(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202193056 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.04.12

(22) Дата подачи заявки
2020.05.08

(51) Int. Cl. ***A61K 31/702*** (2006.01)
A61K 35/741 (2015.01)
A61P 1/00 (2006.01)

(54) ОЛИГОСАХАРИДНЫЕ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

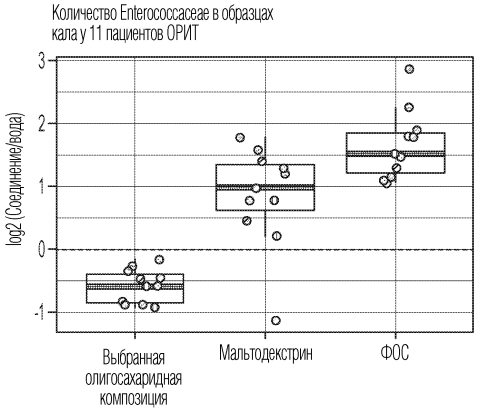
(31) **62/845,305; 62/910,179**
(32) **2019.05.08; 2019.10.03**
(33) **US**
(86) **PCT/US2020/032240**
(87) **WO 2020/227689 2020.11.12**

(71) Заявитель:
КАЛЕЙДО БАЙОСАЙЕНСИЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Яцуненко Татьяна, Лоуренс Джонатан, Розини Мэделин, Хехт Макс, Лю Кристофер Мэттью (US)

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

(57) Аспекты изобретения относятся к олигосахаридным композициям и способам их получения. Также предоставлены способы применения олигосахаридных композиций в качестве метаболической терапии микробиома для снижения уровней и/или количества патогенов и для лечения связанных заболеваний.



202193056 A1

202193056 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-571696EA/025

ОЛИГОСАХАРИДНЫЕ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[001] В данной заявке испрашивается приоритет даты подачи предварительной заявки на патент США № 62/845305, озаглавленной «ОЛИГОСАХАРИДНЫЕ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ», поданной 8 мая 2019 г.; и предварительной заявки на патент США № 62/910179, озаглавленной «ОЛИГОСАХАРИДНЫЕ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ», поданной 3 октября 2019 г.; содержание каждой из которых включено в настоящее описание в полном объеме посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[002] Настоящее раскрытие относится к олигосахаридным композициям и их применениям.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[003] Внутрибольничная инфекция, вызванная антибиотикорезистентными бактериями, представляет собой глобальный кризис в области здравоохранения. Инфекции, вызываемые карбапенем-резистентными Enterobacteriaciae (CRE) и ванкомицин-резистентными Enterococcus (VRE), могут привести к 50%-ной смертности зараженных организмов. Основным фактором риска клинической инфекции является колонизация кишечника CRE или VRE.

[004] Колонизация может быть связана с передачей, также как с повышенным риском инфекции. Колонизация CRE и ванкомицин-резистентными Enterococcus (VRE) связана с повышенным риском инфицирования. Относительный риск инфекции выше у пациентов с колонией VRE и CRE по сравнению с пациентами без колонии. Также существует гораздо более высокий риск инфекции кровотока (ИК) при колонизации организмами, продуцирующими бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС). Кроме того, колонизация тесно связана с распространением внутрибольничных инфекций (ВБИ). Инфекции CRE, VRE и C. difficile связаны с заражением после получения медицинской помощи (*например*, катетер-ассоциированные инфекции кровотока (КАИК), катетер-ассоциированная инфекция мочевыводящих путей (КАИМП) и инфекции, вызванные C. difficile (CDI)). Уровень этих патогенов в кишечнике обычно коррелирует с риском резистентных инфекций. Таким образом, существует потребность в эффективных методах лечения, которые избавляют пациентов от этих организмов.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

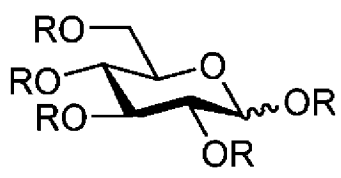
[005] В соответствии с некоторыми аспектами в настоящем описании предоставлены методы метаболической терапии микробиома с использованием олигосахаридных композиций, которые являются пригодными для управления функциональными выходами микробиома желудочно-кишечного тракта, *например*, для лечения заболевания. Некоторые аспекты раскрытия относятся к признанию того, что

комменсальные микробы обеспечивают защиту от патогенной инфекции и что у организмов с ослабленным иммунитетом или при лечении антибиотиками защитные свойства микробного сообщества нарушаются, делая кишечник восприимчивым к колонизации патогенами. В некоторых вариантах осуществления методы метаболической терапии микробиома с использованием олигосахаридных композиций особенно эффективны для сокращения накопления, колонизации или сокращения объема патогена (*например*, патогена, резистентного к лекарственным средствам или антибиотикам, или МЛР-патогена) у объекта, *например*, путем регулирования количества (*например*, относительного количества или абсолютного количества) комменсальных микробных популяций. Примерный механизм сокращения количества патогенов и увеличения количества комменсальных бактерий показан на ФИГ. 1. Например, в некоторых вариантах осуществления методы метаболической терапии микробиома с использованием олигосахаридных композиций, раскрытых в настоящем описании, являются пригодными для лечения объекта, имеющего или имеющего риск развития инфекции (*например*, желудочно-кишечной инфекции или другой инфекции, *например*, инфекции кровотока, или инфекции мочевыводящих путей, или инфекций других органов, *например*, дыхательной системы, сердечно-сосудистой системы и т. д.), вызванной патогеном (*например*, бактериальным или грибковым патогеном или патобионтом (*например*, условно-патогенным микроорганизмом, который является симбиотическим организмом, способным вызывать заболевание только при определенных генетических условиях и/или условиях окружающей среды), включая патоген, резистентный к большинству или даже ко всем доступным антибиотикам), таким как карбапенем-резистентные Enterobacteriaciae (CRE), ванкомицин-резистентные Enterococcus (VRE) и Enterobacteriaceae, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС). Центры по контролю и профилактике заболеваний считают их неотложными (CRE) и серьезными угрозами (VRE, БЛРС) соответственно.

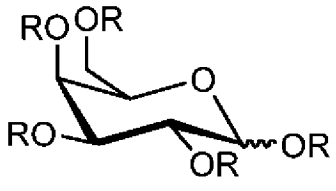
[006] В настоящем описании предоставлены выбранные синтетические олигосахаридные композиции, которые влияют на структуру (*например*, композицию) и/или функцию (*например*, метаболическую активность) микробиоты кишечника. В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции оказывают благоприятное воздействие на состояние здоровья объекта. В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, снижают количество (*например*, относительное количество или абсолютное количество) патогенов или патобионтов (*например*, в желудочно-кишечном тракте), *например*, по сравнению с исходным уровнем (*например*, (популяция) объекта(ов) без лечения или объект до лечения). В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, способствуют росту комменсальных бактерий по сравнению с ростом патогенов или патобионтов (*например*, в желудочно-кишечном тракте, *например*, в кишечнике, *например*, в толстом кишечнике или толстой кишке). В некоторых вариантах осуществления объекты достигают деколонизации МЛР-

патогенов (*например*, ванкомицин-резистентных Enterococcus (VRE), Enterobacteriaceae, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), и карбапенем-резистентных Enterobacteriaceae (CRE), *например*, уровни этих бактерий близки к или ниже обнаруживаемых уровней. Сокращение количества (*например*, относительного количества или абсолютного количества) патогена или патобионта может быть определено, *например*, путем подвергания образца (*например*, образца кала) объекта секвенированию нуклеиновых кислот, (*например*, секвенированию всего генома) и других анализов (*например*, количество колониеобразующих единиц (КОЕ)/г кала в культуре). В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, способствуют увеличению альфа-разнообразия (*например*, увеличению разнообразия бактериальных таксонов, *например*, как определено путем измерения разнообразия Шеннона, *например*, путем секвенирования нуклеиновых кислот). В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, способствуют многообразию бактериального сообщества. В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, снижают воспаление, *например*, воспаление, связанное с патогенами, или патобионтами, или другими бактериями. Снижение может быть определено путем измерения одного или более маркеров воспаления, *например*, ИФН-γ, ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12p70, ИЛ-13 и ФНО-α. Маркеры могут быть определены, *например*, по образцам кала или крови. В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, сокращают инфекции (*например*, частоту возникновения инфекций), включая вторичные или условно-патогенные инфекции (*например*, внутрибольничные инфекции (ВБИ)), включая, *например*, катетер-ассоциированные инфекции кровотока (КАИК), катетер-ассоциированную инфекцию мочевыводящих путей (КАИМП) и инфекции, вызванные C. difficile (CDI)). В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, снижают частоту госпитализаций, *например*, вследствие или вызванных инфекциями. В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, сокращают период времени, необходимый для госпитализации, *например*, для лечения или устранения инфекций.

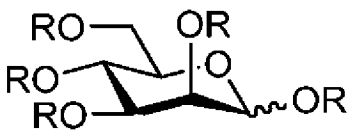
[007] В некоторых аспектах раскрытие предоставляет олигосахаридную композицию, содержащую множество олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III):



(I)

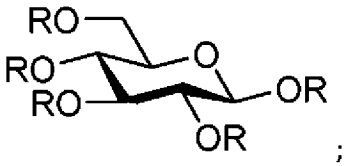


(II)

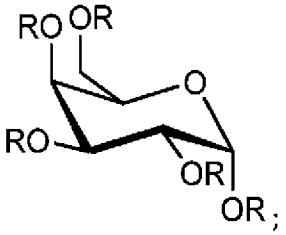


(III)

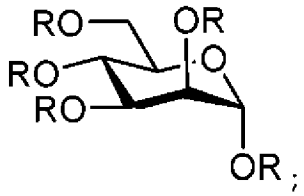
в которых каждый R независимо выбран из водорода, и Формул (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (IIa), (IIb), (IIc), (IId), (IIIa), (IIIb), (IIIc), (IIId):



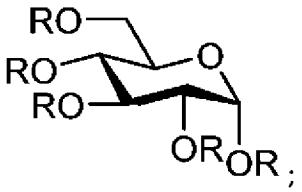
(Ia)



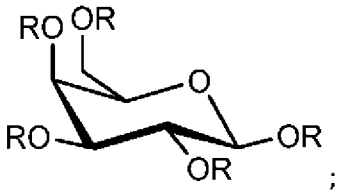
(IIa)



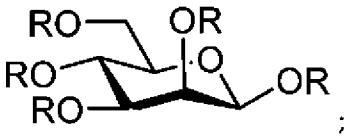
(IIIa)



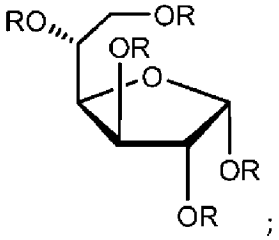
(Ib)



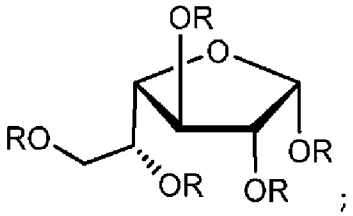
(IIb)



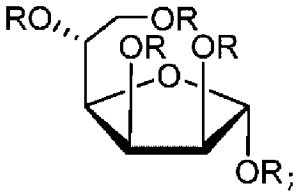
(IIIb)



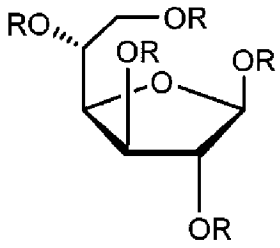
(Ic)



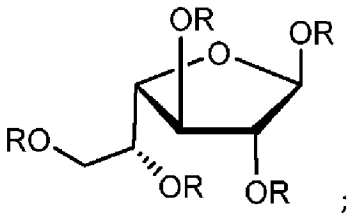
(IIc)



(IIIc)

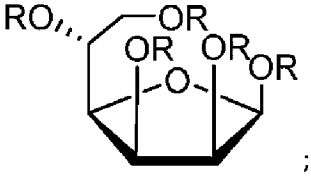


(Id)



и

(IId)



(IIId)

в которых каждый R независимо представляет собой, как определено выше;

в котором олигосахаридная композиция получена с помощью способа, включающего:

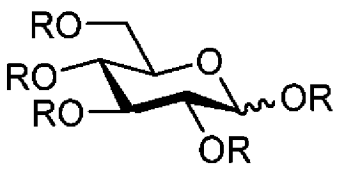
(a) образование реакционной смеси, содержащей мономер декстрозы, мономер галактозы и мономер маннозы, в котором молярное соотношение декстрозы и галактозы составляет приблизительно 1:1 и молярное соотношение декстрозы и маннозы составляет приблизительно 4,5:1, с кислотным катализатором, содержащим положительно заряженные ионы водорода; и

(b) промотирование катализируемого кислотой образования олигосахаридов в

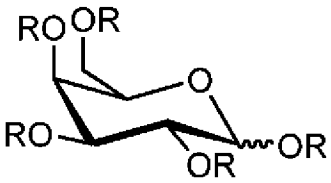
реакционной смеси путем передачи достаточного количества тепла реакционной смеси для поддержания реакционной смеси при ее температуре кипения.

[008] В некоторых вариантах осуществления стадия (b) включает промотирование катализируемого кислотой образования олигосахаридов в реакционной смеси путем передачи достаточного количества тепла реакционной смеси для поддержания реакционной смеси при ее температуре кипения до тех пор, пока массовый процент общего содержания мономера в олигосахаридной композиции не будет находиться в диапазоне от 2% до 20%, в котором общее содержание мономера включает мономер декстрозы, мономер галактозы и/или мономер маннозы.

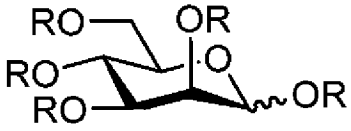
[009] В некоторых аспектах раскрытие предоставляет олигосахаридную композицию, содержащую множество олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III):



(I)

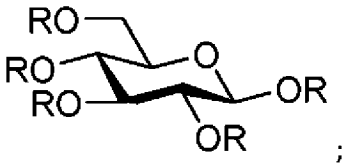


(II)

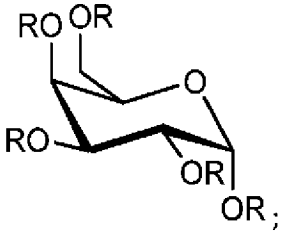


(III)

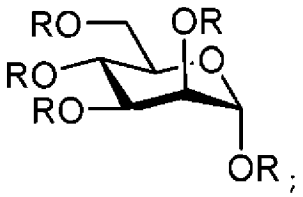
в которых каждый R независимо выбран из водорода, и Формул (IIa), (IIb), (IIc), (IId), (IIIa), (IIIb), (IIIc), (IIId):



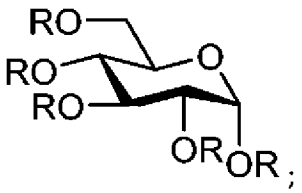
(Ia)



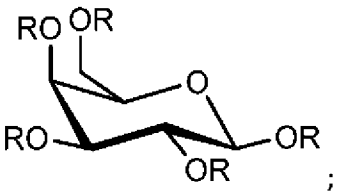
(IIa)



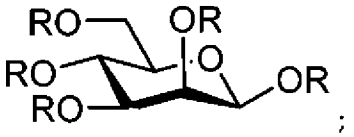
(IIIa)



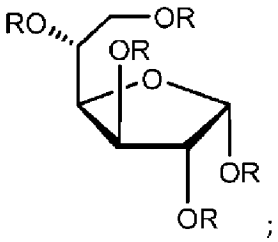
(Ib)



(IIb)

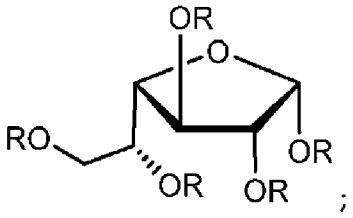


(IIIb)



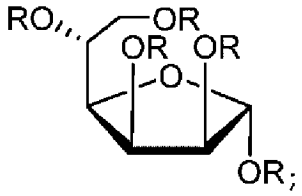
;

(Ic)



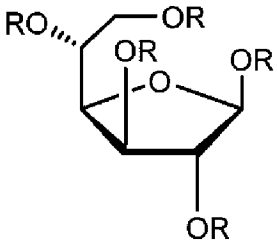
;

(IIc)

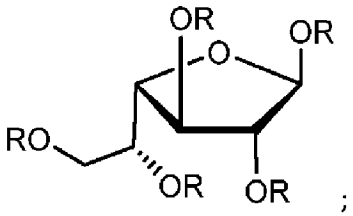


;

(IIIc)



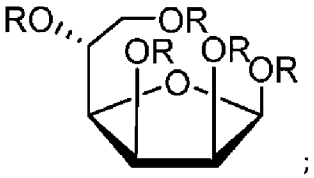
(Id)



;

и

(IId)



;

(IIId)

в которых каждый R независимо представляет собой, как определено выше;

в котором олигосахаридная композиция получена с помощью способа, включающего:

(a) образование реакционной смеси, содержащей мономер декстрозы, мономер галактозы и мономер маннозы, в котором молярное соотношение декстрозы и галактозы составляет приблизительно 1:1 и молярное соотношение декстрозы и маннозы составляет приблизительно 4,5:1 с кислотным катализатором, содержащим положительно заряженные ионы водорода; и

(b) поддержание реакционной смеси при ее температуре кипения, при давлении в диапазоне 0,5-1,5 атм, в условиях, которые способствуют катализируемому кислотой образованию олигосахаридов, до тех пор, пока массовый процент общего содержания мономера в олигосахаридной композиции не будет находиться в диапазоне от 2% до 20%, в котором общее содержание мономера включает мономер декстрозы, мономер галактозы и/или мономер маннозы.

[0010] В некоторых вариантах осуществления стадия (b) включает загрузку препарата с кислотным катализатором, содержащим положительно заряженные ионы водорода, в таком количестве, что молярное соотношение положительно заряженных ионов водорода и общего содержания мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы находится в соответствующем диапазоне.

[0011] В некоторых вариантах осуществления стадии (a) и (b) выполняются одновременно.

[0012] В некоторых вариантах осуществления стадия (a) включает нагревание реакционной смеси в условиях перемешивания до температуры в диапазоне от 100°C до 160°C. В некоторых вариантах осуществления стадия (a) включает нагревание

реакционной смеси в условиях перемешивания до температуры в диапазоне от 135°C до 145°C. В некоторых вариантах осуществления стадия (a) включает нагревание реакционной смеси в условиях перемешивания при температуре в диапазоне от 100°C до 160°C. В некоторых вариантах осуществления стадия (a) включает нагревание реакционной смеси в условиях перемешивания при температуре в диапазоне от 135°C до 145°C. В некоторых вариантах осуществления стадия (a) включает постепенное повышение температуры (*например*, от комнатной температуры) до приблизительно 140°C при подходящих условиях для достижения однородности и равномерной теплопередачи.

[0013] В некоторых вариантах осуществления стадия (b) включает поддержание реакционной смеси при атмосферном давлении или под вакуумом, при температуре в диапазоне от 135°C до 145°C, при условиях, которые способствуют катализируемому кислотой образованию олигосахаридной композиции до тех пор, пока массовый процент мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы в олигосахаридной композиции не будет находиться в диапазоне 4-14. В некоторых вариантах осуществления стадия (b) включает постепенное повышение температуры (*например*, от комнатной температуры) до приблизительно 140°C при подходящих условиях для достижения однородности и равномерной теплопередачи.

[0014] В некоторых вариантах осуществления указанное нагревание включает плавление препарата и/или нагревание препарата при подходящих условиях для достижения однородности и равномерной теплопередачи. В некоторых вариантах осуществления кислотный катализатор представляет собой растворимый катализатор. В некоторых вариантах осуществления растворимый катализатор представляет собой органическую кислоту, необязательно слабую органическую кислоту. В некоторых вариантах осуществления кислотный катализатор представляет собой лимонную кислоту, уксусную кислоту или пропионовую кислоту. В некоторых вариантах осуществления кислотный катализатор представляет собой сильнокислотную катионообменную смолу, имеющую одно или более физических и химических свойств в соответствии с Таблицей 1 и/или в которой катализатор содержит >3,0 ммоль/г фрагментов сульфоновой кислоты и <1,0 ммоль/грамм катионных фрагментов. В некоторых вариантах осуществления катализатор имеет номинальное содержание влаги 45-50 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления катализатор имеет некоторые или все свойства, показанные в Таблице 1.

Таблица 1: Неограничивающий пример свойств сильнокислотной катионообменной смолы

Физическая форма	Янтарные полупрозрачные сферические гранулы
Матрица	Стирол-ДВБ, гель
Функциональная группа	Сульфоновая кислота

Ионная форма как загруженная		H^+ форма
Общий объем емкости, мин.	экв/л кг/фт^3 как $CaCO_3$	1,8 39,3
Влагоемкость	%	50-56
Размер частиц		
Коэффициент однородности, макс.		1,1
Гармонический средний диаметр	мкм	600±50
Целые гранулы без трещин	%	95-100
Полное разбухание ($Na^+ \rightarrow H^+$)	%	8
Плотность частиц	г/мл	1,2
Плотность упаковки	г/л фунт/фт^3	800 50

[0015] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция дополнительно содержит воду при уровне ниже того, который необходим для роста микробов при хранении при комнатной температуре. Методы контроля уровней влажности для предотвращения роста микробов описаны в Ergun, R. et al, «Moisture and Shelf Life in Sugar Confections, Critical Reviews in Food Science and Nutrition», 2010, 50:2, 162-192; и NIROOMAND, F. et al. «Fate of Bacterial Pathogens and Indicator Organisms in Liquid Sweeteners» Journal of Food Protection, Vol. 61, No.3, 1998, Pages 295-299; содержание каждого включено в полном объеме.

[0016] В некоторых вариантах осуществления стадия (b) дополнительно включает удаление воды из реакционной смеси путем испарения. В некоторых вариантах осуществления стадия (b) дополнительно включает поддержание реакционной смеси при 93-94 массовых процентах растворенных твердых веществ.

[0017] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает: (c) гашение реакционной смеси, например, с использованием воды, одновременно при доведении температуры реакционной смеси до температуры в диапазоне от 55°C до 95°C (*например*, 85°C, 90°C); и необязательно (d) разделение олигосахаридной композиции и кислотного катализатора.

[0018] В некоторых вариантах осуществления в стадии (c) вода представляет собой деионизированную воду. В некоторых вариантах осуществления в (c) вода имеет температуру приблизительно 95°C. В некоторых вариантах осуществления в (c) воду добавляют к реакционной смеси при условиях, достаточных для предотвращения затвердевания смеси.

[0019] В некоторых вариантах осуществления в стадии (d) указанное разделение включает удаление катализатора фильтрацией. В некоторых вариантах осуществления (d) включает охлаждение реакционной смеси до температуры ниже приблизительно 85°C перед фильтрацией.

[0020] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает: (e) разбавление олигосахаридной композиции (d) водой до концентрации приблизительно 45-55 массовых процентов; (f) пропускание разбавленной композиции через катионообменную смолу; (g) пропускание разбавленной композиции через обесцвечивающую полимерную смолу и/или (h) пропускание разбавленной композиции через анионообменную смолу; в котором каждый из (f), (g) и (h) может проводиться один или более раз в любом порядке.

[0021] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает разбавление олигосахаридной композиции (d) водой до концентрации приблизительно 35-55 массовых процентов и пропускание разбавленной композиции через 45 мкм фильтр.

[0022] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит воду при уровне ниже того, который необходим для роста микробов при хранении при комнатной температуре.

[0023] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит воду в диапазоне 45-55 массовых процентов.

[0024] В некоторых вариантах осуществления композиция имеет MWw (г/моль) в диапазоне 1905-2290. В некоторых вариантах осуществления композиция имеет MWw (г/моль) в диапазоне 1740-2407. В некоторых вариантах осуществления композиция имеет MWw (г/моль) в диапазоне 1863-2268. В некоторых вариантах осуществления композиция имеет MWw (г/моль) в диапазоне 1700-2295. В некоторых вариантах осуществления композиция имеет MWn (г/моль) в диапазоне 1033-1184. В некоторых вариантах осуществления композиция имеет MWn (г/моль) в диапазоне 975-1155. В некоторых вариантах осуществления композиция имеет MWn (г/моль) в диапазоне 984-1106. В некоторых вариантах осуществления композиция имеет MWn (г/моль) в диапазоне 938-1120.

