

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ СРЕДСТВА ДЛЯ ПОДДЕРЖИВАЮЩЕЙ ТЕРАПИИ, ОБЛАДАЮЩЕГО ТКАНЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Изобретение относится к медицине и касается получения из животного сырья пептидного комплекса, обладающего тканеспецифической активностью, который может найти применение в медицинской практике в качестве средства для поддерживающей терапии.

Известен способ получения пептидов из животного сырья, а именно из эпифиза крупного рогатого скота (патент РФ №2136296, 1997), который измельчают, экстрагируют в растворе уксусной кислоты, замораживают при температуре минус 5-20°C и оттаивают, после чего предварительно осветленный экстракт подвергают ультрафильтрации в тангенциальном потоке на мембранах с порогом пропускания 10 кД. Выход целевого продукта с единицы сырья составляет 12 г на 1 кг исходного сырья. Получаемый пептидный комплекс согласно способу, описанному в патенте РФ №2136296, не содержит белковых контаминаций (отрицательная реакция на белок с трихлоруксусной кислотой, а также данные высокоэффективной жидкостной хроматографии), отвечает критериям подлинности (максимум поглощения в УФ спектре составляет 270 ± 5 нм) и обладает специфической активностью.

Известен способ получения пептидного комплекса из шишковидной железы крупного рогатого скота (патент РФ №944191, 1994), включающий экстракцию измельченного сырья 3-5% уксусной кислотой с добавлением хлористого цинка, центрифугирование, осаждение целевого продукта из надосадочной жидкости шестью объемами ацетона и эфира, его ренатурацию в 1%-ной уксусной кислоте с последующим осветлением и приготовлением лекарственной формы.

Однако получаемый таким способом пептидный комплекс содержит белковые контаминации, а выход целевого продукта с единицы сырья мал и составляет 7 г/кг.

Наиболее близким техническим решением является способ получения из животного сырья обладающего тканеспецифическим действием нуклеопротеинового комплекса (патент РФ №2075944, 1996) с молекулярной массой входящих в него нуклеопротеиновых компонентов от 10000 до 90000 Да.

Способ, описанный в патенте РФ №2075944, предусматривает экстракцию предварительно подготовленного (измельченного и замороженного) животного сырья с использованием в качестве экстрагента 1-2,5% раствора углекислого натрия (сода) при pH 10,4-10,8 в течение 2-4 ч с добавлением 0,1-0,5%-ного хлористого магния при соотношении объемов экстрагируемой ткани и раствора соды в диапазоне 1:8-1:20,

отделение осадка фильтрацией или на центрифуге, подкисление экстракта до pH 3,8-5,5, охлаждение суспензии при температуре не выше 4°C в течение 40 ч для удаления нерастворимых веществ, промывание осадка органическими растворителями (последовательно этанолом, ацетоном, серным эфиром), высушивание осадка в вакууме при температуре не выше 55°C.

Выход целевого продукта (порошка нуклепротеинового комплекса) составляет 2,5-3,0% от количества исходного сырья.

Следует отметить, что хотя целевой продукт, получаемый способом, описанным в патенте РФ №2075944, содержит нуклеопротеиновые комплексы, обладающие специфичностью действия и тропностью по отношению к органам и тканям, являющимся источником их получения, однако известный способ имеет ряд недостатков, среди которых необходимо отметить следующие.

Порошок нуклеопротеинового комплекса из органов и тканей, полученный описанным способом, относится к группе малорастворимых веществ, что требует определенных технологических приемов для применения в медицинской практике.

Получаемый продукт состоит из двух групп молекулярных ассоциатов: достаточно большого количества высокомолекулярных компонентов, среди которых присутствуют белки класса амилоидов, в состав которых входят прионы (мол. мас. от 27000 до 31000 Да), а также нуклеинового компонента, наличие которого несет в себе опасность присутствия в целевом продукте протоонкогенов.

Задача, на решение которой направлено заявляемое изобретение, состоит в разработке технологии выделения очищенного от белковых, нуклеиновых и липидных примесей низкомолекулярного комплекса, пептидный компонент которого не денатурирует и сохраняет свои регуляторные свойства.

Технический результат заключается в том, что предлагаемым способом получают пептидный комплекс с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов от 1000 до 12000 Да, содержащий аминокислоты, минеральные вещества, микроэлементы и витамины в биологически связанной форме, проявляющий выраженную тканеспецифическую активность, вследствие чего пептидный компонент полученного комплекса не денатурирует и сохраняет свои регуляторные свойства, что позволяет считать показанным его использование в качестве средства для поддерживающей терапии.

Для решения поставленной задачи и достижения указанного технического результата предложен способ получения средства для поддерживающей терапии,

обладающего тканеспецифической активностью, который характеризуется тем, что органы телят не старше 12-месячного возраста или свиней измельчают, добавляют 3%-ный раствор уксусной кислоты при $20 \pm 5^\circ\text{C}$, экстракцию проводят при постоянном помешивании, через 30 минут добавляют 1%-ный раствор хлористого цинка, охлаждают при постоянном помешивании до $7-16^\circ\text{C}$, затем перемешивают по 1 часу через каждые 4 часа отстаивания в течение 48 часов, экстракт отделяют от балластных веществ сепарированием, к экстракту добавляют ацетон в объемном соотношении 1:5, выдерживают при $3-5^\circ\text{C}$ в течение 4 часов, образовавшийся осадок промывают двукратным объемом охлажденного до $7-16^\circ\text{C}$ ацетона, промытый осадок протирают через металлическое сито, полученный целевой продукт, представляющий собой пептидный комплекс с содержанием низкомолекулярной пептидной фракции от 70 до 90%, высушивают при $18 \pm 2^\circ\text{C}$.

При этом максимум поглощения целевого продукта в ультрафиолетовом спектре составляет 270 ± 5 нм.

При этом средство для поддерживающей терапии, обладающее тканеспецифической активностью, полученное вышеописанным способом из ткани печени, представляет собой пептидный комплекс, поддерживающий функцию печени, с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов в пределах от 1000 до 12000 Да, который содержит аминокислоты, минеральные вещества, микроэлементы и витамины в биологически связанной форме при следующем содержании компонентов:

Аминокислоты	120-702 нмоль/мг
Минеральные вещества	1,77-490,45 мкг/20 мг
Микроэлементы	0,0027-0,4157 мкг/20 мг
Витамины	0,019-3,012 мкг/20 мг

При этом средство для поддерживающей терапии, обладающее тканеспецифической активностью, полученное вышеописанным способом из ткани поджелудочной железы, представляет собой пептидный комплекс с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов в пределах от 1000 до 12000 Да, поддерживающий функцию поджелудочной железы, содержит аминокислоты, минеральные вещества, микроэлементы и витамины в биологически связанной форме при следующем содержании компонентов:

Аминокислоты	81-505 нмоль/мг
Минеральные вещества	1,01-1921,41 мкг/20 мг
Микроэлементы	0,0190-0,3211 мкг/20 мг
Витамины	0,011-1,255 мкг/20 мг

При этом средство для поддерживающей терапии, обладающее тканеспецифической активностью, полученное вышеописанным способом из ткани щитовидной железы, представляет собой пептидный комплекс с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов в пределах от 1000 до 12000 Да, поддерживающий функцию щитовидной железы, содержит аминокислоты, минеральные вещества, микроэлементы и витамины в биологически связанной форме при следующем содержании компонентов:

Аминокислоты	126-891 нмоль/мг
Минеральные вещества	1,02-277,18 мкг/20 мг
Микроэлементы	0,0102-0,5080 мкг/20 мг
Витамины	0,02-0,19 нмоль/мг

При этом средство для поддерживающей терапии, обладающее тканеспецифической активностью, полученное вышеописанным способом из сосудов, представляет собой пептидный комплекс с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов в пределах от 1000 до 12000 Да, поддерживающий функцию сосудов, содержит аминокислоты, минеральные вещества, микроэлементы и витамины в биологически связанной форме при следующем содержании компонентов:

Аминокислоты	200-999 нмоль/мг
Минеральные вещества	1,71-444,45 мкг/20 мг
Микроэлементы	0,011-0,9812 мкг/20 мг
Витамины	0,002-0,33 мкг/20 мг

При этом средство для поддерживающей терапии, обладающее тканеспецифической активностью, полученное вышеописанным способом из ткани хряща, представляет собой пептидный комплекс с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов в пределах от 1000 до 12000 Да, поддерживающий функцию хрящевой ткани, содержит аминокислоты, минеральные вещества, микроэлементы и витамины в биологически связанной форме при следующем содержании компонентов:

Аминокислоты	111-602 нмоль/мг
Минеральные вещества	1,33-1222,44 мкг/20 мг
Микроэлементы	0,0010-0,5926 мкг/20 мг
Витамины	0,007-0,34 мкг/20 мг

При этом средство для поддерживающей терапии, обладающее тканеспецифической активностью, полученное вышеописанным способом из ткани головного мозга, представляет собой пептидный комплекс с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов в пределах от 1000 до 12000 Да, поддерживающий функцию головного мозга, содержит аминокислоты, минеральные вещества, микроэлементы и витамины в биологически связанной форме при следующем содержании компонентов:

Аминокислоты	101-602 нмоль/мг
Минеральные вещества	1,0-674,25 мкг/20 мг
Микроэлементы	0,0028-0,2844 мкг/20 мг
Витамины	0,005-0,07 мкг/20 мг

При этом средство для поддерживающей терапии, обладающее тканеспецифической активностью, полученное вышеописанным способом из тимуса, представляет собой пептидный комплекс с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов в пределах от 1000 до 12000 Да, поддерживающий функцию иммунной системы, содержит аминокислоты, минеральные вещества, микроэлементы и витамины в биологически связанной форме при следующем содержании компонентов:

Аминокислоты	100-605 нмоль/мг
Минеральные вещества	4,01-465,11 мкг/20 мг
Микроэлементы	0,0030-0,2459 мкг/20 мг
Витамины	0,007-1,788 мкг/20 мг

Предлагаемая технология в отличие от известных позволяет получить очищенный от нуклеиновых, белковых и липидных примесей пептидный комплекс с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов от 1000 до 12000 Да, содержащий в биологически связанной форме аминокислоты, микроэлементы, минеральные вещества и витамины, обладающий выраженной тканеспецифической активностью, что достигается предлагаемой последовательностью технологических операций и условиями их осуществления, включая температурные, временные и иные характеристики, а также использованием веществ, включая исходное сырье, определенный экстрагент и др.

