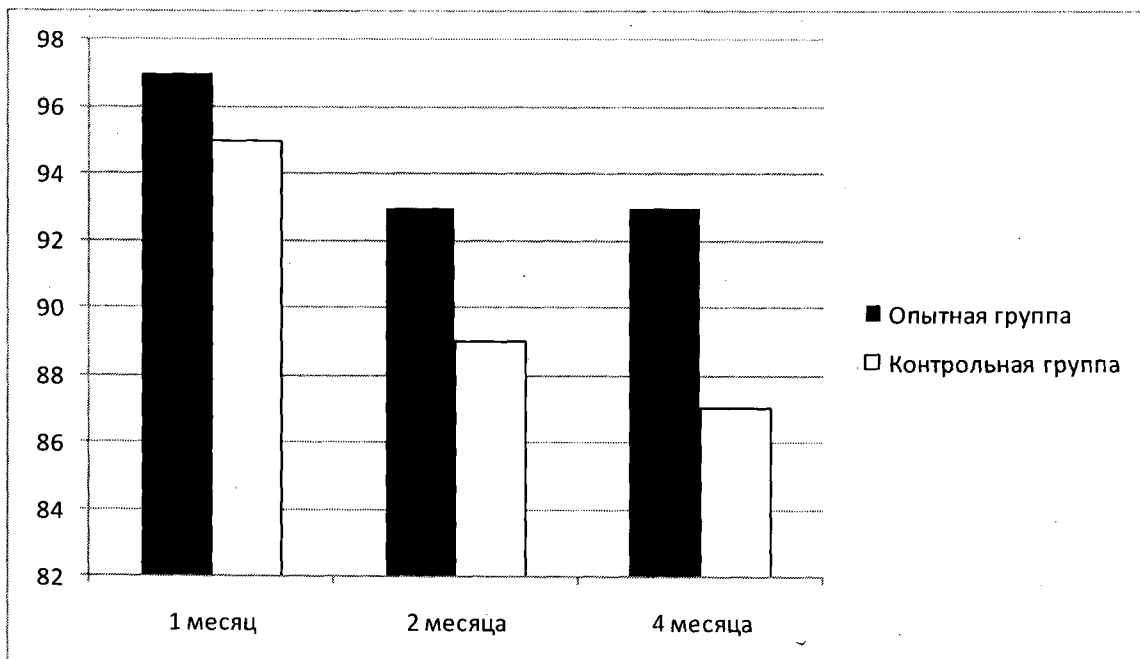
27. Способ иммуностимуляции и повышения общей неспецифической резистентности организма сельскохозяйственных животных, включающий внутримышечное или подкожное введение указанным животным биологически активного продукта по п.п.15-24 в приемлемом для ветеринарного применения носителе.

28. Способ по п.27, отличающийся тем, что биологически активный продукт вводят подкожно или внутримышечно, справа или слева от позвоночного столба животного в дорсальные мышцы, справа и слева от шеи, бедра, в грудную мышцу под передней конечностью, по $\frac{1}{2}$ дозы, из расчета 0,05-0,1 мл/кг массы тела животного.