[0025] В некоторых вариантах осуществления раствор, содержащий олигосахаридную композицию, имеет pH в диапазоне 2,50-7,00, необязательно 2,50-3,50.

[0026] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит олигомеры, имеющие две или более повторяющихся единиц (СП2+) в диапазоне 86-96 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит олигомеры, имеющие две или более повторяющихся единиц (СП2+) в диапазоне 81-100 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит олигомеры, содержащие, по меньшей мере, три связанные мономерные единицы (СП3+) в диапазоне 85-90 массовых процентов.

[0027] В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит: 0,18-0,51% масс./масс. левоглюкозана, 0,01-0,05% масс./масс. молочной

кислоты и/или 0,04-0,07% масс./масс. муравьиной кислоты.

[0028] В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит: 0,40-0,53% масс./масс. левоглюкозана, 0,01-0,02% масс./масс. молочной кислоты, 0,01-0,04% масс./масс. муравьиной кислоты и/или 0,01-0,04% масс./масс. лимонной кислоты.

[0029] В некоторых аспектах раскрытие предоставляет олигосахаридную композицию, содержащую множество олигосахаридов, которые минимально усваиваются человеком, причем композиция характеризуется многократно отредактированным градиентно-усиленным ^{1}H-^{13}C гетероядерным одноквантовым корреляционным (HSQC) ЯМР спектром, содержащим сигналы 5, 6, 7 и 15 следующей таблицы, в которой спектр получен с использованием образца олигосахаридной композиции, содержащей менее 2% мономера:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	20,38-25,74
2	3,75	66,06	3,69-6,38
3	3,97	66,15	2,21-3,40
4	3,96	69,28	1,46-3,71
5	3,96	70,62	9,28-10,71
6	3,92	71,26	1,52-2,03
7	3,55	71,34	3,40-6,13
8	3,97	71,56	3,40-4,41
9	3,72	72,35	5,66-10,14
10	3,33	73,74	10,21-12,09
11	4,06	77,34	3,68-4,50
12	4,11	81,59	3,10-3,82
13	4,96	98,7	10,65-12,31
14	4,5	103,29	5,03-6,41
15	4,44	103,86	1,84-2,44

[0030] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция характеризуется многократно отредактированным градиентно-усиленным ^{1}H-^{13}C гетероядерным одноквантовым корреляционным (HSQC) ЯМР спектром, содержащим сигналы 5, 6, 7, 10, 14 и 15 следующей таблицы, в которой спектр получен с использованием образца олигосахаридной композиции, содержащей менее 2% мономера:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	20,38-25,74
2	3,75	66,06	3,69-6,38
3	3,97	66,15	2,21-3,40
4	3,96	69,28	1,46-3,71
5	3,96	70,62	9,28-10,71
6	3,92	71,26	1,52-2,03
7	3,55	71,34	3,40-6,13
8	3,97	71,56	3,40-4,41
9	3,72	72,35	5,66-10,14
10	3,33	73,74	10,21-12,09
11	4,06	77,34	3,68-4,50
12	4,11	81,59	3,10-3,82
13	4,96	98,7	10,65-12,31
14	4,5	103,29	5,03-6,41
15	4,44	103,86	1,84-2,44

[0031] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция характеризуется многократно отредактированным градиентно-усиленным ^{1}H-^{13}C гетероядерным одноквантовым корреляционным (HSQC) ЯМР спектром, содержащим сигналы 5, 6, 7 и 10-15 следующей таблицы, в которой спектр получен с использованием образца олигосахаридной композиции, содержащей менее 2% мономера:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	20,38-25,74
2	3,75	66,06	3,69-6,38
3	3,97	66,15	2,21-3,40
4	3,96	69,28	1,46-3,71
5	3,96	70,62	9,28-10,71
6	3,92	71,26	1,52-2,03
7	3,55	71,34	3,40-6,13
8	3,97	71,56	3,40-4,41

9	3,72	72,35	5,66-10,14
10	3,33	73,74	10,21-12,09
11	4,06	77,34	3,68-4,50
12	4,11	81,59	3,10-3,82
13	4,96	98,7	10,65-12,31
14	4,5	103,29	5,03-6,41
15	4,44	103,86	1,84-2,44

[0032] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция характеризуется многократно отредактированным градиентно-усиленным ^{1}H-^{13}C гетероядерным одноквантовым корреляционным (HSQC) ЯМР спектром, содержащим сигналы 1-15 следующей таблицы, в которой спектр получен с использованием образца олигосахаридной композиции, содержащей менее 2% мономера:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	20,38-25,74
2	3,75	66,06	3,69-6,38
3	3,97	66,15	2,21-3,40
4	3,96	69,28	1,46-3,71
5	3,96	70,62	9,28-10,71
6	3,92	71,26	1,52-2,03
7	3,55	71,34	3,40-6,13
8	3,97	71,56	3,40-4,41
9	3,72	72,35	5,66-10,14
10	3,33	73,74	10,21-12,09
11	4,06	77,34	3,68-4,50
12	4,11	81,59	3,10-3,82
13	4,96	98,7	10,65-12,31
14	4,5	103,29	5,03-6,41
15	4,44	103,86	1,84-2,44

[0033] В некоторых аспектах раскрытие предоставляет олигосахаридную композицию, содержащую множество олигосахаридов, которые минимально усваиваются человеком, причем композиция характеризуется многократно отредактированным градиентно-усиленным ^{1}H-^{13}C гетероядерным одноквантовым корреляционным (HSQC)

ЯМР спектром, содержащим сигналы 5, 6, 7 и 15 следующей таблицы, в которой спектр получен с использованием образца олигосахаридной композиции, содержащей менее 2% мономера:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	21,57-25,73
2	3,75	66,06	3,87-5,54
3	3,97	66,15	2,63-3,43
4	3,96	69,28	1,28-3,86
5	3,96	70,62	9,08-11,04
6	3,92	71,26	1,49-2,70
7	3,55	71,34	4,48-5,90
8	3,97	71,56	3,07-3,99
9	3,72	72,35	6,87-8,66
10	3,33	73,74	10,79-11,70
11	4,06	77,34	3,28-3,99
12	4,11	81,59	2,82-3,39
13	4,96	98,7	10,60-12,69
14	4,5	103,29	4,90-6,25
15	4,44	103,86	1,81-2,42

[0034] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция характеризуется многократно отредактированным градиентно-усиленным ^{1}H-^{13}C гетероядерным одноквантовым корреляционным (HSQC) ЯМР спектром, содержащим сигналы 5, 6, 7, 10, 14 и 15 следующей таблицы, в которой спектр получен с использованием образца олигосахаридной композиции, содержащей менее 2% мономера:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	21,57-25,73
2	3,75	66,06	3,87-5,54
3	3,97	66,15	2,63-3,43
4	3,96	69,28	1,28-3,86
5	3,96	70,62	9,08-11,04

6	3,92	71,26	1,49-2,70
7	3,55	71,34	4,48-5,90
8	3,97	71,56	3,07-3,99
9	3,72	72,35	6,87-8,66
10	3,33	73,74	10,79-11,70
11	4,06	77,34	3,28-3,99
12	4,11	81,59	2,82-3,39
13	4,96	98,7	10,60-12,69
14	4,5	103,29	4,90-6,25
15	4,44	103,86	1,81-2,42

[0035] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция характеризуется многократно отредактированным градиентно-усиленным ^{1}H-^{13}C гетероядерным одноквантовым корреляционным (HSQC) ЯМР спектром, содержащим сигналы 5, 6, 7 и 10-15 следующей таблицы, в которой спектр получен с использованием образца олигосахаридной композиции, содержащей менее 2% мономера:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	21,57-25,73
2	3,75	66,06	3,87-5,54
3	3,97	66,15	2,63-3,43
4	3,96	69,28	1,28-3,86
5	3,96	70,62	9,08-11,04
6	3,92	71,26	1,49-2,70
7	3,55	71,34	4,48-5,90
8	3,97	71,56	3,07-3,99
9	3,72	72,35	6,87-8,66
10	3,33	73,74	10,79-11,70
11	4,06	77,34	3,28-3,99
12	4,11	81,59	2,82-3,39
13	4,96	98,7	10,60-12,69
14	4,5	103,29	4,90-6,25
15	4,44	103,86	1,81-2,42

[0036] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция

характеризуется многократно отредактированным градиентно-усиленным ^{1}H-^{13}C гетероядерным одноквантовым корреляционным (HSQC) ЯМР спектром, содержащим сигналы 1-15 следующей таблицы, в которой спектр получен с использованием образца олигосахаридной композиции, содержащей менее 2% мономера:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	21,57-25,73
2	3,75	66,06	3,87-5,54
3	3,97	66,15	2,63-3,43
4	3,96	69,28	1,28-3,86
5	3,96	70,62	9,08-11,04
6	3,92	71,26	1,49-2,70
7	3,55	71,34	4,48-5,90
8	3,97	71,56	3,07-3,99
9	3,72	72,35	6,87-8,66
10	3,33	73,74	10,79-11,70
11	4,06	77,34	3,28-3,99
12	4,11	81,59	2,82-3,39
13	4,96	98,7	10,60-12,69
14	4,5	103,29	4,90-6,25
15	4,44	103,86	1,81-2,42

[0037] В некоторых вариантах осуществления любой один из сигналов 1-15 дополнительно характеризуется ^{1}H интегральной областью и ^{13}C интегральной областью, определяемой следующим образом:

Сигнал	^{1}H Положение (м.д.)			^{13}C Положение (м.д.)		
	Центральное положение	^{1}H Интегральная область		Центральное положение	^{13}C Интегральная область	
		от	до		от	до
1	3,68	3,61	3,75	63,42	62,64	64,20
2	3,75	3,72	3,78	66,06	65,50	66,62
3	3,97	3,94	4,00	66,15	65,81	66,49
4	3,96	3,94	3,98	69,28	69,04	69,52
5	3,96	3,9	4,03	70,62	70,20	71,05

6	3,92	3,9	3,94	71,26	71,02	71,50
7	3,55	3,51	3,59	71,34	71,06	71,62
8	3,97	3,94	4,00	71,56	71,29	71,84
9	3,72	3,67	3,77	72,35	71,95	72,74
10	3,33	3,27	3,4	73,74	73,26	74,22
11	4,06	4,04	4,09	77,34	76,89	77,78
12	4,11	4,08	4,14	81,59	81,16	82,01
13	4,96	4,92	5,01	98,7	98,02	99,39
14	4,5	4,47	4,54	103,29	102,87	103,70
15	4,44	4,41	4,46	103,86	103,56	104,15

[0038] В некоторых аспектах раскрытие предоставляет олигосахаридную композицию, содержащую множество олигосахаридов, которые минимально усваиваются человеком, причем каждый олигосахарид содержит множество мономерных радикалов;

множество олигосахаридов, содержащих два или более типов мономерных радикалов, выбранных из радикалов (1)-(40):

(1) монорадикалы t-маннопиранозы, составляющие 3,0-4,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(2) монорадикалы t-глюкопиранозы, составляющие 11,4-16,3 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(3) монорадикалы t-галактофуранозы, составляющие 1,3-7,8 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(4) монорадикалы t-глюкофуранозы, составляющие 0,1-1,4 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(5) монорадикалы t-галактопиранозы, составляющие 8,3-12,5 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(6) монорадикалы 3-глюкопиранозы, составляющие 3,0-4,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(7) монорадикалы 2-маннопиранозы и/или 3-маннопиранозы, составляющие 1,2-1,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(8) монорадикалы 2-глюкопиранозы, составляющие 2,4-3,2 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(9) монорадикалы 2-галактофуранозы и/или 2-глюкофуранозы, составляющие 0,9-2,3 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(10) монорадикалы 3-галактопиранозы, составляющие 2,9-3,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(11) монорадикалы 4-маннопиранозы, и/или 5-маннофуранозы, и/или 3-галактофуранозы, составляющие 1,7-2,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(12) монорадикалы 6-маннопиранозы, составляющие 2,0-2,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(13) монорадикалы 2-галактопиранозы, составляющие 1,8-2,7 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(14) монорадикалы 6-глюкопиранозы, составляющие 7,6-10,8 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(15) монорадикалы 4-галактопиранозы и/или 5-галактофуранозы, составляющие 2,6-3,8 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(16) монорадикалы 4-глюкопиранозы, и/или 5-глюкофуранозы, и/или 6-маннофуранозы, составляющие 3,0-4,5 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(17) монорадикалы 6-глюкофуранозы, составляющие 0,1-1,6 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(18) монорадикалы 6-галактофуранозы, составляющие 1,4-5,0 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(19) монорадикалы 6-галактопиранозы, составляющие 5,8-9,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(20) бирадикалы 3,4-галактопиранозы, и/или 3,5-галактофуранозы, и/или 2,3-галактопиранозы, составляющие 0,9-1,4 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(21) бирадикалы 3,4-глюкопиранозы и/или 3,5-глюкофуранозы, составляющие 0,1-1,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(22) бирадикалы 2,4-глюкопиранозы, и/или 2,5-глюкофуранозы, и/или 2,4-галактопиранозы, и/или 2,5-галактофуранозы, составляющие 0,9-1,4 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(23) бирадикалы 4,6-маннопиранозы и/или 5,6-маннофуранозы, составляющие 0,5-0,7 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(24) бирадикалы 3,6-маннофуранозы, составляющие 0,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(25) бирадикалы 3,6-глюкопиранозы, составляющие 1,4-2,8 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(26) бирадикалы 3,6-маннопиранозы и/или 2,6-маннофуранозы, составляющие 0,4-0,7 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(27) бирадикалы 2,6-маннопиранозы, составляющие 0,3-0,5 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(28) бирадикалы 3,6-глюкофуранозы, составляющие 0,1-0,4 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(29) бирадикалы 2,6-глюкопиранозы, и/или 4,6-глюкопиранозы, и/или 5,6-глюкофуранозы, составляющие 1,1-3,6 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(30) бирадикалы 3,6-галактофуранозы, составляющие 0,9-1,4 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(31) бирадикалы 4,6-галактопиранозы и/или 5,6-галактофуранозы, составляющие 2,1-2,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(32) бирадикалы 3,6-галактопиранозы и/или 2,6-галактофуранозы, составляющие 1,6-3,0 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(33) бирадикалы 2,6-галактопиранозы, составляющие 0,7-1,6 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(34) трирадикалы 3,4,6-маннопиранозы, и/или 3,5,6-маннофуранозы, и/или 2,3,6-маннофуранозы, составляющие 0,1-0,3 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(35) трирадикалы 3,4,6-галактопиранозы, и/или 3,5,6-галактофуранозы, и/или 2,3,6-галактофуранозы, составляющие 0,5-1,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(36) трирадикалы 3,4,6-глюкопиранозы и/или 3,5,6-глюкофуранозы, составляющие 0,2-0,5 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(37) трирадикалы 2,3,6-маннопиранозы, и/или 2,4,6-маннопиранозы, и/или 2,5,6-маннофуранозы, составляющие 0,1-0,5 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(38) трирадикалы 2,4,6-глюкопиранозы и/или 2,5,6-глюкофуранозы, составляющие 0,1-1,4 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(39) трирадикалы 2,3,6-галактопиранозы, и/или 2,4,6-галактопиранозы, и/или 2,5,6-галактофуранозы, составляющие 0,4-0,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов; и

(40) трирадикалы 2,3,6-глюкопиранозы, составляющие 0,1-0,5 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

олигосахаридную композицию, содержащую, по меньшей мере, один радикал глюкофуранозы или глюкопиранозы, по меньшей мере, один радикал маннофуранозы или маннопиранозы и, по меньшей мере, один радикал галактофуранозы или галактопиранозы.

[0039] В некоторых аспектах раскрытие предоставляет олигосахаридную композицию, содержащую множество олигосахаридов, которые минимально усваиваются человеком, причем каждый олигосахарид содержит множество мономерных радикалов;

множество олигосахаридов, содержащих два или более типов мономерных радикалов, выбранных из радикалов (1)-(43):

(1) монорадикалы t-маннопиранозы, составляющие 3,0-4,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(2) монорадикалы t-глюкопиранозы, составляющие 13,6-17,6 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(3) монорадикалы t-галактофуранозы, составляющие 3,0-4,2 мол.% мономерных

радикалов во множестве олигосахаридов;

(4) монорадикалы t-глюкофуранозы, составляющие 0,1-0,7 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(5) монорадикалы t-галактопиранозы, составляющие 9,7-11,7 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(6) монорадикалы 3-глюкопиранозы, составляющие 3,8-4,6 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(7) монорадикалы 2-маннопиранозы и/или 3-маннопиранозы, составляющие 0,8-2,0 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(8) монорадикалы 2-глюкопиранозы, составляющие 2,7-3,0 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(9) монорадикалы 2-галактофуранозы, и/или 2-глюкофуранозы, и/или 3-глюкофуранозы, составляющие 0,8-1,8 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(10) монорадикалы 3-галактопиранозы, составляющие 2,8-3,8 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(11) монорадикалы 3-галактофуранозы, составляющие 1,6-2,2 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(12) монорадикалы 6-маннопиранозы, составляющие 2,1-2,5 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(13) монорадикалы 2-галактопиранозы, составляющие 1,7-2,4 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(14) монорадикалы 6-глюкопиранозы, составляющие 9,5-11,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(15) монорадикалы 4-галактопиранозы и/или 5-галактофуранозы, составляющие 2,5-3,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(16) монорадикалы 4-глюкопиранозы, и/или 5-глюкофуранозы, и/или 6-маннофуранозы, составляющие 3,0-3,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(17) бирадикалы 2,3-галактофуранозы, составляющие 0,1-0,4 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(18) монорадикалы 6-глюкофуранозы, составляющие 0,1-0,8 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(19) монорадикалы 6-галактофуранозы, составляющие 2,3-2,7 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(20) монорадикалы 6-галактопиранозы, составляющие 7,1-8,8 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(21) бирадикалы 3,4-галактопиранозы, и/или 3,5-галактофуранозы, и/или 2,3-галактопиранозы, составляющие 0,9-1,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(22) бирадикалы 3,4-глюкопиранозы и/или 3,5-глюкофуранозы, составляющие 0,5-0,8 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(23) бирадикалы 2,3-глюкопиранозы, составляющие 0,1-2,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(24) бирадикалы 2,4-маннопиранозы и/или 2,5-маннофуранозы, составляющие 0,1-0,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(25) бирадикалы 2,4-глюкопиранозы, и/или 2,5-глюкофуранозы, и/или 2,4-галактопиранозы, и/или 2,5-галактофуранозы, составляющие 0,5-1,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(26) бирадикалы 4,6-маннопиранозы и/или 5,6-маннофуранозы, составляющие 0,4-0,7 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(27) бирадикалы 3,6-глюкопиранозы, составляющие 2,0-2,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(28) бирадикалы 3,6-маннопиранозы, составляющие 0,4-0,7 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(29) бирадикалы 2,6-маннопиранозы, составляющие 0,4-0,5 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(30) бирадикалы 3,6-глюкофуранозы, составляющие 0,1-0,3 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(31) бирадикалы 2,6-глюкопиранозы, и/или 4,6-глюкопиранозы, и/или 5,6-глюкофуранозы, составляющие 1,7-2,6 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(32) бирадикалы 3,6-галактофуранозы, составляющие 0,9-1,2 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(33) бирадикалы 4,6-галактопиранозы и/или 5,6-галактофуранозы, составляющие 2,1-2,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(34) бирадикалы 3,6-галактопиранозы, составляющие 2,0-2,7 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(35) бирадикалы 2,6-галактопиранозы, составляющие 1,0-1,5 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(36) трирадикалы 3,4,6-маннопиранозы, и/или 3,5,6-маннофуранозы, и/или 2,3,6-маннофуранозы, составляющие 0,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(37) трирадикалы 3,4,6-галактопиранозы, и/или 3,5,6-галактофуранозы, и/или 2,3,6-галактофуранозы, составляющие 0,5-1,0 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(38) трирадикалы 3,4,6-глюкопиранозы и/или 3,5,6-глюкофуранозы, составляющие 0,1-0,6 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(39) трирадикалы 2,3,6-маннопиранозы, составляющие 0,1-0,3 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(40) трирадикалы 2,4,6-глюкопиранозы и/или 2,5,6-глюкофуранозы, составляющие 0,1-0,8 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(41) трирадикалы 2,3,6-галактопиранозы, и/или 2,4,6-галактопиранозы, и/или 2,5,6-галактофуранозы, составляющие 0,1-1,3 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(42) трирадикалы 2,4,6-галактопиранозы и/или 2,5,6-галактофуранозы, составляющие 0,1-0,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(43) трирадикалы 2,3,6-глюкопиранозы, составляющие 0,1-0,7 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

олигосахаридную композицию, содержащую, по меньшей мере, один радикал глюкофуранозы или глюкопиранозы, по меньшей мере, один радикал маннофуранозы или маннопиранозы и, по меньшей мере, один радикал галактофуранозы или галактопиранозы.

[0040] В некоторых вариантах осуществления молярные проценты мономерных радикалов определяют с использованием анализа перметилирования.

[0041] В некоторых вариантах осуществления композиция по существу не поглощается человеком.

[0042] В некоторых аспектах раскрытие предоставляет способ сокращения соотношения патогенных бактерий и комменсальных бактерий в желудочно-кишечном тракте человека. В некоторых вариантах осуществления способ сокращения соотношения патогенных бактерий и комменсальных бактерий в желудочно-кишечном тракте человека включает введение в желудочно-кишечный тракт объекта эффективного количества олигосахаридной композиции, как описано в настоящей заявке.

[0043] В некоторых аспектах раскрытие предоставляет способ сокращения относительного или абсолютного количества патогенов в желудочно-кишечном тракте человека. В некоторых вариантах осуществления способ сокращения относительного или абсолютного количества патогенов в желудочно-кишечном тракте человека включает введение в желудочно-кишечный тракт объекта эффективного количества олигосахаридной композиции, как описано в настоящей заявке.

[0044] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в количестве, эффективном для модуляции (*например*, сокращения или ингибирования) колонизации или для модуляции (*например*, увеличения) деколонизации патогена в кишечнике (*например*, тонком кишечнике, толстом кишечнике и/или толстой кишке) человека. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в количестве, эффективном для сокращения или ингибирования колонизации (*например*, колонизации VRE, CRE и/или БЛРС). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в количестве, эффективном для увеличения деколонизации (*например*, деколонизации VRE, CRE и/или БЛРС).

[0045] В некоторых вариантах осуществления способ сокращает количество патогенных бактерий в желудочно-кишечном тракте по сравнению с контролем

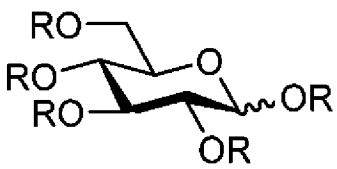
(*например*, контрольным объектом или исходным измерением).

[0046] В некоторых вариантах осуществления способ увеличивает количество комменсальных бактерий в желудочно-кишечном тракте по сравнению с контролем (*например*, контрольным объектом или исходным измерением).

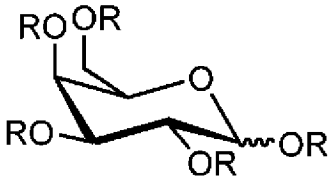
[0047] В некоторых вариантах осуществления сокращение относительного или абсолютного количества патогенов определяют путем выполнения секвенирования нуклеиновых кислот (*например*, метагеномного секвенирования 16S) образца кала, взятого у объекта. В некоторых вариантах осуществления сокращение относительного или абсолютного количества патогенов определяют посредством: (i) выполнения метагеномного секвенирования 16S образца кала, взятого у объекта перед введением олигосахаридной композиции; (ii) выполнения метагеномного секвенирования 16S образца кала, взятого у объекта после введения олигосахаридной композиции; и (iii) сравнения относительного или абсолютного количества патогенов, определенного с использованием данных секвенирования, предоставленных в (ii), с относительным или абсолютным количеством патогенов, определенным с использованием данных секвенирования, предоставленных в (i).