Сущность изобретения поясняется таблицами.

В Таблице 1 представлен аминокислотный состав и соотношение аминокислот, входящих в пептидный комплекс, выделенный из печени.

В Таблице 2 представлено содержание минеральных веществ в пептидном комплексе, выделенном из печени.

В Таблице 3 представлен микроэлементный состав пептидного комплекса, выделенного из печени.

В Таблице 4 представлены результаты содержания витаминов в пептидном комплексе, выделенном из печени.

В Таблице 5 представлен химический состав пептидного комплекса, выделенного из печени.

В Таблице 6 показано влияние пептидного комплекса, выделенного из печени, на развитие эксплантатов печени.

В Таблице 7 представлен аминокислотный состав и соотношение аминокислот, входящих в пептидный комплекс, выделенный из поджелудочной железы.

В Таблице 8 представлено содержание минеральных веществ в пептидном комплексе, выделенном из поджелудочной железы.

В Таблице 9 представлен микроэлементный состав пептидного комплекса, выделенного из поджелудочной железы.

В Таблице 10 представлено содержание витаминов в пептидном комплексе, выделенном из поджелудочной железы.

В Таблице 11 представлен химический состав пептидного комплекса, выделенного из поджелудочной железы.

В Таблице 12 показано влияние пептидного комплекса, выделенного из поджелудочной железы, на развитие эксплантатов поджелудочной железы.

В Таблице 13 представлен аминокислотный состав и соотношение аминокислот, входящих в пептидный комплекс, выделенный из щитовидной железы.

В Таблице 14 представлено содержание минеральных веществ в пептидном комплексе, выделенном из щитовидной железы.

В Таблице 15 представлен микроэлементный состав пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы.

В Таблице 16 представлен витаминный состав пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы.

В Таблице 17 представлен химический состав пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы.

В Таблице 18 показано влияние пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы, на развитие эксплантатов щитовидной железы.

В Таблице 19 представлен аминокислотный состав и соотношение аминокислот, входящих в пептидный комплекс, выделенный из сосудов.

В Таблице 20 представлен минеральный состав пептидного комплекса, выделенного из сосудов.

В Таблице 21 представлен микроэлементный состав пептидного комплекса, выделенного из сосудов.

В Таблице 22 представлен витаминный состав пептидного комплекса, выделенного из сосудов.

В Таблице 23 представлен химический состав пептидного комплекса, выделенного из сосудов.

В Таблице 24 показано влияние пептидного комплекса, выделенного из сосудов, на развитие эксплантатов сосудов.

В Таблице 25 представлен аминокислотный состав и соотношение аминокислот, входящих в пептидный комплекс, выделенный из хрящей.

В Таблице 26 представлен минеральный состав пептидного комплекса, выделенного из хрящей.

В Таблице 27 представлен микроэлементный состав пептидного комплекса, выделенного из хрящей.

В Таблице 28 представлен витаминный состав пептидного комплекса, выделенного из хрящей.

В Таблице 29 представлен химический состав пептидного комплекса, выделенного из хрящей.

В Таблице 30 показано влияние пептидного комплекса, выделенного из хрящей, на развитие эксплантатов хрящей.

В Таблице 31 представлен аминокислотный состав и соотношение аминокислот, входящих в пептидный комплекс, выделенный из головного мозга.

В Таблице 32 представлен минеральный состав пептидного комплекса, выделенного из головного мозга.

В Таблице 33 представлен микроэлементный состав пептидного комплекса, выделенного из головного мозга.

В Таблице 34 представлен витаминный состав пептидного комплекса, выделенного из головного мозга.

В Таблице 35 представлен химический состав пептидного комплекса, выделенного из головного мозга.

В Таблице 36 показано влияние пептидного комплекса, выделенного из головного мозга, на развитие эксплантатов головного мозга.

В Таблице 37 представлен аминокислотный состав и соотношение аминокислот, входящих в пептидный комплекс, выделенный из тимуса.

В Таблице 38 представлен минеральный состав пептидного комплекса, выделенного из тимуса.

В Таблице 39 представлен микроэлементный состав пептидного комплекса, выделенного из тимуса.

В Таблице 40 представлен витаминный состав пептидного комплекса, выделенного из тимуса.

В Таблице 41 представлен химический состав пептидного комплекса, выделенного из тимуса.

В Таблице 42 показано влияние пептидного комплекса, выделенного из тимуса, на развитие эксплантатов тимуса.

Ниже приведены примеры получения пептидного комплекса из животного сырья, в качестве которого используют различные органы и ткани животных (пример 1 - из печени, пример 3 - из поджелудочной железы, пример 5 - из щитовидной железы, пример 7 - из сосудов, пример 9 - из хрящей, пример 11 - из головного мозга, пример 13 - из тимуса), а также примеры, подтверждающие тканеспецифическое действие пептидного комплекса (пример 2 - тканеспецифической активности пептидного комплекса, выделенного из печени, пример 4 - тканеспецифической активности пептидного комплекса, выделенного из поджелудочной железы, пример 6 - тканеспецифической активности пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы, пример 8 - тканеспецифической активности пептидного комплекса, выделенного из сосудов, пример 10 - тканеспецифической активности пептидного комплекса, выделенного из хрящей, пример 12 - тканеспецифической активности пептидного комплекса, выделенного из головного мозга, пример 14 - тканеспецифической активности пептидного комплекса, выделенного из тимуса).

Пример 1. Способ получения пептидного комплекса, выделенного из печени, обладающего тканеспецифической активностью

В качестве животного сырья используют печень телят (не старше 12-месячного возраста) или свиней.

В реактор для экстракции перекачивают 250 л 3% раствора уксусной кислоты и охлаждают до температуры $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$, затем в реактор при постоянном перемешивании загружают 50 кг измельченного сырья. Через 30 минут добавляют 1% раствор

хлористого цинка в 3%-ном растворе уксусной кислоты (из расчета на 1 кг сырья - 10 г хлористого цинка), суспензию при постоянном перемешивании охлаждают до достижения температуры плюс (7-16)°С. Последующие перемешивания производят по 1 часу через каждые 4 часа отстаивания. Процесс проводят в течение не менее 48 часов при температуре плюс (7-16)°С.

Отделение экстракта от балластных веществ проводят на сепараторе при (5000±500) об/мин. В реактор для осаждения из мерника ацетона подают ацетон из расчета 5 объемов на 1 объем экстракта печени. В охлажденный ацетон тонкой струей при постоянном перемешивании подают осветленный экстракт печени, перемешивают и оставляют смесь до формирования осадка при температуре плюс (3-5)°С в течение не менее 4 часов. Надосадочный слой удаляют декантированием. Сформировавшийся осадок промывают на нутч-филтре, на сетку которого кладут ткань хлопчатобумажную, двукратными объемами охлажденного до плюс (7-16)°С ацетона, подавая его из мерника. Промытый осадок протирают через металлическое сито с диаметром отверстий 1,5 мм и выкладывают тонким слоем в эмалированные кюветы, закрывают двойным слоем ткани хлопчатобумажной и высушивают при температуре плюс (18±2)°С до полного удаления запаха ацетона. В процессе высушивания массу по мере подсыхания верхнего слоя перемешивают. Полученный порошок просеивают через металлическое сито с диаметром отверстий 0,36 мм. Сухой порошок взвешивают, отбирают пробу и направляют ее на анализ.

Выход целевого продукта (порошка биологически активного пептидного комплекса, выделенного из печени) составляет 70 г на 1 кг исходного сырья.

Целевой продукт (пептидный комплекс) представляет собой порошок от кремового до темно-коричневого цвета и содержит биологически активные пептидные компоненты. Целевой продукт умеренно растворим в воде.

Для более подробной характеристики биологически активного пептидного комплекса, полученного предлагаемым способом, проведено изучение его состава, основных физико-химических свойств, специфической биологической активности.