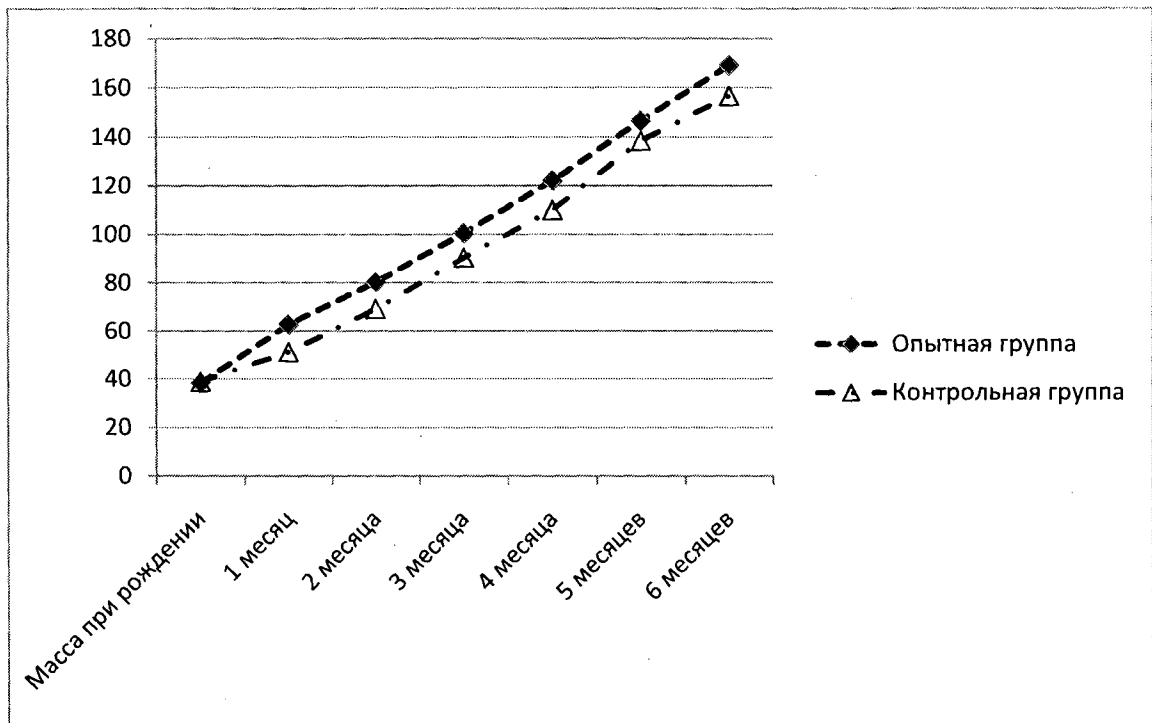
1/3



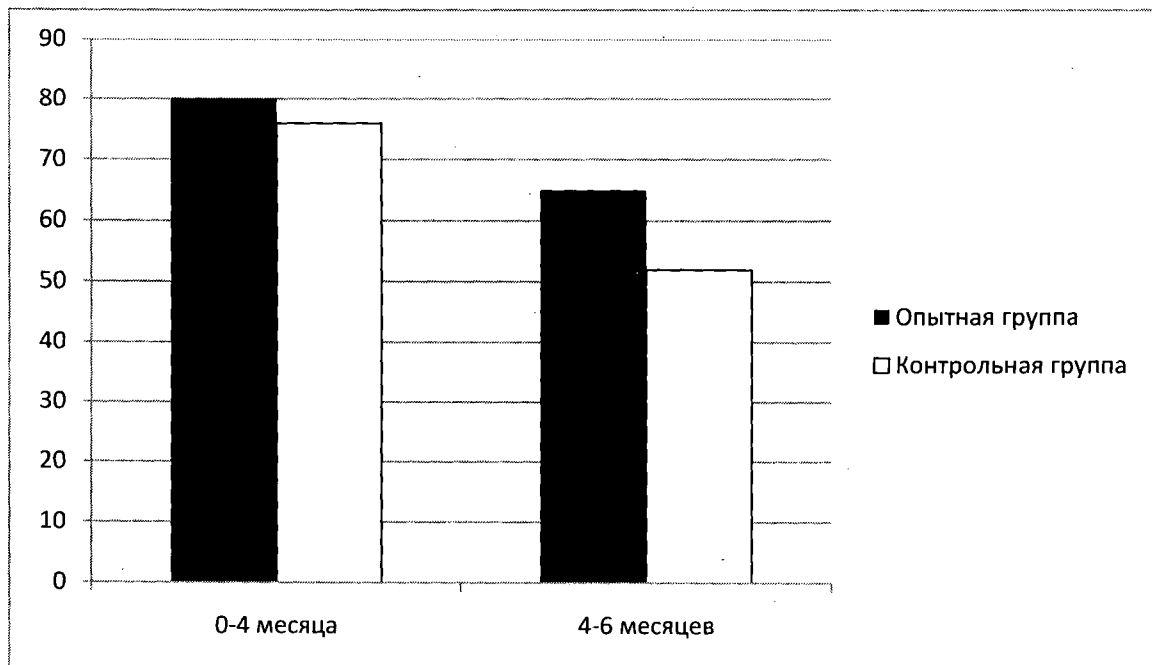
Фиг. 1



Фиг. 2

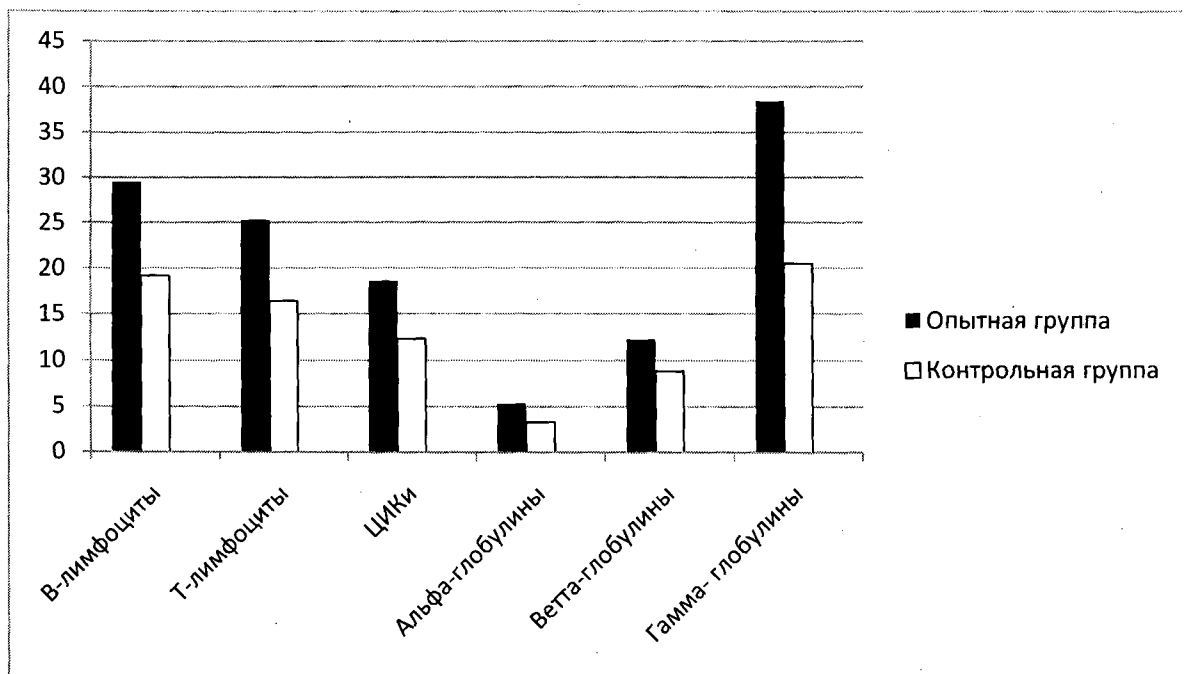


Фиг. 3



Фиг. 4

3/3



Фиг. 5