[0048] В некоторых аспектах раскрытие предоставляет способ лечения объекта от патогенной инфекции. В некоторых вариантах осуществления способ лечения объекта от патогенной инфекции включает введение в желудочно-кишечный тракт объекта эффективного количества олигосахаридной композиции, как описано в настоящей заявке, таким образом проводя лечение объекта.

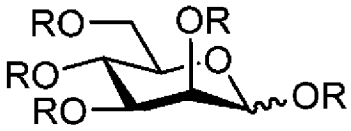
[0049] В некоторых вариантах осуществления способ лечения объекта от патогенной инфекции включает введение в желудочно-кишечный тракт объекта эффективного количества олигосахаридной композиции, в котором олигосахаридная композиция имеет среднюю степень полимеризации 5-20 и включает множество олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III):



(I)

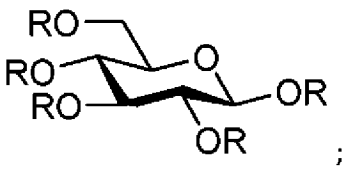


(II)

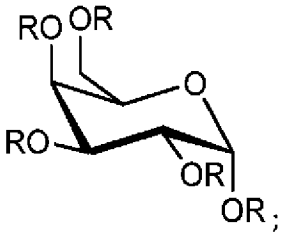


(III)

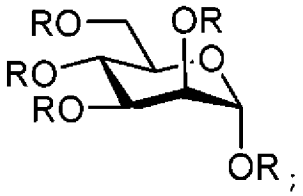
в которых каждый R независимо выбран из водорода, и Формул (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (IIa), (IIb), (IIc), (IId), (IIIa), (IIIb), (IIIc), (IIId):



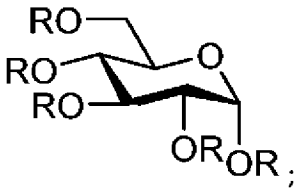
(Ia)



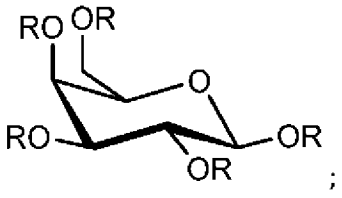
(IIa)



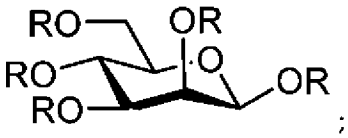
(IIIa)



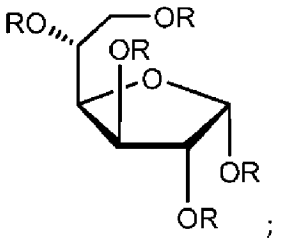
(Ib)



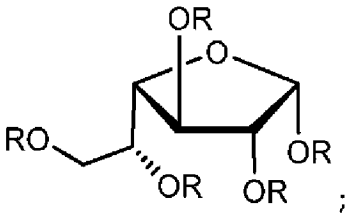
(IIb)



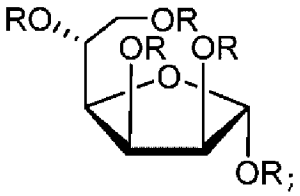
(IIIb)



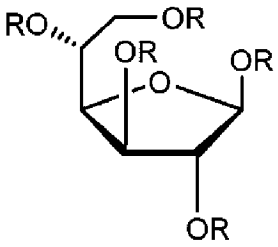
(Ic)



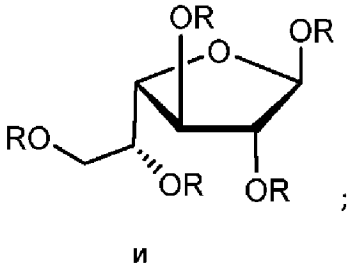
(IIc)



(IIIc)

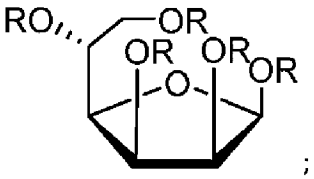


(Id)



и

(IId)



(IIId)

в которых каждый R независимо представляет собой, как определено выше;

таким образом проводя лечение объекта.

[0050] В некоторых вариантах осуществления способ снижает скорость инфицирования. В некоторых вариантах осуществления способ сокращает количество патогена. В некоторых вариантах осуществления способ сокращает количество патогенов инфекции, по меньшей мере, на 5%, 10%, 20% или 30% по сравнению с исходным измерением (*например*, в котором исходное измерение определяют до лечения). В некоторых вариантах осуществления способ лечит инфекцию. В некоторых вариантах осуществления способ предотвращает начало возникновения инфекции.

[0051] В некоторых вариантах осуществления патогенная инфекция представляет собой инфекцию желудочно-кишечного тракта, легких, кровотока, центральной нервной

системы, лимфатической системы и/или мягких тканей объекта.

[0052] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция вводится в количестве, достаточном для уменьшения или предотвращения дисбактериоза в кишечнике (*например*, тонком кишечнике, толстом кишечнике и/или толстой кишке) человека.

[0053] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция снижает риск неблагоприятного воздействия патогена на человека.

[0054] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в количестве, эффективном для: (a) сокращения биомассы патогена (*например*, количества патогенов и/или количества носителей гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента); (b) модуляции (*например*, повышения) уровня антимикробных соединений, продуцируемых объектом (*например*, резидентной микробиотой кишечника и/или организмом (*например*, человеческими клетками)); (c) модуляции среды желудочно-кишечного тракта (*например*, тонкого кишечника, толстого кишечника или толстой кишки), *например*, снижения pH (*например*, за счет увеличения продуцирования или уровней молочной кислоты, *например*, продуцируемой резидентной микробиотой кишечника); (d) модуляции (*например*, снижения) свойств конъюгации микроба-донора гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента или модуляции (*например*, снижения) способности микроба-донора разделять ген резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемент с реципиентом; (e) сокращения количества гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента реципиентов; (f) сокращения количества копий гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента (*например*, общего количества копий, *например*, в микробе-доноре) и/или (g) увеличения стоимости приспособленности поддержания генов или элементов резистентности к антибиотикам у человека.

[0055] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в количестве, эффективном для: (a) сокращения относительного количества или абсолютного количества патогенов и/или носителей гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента и/или (b) увеличения относительного количества или абсолютного количества комменсальных или полезных бактерий.

[0056] В некоторых вариантах осуществления патоген представляет собой бактериальный микроорганизм или грибковый микроорганизм. В некоторых вариантах осуществления патоген представляет собой патоген, резистентный к лекарственным средствам или антибиотикам, необязательно патоген с множественной лекарственной резистентностью (МЛР). В некоторых вариантах осуществления патоген представляет собой ванкомицин-резистентные Enterococcus (VRE) или карбапенем-резистентные Enterobacteriaceae (CRE).

[0057] В некоторых вариантах осуществления патоген представляет собой VRE Enterococcus faecium. В некоторых вариантах осуществления патоген представляет собой

CRE Escherichia coli или CRE Klebsiella pneumoniae. В некоторых вариантах осуществления патоген представляет собой Candida albicans, Candida glabrata, Candida krusei, Candida tropicalis или Candida lusitaniae. В некоторых вариантах осуществления патоген представляет собой Clostridium difficile. В некоторых вариантах осуществления патоген представляет собой грамположительные бактерии или грамотрицательные бактерии. В некоторых вариантах осуществления патоген представляет собой грибок. В некоторых вариантах осуществления патоген представляет собой Candida.

[0058] В некоторых вариантах осуществления человек получал лечение рака. В некоторых вариантах осуществления человек является реципиентом трансплантата. В некоторых вариантах осуществления человек получал иммуносупрессию. В некоторых вариантах осуществления человек имеет аутоиммунное заболевание (*например*, системную красную волчанку, ревматоидный артрит, синдром Шегрена или болезнь Крона). В некоторых вариантах осуществления человек имеет гематологическую злокачественную опухоль. В некоторых вариантах осуществления человек имеет цирроз. В некоторых вариантах осуществления человек страдает терминальной стадией заболевания печени (ESLD) или находится в группе риска. В некоторых вариантах осуществления человек готовится или восстанавливается после хирургического вмешательства на желудочно-кишечном тракте. В некоторых вариантах осуществления человек представляет собой пациента в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). В некоторых вариантах осуществления человек прошел несколько курсов антибиотиков и/или постоянное применение антибиотиков. В некоторых вариантах осуществления человек имеет положительный посев кала на карбапенем-резистентные Enterobacteriaciae (CRE), бета-лактамазу расширенного спектра (БЛРС), продуцируемую Enterobacteriaciae (БЛРС), и ванкомицин-резистентные Enterococcus (VRE). В некоторых вариантах осуществления человек имеет положительный посев кала на карбапенем-резистентные Enterobacteriaciae (CRE). В некоторых вариантах осуществления человек имеет положительный посев кала на бета-лактамазу расширенного спектра (БЛРС), продуцируемую Enterobacteriaciae (БЛРС). В некоторых вариантах осуществления человек имеет положительный посев кала на ванкомицин-резистентные Enterococcus (VRE). В некоторых вариантах осуществления человек имеет незначительное разнообразие бактериальных сообществ в желудочно-кишечном тракте. В некоторых вариантах осуществления человек является реципиентом трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). В некоторых вариантах осуществления человек является реципиентом трансплантации солидного органа. В некоторых вариантах осуществления человек недавно имел катетер-ассоциированную инфекцию кровотока (КАИК). В некоторых вариантах осуществления человек недавно имел катетер-ассоциированную инфекцию мочевыводящих путей (КАИМП). В некоторых вариантах осуществления человек недавно имел инфекции, вызванные C. difficile.

[0059] В некоторых аспектах раскрытие предоставляет способ, включающий

(a) идентификацию человека, который (i) получал лечение рака; (ii) является

реципиентом трансплантата; (iii) получал иммуносупрессию; (iv) имеет аутоиммунное заболевание (*например*, системную красную волчанку, ревматоидный артрит, синдром Шегрена или болезнь Крона); (v) имеет гематологическую злокачественную опухоль; (vi) имеет цирроз (*например*, включая терминальную стадию заболевания печени (ESLD)); (vii) готовится или восстанавливается после операции на желудочно-кишечном тракте; (viii) представляет собой пациента в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ); (ix) прошел несколько курсов антибиотиков и/или постоянное применение антибиотиков; (x) имеет положительный посев кала на карбапенем-резистентные Enterobacteriaciae (CRE), бета-лактамазу расширенного спектра (БЛРС), продуцируемую Enterobacteriaciae (БЛРС), и/или ванкомицин-резистентные Enterococcus (VRE); (xi) имеет незначительное разнообразие бактериальных сообществ в желудочно-кишечном тракте; (xii) имеет повышенные уровни патогенов, резистентых к лекарственным средствам или антибиотикам (*например*, VRE, CRE, Candida или Clostridium difficile), грамположительных бактерий или грамотрицательных бактерий и/или (xiii) недавно имел катетер-ассоциированную инфекцию кровотока (КАИК), катетер-ассоциированную инфекцию мочевыводящих путей (КАИМП) или инфекции, вызванные C. difficile; и

(b) лечение объекта эффективным количеством олигосахаридной композиции, как описано в настоящей заявке.

[0060] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение человеку популяции комменсальных или пробиотических бактерий.

[0061] В некоторых вариантах осуществления человек представляет собой пациента, имеющего микробиом кишечника, лишенный каких-либо обнаруживаемых уровней комменсальных бактерий.

[0062] В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение человеку антибиотиков (*например*, антибиотиков широкого спектра действия) или другого стандартного лечения одновременно с олигосахаридной композицией.

[0063] В некоторых вариантах осуществления объект лечился антибиотиками (*например*, антибиотиками широкого спектра действия) или другим стандартным лечением перед введением олигосахаридной композиции.

[0064] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция вводится объекту от одного до двадцати восьми дней до лечения рака, хирургического вмешательства (*например*, трансплантации, *например*, гемопоэтических стволовых клеток) или поступления в отделение реанимации и интенсивной терапии. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция вводится объекту от одного до двадцати восьми дней после лечения рака, хирургического вмешательства (*например*, трансплантации, *например*, гемопоэтических стволовых клеток) или поступления в отделение реанимации и интенсивной терапии.

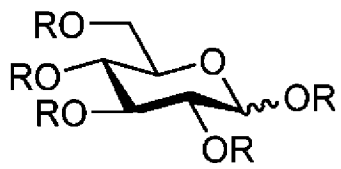
[0065] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция вводится объекту, по меньшей мере, от одного до двадцати восьми дней после начала возникновения патогенной инфекции.

[0066] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция вводится в кишечник (*например*, в толстый кишечник).

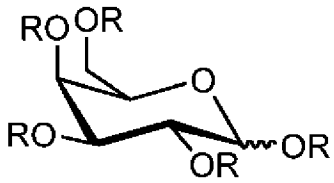
[0067] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция вводится объекту самостоятельно. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция составлена в виде фармацевтической композиции для пероральной доставки. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция вводится объекту перорально. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция составлена в виде фармацевтической композиции для доставки через зонд для питания. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция вводится объекту через зонд для питания.

[0068] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция вводится объекту один раз в день или два раза в день.

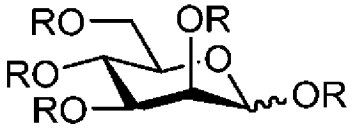
[0069] В некоторых аспектах раскрытие предоставляет способ сокращения относительного или абсолютного количества патогенов в желудочно-кишечном тракте человека, при этом способ включает введение в желудочно-кишечный тракт объекта эффективного количества олигосахаридной композиции, в котором олигосахаридная композиция содержит множество олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III):



(I)

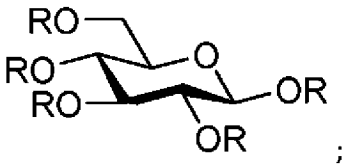


(II)

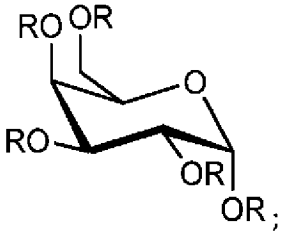


(III)

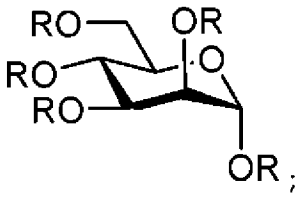
в которых каждый R независимо выбран из водорода, и Формул (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (IIa), (IIb), (IIc), (IId), (IIIa), (IIIb), (IIIc), (IIId):



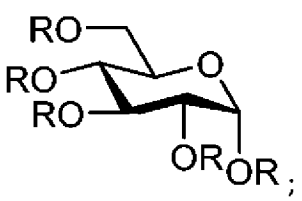
(Ia)



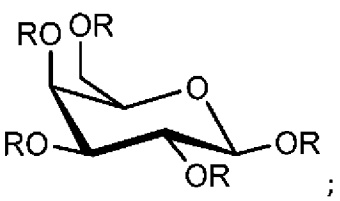
(IIa)



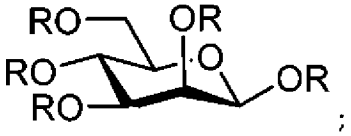
(IIIa)



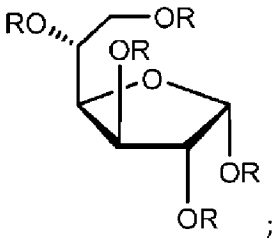
(Ib)



(IIb)

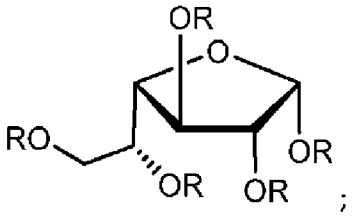


(IIIb)



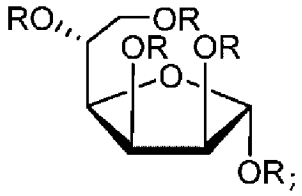
;

(Ic)



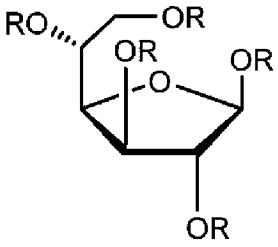
;

(IIc)

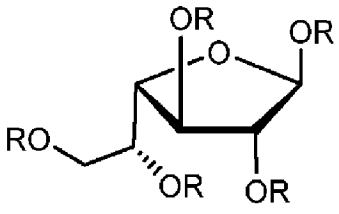


;

(IIIc)



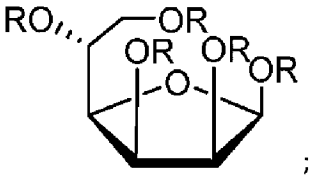
(Id)



;

и

(IId)



;

(IIId)

в которых каждый R независимо представляет собой, как определено выше;

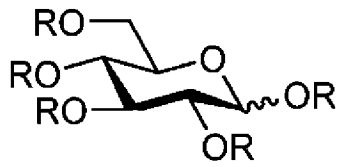
в котором олигосахаридная композиция получена с помощью способа, включающего:

(a) образование реакционной смеси, содержащей мономер декстрозы, мономер галактозы и мономер маннозы, в котором молярное соотношение декстрозы и галактозы составляет приблизительно 1:1 и молярное соотношение декстрозы и маннозы составляет приблизительно 4,5:1, с кислотным катализатором, содержащим положительно заряженные ионы водорода; и

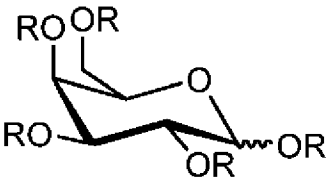
(b) промотирование катализируемого кислотой образования олигосахаридов в реакционной смеси путем передачи достаточного количества тепла реакционной смеси для поддержания реакционной смеси при ее температуре кипения.

[0070] В некоторых вариантах осуществления стадия (b) включает промотирование катализируемого кислотой образования олигосахаридов в реакционной смеси путем передачи достаточного количества тепла реакционной смеси для поддержания реакционной смеси при ее температуре кипения до тех пор, пока массовый процент общего содержания мономера в олигосахаридной композиции не будет находиться в диапазоне от 2% до 20%, в котором общее содержание мономера включает мономер декстрозы, мономер галактозы и/или мономер маннозы.

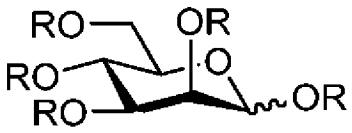
[0071] В некоторых аспектах раскрытие относится к олигосахаридной композиции (которая может быть пригодной в качестве метаболической терапии микробиома), которая содержит множество олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III):



(I)

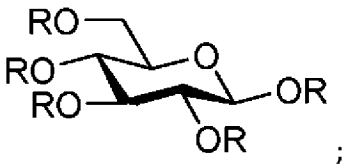


(II)

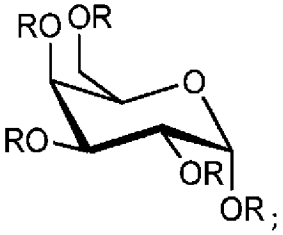


(III)

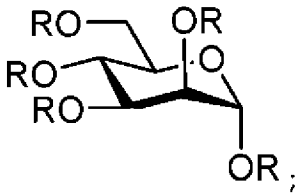
в которых каждый R независимо выбран из водорода, и Формул (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (IIa), (IIb), (IIc), (IId), (IIIa), (IIIb), (IIIc), (IIId),:



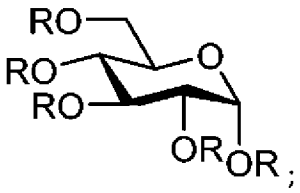
(Ia)



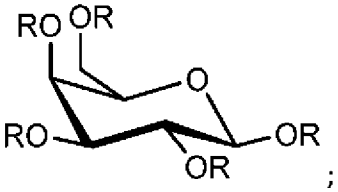
(IIa)



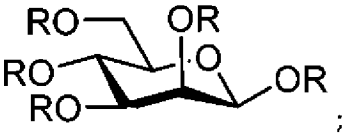
(IIIa)



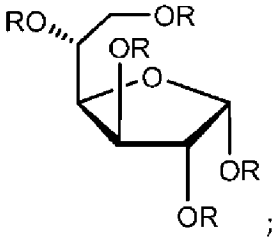
(Ib)



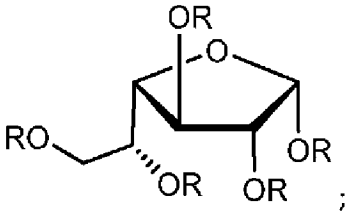
(IIb)



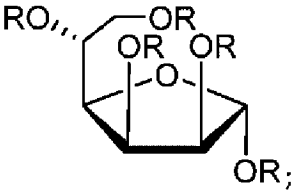
(IIIb)



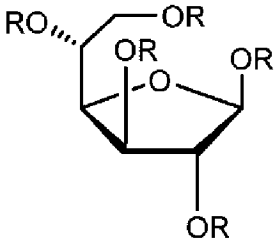
(Ic)



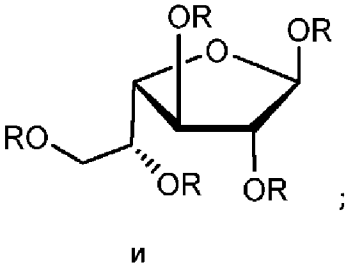
(IIc)



(IIIc)

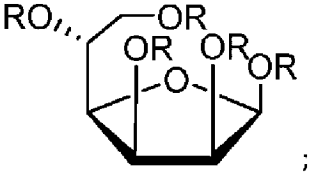


(Id)



и

(IId)



(IIId)

в которых каждый R независимо представляет собой, как определено выше. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию получают с помощью

способа, включающего:

(a) нагревание препарата, содержащего мономер декстрозы, мономер галактозы и мономер маннозы, в котором молярное соотношение декстрозы и галактозы составляет приблизительно 1:1 и молярное соотношение декстрозы и маннозы составляет приблизительно 4,5:1 в условиях перемешивания, до температуры в диапазоне от 100°C до 160°C;

(b) загрузку препарата с кислотным катализатором, содержащим положительно заряженные ионы водорода, таким образом образуя реакционную смесь; и

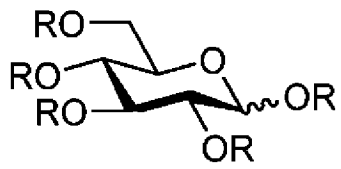
(c) поддержание реакционной смеси при атмосферном давлении, при температуре в диапазоне от 100°C до 160°C, в условиях, которые способствуют катализируемому кислотой образованию олигосахаридной композиции до тех пор, пока массовый процент общего содержания мономеров в олигосахаридной композиции не будет находиться в диапазоне от 2% до 14%, в котором общее содержание мономера включает мономер декстрозы, мономер галактозы и/или мономер маннозы;

(d) гашение реакционной смеси, например, с использованием воды, одновременно при доведении температуры реакционной смеси до температуры в диапазоне от 55°C до 95°C (*например*, 85°C, 90°C) и необязательно

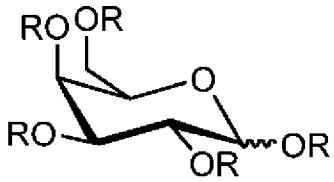
(e) отделение олигосахаридных композиций от кислотного катализатора;

таким образом получая олигосахаридную композицию.