Молекулярную массу пептидных компонентов, входящих в пептидный комплекс, определяют методом гель-хроматографии на сефадексах G-25 и G-50 ("Pharmacia", Швеция). Для калибровки колонки 1,6×60 см используют набор маркеров Peptide Molecular Weight Kit MS III ("Serva", Германия). Установлено, что в состав пептидного комплекса входят вещества с молекулярной массой не более 12000 Да. С помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии в градиенте

ацетонитрила (сорбент "Lichrosorb C₁₈", колонка 2×62 мм) установлено, что в состав пептидного комплекса входят, преимущественно низкомолекулярные пептидные фракции (от 70 до 90%), а высокомолекулярные компоненты в пептидном комплексе отсутствуют.

По данным электрофореза в 15%-ном полиакриламидном геле молекулярная масса пептидных компонентов пептидного комплекса составляет от 1000 до 12000 Да.

Для определения подлинности пептидного комплекса навеску целевого продукта 10 мг помещают в пробирку, растворяют при тщательном перемешивании в 5 мл воды. Раствор фильтруют через бумажный фильтр. Для приготовления биуретового реактива растворяют 90 г калия-натрия тартрата в 400 мл 0,2 н. раствора едкого натрия, прибавляют 10 г меди сернокислой 5-водной, после растворения добавляют 10 г йодида калия и доводят объем раствора 0,2 н. раствором едкого натра до 2 л. К исследуемому раствору добавляют 5 мл биуретового реактива. Окрашивание раствора в фиолетовый цвет свидетельствует об имеющихся в комплексе пептидных связях. В качестве вещества сравнения используют воду.

Идентификацию активного пептидного комплекса проводят с помощью ультрафиолетовой спектрофотометрии. Для этого 10 мг пептидного комплекса растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. На спектрофотометре измеряют ультрафиолетовый спектр пептидного комплекса в кварцевых кюветах с толщиной слоя 10 мм в области длин волн от 250 до 300 нм. В качестве раствора сравнения используют воду. Спектр должен иметь выраженный максимум при длине волны (270±5) нм. Соотношение оптических плотностей при длинах волн 275 нм (D_{275}) и 260 нм (D_{260}) D_{275}/D_{260} должно быть не менее 1,0.

Для определения белка в пептидном комплексе 25 мг продукта (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, перемешивая с помощью магнитной мешалки, и доводят объем раствора водой до метки. Раствор фильтруют через бумажный фильтр. Проводят измерение оптической плотности полученных образцов в кварцевых кюветах с толщиной слоя 10 мм при длинах волн 280 нм (D_{280}) и 260 нм (D_{260}). В качестве раствора сравнения используют воду. Содержание белка (X) в продукте в мг/мг вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(1,45 \times D_{280} - 0,74 \times D_{260}) \times 100}{25}$$

Содержание белка в продукте должно составлять 0,2-0,5 мг/мг.

Для определения содержания остаточных органических растворителей (ацетона) готовят раствор стандартного образца (PCO) ацетона. Около 10 мг (точная навеска) ацетона (ГОСТ 2603-79, ч.д.а.) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водным раствором аммиака до метки и перемешивают. Раствор используют свежеприготовленным.

Для определения содержания ацетона около 100 мг (точная навеска) продукта растворяют в 5 мл раствора аммиака, полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр. По 2 мкл полученного раствора и раствора PCO ацетона попеременно хроматографируют на газовом анализаторе ("Хром-5" или аналогичном) с пламенно-ионизационным детектором, получая не менее 5 хроматограмм.

Содержание ацетона (X) в конечном продукте в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_1 \times V_1 \times m_0 \times 100}{S_0 \times m_1 \times V_0},$$

где S_1 - среднее значение площадей пиков ацетона из хроматограмм испытуемого раствора;

S_0 - среднее значение площадей пиков ацетона из хроматограмм раствора PCO ацетона;

m_1 - масса навески продукта, в мг;

m_0 - масса навески PCO ацетона, в мг;

V_1 - объем испытуемого раствора, в мл;

V_0 - объем раствора PCO ацетона, в мл.

Результаты анализа считаются достоверными, если выполняются требования теста "Проверка пригодности хроматографической системы".

Допускается присутствие остаточного количества ацетона не более 1%.

Бактериологические показатели пептидного комплекса анализируют по ГОСТ 10444.2-94, ГОСТ 10444.15-94, ГОСТ Р 50474-93, ГОСТ Р 50480-93.

Содержание токсичных элементов в пептидном комплексе определяют по ГОСТ 26927-86, ГОСТ 26930-86, ГОСТ 26932-86, ГОСТ 26933-86.

Результаты изучения компонентного состава пептидного комплекса, выделенного из печени, представлены в нижеследующих таблицах.

Аминокислотный состав пептидного комплекса определяют на анализаторе "LKB-3201" (Швеция). Анализ показал, что в пептидном комплексе, выделенном из печени, присутствует основной спектр аминокислот, в том числе незаменимые (см. Таблицу 1).

Наименование аминокислоты	Содержание аминокислоты, нмоль/мг
Asp	555
Thr	271
Ser	306
Glu	702
Pro	264
Gly	385
Ala	426
Val	312
Ile	211
Leu	456
Tyr	120
Phe	194
His	138
Lys	333
Arg	225

Содержание аминокислот, представленное в Таблице 1, соответствует суммарному количеству аминокислот в пептидном комплексе, равному 65-75 масс.% (120-702 нмоль/мг).

Определение содержания минеральных веществ в пептидном комплексе, выделенном из печени, осуществляют с помощью пламенного фотометра (натрий и калий), титрометрическими методами (кальций и магний), калориметрически (фосфор, железо).

В процессе исследований установлено, что минеральный состав пептидного комплекса, выделенного из печени, представлен наиболее важными для нормального функционирования органов и систем человека минеральными веществами в оптимальном количестве – кальцием, магнием, железом, фосфором, а также калием и натрием (см. Таблицу 2).

Таблица 2

Наименование продукта	Содержание минеральных веществ, мкг/20 мг						
	Ca	Mg	Fe	P	K	Na	S
Пептидный комплекс, выделенный из печени	18,01	1,77	2,44	14,35	22,11	490,45	222,87

Содержание минеральных веществ, представленное в Таблице 2, соответствует суммарному количеству минеральных веществ в пептидном комплексе, равному 3,0-5,0 масс.% (1,77-490,45 мкг/20 мг).

Содержание микроэлементов в пептидном комплексе, выделенном из печени, определяют методом эмиссионной спектрометрии с помощью спектрохимической системы GBC , и отражено в Таблице 3.

Таблица 3

Наименование продукта	Содержание микроэлементов, мкг/20 мг				
	Al	Mn	Cu	Co	Mo
Пептидный комплекс, выделенный из печени	0,2158	0,0192	0,4157	0,0027	0,0299

Содержание микроэлементов, представленное в Таблице 3, соответствует суммарному количеству микроэлементов в пептидном комплексе, равному 0,003-0,008 масс.% (0,0027-0,4157 мкг/20 мг).

Определение витаминов в пептидном комплексе, выделенном из печени, осуществляют общепринятыми методами, основанными на способности витаминов давать характерные цветные реакции с рядом химических соединений, интенсивность окраски которых пропорциональна концентрации витамина и может быть определена фотоколориметрически, и отражено в Таблице 4.

Таблица 4

Наименование продукта	Содержание витаминов, мкг/20 мг					
	B ₁	B ₂	PP	C	A	E
Пептидный комплекс, выделенный из печени	0,08	0,059	3,012	следы	0,019	0,040

Содержание витаминов, представленное в Таблице 4, соответствует суммарному количеству витаминов в пептидном комплексе, равному 0,01-0,03 масс. % (0,019-3,012 мкг/20 мг).

Анализ химического состава целевого продукта свидетельствует об отсутствии в нем углеводов и его низкой энергетической ценности, что позволяет применять его в диетическом питании (см. Таблицу 5).

Таблица 5

Наименование продукта	Энергетическая ценность кал/20 мг	Содержание компонентов, мг/20 мг			
		Белки	Жиры	Углеводы	Зола
Пептидный комплекс, выделенный из печени	42,15	8,12	0,92	следы	0,28

Приведенная информация по химическому составу продукта, полученного предлагаемым способом, свидетельствующая о наличии физиологических концентраций аминокислот, минеральных веществ, микроэлементов и витаминов, демонстрирует химический состав ткани, из которой была проведена экстракция, и подтверждает содержание в них перечисленных веществ в биологически связанной форме.

Пример 2. Тканеспецифическая активность пептидного комплекса, выделенного из печени

Для изучения тканеспецифической активности пептидного комплекса, выделенного предлагаемым способом из печени, исследовали влияние целевого продукта на рост органотипической культуры печени половозрелых крыс линии «Wistar» с массой тела 150-200 г.