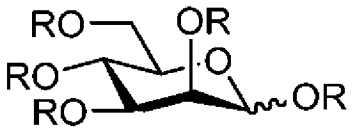
[0072] В другом аспекте раскрытие относится к олигосахаридной композиции (которая может быть пригодной в качестве метаболической терапии микробиома), которая содержит множество олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III):



(I)

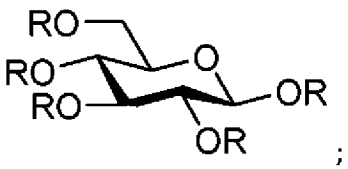


(II)

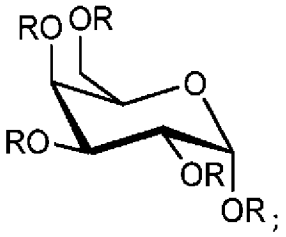


(III)

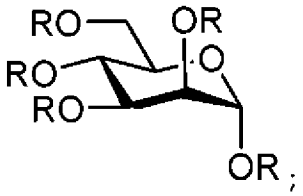
в которых каждый R независимо выбран из водорода, и Формул (IIa), (IIb), (IIc), (IId), (IIIa), (IIIb), (IIIc), (IIId):



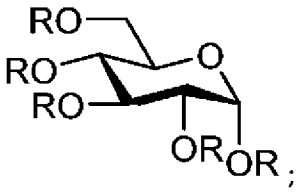
(Ia)



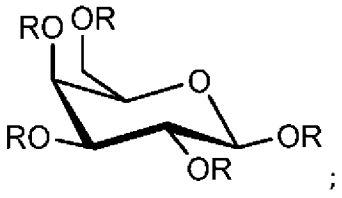
(IIa)



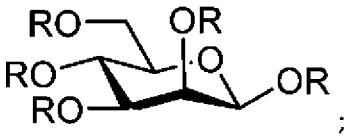
(IIIa)



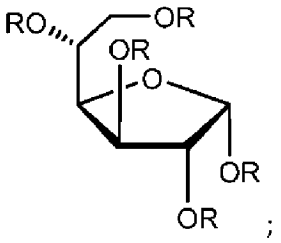
(Ib)



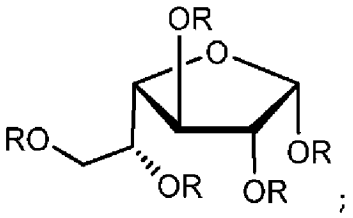
(IIb)



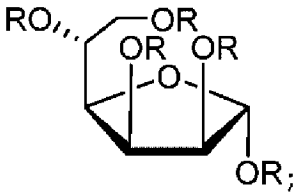
(IIIb)



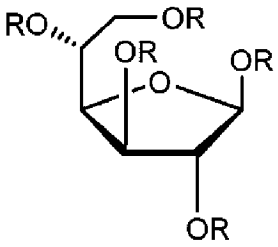
(Ic)



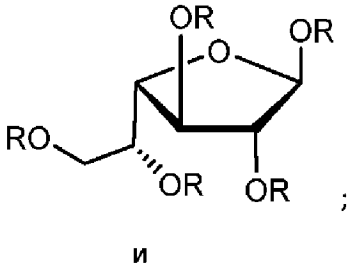
(IIc)



(IIIc)

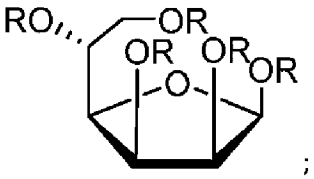


(Id)



и

(IId)



(IIId)

в которых каждый R независимо представляет собой, как определено выше;

в котором олигосахаридная композиция получена с помощью способа, включающего:

(a) нагревание препарата, содержащего мономер декстрозы, мономер галактозы и мономер маннозы, в котором молярное соотношение декстрозы и галактозы составляет приблизительно 1:1 и молярное соотношение декстрозы и маннозы составляет приблизительно 4,5:1 при условиях перемешивания, до температуры в диапазоне от 100°C до 160°C;

(b) загрузку препарата с кислотным катализатором, содержащим положительно заряженные ионы водорода, таким образом образуя реакционную смесь; и

(c) поддержание реакционной смеси при ее температуре кипения, при давлении в

диапазоне 0,5-1,5 атм, при условиях, которые способствуют катализируемому кислотой образованию олигосахаридов до тех пор, пока массовый процент общего содержания мономера в олигосахаридной композиции не будет находиться в диапазоне от 2% до 14%, в котором общее содержание мономера включает мономер декстрозы, мономер галактозы и/или мономер маннозы;

(d) гашение реакционной смеси, например, с использованием воды, одновременно при доведении температуры реакционной смеси до температуры в диапазоне от 55°C до 95°C (*например*, 85°C, 90°C) и необязательно

(e) отделение олигосахаридов от кислотного катализатора;

таким образом получая олигосахаридную композицию.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0073] На **ФИГ. 1** изображен пример использования олигосахаридных композиций для сокращения колонизации патогенов в анализе ex vivo (закрытая система) и в клинических условиях in vivo (открытая система). Изображения бактерий темным (красным) цветом символизируют патогены или патобионты. Изображения бактерий светлым (синим) цветом символизируют комменсальные бактерии.

[0074] На **ФИГ. 2** предоставлены графики, показывающие снижение роста патогенов в культурах отдельных штаммов патогенов (штаммы Clostridium difficile), инкубированных в присутствии образцов выбранной олигосахаридной композиции.

[0075] На **ФИГ. 3** предоставлены графики, показывающие снижение роста патогенов в культурах отдельных штаммов патогенов (VRE Enterococcus faecium), инкубированных в присутствии образцов выбранной олигосахаридной композиции.

[0076] На **ФИГ. 4** предоставлены графики, показывающие снижение роста патогенов в культурах отдельных штаммов патогенов (CRE Escherichia coli, CRE Klebsiella pneumoniae), инкубированных в присутствии образцов выбранной олигосахаридной композиции.

[0077] На **ФИГ. 5** предоставлены графики, показывающие снижение роста патогенов в культурах отдельных штаммов патогенов (Candida albicans, Candida glabrata, Candida krusei, Candida tropicalis), инкубированных в присутствии образцов выбранной олигосахаридной композиции.

[0078] На **ФИГ. 6A-6B** предоставлены графики, показывающие снижение роста патогенов в культурах отдельных штаммов патогенов (Candida lusitaniae), инкубированных в присутствии образцов выбранной олигосахаридной композиции. На **ФИГ. 6A** предоставлены графики, специфичные для штамма ATCC 66035. На **ФИГ. 6B** предоставлены графики, специфичные для штамма ATCC 42720.

[0079] На **ФИГ. 7A-7B** предоставлены графики, показывающие снижение роста патогенов (нормализованное к контролю воды) в анализе снижения количества патогенов ex vivo, в котором образцы кала от 11 пациентов ОРИТ инкубировали с выбранной олигосахаридной композицией. На **ФИГ. 7A** предоставлен график, показывающий снижение количества патогенов в образцах кала с введенными карбапенем-резистентными

Enterobacteriaceae. На **ФИГ. 7В** предоставлен график, показывающий снижение количества патогенов в образцах кала с введенными ванкомицин-резистентными Enterococcaceae.

[0080] На **ФИГ. 8А-8В** предоставлены графики, показывающие снижение роста патогенов (нормализованное к контролю воды) в анализе снижения количества патогенов ex vivo, в котором образцы кала от пациентов с печеночной энцефалопатией (ПЭ) инкубировали с выбранной олигосахаридной композицией. На **ФИГ. 8А** предоставлен график, показывающий снижение количества патогенов в образцах кала с введенными карбапенем-резистентными Enterobacteriaceae. На **ФИГ. 8В** предоставлен график, показывающий снижение количества патогенов в образцах кала с введенными ванкомицин-резистентными Enterococcaceae.

[0081] На **ФИГ. 9** предоставлена хроматограмма SEC-ВЭЖХ выбранной олигосахаридной композиции с использованием способа, предоставленного в Примере 15.

[0082] На **ФИГ. 10** предоставлено наложение хроматограмм SEC-ВЭЖХ стандартных сахаридов для применения в Примере 17.

[0083] На **ФИГ. 11** предоставлен HSQC ЯМР спектр выбранной олигосахаридной композиции.

[0084] На **ФИГ. 12** предоставлен график, показывающий микробные композиции образцов кала, взятых у пациентов ОРИТ, и образцов кала, взятых у здоровых объектов. Представлены относительные доли дискретных бактериальных таксонов (на уровне рода) в каждом образце кала.

[0085] На **ФИГ. 13А-13В** представлены графики, показывающие уменьшение относительных долей патогенных микробов (*например*, VRE E. faecium, Enterobacteriales) и увеличение относительных долей комменсальных микробов в анализе снижения количества патогенов ex vivo. Образцы кала, в которые были добавлены ванкомицин-резистентные Enterococcaceae или карбапенем-резистентные Enterobacteriaceae, инкубировали с выбранной олигосахаридной композицией, ФОС или водой.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0086] Аспекты раскрытия относятся к олигосахаридным композициям, которые являются эффективными для снижения уровней, количества и/или колонизации и колонизации патогенов у объекта.

[0087] Некоторые аспекты раскрытия основаны на результатах расширенных исследований по скринингу, которые проводили для идентификации олигосахаридных композиций, которые способны модулировать, *например*, снижать уровни патогенов у объекта. Сотни уникальных олигосахаридных композиций были проанализированы на предмет их влияния на уровни патогенов. Олигосахаридные композиции, исследованные при скрининге, были получены с использованием различных мономеров сахаридов, *например*, мономеров декстрозы, мономеров ксилозы и *т. д.* и при условиях, включающих различные температуры реакции, в течение различных периодов времени и/или в присутствии различных условий катализатора.

[0088] В результате этого скрининга выбранная олигосахаридная композиция была идентифицирована как высокоэффективный модулятор уровней патогенов и колонизации. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления эта олигосахаридная композиция является наиболее пригодной для лечения объектов, имеющих высокие уровни колонизации патогенами в их желудочно-кишечном тракте (*например*, объектов, колонизированных патогенами в их кишечнике) и/или получающих антибиотики широкого спектра действия. Дополнительные аспекты раскрытия, включая описание определенных терминов, предоставлены ниже.

I. Определения

[0089] **Условия перемешивания**: Используемый в настоящем описании термин «условия перемешивания» относится к условиям, которые способствуют или поддерживают по существу однородное или гомогенное состояние смеси (*например*, реакционной смеси, содержащей мономер декстрозы, мономер галактозы и мономер маннозы) в отношении диспергирования твердых частиц (*например*, твердых катализаторов), однородности теплопередачи или других подобных параметров. Условия перемешивания обычно включают перемешивание, встряхивание и/или смешивание реакционной смеси. В некоторых вариантах осуществления условия перемешивания могут включать добавление в раствор газов или других жидкостей. В некоторых вариантах осуществления условия перемешивания используются для поддержания по существу однородного или гомогенного распределения катализатора, *например*, кислотного катализатора. В некоторых вариантах осуществления препарат моносахарида нагревают в присутствии кислотного катализатора при подходящих условиях для достижения однородности и равномерной теплопередачи с целью синтеза олигосахаридной композиции.

[0090] **Приблизительно**: Используемый в настоящем описании термин «приблизительно» или «примерно» применительно к одному или более интересующим значениям относится к значению, которое аналогично установленному справочному значению. В определенных вариантах осуществления термин «приблизительно» или «примерно» относится к диапазону значений, которые находятся в пределах 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или менее в любом направлении (более или менее) от установленного справочного значения, если не указано иначе или иное не очевидно из контекста (за исключением случаев, когда такое количество будет превышать 100% от возможного значения).

[0091] **Мономер декстрозы**: Используемый в настоящем описании термин «мономер декстрозы» относится к D-изомеру мономера глюкозы, известному как D-глюкоза. В некоторых вариантах осуществления мономер декстрозы представляет собой моногидрат декстрозы или кукурузный сироп 70DS.

[0092] **Эффективное количество**: Используемый в настоящем описании термин «эффективное количество» относится к введенному количеству или концентрации олигосахаридной композиции, которая является необходимой и достаточной для того,

чтобы вызвать биологический ответ, *например*, у объекта или пациента. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество олигосахаридной композиции способно модулировать, *например*, увеличивать или уменьшать активность или уровни фермента у объекта. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество олигосахаридной композиции способно модулировать, *например*, увеличивать или уменьшать процессинг метаболита. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество олигосахаридной композиции способно модулировать, *например*, увеличивать или уменьшать концентрацию или количество, по меньшей мере, одного вида микробов. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество олигосахаридной композиции способно модулировать, *например*, уменьшать симптомы заболевания, связанного с повышенной колонизацией патогенов у объекта (*например*, степень тяжести или количество симптомов). В некоторых вариантах осуществления эффективное количество олигосахаридной композиции способно сократить накопление, колонизацию или сократить объем патогена (*например*, патогена, резистентного к лекарственным средствам или антибиотикам, или МЛР-патогена) у объекта. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество олигосахаридной композиции способно лечить объект, имеющий кишечную колонизацию патогеном, *например*, CRE или VRE.

[0093] **Мономер галактозы**: Используемый в настоящем описании термин «мономер галактозы» обычно относится к D-изомеру мономера галактозы, известному как D-галактоза.

[0094] **Мономер маннозы**: Используемый в настоящем описании термин «мономер маннозы» обычно относится к D-изомеру мономера маннозы, известному как D-манноза.

[0095] **Препарат моносахарида**: Используемый в настоящем описании термин «препарат моносахарида» относится к препарату, который содержит два или более моносахаридов (*например*, мономер декстрозы, мономер галактозы и мономер маннозы). В некоторых вариантах осуществления препарат моносахарида содержит мономеры декстрозы, мономеры галактозы и мономеры маннозы.

[0096] **Олигосахарид**: Используемый в настоящем описании термин «олигосахарид» (который может использоваться взаимозаменяемо с термином «гликан» в некоторых контекстах) относится к молекуле сахарида, содержащей, по меньшей мере, два моносахарида (*например*, мономеры декстрозы, мономеры галактозы, мономеры маннозы), связанные вместе посредством гликозидной связи (имеющие степень полимеризации (СП), по меньшей мере, 2 (*например*, СП2+)). В некоторых вариантах осуществления олигосахарид содержит, по меньшей мере, две, по меньшей мере, три, по меньшей мере, четыре, по меньшей мере, пять, по меньшей мере, шесть, по меньшей мере, семь, по меньшей мере, восемь, по меньшей мере, девять или, по меньшей мере, десять субъединиц моносахаридов, связанных гликозидными связями. В некоторых вариантах осуществления олигосахарид находится в диапазоне 3-20, 4-16, 5-15, 8-12, 5-25, 10-25, 20-50, 40-80 или 75-100 моносахаридов, связанных посредством гликозидных связей. В

некоторых вариантах осуществления олигосахарид содержит, по меньшей мере, одну 1,2; 1,3; 1,4 и/или 1,6-гликозидную связь. Олигосахариды могут быть линейными или разветвленными. Олигосахариды могут иметь одну или более гликозидных связей, которые находятся в альфа-конфигурациях, и/или одну или более гликозидных связей, которые находятся в бета-конфигурациях.

[0097] **Фармацевтическая композиция**: Используемая в настоящем описании «фармацевтическая композиция» относится к композиции, имеющей фармакологическую активность или другой прямой эффект на смягчение, лечение или предотвращение заболевания, и/или готовой лекарственной форме или ее составу и предназначена для применения для людей. Фармацевтическая композиция или фармацевтический препарат обычно производится при условиях надлежащей производственной практики (GMP). Фармацевтические композиции или препараты могут быть стерильными или нестерильными. В случае нестерильности такие фармацевтические композиции или препараты обычно соответствуют микробиологическим характеристикам и критериям для нестерильных фармацевтических продуктов, как описано в Фармакопее США (USP) или Европейской фармакопее (EP). Любая олигосахаридная композиция, описанная в настоящей заявке, может быть приготовлена в виде фармацевтической композиции.

[0098] **Объект**: Используемый в настоящем описании термин «объект» относится к человеку или пациенту. Объекты могут включать новорожденного (недоношенного новорожденного, доношенного новорожденного), младенца до одного года, маленьких детей (*например*, от 1 года до 12 лет), подростков (*например*, 13-19 лет), взрослых (*например*, 20-64 года) и пожилых людей (65 лет и старше). В некоторых вариантах осуществления объект относится к педиатрической популяции или ее субпопуляции, включая новорожденных (от рождения до 1 месяца), младенцев (от 1 месяца до 2 лет), развивающихся детей (2-12 лет) и подростков (12-16 лет). В некоторых вариантах осуществления объект является здоровым объектом. В некоторых вариантах осуществления объект представляет собой пациента, имеющего более высокое содержание патогена по сравнению со здоровым объектом, *например*, объектом, колонизированным патогеном (*например*, патогенами CRE и/или VRE) в его желудочно-кишечном тракте (*например*, его толстой кишке или кишечнике). В некоторых вариантах осуществления объект представляет собой пациента, получающего антибиотики широкого спектра действия. В некоторых вариантах осуществления объект особенно восприимчив к патогенной инфекции, *например*, объект находится в критическом состоянии и/или с ослабленным иммунитетом. В некоторых вариантах осуществления объект представляет собой пациента, имеющего более низкое количество комменсальных бактерий по сравнению со здоровым объектом в его желудочно-кишечном тракте (*например*, в его толстой кишке или кишечнике).

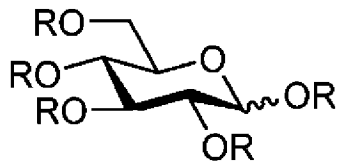
[0099] **Лечение и лечащий**: Используемые в настоящем описании термины «лечение» и «лечащий» относятся к введению композиции объекту (*например*, объекту с симптомами, страдающему нежелательным состоянием, нарушением или заболеванием),

чтобы влиять на снижение степени тяжести и/или частоты симптомов, устранять симптом и/или его основную причину и/или способствовать улучшению или устранению повреждения и/или предотвращению нежелательного состояния, нарушения или заболевания у бессимптомного объекта, который восприимчив к определенному нежелательному состоянию, нарушению или заболеванию, или у кого есть подозрение на развитие или риск развития состояния, нарушения или заболевания. В некоторых вариантах осуществления лечение объекта олигосахаридной композицией снижает относительное или абсолютное количество патогенов в желудочно-кишечном тракте объекта. В некоторых вариантах осуществления лечение объекта олигосахаридной композицией замедляет или снижает скорость патогенной инфекции (*например*, в желудочно-кишечном тракте). В некоторых вариантах осуществления лечение объекта олигосахаридной композицией предотвращает начало возникновения патогенной инфекции (*например*, в желудочно-кишечном тракте). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция лечит инфекцию (*например*, бактериальную инфекцию). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция лечит локализованную инфекцию. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция лечит начинающуюся инфекцию. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция лечит системную инфекцию, *например*, системную инфекцию C. diff. Однако в некоторых вариантах осуществления выбранная олигосахаридная композиция предотвращает инфекцию, *например*, локализованную, начинающуюся или системную инфекцию. В некоторых вариантах осуществления лечение объекта олигосахаридной композицией устраняет патогенную инфекцию и/или снижает патогенную нагрузку (*например*, в желудочно-кишечном тракте). В некоторых вариантах осуществления объект имеет или находится в группе риска патогенной (*например*, бактериальной или грибковой) инфекции (*например*, инфекции желудочно-кишечного тракта). В некоторых вариантах осуществления объект недавно перенес и/или вылечил патогенную (*например*, бактериальную или грибковую) инфекцию (*например*, инфекцию желудочно-кишечного тракта). В некоторых вариантах осуществления объект является объектом с ослабленным иммунитетом (*например*, пациентом с трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК)). В некоторых вариантах осуществления объект является здоровым объектом.

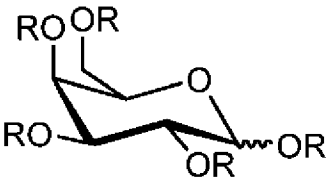
II. Олигосахаридные композиции

[00100] В настоящем описании предоставлены олигосахаридные композиции и их способы применения для регулирования уровней патогенов у человека.

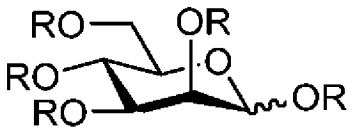
В одном аспекте в настоящем описании предоставлены олигосахаридные композиции, которые содержат множество олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III):



(I)

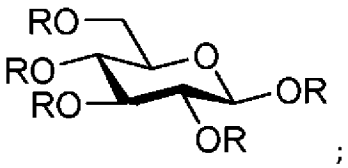


(II)

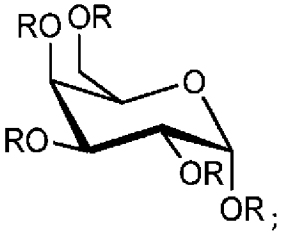


(III)

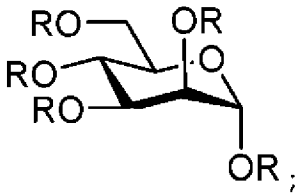
в которых каждый R независимо выбран из водорода, и Формул (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (IIa), (IIb), (IIc), (IId), (IIIa), (IIIb), (IIIc), (IIId):



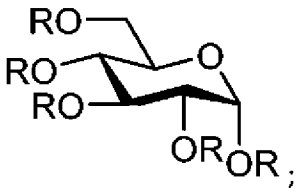
(Ia)



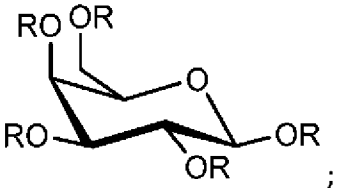
(IIa)



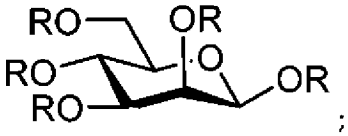
(IIIa)



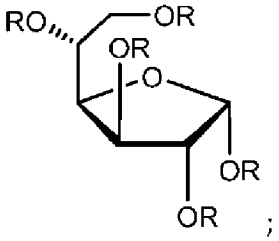
(Ib)



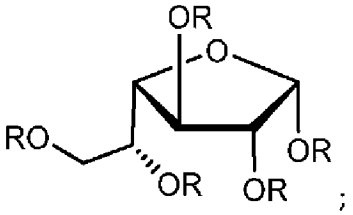
(IIb)



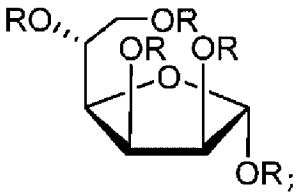
(IIIb)



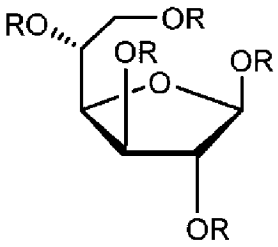
(Ic)



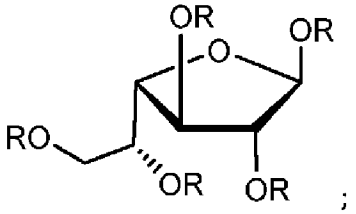
(IIc)



(IIIc)

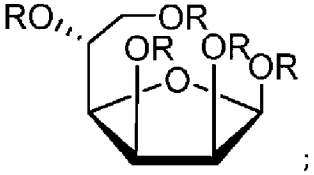


(Id)



и

(IId)



(IIId)

в которых каждый R независимо представляет собой, как определено выше.