Отпрепарированные в стерильных условиях фрагменты печени крыс разделяли на более мелкие части величиной около 1 мм³, которые помещали в чашки Петри с коллагеновым покрытием дна. Питательная среда состояла из 35% среды Игла, 35% раствора Хенкса, 25% фетальной телячьей сыворотки, 5% куриного эмбрионального экстракта, 0,6% глюкозы, 0,5 ед/мл инсулина, 100 ед/мл гентамицина. Исследуемый пептидный комплекс, выделенный из печени, вводили в культуральную среду в концентрациях от 0,01 до 20 нг/мл для выявления его эффективных концентраций. В чашки Петри с экспериментальными эксплантатами добавляли по 3 мл питательной среды, содержащей пептидный комплекс, выделенный из печени, в исследуемой концентрации, а в чашки Петри с контрольными эксплантатами по 3 мл питательной

среды; таким образом, экспериментальные и контрольные эксплантаты развивались в одинаковых объемах питательной среды. Чашки Петри помещали в термостат при температуре $(37 \pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ и через 3 сут просматривали под фазово-контрастным микроскопом. Определяли индекс площади (ИП), который рассчитывали в условных единицах как отношение площади всего эксплантата вместе с зоной выселяющихся клеток к площади центральной зоны эксплантата. Для визуализации эксплантатов применяли микротеленасадку для микроскопа (серия 10, МТН-13 “Альфа-Телеком”, Россия). Для расчета индекса площади эксплантатов использовали программу Photo M 1.2. Достоверность различий в индексах площади контрольных и экспериментальных эксплантатов оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Значения индекса площади выражали в процентах, контрольное значение ИП принимали за 100%.

При использовании пептидного комплекса, выделенного из печени, в концентрациях 0,05, 0,1 и 10 нг/мл наблюдалось достоверное повышение ИП эксплантатов на 18-28%, по сравнению с контрольными значениями ИП. Полученные данные представлены в Таблице 6.

Таблица 6

Показатель	Концентрация пептидного комплекса, выделенного из печени, нг/мл							
	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0	2,0	10,0	20,0
ИП, % по отношению к контролю	5	18*	20*	22*	14	22*	28*	18*

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таким образом, в отношении ткани печени пептидный комплекс, выделенный из печени, оказывает тканеспецифическое действие, проявляющееся в стимуляции роста эксплантатов, что подтверждается в опытах на крысах, это позволяет считать показанным использование его в качестве средства, поддерживающего функцию печени.

Пример 3. Способ получения пептидного комплекса, выделенного из поджелудочной железы, обладающего тканеспецифической активностью

В качестве животного сырья используют поджелудочную железу телят (не старше 12-месячного возраста) или свиней.

Выделение пептидного комплекса из поджелудочной железы проводят, как описано в примере 1, за исключением того, что выход целевого продукта (порошка биологически активного пептидного комплекса, выделенного из поджелудочной железы) составляет 60 г на 1 кг исходного сырья.

Для более подробной характеристики биологически активного пептидного комплекса, полученного предлагаемым способом, проведено изучение его состава, основных физико-химических свойств, специфической биологической активности. Основные характеристики пептидного комплекса, выделенного из поджелудочной железы, определенные методами, описанными в примере 1, представлены в Таблицах 7-11.

Аминокислотный анализ показал, что в пептидном комплексе, выделенном из поджелудочной железы, присутствует основной спектр аминокислот, в том числе незаменимые (см. Таблицу 7).

Таблица 7

Наименование аминокислоты	Содержание аминокислоты, нмоль/мг
Asp	388
Thr	171
Ser	212
Glu	505
Pro	151
Gly	401
Ala	314
Val	305
He	144
Leu	352
Tyr	81
Phe	111
His	129
Lys	306
Arg	187

Содержание аминокислот, представленное в Таблице 7, соответствует суммарному количеству аминокислот в пептидном комплексе, равному 45-55 масс.% (81-505 нмоль/мг).

Минеральный состав пептидного комплекса, выделенного из поджелудочной железы, представлен наиболее важными для нормального функционирования органов и систем человека минеральными веществами в оптимальном количестве – кальцием, магнием, железом, фосфором, а также калием и натрием, что отражено в Таблице 8.

Таблица 8

Наименование продукта	Содержание минеральных веществ, мкг/20 мг						
	Ca	Mg	Fe	P	K	Na	S
Пептидный комплекс, выделенный из поджелудочной железы	30,14	2,00	1,01	76,14	100,54	1921,41	306,17

Содержание минеральных веществ, представленное в Таблице 8, соответствует суммарному количеству минеральных веществ в пептидном комплексе, равному 10,0-15,0 масс. % (1,01-1921,41 мкг/20 мг).

Результаты анализа микроэлементного состава пептидного комплекса, выделенного предлагаемым способом из поджелудочной железы, представлены в Таблице 9.

Таблица 9

Наименование продукта	Содержание микроэлементов, мкг/20 мг				
	Al	Mn	Cu	Co	Mo
Пептидный комплекс, выделенный из поджелудочной железы	0,3211	0,0512	0,0712	0	0,0190

Содержание микроэлементов, представленное в Таблице 9, соответствует суммарному количеству микроэлементов в пептидном комплексе, равному 0,001-0,003 масс. % (0,0190-0,3211 мкг/20 мг).

Витаминный состав пептидного комплекса, выделенного предлагаемым способом из поджелудочной железы, характеризуется значительным содержанием витамина PP, B₂, а также наличием витаминов B₁, A и E, что отражено в Таблице 10.

Таблица 10

Наименование продукта	Содержание витаминов, мкг/20 мг					
	B ₁	B ₂	PP	C	A	E
Пептидный комплекс, выделенный из поджелудочной железы	0,09	0,212	1,255	следы	0,011	0,221

Содержание витаминов, представленное в Таблице 10, соответствует суммарному количеству витаминов в пептидном комплексе, равному 0,005-0,010 масс. % (0,011-1,255 мкг/20 мг).

Анализ химического состава целевого продукта свидетельствует об отсутствии в нем углеводов и его низкой энергетической ценности, что позволяет применять его в диетическом питании (см. Таблицу 11).

Таблица 11

Наименование продукта	Энергетическая ценность кал/20 мг	Содержание компонентов, мг/20 мг			
		Белки	Жиры	Углеводы	Зола
Пептидный комплекс, выделенный из поджелудочной железы	41,12	6,05	1,47	следы	1,0

Приведенная информация по химическому составу продукта, полученного предлагаемым способом, свидетельствующая о наличии физиологических концентраций аминокислот, минеральных веществ, микроэлементов и витаминов, демонстрирует химический состав ткани, из которой была проведена экстракция, и подтверждает содержание в них перечисленных веществ в биологически связанной форме.

Пример 4. Тканеспецифическая активность пептидного комплекса, выделенного из поджелудочной железы

Для изучения тканеспецифической активности пептидного комплекса, выделенного из поджелудочной железы предложенным способом, исследовали его влияние на рост органотипической культуры поджелудочной железы половозрелых крыс. Подробно метод описан в примере 2.

Эксперименты проведены на 29 фрагментах поджелудочной железы крыс линии «Wistar» с массой тела 150-200 г. Фрагменты поджелудочной железы помещали в питательную среду и культивировали в чашках Петри в термостате при $(37 \pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ в течение 2 суток. В экспериментальную среду добавляли пептидный комплекс, выделенный из поджелудочной железы, в концентрациях от 0,01 до 20 нг/мл.

При использовании пептидного комплекса, выделенного из поджелудочной железы в концентрациях 0,05, 0,1 и 10 нг/мл наблюдалось достоверное повышение ИП эксплантатов на 16-27 %, по сравнению с контрольными значениями ИП.

Полученные данные представлены в Таблице 12.

Показатель	Концентрация пептидного комплекса, выделенного из поджелудочной железы, нг/мл							
	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0	2,0	10,0	20,0
ИП, % по отношению к контролю	8	20*	27*	20*	16*	22*	24*	16*

- $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таким образом, в отношении ткани поджелудочной железы пептидный комплекс, выделенный из поджелудочной железы, оказывает тканеспецифическое действие, проявляющееся в стимуляции роста эксплантатов, что подтверждается в опытах на крысах, это позволяет считать показанным использование его в качестве средства, поддерживающего функцию поджелудочной железы.

Пример 5. Способ получения пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы, обладающего тканеспецифической активностью

В качестве животного сырья используют щитовидную железу телят (не старше 12-месячного возраста) или свиней.

Выделение пептидного комплекса из щитовидной железы проводят, как описано в примере 1, за исключением того, что выход целевого продукта (порошка биологически активного пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы) составляет 46 г на 1 кг исходного сырья.

Для более подробной характеристики биологически активного пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы, полученного предлагаемым способом, проведено изучение его состава, основных физико-химических свойств, специфической биологической активности.

Основные характеристики полученного пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы, определенные методами, описанными в примере 1, представлены в Таблицах 13-17.

Аминокислотный анализ целевого продукта показал, что в пептидном комплексе, выделенном из щитовидной железы, присутствует основной спектр аминокислот, в том числе незаменимые (см. Таблицу 13).

Наименование аминокислоты	Содержание аминокислоты, нмоль/мг
Asp	502
Thr	241
Ser	405
Glu	891
Pro	377
Gly	505
Ala	594
Val	418
He	158
Leu	588
Tyr	126
Phe	251
His	131
Lys	305
Arg	201

Содержание аминокислот, представленное в Таблице 13, соответствует суммарному количеству аминокислот в пептидном комплексе, равному 70-80 масс.% (126-891 нмоль/мг).