[00101] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции

получают с помощью способа, который первоначально включает нагревание препарата, содержащего мономеры декстрозы, мономеры галактозы и мономеры маннозы, до температуры в диапазоне от 100°C до 160°C, от 100°C до 120°C, от 110°C до 130°C, от 120°C до 140°C, от 130°C до 150°C или приблизительно 140°C. Соотношение мономеров декстрозы и мономеров галактозы может составлять 1:1. Соотношение мономеров декстрозы и мономеров маннозы может составлять 4,5:1. Соотношение мономеров галактозы и мономеров маннозы может составлять 4,5:1. Нагревание можно проводить при условиях перемешивания. Нагревание может включать постепенное повышение температуры (*например*, от комнатной температуры) до приблизительно 130°C, приблизительно 135°C, приблизительно 140°C, приблизительно 145°C или приблизительно 150°C при подходящих условиях для достижения однородности и равномерной теплопередачи. К препарату добавляют кислотный катализатор, содержащий положительно заряженные ионы водорода (*например*, после нагревания). В некоторых вариантах осуществления кислотный катализатор представляет собой твердый катализатор. В некоторых вариантах осуществления катализатор представляет собой сильнокислотную катионообменную смолу, имеющую одно или более физических и химических свойств в соответствии с Таблицей 1. В некоторых вариантах осуществления катализатор содержит >3,0 ммоль/г фрагментов сульфоновой кислоты и <1,0 ммоль/г катионных фрагментов. В определенных вариантах осуществления катализатор имеет номинальное содержание влаги 45-50 массовых процентов. В определенных вариантах осуществления катализатор добавляют одновременно с мономерами декстрозы, мономерами галактозы и мономерами маннозы. В некоторых вариантах осуществления после загрузки катализатора с препаратом полученную реакционную смесь выдерживают при атмосферном давлении и при температуре в диапазоне от 100°C до 160°C, от 100°C до 120°C, от 110°C до 130°C, от 120°C до 140°C, от 130°C до 150°C или приблизительно 140°C при условиях, которые способствуют катализируемому кислотой образованию олигосахаридов. В некоторых вариантах осуществления, как только массовый процент общего содержания мономера в олигосахаридной композиции (общее содержание мономера включает количество мономера декстрозы, мономера галактозы и/или мономера маннозы) находится в диапазоне 2-14% (необязательно 2-5%, 4-8%, 7-10%, 9-14% или 12-14%), реакционную смесь гасят. Гашение обычно включает применение воды (*например*, деионизированной воды) для разбавления реакционной смеси и постепенное снижение температуры реакционной смеси от 55°C до 95°C. В некоторых вариантах осуществления температура воды, используемой для гашения, составляет приблизительно 95°C. Воду можно добавлять к реакционной смеси при условиях, достаточных для предотвращения затвердевания смеси. В определенных вариантах осуществления воду можно удалить из реакционной смеси путем испарения. В некоторых вариантах осуществления реакционная смесь может содержать 93-94 массовых процентов растворенных твердых веществ. Наконец, чтобы получить очищенную олигосахаридную композицию, композицию обычно отделяют от кислотного катализатора, обычно путем разбавления погашенной

реакционной смеси водой до концентрации приблизительно 45-55 массовых процентов и температуры ниже приблизительно 85°C и затем пропускания смеси через фильтр или ряд хроматографических смол. В определенных вариантах осуществления используемый фильтр представляет собой фильтр 0,45 мкм. В качестве альтернативы можно использовать ряд хроматографических смол, которые обычно включают катионообменную смолу, анионообменную смолу и/или обесцвечивающую полимерную смолу. В некоторых вариантах осуществления любой или все типы смол можно использовать один или более раз в любом порядке. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит воду при уровне ниже того, который необходим для роста микробов при хранении при комнатной температуре. В определенных вариантах осуществления средняя степень полимеризации всех олигосахаридов находится в диапазоне 7-15,5, необязательно 11-15. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит воду в диапазоне 45-55 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWw (средневесовую молекулярную массу) (г/моль) в диапазоне 1905-2290. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция включает олигосахариды, которые имеют MWn (среднечисловую молекулярную массу) (г/моль) в диапазоне 1030-1095. В некоторых вариантах осуществления раствор, содержащий олигосахаридную композицию, имеет pH в диапазоне 2,50-3,50. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигомеры, имеющие две или более повторяющихся единиц (СП2+) в диапазоне 86-96 массовых процентов.

[00102] Кроме того, в некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции могут быть демономеризованы. В некоторых вариантах осуществления демономеризация включает удаление остаточных мономеров сахарида. В некоторых вариантах осуществления демономеризацию проводят с использованием хроматографической смолы. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления могут быть получены различные композиции в зависимости от процента присутствующего мономера. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции демономеризованы до содержания мономера приблизительно 1%, приблизительно 3%, приблизительно 5%, приблизительно 10% или приблизительно 15%. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции демономеризованы до содержания мономера приблизительно 1-3%, приблизительно 3-6%, приблизительно 5-8%, приблизительно 7-10% или приблизительно 10-15%. В одном варианте осуществления олигосахаридные композиции демономеризованы до содержания мономера менее 1%. В одном варианте осуществления олигосахаридная композиция демономеризована до содержания мономера от приблизительно 7% до 10%. В одном варианте осуществления олигосахаридные композиции демономеризованы до содержания мономера от приблизительно 1% до 3%. В одном варианте осуществления демономеризация достигается осмотическим разделением. Во втором варианте осуществления

демономеризация достигается тангенциальной поточной фильтрацией (TFF). В третьем варианте осуществления демономеризация достигается осаждением этанолом.

[00103] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции с различным содержанием мономеров также могут иметь различные показатели для общего количества пищевых волокон, влажности, общего количества пищевых волокон (в сухом веществе) или процентного содержания эквивалента декстрозы (DE). В некоторых вариантах осуществления общее количество пищевых волокон измеряют в соответствии со способами AOAC 2011.25. В некоторых вариантах осуществления влажность измеряют с использованием вакуумной печи при 60°C. В некоторых вариантах осуществления рассчитывают общее количество пищевых волокон (в сухом веществе). В некоторых вариантах осуществления процент DE измеряют в соответствии с Кодексом пищевых химикатов (FCC).

[00104] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции имеют общее содержание пищевых волокон 87,4 процента (в пересчете на сухое вещество). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции имеют общее содержание пищевых волокон 81,9-93,0, 82-85, 85-88, 88-90 или 90-93 процентов (в пересчете на сухое вещество). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции имеют общее содержание пищевых волокон приблизительно 82, приблизительно 85, приблизительно 87, приблизительно 90 или приблизительно 93 процента (в пересчете на сухое вещество). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции имеют общее содержание пищевых волокон 78-97 процентов (в пересчете на сухое вещество). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции имеют общее содержание пищевых волокон 82-93 процента (в пересчете на сухое вещество). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции имеют общее содержание пищевых волокон 14,5-100 процентов (в пересчете на сухое вещество). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции имеют общее содержание пищевых волокон 34-94 процента (в пересчете на сухое вещество).

[00105] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции имеют общее содержание восстанавливающего сахара (эквивалент декстрозы (DE) (сухие твердые вещества)) 6,5-35 процентов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции имеют общее содержание восстанавливающего сахара (эквивалент декстрозы (DE) (сухие твердые вещества)) 12-29 процентов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции имеют общее содержание восстанавливающего сахара (эквивалент декстрозы (DE) (сухие твердые вещества)) 5-40, 5-30, 5-25, 10-30, 10-25, 10-20, 15-30, 15-25 или 15-20 процентов.

[00106] В некоторых вариантах осуществления получение олигосахаридных композиций в соответствии со способами, предоставленными в настоящем описании, может осуществляться в периодическом процессе или непрерывном процессе. Например, в одном варианте осуществления олигосахаридные композиции получают в

периодическом процессе, когда содержимое реактора подвергается условиям перемешивания (*например*, непрерывно перемешивается или смешивается), и все или значительное количество продуктов реакции удаляются (*например*, выделены и/или восстановлены).

[00107] В определенных вариантах осуществления способы применения катализатора осуществляются в водной среде. Подходящим водным растворителем является вода, которую можно получить из различных источников. Как правило, в некоторых вариантах осуществления можно использовать источники воды с более низкими концентрациями ионных форм (*например*, соли натрия, фосфора, аммония или магния), поскольку такие ионные формы могут снизить эффективность катализатора. В некоторых вариантах осуществления, в которых водным растворителем является вода, вода содержит менее 10% ионных форм (*например*, солей натрия, фосфора, аммония, магния). В некоторых вариантах осуществления, в которых водным растворителем является вода, вода имеет удельное сопротивление, по меньшей мере, 0,1 мегаом-сантиметр, по меньшей мере, 1 мегаом-сантиметр, по меньшей мере, 2 мегаом-сантиметр, по меньшей мере, 5 мегаом-сантиметр или, по меньшей мере, 10 мегаом-сантиметр.

[00108] В некоторых вариантах осуществления, по мере того, как протекают реакции способов, предоставленных в настоящем описании, вода (такая как выделившаяся вода) образуется с каждым гликозидным сочетанием одного или более мономеров сахаридов. В определенных вариантах осуществления способы, описанные в настоящей заявке, могут дополнительно включать мониторинг количества воды, присутствующей в реакционной смеси, и/или соотношения воды и мономера или катализатора в течение определенного периода времени. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления содержание воды в реакционной смеси может изменяться в ходе реакции, например, при удалении образовавшейся выделившейся воды. Соответствующие способы могут использоваться для удаления воды (*например*, выделившейся воды) из реакционной смеси, включая, например, путем испарения, такого как перегонка. В некоторых вариантах осуществления способ подразумевает включение воды в реакционную смесь. В определенных вариантах осуществления способ включает удаление воды из реакционной смеси путем испарения.

[00109] В некоторых вариантах осуществления соотношение мономера декстрозы и мономера галактозы составляет приблизительно 1:2, 1:1,5, 1:1,4, 1:1,3, 1:1,2, 1:1,1, 1:1, 1,1:1, 1,2:1, 1,3:1, 1,4:1, 1,5:1 или 2:1. В некоторых вариантах осуществления соотношение мономера декстрозы и мономера галактозы составляет приблизительно 1:1.

[00110] В некоторых вариантах осуществления соотношение мономера декстрозы и мономера маннозы составляет приблизительно 1:1, 1,5:1, 2:1, 2,5:1, 3:1, 3,5:1, 3,6:1, 3,7:1, 3,8:1, 3,9:1, 4:1, 4,1:1, 4,2:1, 4,3:1, 4,4:1, 4,5:1, 4,6:1, 4,7:1, 4,8:1, 4,9:1, 5:1 или 5,5:1. В некоторых вариантах осуществления соотношение мономера декстрозы и мономера маннозы составляет приблизительно 4,5:1.

[00111] В некоторых вариантах осуществления соотношение мономера галактозы и

мономера маннозы составляет приблизительно 1:1, 1,5:1, 2:1, 2,5:1, 3:1, 3,5:1, 3,6:1, 3,7:1, 3,8:1, 3,9:1, 4:1, 4,1:1, 4,2:1, 4,3:1, 4,4:1, 4,5:1, 4,6:1, 4,7:1, 4,8:1, 4,9:1, 5:1 или 5,5:1. В некоторых вариантах осуществления соотношение мономера галактозы и мономера маннозы составляет приблизительно 4,5:1.

[00112] В некоторых вариантах осуществления моносахаридный препарат содержит приблизительно 30-60% мономера декстрозы, приблизительно 30-60% мономера галактозы и 1-25% мономера маннозы. В некоторых вариантах осуществления моносахаридный препарат содержит приблизительно 30-60% мономера декстрозы, приблизительно 30-60% мономера галактозы и приблизительно 5-15% мономера маннозы. В некоторых вариантах осуществления моносахаридный препарат содержит приблизительно 40-50% мономера декстрозы, приблизительно 40-50% мономера галактозы и приблизительно 5-15% мономера маннозы. В некоторых вариантах осуществления моносахаридный препарат содержит приблизительно 45% мономера декстрозы, приблизительно 45% мономера галактозы и приблизительно 10% мономера маннозы.

[00113] В определенных вариантах осуществления препарат загружают с кислотным катализатором, содержащим положительно заряженные ионы водорода. В некоторых вариантах осуществления кислотный катализатор представляет собой твердый катализатор (*например*, Dowex Marathon C). В некоторых вариантах осуществления кислотный катализатор представляет собой растворимый катализатор (*например*, лимонную кислоту).

[00114] В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение положительно заряженных ионов водорода и общего содержания мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы находится в соответствующем диапазоне. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение положительно заряженных ионов водорода и общего содержания мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы находится в диапазоне от 0,01 до 0,1, от 0,02 до 0,08, от 0,03 до 0,06 или от 0,05 до 0,06. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение положительно заряженных ионов водорода и общего содержания мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы находится в диапазоне от 0,003 до 0,01, от 0,005 до 0,02, от 0,01 до 0,02, от 0,01 до 0,03, от 0,02 до 0,03, 0,02 до 0,04, от 0,03 до 0,05, от 0,03 до 0,08, от 0,04 до 0,07, от 0,05 до 0,1, от 0,05 до 0,2, от 0,1 до 0,2, от 0,1 до 0,3 или от 0,2 до 0,3. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение положительно заряженных ионов водорода и общего содержания мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы находится в диапазоне от 0,050 до 0,052. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение положительно заряженных ионов водорода и общего содержания мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы находится в диапазоне от 0,020 до 0,035. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение положительно заряженных ионов водорода и общего содержания мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы составляет 0,028.

[00115] В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение растворимого кислотного катализатора (*например*, катализатора лимонной кислоты) и общего содержания мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы находится в соответствующем диапазоне. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение растворимого кислотного катализатора (*например*, катализатора лимонной кислоты) и общего содержания мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы находится в диапазоне от 0,01 до 0,1, от 0,02 до 0,08, от 0,03 до 0,06 или от 0,05 до 0,06. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение растворимого кислотного катализатора (*например*, катализатора лимонной кислоты) и общего содержания мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы находится в диапазоне от 0,003 до 0,01, от 0,005 до 0,02, от 0,01 до 0,02, от 0,01 до 0,03, от 0,02 до 0,03, от 0,02 до 0,04, от 0,03 до 0,05, от 0,03 до 0,08, от 0,04 до 0,07, от 0,05 до 0,1, от 0,05 до 0,2, от 0,1 до 0,2, от 0,1 до 0,3 или от 0,2 до 0,3. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение растворимого кислотного катализатора (*например*, катализатора лимонной кислоты) и общего содержания мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы находится в диапазоне от 0,050 до 0,052. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение растворимого кислотного катализатора (*например*, катализатора лимонной кислоты) и общего содержания мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы находится в диапазоне от 0,020 до 0,035. В некоторых вариантах осуществления молярное соотношение растворимого кислотного катализатора (*например*, катализатора лимонной кислоты) и общего содержания мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы составляет 0,028.

[00116] В некоторых вариантах осуществления к реакционной смеси добавляют воду, чтобы погасить реакцию, доведя температуру реакционной смеси до 100°C или ниже. В некоторых вариантах осуществления вода, используемая для гашения, представляет собой деионизированную воду. В некоторых вариантах осуществления вода, используемая для гашения, представляет собой воду USP. В некоторых вариантах осуществления вода имеет температуру от приблизительно 60°C до приблизительно 100°C. В определенных вариантах осуществления температура воды, используемой для гашения, составляет приблизительно 95°C. В некоторых вариантах осуществления воду добавляют к реакционной смеси при условиях, достаточных для предотвращения затвердевания смеси.

[00117] Вязкость реакционной смеси может быть измерена и/или изменена в ходе реакции. Обычно вязкость относится к измерению внутреннего сопротивления жидкости потоку (*например*, «густоте») и выражается в сантипуазах (сП) или паскаль-секундах. В некоторых вариантах осуществления вязкость реакционной смеси составляет от приблизительно 100 сП до приблизительно 95000 сП, от приблизительно 5000 сП до приблизительно 75000 сП, от приблизительно 5000 до приблизительно 50000 сП или от приблизительно 10000 до приблизительно 50000 сП. В определенных вариантах осуществления вязкость реакционной смеси составляет от приблизительно 50 сП до

приблизительно 200 сП.

[00118] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции, предоставленные в настоящем описании, могут быть подвергнуты одной или более дополнительным стадиям обработки. Дополнительные стадии обработки могут включать, например, стадии очистки. Стадии очистки могут включать, например, разделение, демономеризацию, разбавление, концентрирование, фильтрацию, обессоливание или ионный обмен, хроматографическое разделение, или обесцвечивание, или их любую комбинацию.

[00119] В определенных вариантах осуществления способы, описанные в настоящей заявке, дополнительно включают стадию разбавления. В некоторых вариантах осуществления для разбавления используется деионизированная вода. В определенных вариантах осуществления для разбавления используется вода USP. В определенных вариантах осуществления после разбавления олигосахаридная композиция содержит воду в диапазоне приблизительно 5-75, 25-65, 35-65, 45-55 или 47-53 массовых процентов. В определенных вариантах осуществления после разбавления олигосахаридная композиция содержит воду в диапазоне приблизительно 45-55 массовых процентов.

[00120] В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в настоящей заявке, дополнительно включают стадию обесцвечивания. Одна или более полученных олигосахаридных композиций могут подвергаться стадии обесцвечивания с использованием соответствующих способов, включая, например, обработку абсорбентом, активированным углем, хроматографию (*например*, с использованием ионообменной смолы) и/или фильтрацию (*например*, микрофильтрацию).

[00121] В некоторых вариантах осуществления одна или более полученных олигосахаридных композиций взаимодействуют с материалом для удаления солей, минералов и/или других ионных форм. Например, в определенных вариантах осуществления одна или более полученных олигосахаридных композиций пропускаются через анионообменную колонку. В других вариантах осуществления полученные олигосахаридные композиции пропускаются через пару анионо/катионообменных колонок.

[00122] В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в настоящей заявке, могут дополнительно включать стадию концентрирования. Например, в некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции можно подвергать испарению (*например*, испарению под вакуумом) для получения концентрированной олигосахаридной композиции. В других вариантах осуществления олигосахаридные композиции могут быть подвергнуты стадии распылительной сушки для получения олигосахаридного порошка. В определенных вариантах осуществления олигосахаридные композиции могут быть подвергнуты как стадии испарения, так и стадии распылительной сушки. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции подвергаются стадии лиофилизации (*например*, сублимационной сушки) для удаления воды и получения порошкообразного продукта.

[00123] В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в настоящей заявке, дополнительно включают стадию фракционирования. Полученные и очищенные олигосахаридные композиции могут быть впоследствии разделены по молекулярной массе с использованием любого способа, известного в данной области техники, включая, например, высокоэффективную жидкостную хроматографию, адсорбцию/десорбцию (*например*, хроматографию с активированным углем при низком давлении) или фильтрацию (например, ультрафильтрацию или диафильтрацию). В определенных вариантах осуществления олигосахаридные композиции разделены на пулы, представляющие 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% или более 98% коротких (приблизительно СП1-2), средних (приблизительно СП3-10), длинных (приблизительно СП11-18) или очень длинных (приблизительно СП>18) форм.

[00124] В определенных вариантах осуществления полученные олигосахаридные композиции фракционируют адсорбцией на углеродсодержащем материале и последующей десорбцией фракций путем промывки материала смесями органического растворителя в воде при концентрации 1%, 5%, 10%, 20%, 50% или 100%. В одном варианте осуществления адсорбционный материал представляет собой активированный уголь. В другом варианте осуществления адсорбционный материал представляет собой смесь активированного угля и наполнителя, такого как диатомовая земля или целит 545 при 5%, 10%, 20%, 30%, 40% или 50% по объему или массе.

[00125] В дополнительных вариантах осуществления полученные олигосахаридные композиции разделяют путем пропускания через систему высокоэффективной жидкостной хроматографии. В определенных вариантах осуществления полученные олигосахаридные композиции разделяют с помощью ионно-аффинной хроматографии, хроматографии гидрофильного взаимодействия или эксклюзионной хроматографии, включая гель-проницаемость и гель-фильтрацию.

[00126] В некоторых вариантах осуществления катализатор удаляют фильтрацией. В определенных вариантах осуществления фильтр 0,45 мкм используется для удаления катализатора во время фильтрации. В других вариантах осуществления низкомолекулярные материалы удаляются с помощью методов фильтрации. В определенных вариантах осуществления низкомолекулярные материалы могут быть удалены диализом, ультрафильтрацией, диафильтрацией или тангенциальной поточной фильтрацией. В определенных вариантах осуществления фильтрация выполняется в устройстве для статической диализной пробирки. В других вариантах осуществления фильтрация выполняется в системе фильтрации с динамическим потоком. В других вариантах осуществления фильтрация выполняется в фильтрующих картриджах, работающих с центробежной силой. В определенных вариантах осуществления реакционную смесь охлаждают до температуры ниже приблизительно 85°C перед фильтрацией.

[00127] В определенных вариантах осуществления средняя степень полимеризации всех олигосахаридов находится в диапазоне 6-16. В определенных вариантах

осуществления средняя степень полимеризации всех олигосахаридов находится в диапазоне 10-15. В определенных вариантах осуществления средняя степень полимеризации всех олигосахаридов находится в диапазоне 9-16. В определенных вариантах осуществления средняя степень полимеризации всех олигосахаридов находится в диапазоне 10,5-15. В определенных вариантах осуществления средняя степень полимеризации всех олигосахаридов находится в диапазоне 9-15. В определенных вариантах осуществления средняя степень полимеризации всех олигосахаридов находится в диапазоне 10,5-14. В некоторых вариантах осуществления средняя степень полимеризации всех олигосахаридов находится в диапазоне 7-15, 7-12, 7-10, 7-8, 9-10, 10-11, 11-12, 11-15, 12-13, 12-14 13-14, 14-15, 15-16, 17-18, 15-20, 3-8, 4-7 или 5-6.

[00128] В определенных вариантах осуществления массовый процент мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы в олигосахаридной композиции находится в диапазоне 10-18. В определенных вариантах осуществления массовый процент мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы в олигосахаридной композиции находится в диапазоне 11-17. В определенных вариантах осуществления массовый процент мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы в олигосахаридной композиции находится в диапазоне 12-16. В определенных вариантах осуществления массовый процент мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы в олигосахаридной композиции находится в диапазоне 13-15.

[00129] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция представляет собой смесь полимеров декстрозы, галактозы и маннозы в пропорциях приблизительно 45%, 45% и 10% по массе соответственно. Формула представляет собой $H[C_6H_{9-11}O_5]_n$-OH, в которой общее количество мономерных звеньев в отдельном полимере смеси находится в диапазоне от 2 до приблизительно 60 (n=2-60), со средним значением для смеси приблизительно 12,6 мономерных звеньев. Каждое мономерное звено может быть незамещенным, однократно, дважды или трижды замещенным другим звеном декстрозы, галактозы или маннозы любым гликозидным изомером.

[00130] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит воду в диапазоне 5-75 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит воду в диапазоне 25-65 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит воду в диапазоне 35-65 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит воду в диапазоне 45-55 массовых процентов.

[00131] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWw (г/моль) в диапазоне 1905-2290. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWw (г/моль) в диапазоне 1753-2395. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWw (г/моль) в диапазоне 1750-2400. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют

MWw (г/моль) в диапазоне 1500-2500. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWw (г/моль) в диапазоне 1800-2000. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWw (г/моль) в диапазоне 2000-2300. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWw (г/моль) в диапазоне 1515-2630. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWw (г/моль) в диапазоне 1500-2500. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWw (г/моль) в диапазоне 1740-2400. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWw (г/моль) в диапазоне 1700-2300. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWw (г/моль) в диапазоне 1800-1900, 1900-2000, 2000-2100, 2100-2200, 2200-2300, 2300-2400 или 2400-2500.

[00132] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWn (г/моль) в диапазоне 1030-1095. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWn (г/моль) в диапазоне 981-1214. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWn (г/моль) в диапазоне 980-1220. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWn (г/моль) в диапазоне 1000-1050. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWn (г/моль) в диапазоне 1050-1100. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWn (г/моль) в диапазоне 890-1300. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWn (г/моль) в диапазоне 975-1155. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWn (г/моль) в диапазоне 875-1180. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWn (г/моль) в диапазоне 940-1120. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют MWn (г/моль) в диапазоне 900-950, 950-1000, 1000-1050, 1050-1100, 1100-1150, 1150-1200 или 1200-1250.

[00133] В некоторых вариантах осуществления раствор, содержащий олигосахаридную композицию, имеет pH в диапазоне 1,50-6,00. В некоторых вариантах осуществления раствор, содержащий олигосахаридную композицию, имеет pH в диапазоне 1,50-5,00. В некоторых вариантах осуществления раствор, содержащий олигосахаридную композицию, имеет pH в диапазоне 2,00-4,00. В некоторых вариантах осуществления раствор, содержащий олигосахаридную композицию, имеет pH в диапазоне 2,50-3,50.

[00134] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют степень разветвленности в диапазоне от приблизительно 8,5% до приблизительно 32%. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют степень разветвленности в диапазоне от приблизительно 10% до приблизительно 35%. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют степень разветвленности в диапазоне от приблизительно 13% до приблизительно 29%. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигосахариды, которые имеют степень разветвленности в диапазоне 5-50%, 5-40%, 5-30%, 5-20%, 5-15%, 10-50%, 10-40%, 10-30%, 10-25%, 15-30% или 15-20%.

[00135] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигомеры, имеющие две или более повторяющихся единиц (СП2+) в диапазоне 80-100 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигомеры, имеющие две или более повторяющихся единиц (СП2+) в диапазоне 86-96 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигомеры, имеющие две или более повторяющихся единиц (СП2+) в диапазоне 86-91 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигомеры, имеющие две или более повторяющихся единиц (СП2+) в диапазоне 91-96 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигомеры, имеющие две или более повторяющихся единиц (СП2+) в диапазоне 81-100 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигомеры, имеющие две или более повторяющихся единиц (СП2+) в диапазоне 80-94 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигомеры, имеющие две или более повторяющихся единиц (СП2+) в диапазоне 91-96 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигомеры, имеющие две или более повторяющихся единиц (СП2+) в диапазоне 80-85, 85-87, 86-88, 87-90, 88-91, 89-92, 90-93, 91-94, 92-95, 93-96 или 95-98 массовых процентов.

[00136] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция имеет индекс полидисперсности (PDI) 1,8-2,0. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция имеет индекс полидисперсности (PDI) 1,8-2,1. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция имеет PDI 1,0-1,2, 1,2-1,3, 1,3-1,4, 1,4-1,5, 1,5-1,6, 1,7-1,8, 1,8-2,0, 2,0-2,2, 2,2-2,4 или 2,4-2,6. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция имеет PDI приблизительно 1,6, приблизительно 1,7, приблизительно 1,8, приблизительно 1,9, приблизительно 2,0, приблизительно 2,1 или приблизительно 2,2.

[00137] В некоторых вариантах осуществления значения MWw, MWn, PDI, содержания мономера (СП1) и/или СП2+ олигосахаридов в олигосахаридной композиции

определяют с использованием метода эксклюзионной хроматографии, описанного в Примере 15.

[00138] В некоторых вариантах осуществления степень полимеризации (СП1-СП7) олигосахаридов в олигосахаридной композиции определяют с использованием метода эксклюзионной хроматографии, описанного в Примере 17.

[00139] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигомеры, имеющие, по меньшей мере, три связанных мономерных звена (СП3+) в диапазоне 80-95 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигомеры, имеющие, по меньшей мере, три связанных мономерных звена (СП3+) в диапазоне 85-90 массовых процентов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит олигомеры, имеющие, по меньшей мере, три связанных мономерных звена (СП3+) в диапазоне 80-85, 85-87, 86-88, 87-90, 88-91, 89-92, 90-93, 91-94 или 92-95 массовых процентов.

[00140] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит от 4,20% до 6,28% мономера (СП1). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит от 4% до 5%, от 5% до 6% или от 6% до 7% мономера (СП1). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит от 6,20% до 8,83% дисахарида (СП2). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит от 6% до 6,5%, от 6,5% до 7%, от 7,5% до 8%, от 8% до 8,5% или от 8,5% до 9% дисахарида (СП2). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит от 84,91% до 89,58% олигомеров, имеющих, по меньшей мере, три связанных мономерных звена (СП3+). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит от 84% до 85%, от 85% до 86%, от 86% до 87%, от 87% до 88% или от 88% до 90% олигомеров, имеющих, по меньшей мере, три связанных мономерных звена (СП3+).

[00141] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит менее 0,10% общих примесей (исключая мономер). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит менее 0,05% общих примесей (исключая мономер). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит менее 0,20%, 0,15%, 0,10% или 0,05% общих примесей (исключая мономер). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит менее 0,10% масс./масс. левоглюкозана, менее 0,10% масс./масс. глюкуроновой кислоты, менее 0,10% масс./масс. молочной кислоты, менее 0,10% масс./масс. муравьиной кислоты, менее 0,10% масс./масс. уксусной кислоты и менее 0,10% масс./масс. гидроксиметилфурфурола (HMF). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит 0,35% масс./масс. левоглюкозана, 0,03% масс./масс. молочной кислоты и/или 0,06% масс./масс. муравьиной кислоты. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит 0,28-0,43% масс./масс. левоглюкозана, 0,00-0,03% масс./масс. молочной кислоты и/или 0,05-0,07% масс./масс. муравьиной кислоты.

[00142] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция

содержит MWw 1753-2395, MWn 981-1214 и/или PDI 1,8-2,0.

[00143] Олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке и полученные в соответствии со способами, описанными в настоящей заявке, могут быть охарактеризованы и отделены от композиций предшествующего уровня техники с использованием анализа перметилирования. См., *например*, Zhao, Y., et al. «Rapid, sensitive structure analysis of oligosaccharides», PNAS March 4, 1997 94 (5) 1629-1633; Kailemia, M.J., et al. «Oligosaccharide analysis by mass spectrometry: A review of recent developments», Anal Chem. 2014 Jan 7; 86(1): 196-212. Соответственно, в другом аспекте в настоящем описании предоставлены олигосахаридные композиции, которые содержат множество олигосахаридов, которые минимально усваиваются человеком, причем множество олигосахаридов содержит мономерные радикалы. Молярные проценты различных типов мономерных радикалов во множестве олигосахаридов могут быть определены количественно с использованием анализа перметилирования, как описано в Примере 13. Анализ перметилирования проводят на демономеризованном образце композиции.

[00144] В некоторых вариантах осуществления множество олигосахаридов включает два или более мономерных радикалов, выбранных из радикалов (1)-(40):

(1) монорадикалы t-маннопиранозы, составляющие 3,0-4,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(2) монорадикалы t-глюкопиранозы, составляющие 11,4-16,3 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(3) монорадикалы t-галактофуранозы, составляющие 1,3-7,8 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(4) монорадикалы t-глюкофуранозы, составляющие 0,1-1,4 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(5) монорадикалы t-галактопиранозы, составляющие 8,3-12,5 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(6) монорадикалы 3-глюкопиранозы, составляющие 3,0-4,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(7) монорадикалы 2-маннопиранозы и/или 3-маннопиранозы, составляющие 1,2-1,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(8) монорадикалы 2-глюкопиранозы, составляющие 2,4-3,2 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(9) монорадикалы 2-галактофуранозы и/или 2-глюкофуранозы, составляющие 0,9-2,3 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(10) монорадикалы 3-галактопиранозы, составляющие 2,9-3,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(11) монорадикалы 4-маннопиранозы, и/или 5-маннофуранозы, и/или 3-галактофуранозы, составляющие 1,7-2,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(12) монорадикалы 6-маннопиранозы, составляющие 2,0-2,9 мол.% мономерных

радикалов во множестве олигосахаридов;

(13) монорадикалы 2-галактопиранозы, составляющие 1,8-2,7 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(14) монорадикалы 6-глюкопиранозы, составляющие 7,6-10,8 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(15) монорадикалы 4-галактопиранозы и/или 5-галактофуранозы, составляющие 2,6-3,8 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(16) монорадикалы 4-глюкопиранозы, и/или 5-глюкофуранозы, и/или 6-маннофуранозы, составляющие 3,0-4,5 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(17) монорадикалы 6-глюкофуранозы, составляющие 0,1-1,6 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(18) монорадикалы 6-галактофуранозы, составляющие 1,4-5,0 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(19) монорадикалы 6-галактопиранозы, составляющие 5,8-9,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(20) бирадикалы 3,4-галактопиранозы, и/или 3,5-галактофуранозы, и/или 2,3-галактопиранозы, составляющие 0,9-1,4 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(21) бирадикалы 3,4-глюкопиранозы и/или 3,5-глюкофуранозы, составляющие 0-1,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(22) бирадикалы 2,4-глюкопиранозы, и/или 2,5-глюкофуранозы, и/или 2,4-галактопиранозы, и/или 2,5-галактофуранозы, составляющие 0,9-1,4 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(23) бирадикалы 4,6-маннопиранозы и/или 5,6-маннофуранозы, составляющие 0,5-0,7 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(24) бирадикалы 3,6-маннофуранозы, составляющие 0-0,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(25) бирадикалы 3,6-глюкопиранозы, составляющие 1,4-2,8 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(26) бирадикалы 3,6-маннопиранозы и/или 2,6-маннофуранозы, составляющие 0,4-0,7 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(27) бирадикалы 2,6-маннопиранозы, составляющие 0,3-0,5 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(28) бирадикалы 3,6-глюкофуранозы, составляющие 0,1-0,4 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(29) бирадикалы 2,6-глюкопиранозы, и/или 4,6-глюкопиранозы, и/или 5,6-глюкофуранозы, составляющие 1,1-3,6 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(30) бирадикалы 3,6-галактофуранозы, составляющие 0,9-1,4 мол.% мономерных

радикалов во множестве олигосахаридов;

(31) бирадикалы 4,6-галактопиранозы и/или 5,6-галактофуранозы, составляющие 2,1-2,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(32) бирадикалы 3,6-галактопиранозы и/или 2,6-галактофуранозы, составляющие 1,6-3,0 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(33) бирадикалы 2,6-галактопиранозы, составляющие 0,7-1,6 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(34) трирадикалы 3,4,6-маннопиранозы, и/или 3,5,6-маннофуранозы, и/или 2,3,6-маннофуранозы, составляющие 0-0,3 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(35) трирадикалы 3,4,6-галактопиранозы, и/или 3,5,6-галактофуранозы, и/или 2,3,6-галактофуранозы, составляющие 0,5-1,1 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(36) трирадикалы 3,4,6-глюкопиранозы и/или 3,5,6-глюкофуранозы, составляющие 0,2-0,5 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(37) трирадикалы 2,3,6-маннопиранозы, и/или 2,4,6-маннопиранозы, и/или 2,5,6-маннофуранозы, составляющие 0-0,5 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(38) трирадикалы 2,4,6-глюкопиранозы и/или 2,5,6-глюкофуранозы, составляющие 0-1,4 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов;

(39) трирадикалы 2,3,6-галактопиранозы, и/или 2,4,6-галактопиранозы, и/или 2,5,6-галактофуранозы, составляющие 0,4-0,9 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов; и

(40) трирадикалы 2,3,6-глюкопиранозы, составляющие 0,1-0,5 мол.% мономерных радикалов во множестве олигосахаридов.

[00145] В некоторых вариантах осуществления приблизительно 8-30% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,2-гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 10,5-25% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,2-гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 9,5-32% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,2-гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 13-27% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,2-гликозидные связи. В некоторых осуществления 5-50%, 5-40%, 5-30%, 5-20%, 5-15%, 10-50%, 10-40%, 10-30%, 10-25%, 15-30% или 15-20% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,2-гликозидные связи.

[00146] В некоторых вариантах осуществления приблизительно 14,5-34% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,3-гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 17-30% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,3-

гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 9,5-27% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,3-гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 12,5-23,5% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,3-гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления 5-50%, 10-40%, 10-30%, 10-20%, 5-15%, 10-50%, 10-40%, 10-30%, 10-25%, 15-30% или 15-20% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,3-гликозидные связи.

[00147] В некоторых вариантах осуществления приблизительно 10-26% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,4-гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 12-22% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,4-гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 10-29,5% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,4-гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 13-25% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,4-гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления 5-50%, 10-40%, 10-30%, 10-20%, 5-15%, 10-50%, 10-40%, 10-30%, 10-25%, 15-30% или 15-20% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,4-гликозидные связи.

[00148] В некоторых вариантах осуществления приблизительно 32-57% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,6-гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 35-52% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,6-гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 23-65% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,6-гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления приблизительно 30-56% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,6-гликозидные связи. В некоторых вариантах осуществления 15-70%, 20-60%, 20-40%, 25-50%, 30-50%, 30-40% или 30-60% общего количества гликозидных связей в олигосахаридной композиции составляют 1,6-гликозидные связи.

[00149] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит 17,5-43% общего количества фуранозы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит 20,5-37% общего количества фуранозы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит 14-60% общего количества фуранозы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит 20,5-50% общего количества фуранозы. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит 10-60%, 10-50%, 15-40%, 20-40%, 20-30% или 30-50% общего количества фуранозы.

[00150] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция содержит, по меньшей мере, один радикал глюкофуранозы или глюкопиранозы, по меньшей мере, один радикал маннофуранозы или маннопиранозы и, по меньшей мере,

один радикал галактофуранозы или галактопиранозы.

[00151] В некоторых вариантах осуществления предоставлена олигосахаридная композиция, содержащая множество олигосахаридов, содержащих мономерные радикалы (1)-(40) в молярных процентах, показанных в Таблице 2.

Таблица 2. Данные перметилирования

Радикалы	**Средний мол.%+3 STD**	**Средний мол.%**	**Средний мол.%-3 STD**
t-маннопираноза	4,10%	3,56%	3,02%
t-глюкопираноза	16,33%	13,89%	11,44%
t-галактофураноза	7,78%	4,52%	1,26%
t-глюкофураноза	1,38%	0,64%	0,00%
t-галактопираноза	12,48%	10,38%	8,29%
3-глюкопираноза	4,88%	3,95%	3,02%
2-маннопираноза и/или 3-маннопираноза	1,94%	1,57%	1,20%
2-глюкопираноза	3,22%	2,83%	2,44%
2-галактофураноза и/или 2-глюкофураноза	2,32%	1,62%	0,93%
3-галактопираноза	3,92%	3,43%	2,94%
4-маннопираноза, и/или 5-маннофураноза, и/или 3-галактофураноза	2,93%	2,34%	1,75%
6-маннопираноза	2,87%	2,44%	2,01%
2-галактопираноза	2,71%	2,28%	1,85%
6-глюкопираноза	10,78%	9,22%	7,66%
4-галактопираноза и/или 5-галактофураноза	3,80%	3,22%	2,65%
4-глюкопираноза, и/или 5-глюкофураноза, и/или 6-маннофураноза	4,25%	3,66%	3,06%
6-глюкофураноза	1,55%	0,81%	0,08%
6-галактофураноза	4,96%	3,19%	1,42%
6-галактопираноза	9,06%	7,44%	5,81%
3,4-галактопираноза, и/или	1,42%	1,16%	0,90%

3,5-галактофураноза, и/или 2,3-галактопираноза			
3,4-глюкопираноза и/или 3,5-глюкофураноза	1,04%	0,43%	0,00%
2,4-глюкопираноза, и/или 2,5-глюкофураноза, и/или 2,4-галактопираноза, и/или 2,5-галактофураноза	1,39%	1,16%	0,92%
4,6-маннопираноза и/или 5,6-маннофураноза	0,69%	0,59%	0,49%
3,6-маннофураноза	0,11%	0,02%	0,00%
3,6-глюкопираноза	2,80%	2,10%	1,40%
3,6-маннопираноза и/или 2,6-маннофураноза	0,67%	0,53%	0,39%
2,6-маннопираноза	0,54%	0,41%	0,28%
3,6-глюкофураноза	0,39%	0,27%	0,16%
2,6-глюкопираноза, и/или 4,6-глюкопираноза, и/или 5,6-глюкофураноза	3,58%	2,33%	1,08%
3,6-галактофураноза	1,37%	1,15%	0,93%
4,6-галактопираноза и/или 5,6-галактофураноза	2,86%	2,48%	2,11%
3,6-галактопираноза и/или 2,6-галактофураноза	2,98%	2,28%	1,58%
2,6-галактопираноза	1,62%	1,15%	0,68%
3,4,6-маннопираноза, и/или 3,5,6-маннофураноза, и/или 2,3,6-маннофураноза	0,30%	0,07%	0,00%
3,4,6-галактопираноза, и/или 3,5,6-галактофураноза, и/или 2,3,6-галактофураноза	1,11%	0,82%	0,53%
3,4,6-глюкопираноза и/или 3,5,6-глюкофураноза	0,47%	0,35%	0,22%
2,3,6-маннопираноза, и/или	0,49%	0,17%	0,00%

2,4,6-маннопираноза, и/или 2,5,6-маннофураноза			
2,4,6-глюкопираноза и/или 2,5,6-глюкофураноза	1,36%	0,56%	0,00%
2,3,6-галактопираноза, и/или 2,4,6-галактопираноза, и/или 2,5,6-галактофураноза	0,91%	0,66%	0,41%
2,3,6-глюкопираноза	0,48%	0,31%	0,13%

[00152] В определенных вариантах осуществления олигосахаридные композиции не содержат мономер. В других вариантах осуществления олигосахаридные композиции содержат мономер.

[00153] Олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке и полученные в соответствии со способами, описанными в настоящей заявке, можно охарактеризовать и отличить от композиций предшествующего уровня техники с использованием двумерного гетероядерного ЯМР. Соответственно, в другом аспекте предоставлены олигосахаридные композиции, которые содержат множество олигосахаридов, которые минимально усваиваются человеком, причем композиции характеризуются гетероядерным одноквантовым корреляционным (HSQC) ЯМР спектром, содержащим сигналы 5, 6, 7 и 15, причем каждый сигнал имеет центральное положение и площадь:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
5	3,96	70,62	9,28-10,71
6	3,92	71,26	1,52-2,03
7	3,55	71,34	3,40-6,13
15	4,44	103,86	1,84-2,44

[00154] В некоторых вариантах осуществления спектр дополнительно включает 1-2 (*например*, один или два) сигнала, выбранных из сигналов 10 и 14 и определяемых следующим образом:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
10	3,33	73,74	10,21-12,09
14	4,5	103,29	5,03-6,41

[00155] В некоторых вариантах осуществления спектр дополнительно включает 1-3

(*например*, один, два или три) сигнала, выбранных из сигналов 11, 12 и 13, и определяется следующим образом:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
11	4,06	77,34	3,68-4,50
12	4,11	81,59	3,10-3,82
13	4,96	98,7	10,65-12,31

[00156] В некоторых вариантах осуществления спектр включает 1-3 (*например*, один, два или три) сигнала, выбранных из сигналов 11, 12 и 13, и определяется следующим образом:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	20,38-25,74
2	3,75	66,06	3,69-6,38
3	3,97	66,15	2,21-3,40
4	3,96	69,28	1,46-3,71
5	3,96	70,62	9,28-10,71
6	3,92	71,26	1,52-2,03
7	3,55	71,34	3,40-6,13
8	3,97	71,56	3,40-4,41
9	3,72	72,35	5,66-10,14
10	3,33	73,74	10,21-12,09
11	4,06	77,34	3,68-4,50
12	4,11	81,59	3,10-3,82
13	4,96	98,7	10,65-12,31
14	4,5	103,29	5,03-6,41
15	4,44	103,86	1,84-2,44

[00157] В некоторых вариантах осуществления спектр включает 1-15 (*например*, один, два или три) сигналов, выбранных из сигналов 1-15, и определяется следующим образом:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)	Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)

	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	18,59-27,53
2	3,75	66,06	2,79-7,27
3	3,97	66,15	1,82-3,8
4	3,96	69,28	0,71-4,47
5	3,96	70,62	8,81-11,19
6	3,92	71,26	1,35-2,2
7	3,55	71,34	2,48-7,04
8	3,97	71,56	3,06-4,74
9	3,72	72,35	4,16-11,64
10	3,33	73,74	9,58-12,72
11	4,06	77,34	3,4-4,78
12	4,11	81,59	2,86-4,06
13	4,96	98,7	10,09-12,87
14	4,5	103,29	4,57-6,87
15	4,44	103,86	1,64-2,64

[00158] В некоторых вариантах осуществления спектр включает 1-15 (*например*, один, два или три) сигналов, выбранных из сигналов 1-15, и определяется следующим образом:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	20,18-27,11
2	3,75	66,06	3,31-6,1
3	3,97	66,15	2,37-3,69
4	3,96	69,28	0,42-4,72
5	3,96	70,62	8,43-11,69
6	3,92	71,26	1,09-3,1
7	3,55	71,34	4,01-6,37
8	3,97	71,56	2,77-4,29
9	3,72	72,35	6,28-9,25
10	3,33	73,74	10,48-12
11	4,06	77,34	3,04-4,22

12	4,11	81,59	2,63-3,57
13	4,96	98,7	9,9-13,39
14	4,5	103,29	4,45-6,7
15	4,44	103,86	1,6-2,63

[00159] В некоторых вариантах осуществления спектр включает 1-15 (*например*, один, два или три) сигналов, выбранных из сигналов 1-15, и определяется следующим образом:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	21,57-25,73
2	3,75	66,06	3,87-5,54
3	3,97	66,15	2,63-3,43
4	3,96	69,28	1,28-3,86
5	3,96	70,62	9,08-11,04
6	3,92	71,26	1,49-2,70
7	3,55	71,34	4,48-5,90
8	3,97	71,56	3,07-3,99
9	3,72	72,35	6,87-8,66
10	3,33	73,74	10,79-11,70
11	4,06	77,34	3,28-3,99
12	4,11	81,59	2,82-3,39
13	4,96	98,7	10,60-12,69
14	4,5	103,29	4,90-6,25
15	4,44	103,86	1,81-2,42

[00160] В некоторых вариантах осуществления каждый из сигналов 5, 6, 7, 15, 10, 14, 11, 12 и 13 дополнительно характеризуется ^{1}H интегральной областью и ^{13}C интегральной областью, определяемой следующим образом:

Сигнал	^{1}H Положение (м.д.)			^{13}C Положение (м.д.)		
	Центральное положение	^{1}H Интегральная область		Центральное положение	^{13}C Интегральная область	
		от	до		от	до
5	3,96	3,9	4,03	70,62	70,20	71,05
6	3,92	3,9	3,94	71,26	71,02	71,50

7	3,55	3,51	3,59	71,34	71,06	71,62
15	4,44	4,41	4,46	103,86	103,56	104,15
10	3,33	3,27	3,4	73,74	73,26	74,22
14	4,5	4,47	4,54	103,29	102,87	103,70
11	4,06	4,04	4,09	77,34	76,89	77,78
12	4,11	4,08	4,14	81,59	81,16	82,01
13	4,96	4,92	5,01	98,7	98,02	99,39

[00161] В некоторых вариантах осуществления каждый из сигналов 1-15 характеризуется ^{1}H интегральной областью и ^{13}C интегральной областью, определяемой следующим образом:

Сигнал	^{1}H Положение (м.д.)			^{13}C Положение (м.д.)		
	Центральное положение	^{1}H Интегральная область		Центральное положение	^{13}C Интегральная область	
		от	до		от	до
1	3,68	3,61	3,75	63,42	62,64	64,20
2	3,75	3,72	3,78	66,06	65,50	66,62
3	3,97	3,94	4,00	66,15	65,81	66,49
4	3,96	3,94	3,98	69,28	69,04	69,52
5	3,96	3,9	4,03	70,62	70,20	71,05
6	3,92	3,9	3,94	71,26	71,02	71,50
7	3,55	3,51	3,59	71,34	71,06	71,62
8	3,97	3,94	4,00	71,56	71,29	71,84
9	3,72	3,67	3,77	72,35	71,95	72,74
15	4,44	4,41	4,46	103,86	103,56	104,15
10	3,33	3,27	3,4	73,74	73,26	74,22
14	4,5	4,47	4,54	103,29	102,87	103,70
11	4,06	4,04	4,09	77,34	76,89	77,78
12	4,11	4,08	4,14	81,59	81,16	82,01
13	4,96	4,92	5,01	98,7	98,02	99,39

[00162] В определенных вариантах осуществления ЯМР спектр получают, подвергая образец композиции HSQC ЯМР, в котором образец представляет собой раствор в дейтерированном растворителе. Подходящие дейтерированные растворители включают дейтерированный ацетонитрил, дейтерированный ацетон, дейтерированный метанол, D_2O и их смеси. В определенном варианте осуществления дейтерированный

растворитель представляет собой D_2O. В определенных вариантах осуществления ЯМР спектр получают с использованием условий, описанных в Примере 14.

[00163] Типичные олигосахаридные композиции могут быть получены в соответствии с методиками, описанными в настоящей заявке.