Минеральный состав пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы, представлен наиболее важными для нормального функционирования органов и систем человека минеральными веществами в оптимальном количестве – кальцием, магнием, железом, фосфором, а также калием и натрием, что отражено в Таблице 14.

Таблица 14

Наименование продукта	Содержание минеральных веществ, мкг/20 мг						
	Ca	Mg	Fe	P	K	Na	S
Пептидный комплекс, выделенный из щитовидной железы	20,14	1,02	3,87	42,07	40,11	261,12	277,18

Содержание минеральных веществ, представленное в Таблице 14, соответствует суммарному количеству минеральных веществ в пептидном комплексе, равному 3,0-5,0 масс.% (1,02-277,18 нмоль/20 мг).

Результаты анализа микроэлементного состава пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы, представлены в Таблице 15.

Таблица 15

Наименование продукта	Содержание микроэлементов, мкг/20 мг				
	Al	Mn	Cu	Co	Mo
Пептидный комплекс, выделенный из щитовидной железы	0,5080	0.0420	0.0835	0	0,0102

Содержание микроэлементов, представленное в Таблице 15, соответствует суммарному количеству микроэлементов в пептидном комплексе, равному 0,002-0,004 масс.% (0,0102-0,5080 мкг/20 мг).

Витаминный состав пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы, характеризуется значительным содержанием витамина РР, В₂, а также наличием витаминов В₁, А и Е, что отражено в Таблице 16.

Таблица 16

Наименование продукта	Содержание витаминов, мкг/20 мг					
	В ₁	В ₂	РР	С	А	Е
Пептидный комплекс, выделенный из щитовидной железы	0,19	0,020	0,035	следы	0,029	0,057

Содержание витаминов, представленное в Таблице 16, соответствует суммарному количеству витаминов в пептидном комплексе, равному 0,001-0,003 масс.% (0,02-0,19 нмоль/мг).

Анализ химического состава целевого продукта свидетельствует об отсутствии в нем углеводов и его низкой энергетической ценности, что позволяет применять его в диетическом питании (см. Таблицу 17).

Таблица 17

Наименование продукта	Энергетическая ценность, кал/20 мг	Содержание компонентов, мг/20 мг			
		Белки	Жиры	Углеводы	Зола
Пептидный комплекс, выделенный из щитовидной железы	44,84	7,01	1,33	следы	0,18

Приведенная информация по химическому составу продукта, полученного предлагаемым способом, свидетельствующая о наличии физиологических концентраций аминокислот, минеральных веществ, микроэлементов и витаминов, демонстрирует химический состав ткани, из которой была проведена экстракция, и подтверждает содержание в них перечисленных веществ в биологически связанной форме.

Пример 6. Тканеспецифическая активность пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы

Для изучения тканеспецифической активности пептидного комплекса, выделенного предлагаемым способом из щитовидной железы, исследовали влияние целевого продукта на рост органотипической культуры щитовидной железы половозрелых крыс. Подробно метод описан в примере 2.

Эксперименты проведены на 35 фрагментах щитовидной железы крыс линии «Wistar» с массой тела 150-200 г. Фрагменты щитовидной железы помещали в питательную среду и культивировали в чашках Петри в термостате при $(37 \pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ в течение 2 суток. В экспериментальную среду добавляли пептидный комплекс, выделенный из щитовидной железы, в концентрациях от 0,01 до 20 нг/мл.

При использовании пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы в концентрациях 0,05, 0,1 и 10 нг/мл наблюдалось достоверное повышение ИП эксплантатов на 18-24 %, по сравнению с контрольными значениями ИП.

В Таблице 18 показано влияние пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы, на развитие эксплантатов щитовидной железы.

Таблица 18

Показатель	Концентрация пептидного комплекса, выделенного из щитовидной железы, нг/мл							
	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0	2,0	10,0	20,0
ИП, % по отношению к контролю	7	18*	20*	20*	15	20*	24*	20*

- $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таким образом, в отношении ткани щитовидной железы пептидный комплекс, выделенный из щитовидной железы, оказывает тканеспецифическое действие,

проявляющееся в стимуляции роста эксплантатов, что подтверждается в опытах на крысах, это позволяет считать показанным использование его в качестве средства, поддерживающего функцию щитовидной железы.

Пример 7. Способ получения пептидного комплекса, выделенного из сосудов, обладающего тканеспецифической активностью

В качестве животного сырья используют сосуды телят (не старше 12-месячного возраста) или свиней.

Выделение пептидного комплекса из сосудов проводят, как описано в примере 1, за исключением того, что выход целевого продукта (порошка биологически активного пептидного комплекса, выделенного из сосудов) составляет 28 г на 1 кг исходного сырья. Для более подробной характеристики пептидного комплекса, полученного предлагаемым способом, проведено изучение его состава, основных физико-химических свойств, специфической биологической активности. Основные характеристики полученного пептидного комплекса, выделенного из сосудов, определенные методами, описанными в примере 1, представлены в Таблицах 19-23. Аминокислотный анализ целевого продукта показал, что в пептидном комплексе, выделенном из сосудов, присутствует основной спектр аминокислот, в том числе незаменимые (см. Таблицу 19).

Таблица 19

Наименование аминокислоты	Содержание аминокислоты, нмоль/мг
Asp	755
Thr	361
Ser	402
Glu	999
Pro	374
Gly	452
Ala	502
Val	401
He	247
Leu	504
Tyr	200
Phe	238
His	231
Lys	498
Arg	356

Содержание аминокислот, представленное в Таблице 19, соответствует суммарному количеству аминокислот в пептидном комплексе, равному 80,0-90,0 масс. % (200-999 нмоль/мг).

Минеральный состав пептидного комплекса, выделенного из сосудов, представлен наиболее важными для нормального функционирования органов и систем человека минеральными веществами в оптимальном количестве – кальцием, магнием, железом, фосфором, а также калием и натрием, что отражено в Таблице 20.

Таблица 20

Наименование продукта	Содержание минеральных веществ, мкг/20 мг						
	Ca	Mg	Fe	P	K	Na	S
Пептидный комплекс, выделенный из сосудов	25,74	3,03	1,71	25,17	34,55	222,51	444,45

Содержание минеральных веществ, представленное в Таблице 20, соответствует суммарному количеству минеральных веществ в пептидном комплексе, равному 3,0-5,0 масс. % (1,71-444,45 мкг/20 мг).

Результаты анализа микроэлементного состава пептидного комплекса, выделенного из сосудов, представлены в Таблице 21.

Таблица 21

Наименование продукта	Содержание микроэлементов, мкг/20 мг				
	Al	Mn	Cu	Co	Mo
Пептидный комплекс, выделенный из сосудов	0,9812	0.0123	0,5846	0	0,0110

Содержание микроэлементов, представленное в Таблице 21, соответствует суммарному количеству микроэлементов в пептидном комплексе, равному 0,005-0,010 масс. % (0,011-0,9812 мкг/20 мг). Витаминный состав пептидного комплекса, выделенного из сосудов, характеризуется значительным содержанием витамина PP, B₂, а также наличием витаминов B₁, A и E, что представлено в Таблице 22.

Таблица 22

Наименование продукта	Содержание витаминов, мкг/20 мг					
	B ₁	B ₂	PP	C	A	E
Пептидный комплекс, выделенный из сосудов	0,33	0,002	0,041	следы	0,023	0,039

Содержание витаминов, представленное в Таблице 22, соответствует суммарному количеству витаминов в пептидном комплексе, равному 0,001- 0,003 масс. % (0,002-0,33 мкг/20 мг).

Анализ химического состава целевого продукта свидетельствует об отсутствии в нем углеводов и его низкой энергетической ценности, что позволяет применять его в диетическом питании (см. Таблицу 23).

Таблица 23

Наименование препарата	Энергетическая ценность кал/20 мг	Содержание компонентов, мг/20 мг			
		Белки	Жиры	Углеводы	Зола
Пептидный комплекс, выделенный из сосудов	39,15	7,85	0,86	следы	0,35

Приведенная информация по химическому составу продукта, полученного предлагаемым способом, свидетельствующая о наличии физиологических концентраций аминокислот, минеральных веществ, микроэлементов и витаминов, демонстрирует химический состав ткани, из которой была проведена экстракция, и подтверждает содержание в них перечисленных веществ в биологически связанной форме.

Пример 8. Тканеспецифическая активность пептидного комплекса, выделенного из сосудов

Для изучения тканеспецифической активности пептидного комплекса, выделенного из сосудов предлагаемым способом, исследовали влияние целевого продукта на рост органотипической культуры сосудов половозрелых крыс. Подробно метод описан в примере 2.

Эксперименты проведены на 24 фрагментах ткани сосудов крыс линии «Wistar» с массой тела 150-200 г. Фрагменты ткани сосудов помещали в питательную среду и культивировали в чашках Петри в термостате при $(37 \pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ в течение 2 суток. В экспериментальную среду добавляли пептидный комплекс, выделенный из сосудов, в концентрациях от 0,01 до 20 нг/мл.