III. Способы применения

[00164] В настоящей заявке описано, что олигосахаридные композиции можно использовать для снижения уровней патогенов (*например*, CRE или VRE) и/или колонизации патогенов у объектов с повышенными уровнями патогенов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции можно использовать для увеличения уровней комменсальных бактерий у объектов.

[00165] В некоторых вариантах осуществления выбранная олигосахаридная композиция является пригодной для контроля (*например*, снижения) уровней патогенов. В некоторых вариантах осуществления выбранная олигосахаридная композиция является пригодной для контроля (*например*, снижения) уровней патогенов по сравнению с комменсалами (*например*, непатогенными комменсалами). В некоторых вариантах осуществления выбранная олигосахаридная композиция является пригодной для контроля (*например*, снижения) абсолютных уровней патогенов у объекта.

[00166] В некоторых вариантах осуществления комменсальные бактерии относятся к бактериям, обычно связанным со здоровым состоянием микробиома в конкретной нише, *например*, желудочно-кишечном тракте (*например*, кишечнике), и/или обычно считаются непатогенными.

[00167] В некоторых вариантах осуществления выбранная олигосахаридная композиция является пригодной для контроля (*например*, снижения) уровней патобионтов. В некоторых вариантах осуществления выбранная олигосахаридная композиция является пригодной для контроля (*например*, снижения) уровней патобионтов по сравнению с комменсалами (*например*, непатогенными комменсалами). В некоторых вариантах осуществления выбранная олигосахаридная композиция является пригодной для контроля (*например*, снижения) абсолютных уровней патобионтов у объекта. В некоторых вариантах осуществления патобионты включают бактерии (и грибы), которые потенциально являются патологическими (вызывающими заболевание), хотя при нормальных обстоятельствах непатологически сосуществуют с объектом, *например*, в качестве не причиняющего вреда симбионта. В некоторых вариантах осуществления дисбактериоз приводит к тому, что непатологическая бактерия становится патологической. В некоторых вариантах осуществления патобионты представляют собой, как описано в Hornef, M. «Pathogens, Commensal Symbionts, and Pathobionts: Discovery and Functional Effects on the Host», ILAR Journal, Volume 56, Issue 2, 2015, Pages 159-162.

[00168] В некоторых вариантах осуществления выбранная олигосахаридная композиция является пригодной для контроля относительных уровней патогенов и комменсалов. В некоторых вариантах осуществления выбранная олигосахаридная композиция является пригодной для контроля относительных уровней патобионтов и

комменсалов. В некоторых вариантах осуществления выбранная олигосахаридная композиция является пригодной для контроля относительных уровней патогенных комменсалов и непатогенных комменсалов.

[00169] В настоящей заявке описано, что олигосахаридные композиции можно использовать для воздействия на структуру (*например*, композицию) и/или функцию (*например*, метаболическую активность) микробиоты кишечника. В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции оказывают благоприятное воздействие на здоровье объекта. Объекты, которым могут быть полезны способы и применения, описанные в настоящей заявке (*например*, применение олигосахаридных композиций для лечения объектов (*например*, лечения инфекций) и применение олигосахаридных композиций для сокращения количества патогенов или патобионтов), включают объектов с ослабленным иммунитетом или с иммунной недостаточностью. Объекты, которым могут быть полезны способы и применения, описанные в настоящей заявке, включают объектов, подвергающихся методам трансплантации, *например*, трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), или трансплантации солидных органов, или другим медицинским методам, *например*, хирургическим вмешательствам, *например*, в желудочно-кишечном тракте. Объекты, которым могут быть полезны способы и применения, описанные в настоящей заявке, включают других объектов с ослабленным иммунитетом, *например*, объектов с гематологическими злокачественными новообразованиями или циррозом (*например*, циррозом печени). Объекты, которым могут быть полезны способы и применения, описанные в настоящей заявке, включают объектов, госпитализированных в отделения реанимации и интенсивной терапии.

[00170] В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, снижают количество (*например*, относительное количество или абсолютное количество) патогенов или патобионтов (*например*, в желудочно-кишечном тракте), *например*, по сравнению с исходным уровнем (*например*, (популяция) объекта(ов) без лечения или объект до лечения). В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, способствуют росту комменсальных бактерий по сравнению с ростом патогенов или патобионтов (*например*, в желудочно-кишечном тракте, *например*, в кишечнике, *например*, в толстом кишечнике или толстой кишке). В некоторых вариантах осуществления объекты достигают деколонизации МЛР-патогенов (*например*, ванкомицин-резистентных Enterococcus (VRE), Enterobacteriaceae, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), и карбапенем-резистентных Enterobacteriaceae (CRE), *например*, уровни этих бактерий близки к или ниже обнаруживаемых уровней. Сокращение количества (*например*, относительного количества или абсолютного количества) патогена или патобионта может быть определено, *например*, путем подвергания образца (*например*, образца кала) объекта секвенированию нуклеиновых кислот, (*например*, секвенированию всего генома) и других анализов (*например*,

количество колониеобразующих единиц (КОЕ)/г кала в культуре). В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, способствуют увеличению альфа-разнообразия (*например*, увеличению разнообразия бактериальных таксонов, *например*, как определено путем измерения разнообразия Шеннона, *например*, путем секвенирования нуклеиновых кислот). В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, способствуют многообразию бактериального сообщества. В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, снижают воспаление, *например*, воспаление, связанное с патогенами, или патобионтами, или другими бактериями. Снижение может быть определено путем измерения одного или более маркеров воспаления, *например*, ИФН-γ, ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12p70, ИЛ-13 и ФНО-α. Маркеры могут быть определены, *например*, по образцам кала или крови. В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, лечат инфекции, *например*, бактериальные инфекции или грибковые инфекции. В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, сокращают инфекции (*например*, частоту возникновения инфекций), включая вторичные или условно-патогенные инфекции (*например*, внутрибольничные инфекции (ВБИ)), включая, *например*, катетер-ассоциированные инфекции кровотока (КАИК), катетер-ассоциированную инфекцию мочевыводящих путей (КАИМП) и инфекции, вызванные C. difficile (CDI)). В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, снижают частоту госпитализаций, *например*, вследствие или вызванных инфекциями. В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, сокращают период времени, необходимый для госпитализации, *например*, для лечения или устранения инфекций.

[00171] В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, вводят объекту, имеющему высокую вероятность развития инфекции, *например*, для предотвращения инфекции или замедления прогрессирования инфекции. В некоторых вариантах осуществления лечение выбранными олигосахаридными композициями, описанными в настоящей заявке, предоставляется до тех пор, пока у объекта не исчезнет инфекция, или пока объект не подвергнется низкому риску заражения инфекцией или не подвергнется низкому риску повторного инфицирования.

[00172] В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, вводят объекту, имеющему высокую вероятность развития отторжения трансплантата, *например*, болезни трансплантат против хозяина (GvHD), *например*, для предотвращения отторжения или замедления прогрессирования отторжения, *например*, во время после того, как трансплантат получен объектом. В некоторых вариантах осуществления лечение выбранными

олигосахаридными композициями, описанными в настоящей заявке, предоставляется до тех пор, пока у объекта не исчезнет реакция отторжения трансплантата или пока объект не подвергнется низкому риску отторжения трансплантата.

[00173] В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, могут быть предоставлены стандартным лечением (*например*, введением антибиотиков). В некоторых вариантах осуществления выбранные олигосахаридные композиции, описанные в настоящей заявке, могут быть предоставлены без стандартного лечения (*например*, введения антибиотиков).

[00174] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция, описанная в настоящей заявке, может быть использована для оказания помощи (*например*, для лечения) пациентов, имеющих обнаруживаемые комменсальные бактерии в кишечнике, *например*, пациентов с кишечной микробиотой, которые не лишены обнаруживаемых комменсальных бактерий. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию, описанную в настоящей заявке, вводят пациенту с низкими уровнями комменсальных бактерий, *например*, пациенту с кишечной микробиотой, которая не лишена комменсальных бактерий, или пациенту с кишечной микробиотой, которая не была полностью истощена (*например*, возникшей в результате применения антибиотиков или химиотерапии), *например*, в лечебных целях.

[00175] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция составлена в виде порошка, *например*, для разведения (*например*, в воде) для перорального введения. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция составлена в виде фармацевтической композиции для доставки через зонд для питания. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция составлена в виде фармацевтической композиции для доставки путем полного парентерального питания (ППП).

[00176] Олигосахаридная композиция может вводиться объекту ежедневно, еженедельно, раз в две недели или ежемесячно. В некоторых вариантах осуществления композицию вводят объекту более одного раза в день (*например*, 2, 3 или 4 раза в день). В некоторых вариантах осуществления композицию вводят объекту один или два раза в день в течение одной, двух, трех или четырех недель подряд.

[00177] В некоторых вариантах осуществления композицию вводят объекту в соответствии со следующей схемой: 18 граммов в общем количестве в каждый из дней 1 и 2 протокола лечения; 36 граммов в общем количестве в каждый из дней 3 и 4 протокола лечения и 72 грамма в общем количестве в каждый из 5-14 дней протокола лечения.

[00178] В некоторых вариантах осуществления композицию вводят объекту в соответствии со следующей схемой: 18 граммов в общем количестве в каждый из 1-7 дней протокола лечения; 36 граммов в общем количестве в каждый из 8-14 дней протокола лечения; 54 грамма в общем количестве в каждый из 15-21 дней протокола лечения и 72 грамма в общем количестве в каждый из 22-28 дней протокола лечения.

[00179] В некоторых вариантах осуществления эффективное количество

олигосахарида составляет в общем количестве 5-200 граммов, 5-150 граммов, 5-100 граммов, 5-75 граммов, 5-50 граммов, 5-25 граммов, 10-50 граммов, 25-50 граммов, 30-60 граммов, 50-75 граммов, 50-100 граммов, 18-72 граммов или 36-72 граммов, вводимых ежедневно.

[00180] Олигосахаридная композиция раскрытия хорошо переносится объектом (*например*, олигосахаридные композиции не вызывают или вызывают минимальный дискомфорт, *например*, газообразование или ощущение дискомфорта в желудочно-кишечном тракте, у объектов). В некоторых вариантах осуществления 5-200 граммов, 5-150 граммов, 5-100 граммов, 5-75 граммов, 5-50 граммов, 5-25 граммов, 10-50 граммов, 25-50 граммов, 30-60 граммов, 50-75 граммов, 50-100 граммов, 18-72 граммов или 36-72 граммов общей суточной дозы хорошо переносится объектом. Количество олигосахаридной композиции, которое вводится объекту за раз или в разовой дозе, хорошо переносится объектом.

[00181] В некоторых вариантах осуществления количество олигосахаридной композиции, которое вводится объекту за раз или в разовой дозе, более переносится объектом, чем аналогичное количество коммерческих слабоусвояемых сахаров, таких как фруктоолигосахариды (ФОС). Коммерческие слабоусвояемые сахара, как известно в данной области техники, плохо переносятся объектами (см., *например*, Grabitske, H.A., Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 49:327-360 (2009)), *например*, при высоких дозах. Например, исследования переносимости ФОС показывают, что 20 граммов ФОС в день вызывают легкие желудочно-кишечные симптомы, и 30 граммов ФОС в день вызывают сильный дискомфорт и желудочно-кишечные симптомы.

[00182] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции, предоставленные в настоящей заявке, эффективно сокращают колонизацию, предотвращают колонизацию или снижают риск неблагоприятного воздействия патогена или патобионта на объект. В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ деколонизации желудочно-кишечного тракта (*например*, всего желудочно-кишечного тракта или части желудочно-кишечного тракта, *например*, тонкой или толстой кишки) от патогена, патобионта или носителя гена резистентности к антибиотикам. В некоторых вариантах осуществления способ включает перемещение микробного сообщества в желудочно-кишечном тракте в сторону комменсальной популяции, *например*, таким образом заменяя (*например*, вытесняя) патоген или носитель гена резистентности к антибиотикам.

[00183] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции, предоставленные в настоящем описании, вводят объекту, чтобы уменьшить распространение патогена среди других объектов без лечения. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве и/или достаточном количестве объектов, чтобы уменьшить распространение патогена, *например*, от первого объекта ко второму объекту. Такое снижение можно измерить любым из способов, описанных в настоящей заявке, или любым другим потенциальным

способом.

[00184] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ сокращения объема патогена или патобионта у объекта путем введения объекту олигосахаридной композиции, *например*, в эффективном количестве и/или достаточном количестве объектов, который сокращает объем патогена или патобионта. В некоторых вариантах осуществления объем патогена или патобионта сокращается приблизительно на 1%, приблизительно на 2%, приблизительно на 3%, приблизительно на 4%, приблизительно на 5%, приблизительно на 10%, приблизительно на 15%, приблизительно на 20%, приблизительно на 30%, приблизительно на 35%, приблизительно на 40%, приблизительно на 45%, приблизительно на 50%, приблизительно на 55%, приблизительно на 60%, приблизительно на 65%, приблизительно на 70%, приблизительно на 75%, приблизительно на 80%, приблизительно на 85%, приблизительно на 90%, приблизительно на 95%, приблизительно на 99% или приблизительно на 100%, *например*, относительно стандартного образца. В некоторых вариантах осуществления объем патогена или патобионта может составлять приблизительно 5%, приблизительно 10%, приблизительно 15%, приблизительно 20%, приблизительно 30%, приблизительно 35%, приблизительно 40%, приблизительно 45%, приблизительно 50%, приблизительно 55%, приблизительно 60%, приблизительно 65%, приблизительно 70%, приблизительно 75%, приблизительно 80% или приблизительно 85% общего бактериального объема объекта (*например*, приблизительно 5%, приблизительно 10%, приблизительно 15%, приблизительно 20%, приблизительно 30%, приблизительно 35%, приблизительно 40%, приблизительно 45%, приблизительно 50%, приблизительно 55%, приблизительно 60%, приблизительно 65%, приблизительно 70%, приблизительно 75%, приблизительно 80% или приблизительно 85% общей популяции бактерий в кишечнике или толстой кишке объекта). В некоторых вариантах осуществления объем патогена или патобионта включает биомассу патогена или патобионта. В некоторых вариантах осуществления бактериальный объем включает общую бактериальную биомассу.

[00185] В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в настоящей заявке, включают введение олигосахаридной композиции объекту в эффективном количестве для сокращения общего объема патогена или патобионта от приблизительно 80% до приблизительно 5% общего бактериального объема, от приблизительно 80% до приблизительно 10% общего бактериального объема, от приблизительно 80% до приблизительно 20% общего бактериального объема, от приблизительно 80% до приблизительно 30% общего бактериального объема, от приблизительно 80% до приблизительно 40% общего бактериального объема или от приблизительно 80% до приблизительно 50% общего бактериального объема. В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в настоящей заявке, включают введение объекту олигосахаридной композиции в эффективном количестве для сокращения общего объема патогена или патобионта от приблизительно 50-80% до приблизительно 5% общего

бактериального объема, от приблизительно 50-80% до приблизительно 10% общего бактериального объема, от приблизительно 50-80% до приблизительно 20% общего бактериального объема, от приблизительно 50-80% до приблизительно 30% общего бактериального объема или от приблизительно 50-80% до приблизительно 40% общего бактериального объема.

[00186] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ модуляции биомассы патогена или патобионта или носителя гена резистентности к антибиотикам. В некоторых вариантах осуществления модуляция включает увеличение или уменьшение, *например*, биомассы патогена или патобионта или носителя гена резистентности к антибиотикам. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве и/или достаточному количеству объектов, чтобы уменьшить объем или биомассу патогена или патобионта. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве, что биомасса патогена или патобионта модулируется, *например*, уменьшается (*например*, модулируется количество патогенов или патобионтов и/или количество носителей гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента). В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ модуляции количества патогенов или патобионтов или носителей гена резистентности к антибиотикам (*например*, в популяции, *например*, микробной популяции).

[00187] Примеры патогенов включают Enterobacteriaciae (*например,* семейство, содержащее Plesiomonas, Shigella или Salmonella), Clostridium (*например,* род, содержащий Clostridium difficile), Enterococcus, Staphylococcus (*например,* род, содержащий Staphylococcus aureus), Campylobacter, Vibrio, Aeromonas, норовирус, астровирус, аденовирус, саповирус или ротавирус.

[00188] В некоторых вариантах осуществления патоген представляет собой карбапенем-резистентные Enterobacteriaceae (CRE). В некоторых вариантах осуществления патоген представляет собой ванкомицин-резистентные Enterococci (VRE). В некоторых вариантах осуществления патоген представляет собой организм, продуцирующий бета-лактамазу расширенного спектра (БЛРС).

[00189] В некоторых вариантах осуществления патоген включает Enterobacteriaciae (*например*, семейство, включающее Plesiomonas, Shigella или Salmonella). В некоторых вариантах осуществления патоген включает Clostridium (*например*, род, включающий Clostridium difficile). В некоторых вариантах осуществления патоген включает Enterococcus. В некоторых вариантах осуществления патоген включает Staphylococcus.

[00190] В некоторых вариантах осуществления способ включает уменьшение распространения патогена путем введения объекту олигосахаридной композиции, *например*, в эффективном количестве и/или достаточному количеству объектов, чтобы уменьшить распространение патогена. В некоторых вариантах осуществления распространение патогена снижается приблизительно на 1%, приблизительно на 2%,

приблизительно на 3%, приблизительно на 4%, приблизительно на 5%, приблизительно на 10%, приблизительно на 15%, приблизительно на 20%, приблизительно на 30%, приблизительно на 35%, приблизительно на 40%, приблизительно на 45%, приблизительно на 50%, приблизительно на 55%, приблизительно на 60%, приблизительно на 65%, приблизительно на 70%, приблизительно на 75%, приблизительно на 80%, приблизительно на 85%, приблизительно на 90%, приблизительно на 95%, приблизительно на 99% или приблизительно на 100%, *например*, относительно стандартного образца. В некоторых вариантах осуществления распространение патогена включает распространение от первого объекта ко второму объекту. В некоторых вариантах осуществления распространение патогена включает распространение от первого объекта или второго объекта к объекту, который может содержать патоген (*например*, другому индивидууму или неодушевленному предмету, *например*, поверхности сооружения (*например*, раковине, дверной ручке, туалету, крану) или медицинским принадлежностям (*например*, упаковке, содержащей повязку или устройство, или самой повязке или устройству). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве и/или достаточному количеству объектов, чтобы уменьшить распространение распространение гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента, *например*, от первого объекта ко второму объекту. Данное снижение может быть измерено любым из способов, описанных в настоящей заявке.

[00191] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ сокращения объема гена резистентности к лекарственным средствам (*например*, объема гена резистентности к антибиотикам или объема МЛР-гена) у объекта путем введения объекту олигосахаридной композиции, *например*, в эффективном количестве и/или достаточному количеству объектов, у которых снижен объем гена резистентности к лекарственным средствам (*например*, объем гена резистентности к антибиотикам или объем МЛР-гена). В некоторых вариантах осуществления объем гена резистентности к лекарственным средствам (*например*, объем гена резистентности к антибиотикам или объем МЛР-гена) сокращается приблизительно на 1%, приблизительно на 2%, приблизительно на 3%, приблизительно на 4%, приблизительно на 5%, приблизительно на 10%, приблизительно на 15%, приблизительно на 20%, приблизительно на 30%, приблизительно на 35%, приблизительно на 40%, приблизительно на 45%, приблизительно на 50%, приблизительно на 55%, приблизительно на 60%, приблизительно на 65%, приблизительно на 70%, приблизительно на 75%, приблизительно на 80%, приблизительно на 85%, приблизительно на 90%, приблизительно на 95%, приблизительно на 99% или приблизительно на 100%, *например*, относительно стандартного образца. Типичные гены резистентности к антибиотикам включают гены резистентности к пенициллинам, MecA (придающие резистентность к метициллину, пенициллину и другим пенициллин-подобным антибиотикам) и другие гены, которые кодируют белок PBP2A (пенициллин-связывающий белок 2A), гены резистентности к

карбапенемазам (*например*, карбапенемазе Klebsiella pneumonia (KPC)), гены резистентности к бета-лактамазам (*например*, бета-лактамазе Нью-Дели (NDM), OXA, SHV, TIM, CTX-M, VIM), гены резистентности к ванкомицину (*например*, гены резистентности к ванкомицину VanA, VanB в Enterococcus), AmpC (гены резистентности к карбапенему и бета-лактамам в Enterobacteriaceae), гены резистентности к фторхинолону (*например*, Qnr), гены резистентности к триметоприму (*например*, дигидрофолатредуктазе), гены резистентности к сульфаметоксазолу (*например*, дигидроптероатсинтетазе), гены резистентности к ципрофлоксацину и гены резистентности к аминогликозиду (*например*, рибосомной метилтрансферазе). Сокращение объема гена резистентности к лекарственным средствам (*например*, объема гена резистентности к антибиотикам или объема МЛР-гена) можно оценить с использованием любого способа, описанного в настоящей заявке, *например*, способа, описанного для оценки объема патогена.

[00192] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ сокращения распространения гена резистентности к лекарственным средствам (*например*, гена резистентности к антибиотикам или МЛР-гена), включающий введение объекту олигосахаридной композиции, *например*, в эффективном количестве и/или достаточному количеству объектов, чтобы уменьшить распространение гена резистентности к лекарственным средствам (*например*, гена резистентности к антибиотикам или МЛР-гена). В некоторых вариантах осуществления распространение гена резистентности к антибиотикам снижается приблизительно на 1%, приблизительно на 2%, приблизительно на 3%, приблизительно на 4%, приблизительно на 5%, приблизительно на 10%, приблизительно на 15%, приблизительно на 20%, приблизительно на 30%, приблизительно на 35%, приблизительно на 40%, приблизительно на 45%, приблизительно на 50%, приблизительно на 55%, приблизительно на 60%, приблизительно на 65%, приблизительно на 70%, приблизительно на 75%, приблизительно на 80%, приблизительно на 85%, приблизительно на 90%, приблизительно на 95%, приблизительно на 99% или приблизительно на 100%, *например*, относительно стандартного образца. В некоторых вариантах осуществления распространение гена резистентности к лекарственным средствам (*например*, гена резистентности к антибиотикам или МЛР-гена) включает распространение от первого объекта (*например*, первого объекта) ко второму объекту (*например*, второму объекту). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве и/или достаточному количеству объекта(ов), так что снижается скорость, с которой ген резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемент передается от первого патогена ко второму патогену. Данная передача может быть измерена путем демонстрации присутствия подобного гена или токсина, идентифицированного любым из способов, описанных в настоящей заявке, присутствующего во втором патогене, отличном от первого патогена. Данное различие может проводиться при уровне идентификации организма (*например*, продукции

метаболитов, видовой принадлежности или восприимчивости к антибиотикам) или с помощью молекулярных методов, чтобы показать другие различия, такие как любые из описанных в настоящей заявке.

[00193] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ снижения скорости, с которой патоген вызывает инфекцию или колонизацию (*например*, у объекта), путем введения олигосахаридной композиции объекту, *например*, в эффективном количестве и/или достаточному количеству объектов, чтобы снизить скорость инфицирования. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве и/или достаточному количеству объекта(ов), так что снижается скорость, с которой патоген вызывает инфекцию, или степень тяжести патогенной инфекции, на что указывает оценка ассоциированных симптомов при инфицировании. В некоторых вариантах осуществления скорость инфицирования снижается приблизительно на 1%, приблизительно на 2%, приблизительно на 3%, приблизительно на 4%, приблизительно на 5%, приблизительно на 10%, приблизительно на 15%, приблизительно на 20%, приблизительно на 30%, приблизительно на 35%, приблизительно на 40%, приблизительно на 45%, приблизительно на 50%, приблизительно на 55%, приблизительно на 60%, приблизительно на 65%, приблизительно на 70%, приблизительно на 75%, приблизительно на 80%, приблизительно на 85%, приблизительно на 90%, приблизительно на 95%, приблизительно на 99% или приблизительно на 100%, *например*, относительно стандартного образца.