При использовании пептидного комплекса, выделенного из сосудов, в концентрациях 0,05, 0,1 и 10 нг/мл наблюдалось достоверное повышение ИП эксплантатов на 18-25 %, по сравнению с контрольными значениями ИП.

В Таблице 24 показано влияние пептидного комплекса, выделенного из сосудов, на развитие эксплантатов сосудов.

Таблица 24

Показатель	Концентрация пептидного комплекса, выделенного из сосудов, нг/мл							
	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0	2,0	10,0	20,0
ИП, % по отношению к контролю	7	22*	24*	16	14	18*	25*	14

- $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таким образом, в отношении ткани сосудов пептидный комплекс, выделенный из сосудов, оказывает тканеспецифическое действие, проявляющееся в стимуляции роста эксплантатов, что подтверждается в опытах на крысах, это позволяет считать показанным использование его в качестве средства, поддерживающего функцию сосудов.

Пример 9. Способ получения пептидного комплекса, выделенного из хрящей, обладающего тканеспецифической активностью

В качестве животного сырья используют хрящи телят (не старше 12-месячного возраста) или свиней.

Выделение пептидного комплекса из хрящей проводят, как описано в примере 1, за исключением того, что выход конечного продукта (порошка биологически активного пептидного комплекса, выделенного из хрящей) составляет 30 г на 1 кг исходного сырья.

Для более подробной характеристики биологически активного пептидного комплекса, полученного из хрящей предлагаемым способом, проведено изучение его состава, основных физико-химических свойств, специфической биологической активности.

Основные характеристики полученного пептидного комплекса, выделенного из хрящей, определенные методами, описанными в примере 1, представлены в Таблицах 25-29.

Аминокислотный анализ целевого продукта показал, что в пептидном комплексе, выделенном из хрящей, присутствует основной спектр аминокислот, в том числе незаменимые (см. Таблицу 25).

Наименование аминокислоты	Содержание аминокислоты, нмоль/мг
Asp	481
Thr	198
Ser	244
Glu	602
Pro	201
Gly	416
Ala	402
Val	233
He	151
Leu	375
Tyr	111
Phe	154
His	120
Lys	305
Arg	198

Содержание аминокислот, представленное в Таблице 25, соответствует суммарному количеству аминокислот в пептидном комплексе, равному 50-60 масс.% (111-602 нмоль/мг).

Минеральный состав пептидного комплекса, выделенного из хрящей, представлен наиболее важными для нормального функционирования органов и систем человека минеральными веществами в оптимальном количестве – кальцием, магнием, железом, фосфором, а также калием и натрием, что отражено в Таблице 26.

Таблица 26

Наименование продукта	Содержание минеральных веществ, мкг/20 мг						
	Ca	Mg	Fe	P	K	Na	S
Пептидный комплекс, выделенный из хрящей	21,17	2,05	1.33	28,89	90.36	1222,44	270,62

Содержание минеральных веществ, представленное в Таблице 26, соответствует суммарному количеству минеральных веществ в пептидном комплексе, равному 7,0-9,0 масс.% (1,33-1222,44 мкг/20 мг).

Результаты анализа микроэлементного состава пептидного комплекса, выделенного из хрящей, представлены в Таблице 27.

Таблица 27

Наименование продукта	Содержание микроэлементов, мкг/20 мг				
	Al	Mn	Cu	Co	Mo
Пептидный комплекс, выделенный из хрящей	0,5926	0,0198	0,0702	0,0010	0.0111

Содержание микроэлементов, представленное в Таблице 27, соответствует суммарному количеству микроэлементов в пептидном комплексе, равному 0,002-0,008 масс.% (0,0010-0,5926 мкг/20 мг).

Витаминный состав пептидного комплекса, выделенного из хрящей, характеризуется значительным содержанием витамина PP, B₂, а также наличием витаминов B₁, A и E, что представлено в Таблице 28.

Таблица 28

Наименование продукта	Содержание витаминов, мкг/20 мг					
	B ₁	B ₂	PP	C	A	E
Пептидный комплекс, выделенный из хрящей	0,34	0,007	0,014	следы	0,020	0,040

Содержание витаминов, представленное в Таблице 28, соответствует суммарному количеству витаминов в пептидном комплексе, равному 0,001-0,003 масс.% (0,007-0,34 мкг/20 мг).

Анализ химического состава целевого продукта свидетельствуют об отсутствии в нем углеводов и его низкой энергетической ценности, что позволяет применять его в диетическом питании (см. Таблицу 29).

Таблица 29

Наименование продукта	Энергетическая ценность кал/20 мг	Содержание компонентов, мг/20 мг			
		Белки	Жиры	Углеводы	Зола
Пептидный ком- плекс, выделен- ный из хрящей	42,63	6,94	1,54	следы	0,48

Приведенная информация по химическому составу продукта, полученного предлагаемым способом, свидетельствующая о наличии физиологических концентраций

аминокислот, минеральных веществ, микроэлементов и витаминов, демонстрирует химический состав ткани, из которой была проведена экстракция, и подтверждает содержание в них перечисленных веществ в биологически связанной форме.

Пример 10. Тканеспецифическая активность пептидного комплекса, выделенного из хрящей

Для изучения тканеспецифической активности пептидного комплекса, выделенного предлагаемым способом из хрящей, исследовали влияние целевого продукта на рост органотипической культуры хрящевой ткани половозрелых крыс. Подробно метод описан в примере 2.

Эксперименты проведены на 30 фрагментах хрящевой ткани крыс линии «Wistar» с массой тела 150-200 г. Фрагменты хрящевой ткани помещали в питательную среду и культивировали в чашках Петри в термостате при $(37 \pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ в течение 2 суток. В экспериментальную среду добавляли пептидный комплекс, выделенный из хрящей, в концентрациях от 0,01 до 20 нг/мл.

При использовании пептидного комплекса, выделенного из хрящей в концентрациях 0,05, 0,1 и 10 нг/мл наблюдалось достоверное повышение ИП эксплантатов на 19-25 %, по сравнению с контрольными значениями ИП.

В Таблице 30 показано влияние пептидного комплекса, выделенного из хрящей, на развитие эксплантатов хрящевой ткани.

Таблица 30

Показатель	Концентрация пептидного комплекса хрящей, нг/мл							
	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0	2,0	10,0	20,0
ИП, % по отношению к контролю	5	20*	22*	19*	16	20*	25*	12

- $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таким образом, в отношении хрящевой ткани пептидный комплекс, выделенный из хрящей, оказывает тканеспецифическое действие, проявляющееся в стимуляции роста эксплантатов, что подтверждается в опытах на крысах, это позволяет считать показанным использование его в качестве средства, поддерживающего функцию хрящевой ткани.

Пример 11. Способ получения пептидного комплекса, выделенного из головного мозга, обладающего тканеспецифической активностью

В качестве животного сырья используют головной мозг телят (не старше 12-месячного возраста) или свиней. Выделение пептидного комплекса из головного мозга проводят, как описано в примере 1, за исключением того, что выход конечного продукта (порошка биологически активного пептидного комплекса, выделенного из головного мозга) составляет 44 г на 1 кг исходного сырья.

Для более подробной характеристики биологически активного пептидного комплекса, полученного из головного мозга предлагаемым способом, проведено изучение его состава, основных физико-химических свойств, специфической биологической активности.

Основные характеристики полученного пептидного комплекса, выделенного из головного мозга, определенные методами, описанными в примере 1, представлены в Таблицах 31-35.

Аминокислотный анализ целевого продукта показал, что в пептидном комплексе, выделенном из головного мозга, присутствует основной спектр аминокислот, в том числе незаменимые (см. Таблицу 31).

Таблица 31

Наименование аминокислоты	Содержание аминокислоты, нмоль/мг/
Asp	491
Thr	198
Ser	285
Glu	602
Pro	191
Gly	305
Ala	355
Val	233
He	164
Leu	384
Tyr	101
Phe	177
His	122
Lys	255
Arg	197

Содержание аминокислот, представленное в Таблице 31, соответствует суммарному количеству аминокислот в пептидном комплексе, равному 50-60 масс.% (101-602 нмоль/мг).

Минеральный состав пептидного комплекса, выделенного из головного мозга, представлен наиболее важными для нормального функционирования органов и систем человека минеральными веществами в оптимальном количестве – кальцием, магнием, железом, фосфором, а также калием и натрием, что отражено в Таблице 32.

Таблица 32

Наименование продукта	Содержание минеральных веществ, мкг/20 мг						
	Ca	Mg	Fe	P	K	Na	S
Пептидный комплекс, выделенный из головного мозга	36,11	2,88	1,00	50,44	21,18	674,25	147,30

Содержание минеральных веществ, представленное в Таблице 32, соответствует суммарному количеству минеральных веществ в пептидном комплексе, равному 4,0-6,0 масс.% (1,0-674,25мкг/20 мг). Результаты анализа микроэлементного состава пептидного комплекса, выделенного из головного мозга, представлены в Таблице 33.

Таблица 33

Наименование продукта	Содержание микроэлементов, мкг/20 мг				
	Al	Mn	Cu	Co	Mo
Пептидный комплекс, выделенный из головного мозга	0,2844	0.0131	0,1998	0,0028	0,0190

Содержание микроэлементов, представленное в Таблице 33, соответствует суммарному количеству микроэлементов в пептидном комплексе, равному 0,002-0,004 масс.% (0,0028-0,2844 мкг/20 мг).

Витаминный состав пептидного комплекса, выделенного из головного мозга, характеризуется значительным содержанием витамина PP, B₂, а также наличием витаминов B₁, A и E, что представлено в Таблице 34.

Таблица 34

Наименование продукта	Содержание витаминов, мкг/20 мг					
	B ₁	B ₂	PP	C	A	E
Пептидный комплекс, выделенный из головного мозга	0,07	0,027	0,063	следы	0,010	0,005

Содержание витаминов, представленное в Таблице 34, соответствует суммарному количеству витаминов в пептидном комплексе, равному 0,001-0,003 масс.% (0,005-0,07 мкг/20 мг).

Анализ химического состава целевого продукта свидетельствует об отсутствии в нем углеводов и его низкой энергетической ценности, что позволяет применять его в диетическом питании (см. Таблицу 35).

Таблица 35

Наименование препарата	Энергетическая ценность кал/20 мг	Содержание компонентов, мг/20 мг			
		Белки	Жиры	Углеводы	Зола
Пептидный комплекс, выделенный из головного мозга	48,13	6,42	1,98	следы	0,41

Приведенная информация по химическому составу продукта, полученного предлагаемым способом, свидетельствующая о наличии физиологических концентраций аминокислот, минеральных веществ, микроэлементов и витаминов, демонстрирует химический состав ткани, из которой была проведена экстракция, и подтверждает содержание в них перечисленных веществ в биологически связанной форме.

Пример 12. Тканеспецифическая активность пептидного комплекса, выделенного из головного мозга

Для изучения тканеспецифической активности пептидного комплекса, выделенного предлагаемым способом из головного мозга, исследовали влияние целевого продукта на рост органотипической культуры головного мозга половозрелых крыс. Подробно метод описан в примере 2.

Эксперименты проведены на 32 фрагментах головного мозга крыс линии «Wistar» с массой тела 150-200 г. Фрагменты головного мозга крыс помещали в питательную среду и культивировали в чашках Петри в термостате при $(37 \pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ в течение 2 суток. В экспериментальную среду добавляли пептидный комплекс, выделенный из головного мозга, в концентрациях от 0,01 до 20 нг/мл.

При использовании пептидного комплекса, выделенного из головного мозга, в концентрациях 0,05, 0,1 и 10 нг/мл наблюдалось достоверное повышение ИП эксплантатов на 20-28 %, по сравнению с контрольными значениями ИП.

В Таблице 36 показано влияние пептидного комплекса, выделенного из головного мозга, на развитие эксплантатов головного мозга.

Таблица 36

Показатель	Концентрация пептидного комплекса, выделенного из головного мозга, нг/мл							
	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0	2,0	10,0	20,0
ИП, % по отношению к контролю	8	24*	24*	24*	20*	26*	28*	20*

- $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таким образом, в отношении ткани головного мозга пептидный комплекс, выделенный из головного мозга, оказывает тканеспецифическое действие, проявляющееся в стимуляции роста эксплантатов, что подтверждается в опытах на крысах, это позволяет считать показанным использование его в качестве средства, поддерживающего функцию головного мозга.

Пример 13. Способ получения пептидного комплекса, выделенного из тимуса, обладающего тканеспецифической активностью

В качестве животного сырья используют тимус (зобные железы) телят (не старше 12-месячного возраста) или свиней.

Выделение пептидного комплекса из тимуса проводят, как описано в примере 1, за исключением того, что выход конечного продукта (порошка биологически активного пептидного комплекса, выделенного из тимуса) составляет 54 г на 1 кг исходного сырья.

Для более подробной характеристики биологически активного пептидного комплекса, полученного предлагаемым способом, проведено изучение его состава, основных физико-химических свойств, специфической биологической активности.

Основные характеристики полученного пептидного комплекса, выделенного из тимуса, определенные методами, описанными в примере 1, представлены в Таблицах 37-41.

Аминокислотный анализ целевого продукта показал, что в пептидном комплексе, выделенном из тимуса, присутствует основной спектр аминокислот, в том числе незаменимые (см. Таблицу 37).

Таблица 37

Наименование аминокислот	Содержание аминокислоты, нмоль/мг
Asp	398
Thr	241
Ser	288
Glu	605
Pro	233
Gly	477
Ala	451
Val	245
He	182
Leu	341
Tyr	100
Phe	119
His	132
Lys	422
Arg	356

Содержание аминокислот, представленное в Таблице 37, соответствует суммарному количеству аминокислот в пептидном комплексе, равному 55-65 масс.% (100-605 нмоль/мг).

Минеральный состав пептидного комплекса, выделенного из тимуса, представлен наиболее важными для нормального функционирования органов и систем человека минеральными веществами в оптимальном количестве – кальцием, магнием, железом, фосфором, а также калием и натрием, что представлено в Таблице 38.

Таблица 38

Наименование продукта	Содержание минеральных веществ, мкг/20 мг						
	Ca	Mg	Fe	P	K	Na	S
Пептидный комплекс, выделенный из тимуса	45,19	4,01	4,22	71,61	21,84	465,11	133,48

Содержание минеральных веществ, представленное в Таблице 38, соответствует суммарному количеству минеральных веществ в пептидном комплексе, равному 3,0-5,0 масс.% (4,01-465,11 мкг/20 мг).

Результаты анализа микроэлементного состава пептидного комплекса, выделенного из тимуса, представлены в Таблице 39.

Таблица 39

Наименование продукта	Содержание микроэлементов, мкг/20 мг				
	Al	Mn	Cu	Co	Mo
Пептидный комплекс, выделенный из тимуса	0,2459	0,0074	0,0399	0,0030	0,0036

Содержание микроэлементов, представленное в Таблице 39, соответствует суммарному количеству микроэлементов в пептидном комплексе, равному 0,001-0,003 масс.% (0,0030-0,2459 мкг/20 мг).

Витаминный состав пептидного комплекса, выделенного из тимуса, характеризуется значительным содержанием витаминов PP, B₂, а также наличием витаминов B₁, A и E (см. Таблицу 40).

Таблица 40

Наименование продукта	Содержание витаминов, мкг/20 мг					
	B ₁	B ₂	PP	C	A	E
Пептидный комплекс, выделенный из тимуса	0,09	0,007	1,788	следы	0,022	1,000

Содержание витаминов, представленное в Таблице 40, соответствует суммарному количеству витаминов в пептидном комплексе, равному 0,010-0,030 масс.% (0,007-1,788 мкг/20 мг).

Анализ химического состава целевого продукта свидетельствует об отсутствии в нем углеводов и его низкой энергетической ценности, что позволяет применять его в диетическом питании (см. Таблицу 41).

Таблица 41

Наименование продукта	Энергетическая ценность кал/20 мг	Содержание компонентов, мг/20 мг			
		Белки	Жиры	Углеводы	Зола
Пептидный комплекс, выделенный из тимуса	39,65	6,44	1,22	следы	1,02

Приведенная информация по химическому составу продукта, полученного предлагаемым способом, свидетельствующая о наличии физиологических концентраций аминокислот, минеральных веществ, микроэлементов и витаминов, демонстрирует химический состав ткани, из которой была проведена экстракция, и подтверждает содержание в них перечисленных веществ в биологически связанной форме.

Пример 14. Тканеспецифическая активность пептидного комплекса, выделенного из тимуса

Для изучения тканеспецифической активности пептидного комплекса, выделенного предлагаемым способом из тимуса, исследовали влияние целевого продукта на рост органотипической культуры тимуса половозрелых крыс. Подробно метод описан в примере 2.

Эксперименты проведены на 32 фрагментах тимуса крыс линии «Wistar» с массой тела 150-200 г. Фрагменты зубных желез помещали в питательную среду и культивировали в чашках Петри в термостате при $(37 \pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ в течение 2 суток. В экспериментальную среду добавляли пептидный комплекс, выделенный из тимуса, в концентрациях от 0,01 до 20 нг/мл.

При использовании пептидного комплекса, выделенного из тимуса, в концентрациях 0,05, 0,1 и 10 нг/мл наблюдалось достоверное повышение ИП эксплантатов на 20-30 %, по сравнению с контрольными значениями ИП.

В Таблице 42 показано влияние пептидного комплекса, выделенного из тимуса, на развитие эксплантатов тимуса.

Таблица 42

Показатель	Концентрация пептидного комплекса тимуса нг/мл							
	0,01	0,05	0,1	0,5	1,0	2,0	10,0	20,0
ИП, % по отношению к контролю	7	26*	26*	27*	20*	27*	30*	16

- $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таким образом, в отношении ткани тимуса пептидный комплекс, выделенный из тимуса, оказывает тканеспецифическое действие, проявляющееся в стимуляции роста эксплантатов, что подтверждается в опытах на крысах, это позволяет считать

показанным использование его в качестве средства для коррекции функций иммунной системы.

Приведенные выше примеры убедительно подтверждают, что полученный целевой продукт представляет собой пептидный комплекс с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов от 1000 до 12000 Да, содержащий в биологически связанной форме аминокислоты, микроэлементы, минеральные вещества и витамины, специфичный для органов и тканей, из которых он выделен.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения средства для поддерживающей терапии, обладающего тканеспецифической активностью, характеризующийся тем, что органы телят не старше 12-месячного возраста или свиней измельчают, добавляют 3%-ный раствор уксусной кислоты при $20\pm 5^{\circ}\text{C}$, экстракцию проводят при постоянном помешивании, через 30 минут добавляют 1%-ный раствор хлористого цинка, охлаждают при постоянном помешивании до $7-16^{\circ}\text{C}$, затем перемешивают по 1 ч через каждые 4 ч отстаивания в течение 48 ч, экстракт отделяют от балластных веществ сепарированием, к экстракту добавляют ацетон в объемном соотношении 1:5, выдерживают при $3-5^{\circ}\text{C}$ в течение 4 ч, образовавшийся осадок промывают двукратным объемом охлажденного до $7-16^{\circ}\text{C}$ ацетона, промытый осадок протирают через металлическое сито, полученный целевой продукт, представляющий собой пептидный комплекс с содержанием низкомолекулярной пептидной фракции от 70 до 90%, высушивают при $18\pm 2^{\circ}\text{C}$.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что максимум поглощения целевого продукта в ультрафиолетовом спектре составляет 270 ± 5 нм.

3. Средство для поддерживающей терапии, обладающее тканеспецифической активностью, характеризующееся тем, что оно получено способом по п.1 из ткани печени и представляет собой пептидный комплекс, поддерживающий функцию печени, с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов в пределах от 1000 до 12000 Да, который содержит аминокислоты, минеральные вещества, микроэлементы и витамины в биологически связанной форме при следующем содержании компонентов:

Аминокислоты	120-702 нмоль/мг
Минеральные вещества	1,77-490,45 мкг/20 мг
Микроэлементы	0,0027-0,4157 мкг/20 мг
Витамины	0,019-3,012 мкг/20 мг

4. Средство для поддерживающей терапии, обладающее тканеспецифической активностью, характеризующееся тем, что оно получено способом по п.1 из ткани поджелудочной железы и представляет собой пептидный комплекс с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов в пределах от 1000 до 12000 Да, поддерживающий функцию поджелудочной железы, содержит аминокислоты,

минеральные вещества, микроэлементы и витамины в биологически связанной форме при следующем содержании компонентов:

Аминокислоты	81-505 нмоль/мг
Минеральные вещества	1,01-1921,41 мкг/20 мг
Микроэлементы	0,0190-0,3211 мкг/20 мг
Витамины	0,011-1,255 мкг/20 мг

5. Средство для поддерживающей терапии, обладающее тканеспецифической активностью, характеризующееся тем, что оно получено способом по п.1 из ткани щитовидной железы и представляет собой пептидный комплекс с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов в пределах от 1000 до 12000 Да, поддерживающий функцию щитовидной железы, содержит аминокислоты, минеральные вещества, микроэлементы и витамины в биологически связанной форме при следующем содержании компонентов:

Аминокислоты	126-891 нмоль/мг
Минеральные вещества	1,02-277,18 мкг/20 мг
Микроэлементы	0,0102-0,5080 мкг/20 мг
Витамины	0,02-0,19 нмоль/мг

6. Средство для поддерживающей терапии, обладающее тканеспецифической активностью, характеризующееся тем, что оно получено способом по п.1 из сосудов и представляет собой пептидный комплекс с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов в пределах от 1000 до 12000 Да, поддерживающий функцию сосудов, содержит аминокислоты, минеральные вещества, микроэлементы и витамины в биологически связанной форме при следующем содержании компонентов:

Аминокислоты	200-999 нмоль/мг
Минеральные вещества	1,71-444,45 мкг/20 мг
Микроэлементы	0,011-0,9812 мкг/20 мг
Витамины	0,002-0,33 мкг/20 мг

7. Средство для поддерживающей терапии, обладающее тканеспецифической активностью, характеризующееся тем, что оно получено способом по п.1 из ткани хряща

и представляет собой пептидный комплекс с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов в пределах от 1000 до 12000 Да, поддерживающий функцию хрящевой ткани, содержит аминокислоты, минеральные вещества, микроэлементы и витамины в биологически связанной форме при следующем содержании компонентов:

Аминокислоты	111-602 нмоль/мг
Минеральные вещества	1,33-1222,44 мкг/20 мг
Микроэлементы	0,0010-0,5926 мкг/20 мг
Витамины	0,007-0,34 мкг/20 мг

8. Средство для поддерживающей терапии, обладающее тканеспецифической активностью, характеризующееся тем, что оно получено способом по п.1 из ткани головного мозга и представляет собой пептидный комплекс с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов в пределах от 1000 до 12000 Да, поддерживающий функцию головного мозга, содержит аминокислоты, минеральные вещества, микроэлементы и витамины в биологически связанной форме при следующем содержании компонентов:

Аминокислоты	101-602 нмоль/мг
Минеральные вещества	1,0-674,25 мкг/20 мг
Микроэлементы	0,0028-0,2844 мкг/20 мг
Витамины	0,005-0,07 мкг/20 мг

9. Средство для поддерживающей терапии, обладающее тканеспецифической активностью, характеризующееся тем, что оно получено способом по п.1 из тимуса и представляет собой пептидный комплекс с молекулярной массой входящих в него пептидных компонентов в пределах от 1000 до 12000 Да, поддерживающий функцию иммунной системы, содержит аминокислоты, минеральные вещества, микроэлементы и витамины в биологически связанной форме при следующем содержании компонентов:

Аминокислоты	100-605 нмоль/мг
Минеральные вещества	4,01-465,11 мкг/20 мг
Микроэлементы	0,0030-0,2459 мкг/20 мг
Витамины	0,007-1,788 мкг/20 мг

ЕВРАЗИЙСКОЕ ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ
ПОИСКЕ

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42)

Номер евразийской заявки:

200700134

Дата подачи: 25 января 2007 (25.01.2007)		Дата испрашиваемого приоритета: 31 января 2006 (31.01.2006)	
Название изобретения:		Способ получения средства для поддерживающей терапии, обладающего тканеспецифической активностью	
Заявитель:		ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "СИА ПЕПТАЙДС"	
☐ Некоторые пункты формулы не подлежат поиску (см. раздел I дополнительного листа) ☐ Единство изобретения не соблюдено (см. раздел II дополнительного листа)			
А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:		A61K 35/26 (2006.01) A61K 35/32 (2006.01) A61K 35/39 (2006.01) A61K 35/44 (2006.01) A61K 35/55 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)	
Согласно Международной патентной классификации (МПК) или национальной классификации и МПК			
Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:			
Минимум просмотренной документации (система классификации и индексы МПК-8) A61K 35/26, 35/55, 35/32, 35/39, 35/44, A61P 43/00			
Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в область поиска:			
В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ			
Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №	
A	RU 2161501 C1 (САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ "САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ИНСТИТУТ БИОРЕГУЛЯЦИИ И ГЕРОНТОЛОГИИ СЗО РАМН") 10.01.2001	1-9	
A	RU 2075944 C1 (ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "КЛИНИКА ИНСТИТУТА БИОРЕГУЛЯЦИИ И ГЕРОНТОЛОГИИ") 27.03.1997	1-9	
A	RU 2104702 C1 (ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "КЛИНИКА ИНСТИТУТА БИОРЕГУЛЯЦИИ И ГЕРОНТОЛОГИИ") 20.02.1998	1-9	
☒ последующие документы указаны в продолжении графы В ☐ данные о патентах-аналогах указаны в приложении			
* Особые категории ссылочных документов:		"Т" более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения	
"А" документ, определяющий общий уровень техники			
"Е" более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее		"Х" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности	
"О" документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.		"У" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории	
"Р" документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета		"&" документ, являющийся патентом-аналогом	
"D" документ, приведенный в евразийской заявке		"L" документ, приведенный в других целях	
Дата действительного завершения патентного поиска:		27 марта 2007 (27.03.2007)	
Наименование и адрес Международного поискового органа		Уполномоченное лицо :	
Федеральный институт промышленной собственности РФ, 123995, Москва, Г-59, ГСП-5, Бережковская наб., д. 30-1. Факс: 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА		Т.Владимирова Телефон № (499) 240-25-91	

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

Номер евразийской заявки:
200700134

ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ (продолжение графы В)		
Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	RU 2163129 C1 (ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "КЛИНИКА ИНСТИТУТА БИОРЕГУЛЯЦИИ И ГЕРОНТОЛОГИИ") 20.02.2001	1-9
A	SU 1522486 A1 (ООО "КЛИНИКА ИНСТИТУТА БИОРЕГУЛЯЦИИ И ГЕРОНТОЛОГИИ") 15.11.1994	1-9
A	GB 1161896 A (MACINTYRE IAIN) 20.08.1969	1-9
A	WO 0243796 A (SCIMED LIFE SYSTEMS INC) 06.06.2002	1-9
A	FR 2583982 A (PEDA G LE) 02.01.1987	1-9