[00194] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции, предоставленные в настоящем описаниии, эффективно предотвращают начало возникновения патогенной инфекции (*например*, у пациентов с ослабленным иммунитетом (*например*, ТГСК) или у пациентов ОРИТ). Например, олигосахаридные композиции могут быть предоставлены до, во время или после определенной медицинской процедуры или медицинского явления, чтобы предотвратить начало возникновения патогенной инфекции. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции, предоставленные в настоящем описании, эффективно предотвращают начало возникновения патогенной инфекции, по меньшей мере, у 1 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 5 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 10 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 20 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 30 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 40 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 50 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 60 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 70 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 80 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 90 из каждых 100 объектов или, по меньшей мере, у 95 из каждых 100 объектов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции, предоставленные в настоящем описании, эффективно предотвращают начало возникновения патогенной инфекции у 10-100%, 10-20%, 15-25%, 20-50%, 40-60%, 50-75%, 60-80%, 75-90%, 80-100% или 90-100% объектов.

[00195] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции, предоставленные в настоящем описании, эффективно минимизируют или предотвращают прогрессирование инфекции (*например*, прогрессирование от легких или умеренных симптомов до тяжелых симптомов). Например, олигосахаридные композиции могут быть предоставлены до, во время или после начала возникновения инфекции, чтобы предотвратить прогрессирование инфекции. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции, предоставленные в настоящем описании, эффективно минимизируют или предотвращают прогрессирование инфекции, по меньшей мере, у 1 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 5 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 10 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 20 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 30 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 40 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 50 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 60 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 70 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 80 из каждых 100 объектов, по меньшей мере, у 90 из каждых 100 объектов или, по меньшей мере, у 95 из каждых 100 объектов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции, предоставленные в настоящем описании, эффективно минимизируют или предотвращают прогрессирование инфекции у 10-100%, 10-20%, 15-25%, 20-50%, 40-60%, 50-75%, 60-80%, 75-90%, 80-100% или 90-100% объектов.

[00196] Снижение скорости инфицирования или колонизации с использованием способа, описанного в настоящей заявке, может быть проспективным или ретроспективным, *например*, в отношении инфекции. В некоторых вариантах осуществления способ, описанный в настоящей заявке, включает мониторинг объекта или популяции объектов в отношении подобной инфекции, *например*, посредством наблюдения подобных симптомов или подобных признаков с теми, которые, как известно, вызваны или идентифицированы представляющим интерес патогеном. Вместо или в дополнение к использованию клинических характеристик любой из способов, описанных в настоящей заявке, может быть использован для более точного определения типа вовлеченного патогена и его взаимосвязи - если таковая имеется - с распространением или объемом.

[00197] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ модуляции желудочно-кишечного тракта (*например*, всего желудочно-кишечного тракта или его части, *например*, тонкого кишечника, толстого кишечника, толстой кишки и подобного) объекта. В некоторых вариантах осуществления способ включает модуляцию среды (*например*, химической или физической среды) желудочно-кишечного тракта объекта, чтобы сделать желудочно-кишечный тракт (и микробное сообщество в нем) менее селективным или менее восприимчивым к патогену или носителю гена резистентности к антибиотикам. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение второго агента в комбинации с олигосахаридной композицией, *например*, активированного угля или фермента, инактивирующего антибиотики (*например*, бета-лактамазы), или синбиотика (*например*, сконструированной бета-лактамазы (*например*,

неинфекционной бета-лактамазы).

[00198] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ сокращения передачи гена резистентности к лекарственным средствам (*например*, гена резистентности к антибиотикам или МЛР-гена) от одного организма (*например*, бактериальных таксонов, *например*, таксонов, содержащих ген резистентности к антибиотикам или МЛР-ген) в другой организм (*например*, таксоны, которые не содержат ген резистентности к антибиотикам или МЛР-ген) путем введения олигосахаридной композиции объекту, *например*, в эффективном количестве и/или достаточному количеству объектов, так что сокращается передача гена резистентности к лекарственным средствам (*например*, гена резистентности к антибиотикам или МЛР-гена). В некоторых вариантах осуществления способ включает сокращение передачи гена резистентности к лекарственным средствам (*например*, гена резистентности к антибиотикам или МЛР-гена) в организм с повышенным патогенным потенциалом. В некоторых вариантах осуществления способ включает сокращение количества бактерий-реципиентов (*например*, комменсальных бактериальных штаммов), способных захватывать ген резистентности к антибиотикам, у объекта. В некоторых вариантах осуществления способ включает снижение вероятности распространения патогена или носителя гена резистентности к антибиотикам или передачи гена резистентности к антибиотикам. В некоторых вариантах осуществления способ включает снижение способности патогена или носителя гена резистентности к антибиотикам достигать состояния компетентности. Под компетентностью понимается способность бактерий поглощать гены (*например*, гены резистентности к антибиотикам) из окружающей среды (von Wintersdorff et al. Front. Microbiol. (2016); 7: 173). В некоторых вариантах осуществления способ включает сокращение обмена генного материала (*например*, основанного на конъюгации) в патогене или носителе гена резистентности к антибиотикам. В некоторых вариантах осуществления способ включает снижение уровня свободной нуклеиновой кислоты (*например*, микробной ДНК, *например*, содержащей генную кассету резистентности к антибиотикам) в патогене или носителе гена резистентности к антибиотикам, *например*, после того, как патоген или носитель гена резистентности к антибиотикам достигает компетентности. В некоторых вариантах осуществления способ включает увеличение микробного метаболизма нуклеиновой кислоты (*например*, микробной ДНК, *например*, содержащей генную кассету резистентности к антибиотикам). В некоторых вариантах осуществления способ включает использование молекулы, связывающей нуклеиновую кислоту, в качестве поглотителя, *например*, для связывания с нуклеиновой кислотой, полученной из патогена или полученной из носителя гена резистентности к антибиотикам.

[00199] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ сокращения инфекционности патогенов, определяемый по частоте возникновения количества патогенов в популяции. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве для сокращения количества патогенных клеток, которые могут передавать ген резистентности к лекарственным средствам или

антибиотикам или МЛР-элемент в другой организм. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве для уменьшения количества организмов (*например*, бактерий), которые могут получить ген резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемент. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве для снижения способности патогенной клетки переходить в состояние, в котором она может передать ген резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемент другому организму. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве для снижения способности патогенной клетки переходить в состояние, в котором она может получать ген резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемент от другого организма.

[00200] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ сокращения присутствия гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента в микробе (*например*, патогене, *например*, бактериальном патогене) или микробной популяции. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве для сокращения количества копий гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента в микробе (*например*, бактериальном патогене, на клеточной основе) или сокращения общего количества в микробной популяции. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве для увеличения популяции кишечного микроба, который не является (потенциальным) организмом-хозяином для гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве для снижения компетентности патогена, *например*, Streptococcus, поглощать ген резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемент. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве для снижения способности бактериальной клетки (*например*, патогена), *например*, грамотрицательного организма, *например*, E. coli или Klebsiella, поглощать ген резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемент.

[00201] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве для сдвига микробного сообщества объекта с целью вытеснения или ингибирования патогена, организму, который может передать ген резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемент (микробы-доноры), или организму, который может получить ген резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемент (микробы-реципиенты). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве для снижения вероятности распространения микробами-донорами гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-

элемента.

[00202] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ борьбы с инфекцией, вызванной патогеном. В некоторых вариантах осуществления борьба с инфекцией, вызванной патогеном, включает лечение, предотвращение и/или снижение риска развития инфекции, вызванной патогеном. В некоторых вариантах осуществления лечение инфекции, вызванной патогеном, включает введение олигосахаридной композиции объекту или популяции после обнаружения патогена. В некоторых вариантах осуществления предотвращение инфекции, вызванной патогеном, включает введение олигосахаридной композиции объекту или популяции, подверженной риску развития инфекции. Объект или популяция могут включать тех, кто мог напрямую контактировать с патогеном, и/или инфицированных пациентов. В некоторых вариантах осуществления снижение риска развития инфекции, вызванной патогеном, включает введение олигосахаридной композиции объекту или популяции, которые могут подвергнуться воздействию патогена.

[00203] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ снижения экспрессии или высвобождения (*например*, патогеном) фактора, оказывающего нежелательное воздействие на объект, такого как фактор вирулентности или токсин. В некоторых вариантах осуществления фактор вызывает заболевание. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве и/или достаточному количеству объекта(ов), которое снижает экспрессию или высвобождение микробом (*например*, патогеном) фактора, оказывающего нежелательное воздействие на объект, *например*, фактора вирулентности или токсина, *например*, который вызывает заболевание. В некоторых вариантах осуществления экспрессия фактора (*например*, фактора вирулентности) снижается приблизительно на 1%, приблизительно на 2%, приблизительно на 3%, приблизительно на 4%, приблизительно на 5%, приблизительно на 10%, приблизительно на 15%, приблизительно на 20%, приблизительно на 30%, приблизительно на 35%, приблизительно на 40%, приблизительно на 45%, приблизительно на 50%, приблизительно на 55%, приблизительно на 60%, приблизительно на 65%, приблизительно на 70%, приблизительно на 75%, приблизительно на 80%, приблизительно на 85%, приблизительно на 90%, приблизительно на 95%, приблизительно на 99% или приблизительно на 100%, *например*, относительно стандартного образца. Нежелательное явление у объекта, вызванное таким фактором, включает возникновение заболевания, отсрочку постановки диагноза заболевания или снижение эффективности лечения заболевания.

[00204] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ модуляции количества доноров генов (микробов-доноров) в популяции (*например*, состояния компетентности/конъюгации). В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ модуляции количества реципиентов генов (микробов-реципиентов) в популяции. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в

эффективном количестве для сокращения количества микробов-доноров (например, микробов, которые несут гены резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элементы). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве для сокращения количества микробов-реципиентов. Например, олигосахаридная композиция может влиять на бактериальную активность, так что она снижает частоту передачи токсинов или детерминант резистентности к антибиотикам между штаммами или видами. Это может быть выполнено, например, путем трансформации, конъюгации, продукции или трансдукции фага, высвобождения плазмиды или репликации плазмиды, так что меньшее количество патогенов может получить доступ к этим токсинам или детерминантам резистентности. Это, в свою очередь, может снизить доступность этих маркеров для новых патогенов. Такое сокращение может быть достигнуто путем модуляции состояния компетентности или свойства конъюгации.

[00205] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ модуляции количества копий гена резистентности в популяции. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве, которое снижает количество копий гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам, токсина или фактора вирулентности. Например, когда присутствует меньше копий одного и того же генетического элемента, обычно наблюдается снижение его экспрессии. Таким образом, можно ожидать, что олигосахаридная композиция, приводящая к уменьшению количества копий гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам, токсина или фактора вирулентности, увеличит восприимчивость к антибиотику, уменьшит побочные действия патогена или снизит доступность гена, токсина или фактора вирулентности по отношению к другим микробным реципиентам. Это может происходить, например, вследствие снижения активности или экспрессии модулей зависимости или других элементов, важных для поддержания количества копий гена, токсина или маркера резистентности.

[00206] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ модуляции дефицита приспособленности (*например*, увеличения нагрузки, связанной с переносом гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента) популяции. В некоторых вариантах осуществления модуляция включает увеличение нагрузки, связанной с переносом гена резистентности. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве, которое увеличивает дефицит приспособленности. Олигосахаридная композиция, которая увеличивает дефицит приспособленности (*например*, вызванный переносом или экспрессией токсина, фактора вирулентности или детерминанты резистентности к антибиотикам), снижает количество переносящих ее микробов (*например*, бактериальных патогенов) или их способность сохраняться у конкретных объектов (*например*, объектов). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция изменяет экологию желудочно-кишечного тракта (или его подгруппы, *например*, тонкого кишечника,

толстого кишечника или толстой кишки), так что источников азота не хватает. Это, в свою очередь, может увеличить стоимость поддержания дополнительных генетических элементов за счет синтеза нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах осуществления дефицит приспособленности является результатом улучшенного распознавания или реакции хозяина (*например*, человека). Например, некоторые факторы, такие как бактериальный липополисахарид (ЛПС), непосредственно распознаются клетками человека, что приводит к иммунным ответам.

[00207] Было показано, что некоторые патогены (*например*, вирусы и бактерии, *например*, Vibrio cholerae и норовирус) имеют гликановые рецепторы или гликановые фрагменты, которые являются необходимыми для инфицирования клеток кишечника (Holmer, et al. FEBS Letters 584 (2010) 2548-2555). В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ уменьшения связывания патогена с клеткой, снижения активности патогена на или в клетке, уменьшения проникновения патогена в или на клетку или уменьшения действия патогена на клетке, в котором способ включает введение олигосахаридной композиции в эффективном количестве и/или достаточному количеству объектов для уменьшения связывания патогена, его активности, проникновения или воздействия на клетку. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой клетку человека. В некоторых вариантах осуществления связывание олигосахаридной композиции с патогеном предотвращает попадание и проникновение в клетку указанного патогена или другого патогена. В других вариантах осуществления, не ограничиваясь теорией, олигосахаридная композиция может непосредственно или косвенно вызывать модификацию слизистой оболочки кишечника или мембраны слизистой оболочки или влиять на другое свойство, такое как проникновение патогена в клетку, действие патогена на клетку, способность патогена сохраняться в клетке или избегать распознавания антителом или иммунитетом.

[00208] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ модуляции антимикробного эффекта (*например*, иммунного ответа) объекта. Например, олигосахаридную композицию вводят для увеличения продукции слизи, продукции или секреции антител или продукции антимикробных пептидов (*например*, таких как RegIIIγ), тем самым повышая резистентность к патогенам. RegIIIγ представляет собой антимикробный белок, который связывает кишечные бактерии посредством взаимодействия с углеводом пептидогликана (Cash et al., Science. (2006) August 25; 313 (5790): 1126-1130). Модуляция иммунного ответа объекта, *например*, в ответ на введение олигосахаридных композиций, описанных в настоящей заявке, может быть определена путем измерения одного или более маркеров воспаления, *например*, ИФН-γ, ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12p70, ИЛ-13 и ФНО-α. Маркеры могут быть определены, *например*, по образцам кала или крови.

[00209] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ сокращения соотношения патогенных бактерий и комменсальных бактерий (*например*, в желудочно-кишечном тракте объекта). В некоторых вариантах осуществления соотношение

патогенных бактерий и комменсальных бактерий уменьшается за счет сокращения количества патогенных бактерий. В некоторых вариантах осуществления соотношение патогенных бактерий и комменсальных бактерий уменьшается за счет увеличения количества комменсальных бактерий.

[00210] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ модуляции композиции микробного сообщества и/или метаболического выхода микробного сообщества, *например*, модуляции среды, *например*, для модуляции (*например*, сокращения) роста патогенов. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве для модуляции микробного сообщества и изменения среды желудочно-кишечного тракта (*например*, изменения pH, изменения молочной кислоты, изменения плотности микробов и т. д.). В некоторых вариантах осуществления способ включает вытеснение патогена, патобионта или носителя гена резистентности к антибиотикам за пространство или питательные вещества в желудочно-кишечном тракте. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридную композицию вводят в эффективном количестве для уменьшения «пространства» для колонизации патогеном или патобионтом, *например*, физического пространства. В некоторых вариантах осуществления способ включает создание более пригодных непатогенных бактерий (*например*, предоставление более селективного источника пищи или способствование росту более пригодных (*например*, более быстрых) растущих видов/штаммов). В некоторых вариантах осуществления способ включает вытеснение патогена, патобионта или носителя гена резистентности к антибиотикам путем увеличения популяции комменсального бактериального штамма или путем увеличения механизма антимикробной защиты в комменсальном бактериальном штамме, *например*, продукции бактериоцина, антимикробного пептида, пероксида водорода или низкого pH (*например*, за счет повышенного уровня кислоты (*например*, ацетата, бутирата и подобного).

[00211] В некоторых вариантах осуществления соотношение патогенных бактерий и комменсальных бактерий (*например*, в желудочно-кишечном тракте объекта) определяют путем выполнения секвенирования нуклеиновых кислот (*например*, метагеномного секвенирования 16S) образца кала (*например*, взятого у объекта до или после лечения олигосахаридной композицией). Метагеномное секвенирование 16S образца кала может быть выполнено, например, путем извлечения геномной ДНК из образца кала и выполнения стандартного секвенирования 16S. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область 4 гена 16S рРНК амплифицируется и секвенируется (*например*, в соответствии с Earth Microbiome Project protocol www.earthmicrobiome.org/emp-standard-protocols/16s/ и/или Caporaso JG et al. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. ISME J. (2012) Aug;6(8):1621-4)). Необработанные последовательности могут быть демультиплексированы, и каждый образец может быть обработан отдельно с помощью UNOISE2 (Robert Edgar UNOISE2: improved error-correction for Illumina 16S and ITS

amplicon sequencing. bioRxiv (2016) Oct. 15). Считывания из данных секвенирования ампликона 16S рРНК могут быть уменьшены до 5000 считываний без замены, и результирующая таблица OTU используется в последующих вычислениях. Анализируемые данные секвенирования могут позволить рассчитать общее количество различных видов бактерий (*например*, патогенных и комменсальных видов бактерий), на основании которых может быть определено относительное количество или абсолютное количество патогенных и комменсальных бактерий.

[00212] В некоторых вариантах осуществления сокращение соотношения патогенных бактерий и комменсальных бактерий (*например*, в желудочно-кишечном тракте объекта) определяется посредством (i) выполнения метагеномного секвенирования 16S образца кала, взятого у объекта перед введением олигосахаридной композиции; (ii) выполнения метагеномного секвенирования 16S образца кала, взятого у объекта после введения олигосахаридной композиции; и (iii) сравнения относительного или абсолютного количества патогенов, определенного с использованием данных секвенирования, предоставленных в (ii), с относительным или абсолютным количеством патогенов, определенным с использованием данных секвенирования, предоставленных в (i).

[00213] В некоторых вариантах осуществления предоставлены способы сокращения распространения патогенов. В некоторых вариантах осуществления патогены включают бактериальные патогены (*например*, Abiotrophia spp., (*например,* A. defective), Achromobacter spp., Acinetobacter spp., (*например,* A. baumanii), Actinobaculum spp., (*например,* A. schallii), Actinomyces spp., (*например,* A. israelii), Aerococcus spp., (*например,* A. urinae), Aeromonas spp., (*например,* A. hydrophila), Aggregatibacter spp., *например,* A. aphrophilus, Bacillus anthracis, группа Bacillus cereus, Bordetella spp., Brucella spp., *например,* B. henselae, Burkholderia spp., *например,* B. cepaciae, Campylobacter spp., *например,* C. jejuni, Chlamydia spp., Chlamydophila spp., Citrobacter spp., *например,* C. freundii, Clostridium botulinum, Clostridium difficile, Clostridium perfringens, Corynebacterium spp., *например,* C. amycolatum, Cronobacter, *например,* C. sakazakii, Enterobacteriaceae, включая многие из нижеперечисленных родов, Ehrlichia spp., Enterobacter spp., *например,* E. cloacae, Enterococcus spp., *например,* E. faecium, Escherichia spp., включая энтеропатогенные, уропатогенные и энтерогеморрагические штаммы E. coli, Francisella spp., *например,* F. tularensis, Fusobacterium spp., *например,* F. necrophorum, Gemella spp., *например,* G. mobillorum, Granulicatella spp., *например,* G. adiaciens, Haemophilus spp., *например,* H. influenza, Helicobacter spp., *например,* H. pylori, Kingella spp., *например,* K. kingae, Klebsiella spp., *например,* K. pneumoniae, Legionella spp., *например,* L. pneumophila, Leptospira spp., Listeria spp., *например,* L. monocytogenes, Morganella spp., *например,* M. morganii, Mycobacterium spp., *например,* M. abcessus, Neisseria spp., *например,* N. gonorrheae, Nocardia spp., *например,* N. asteroids, Ochrobactrum spp., *например,* O. anthropic, Pantoea spp., *например,* P. agglomerans, Pasteurella spp., *например,* P. multocida, Pediococcus spp., Plesiomonas spp., *например,* P. shigelloides, Proteus spp., *например,* P. vulgaris, Providencia spp., *например,* P. stuartii, Pseudomonas spp., *например,* P. aeruginosa,

Raoultella spp., *например,* R. ornithinolytica, Rothia spp., *например,* R. mucilaginosa, Salmonella spp., *например,* S. enterica, Serratia spp., *например,* S. marcesens, Shigella spp., *например,* S. flexneri, Staphylococcus aureus, Staphylococcus lugdunensis, Staphylococcus pseudintermedius, Staphylococcus saprophyticus, Stenotrophomonas spp., *например,* S. maltophilia, Streptococcus agalactiae, Streptococcus anginosus, Streptococcus constellatus, Streptococcus dysgalactiae, Streptococcus intermedius, Streptococcus milleri, Streptococcus pseudopneumoniae, Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Treponema spp., Ureaplasma ureolyticum, Vibrio spp., *например,* V. cholerae и Yersinia spp., (*например,* Y. enterocolitica)); вирусные патогены (*например*, аденовирус, астровирус, цитомегаловирус, энтеровирус, норовирус, ротавирус и саповирус) и желудочно-кишечные патогены (*например*, Cyclospora spp., Cryptosporidium spp., Entamoeba histolytica, Giardia lamblia и Microsporidia (*например,* Encephalitozoon canaliculi)).

[00214] В некоторых вариантах осуществления способ включает сокращение распространения резистентных к антибиотикам организмов. Резистентные к антибиотикам организмы включают: Enterobacteriaceae, продуцирующие бета-лактамазу (включая продуценты бета-лактамазы расширенного спектра и карбапенемазы, обладающие генами, такими как TIM, OXA, VIM, SHV, CTX-M, KPC, NDM или AmpC); ванкомицин-резистентные Enterococcus (*например*, обладающие генами, такими как VanA или VanB); фторхинолон-резистентные Enterobacteriaceae (*например*, с генами, такими как Qnr); карбапенем-резистентные и с множественной лекарственной резистентностью Pseudomonas; метициллин-резистентные Staphylococcus aureus и Streptococcus pneumoniae (*например*, обладающие геном MecA); с множественной лекарственной резистентностью Acinetobacter (часто содержащие бета-лактамазу); резистентные к триметоприму организмы (*например*, дигидрофолатредуктазу); резистентные к сульфаметоксазолу микроорганизмы (*например*, дигидроптероатсинтетазу) и резистентные к аминогликозидам организмы (*например*, рибосомную метилтрансферазу).

[00215] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ борьбы с инфекцией, вызванной патогеном, включающий введение второго лечения первому и/или второму объекту. В некоторых вариантах осуществления второе лечение включает введение активированного угля или другого адсорбирующего агента. В этом варианте осуществления адсорбирующий агент может служить для сокращения присутствия антибиотика в желудочно-кишечном тракте (*например*, в тонком кишечнике, толстом кишечнике, толстой кишке), чтобы снизить селективное давление для поддержания детерминанты резистентности, тем самым обеспечивая сокращение его объема, уровня, распространения или побочного действия. В качестве альтернативы адсорбирующий агент может усилить положительный эффект олигосахаридной композиции. В некоторых вариантах осуществления второе лечение включает введение объекту неабсорбируемого антибиотика, такого как бета-лактам или ингибитор бета-лактамазы. В некоторых вариантах осуществления второе лечение включает введение инактивирующего антибиотик фермента, *например*, фермента бета-лактамазы.

[00216] В некоторых вариантах осуществления объект находится в тяжелом состоянии и/или является пациентом после трансплантации. Тяжелобольные объекты и/или пациенты после трансплантации склонны к инфекциям (*например*, имеют высокую частоту возникновения инфекций), таким как инфекции кровотока. В некоторых вариантах осуществления инфекционные микробы переносятся в кишечнике (*например*, могут быть приобретены в результате колонизации) и включают E. coli, Klebsiella, другие Enterobacteriaceae и Enterococcus. В некоторых вариантах осуществления микробы (*например*, патогены) являются резистентными к лекарственным средствам (*например*, карбапенем-резистентные Enterobacteriaceae, ванкомицин-резистентные Enterococcus).

[00217] В некоторых вариантах осуществления оценка колонизации (*например*, патогенами) используется для прогнозирования риска инфицирования (*например*, инфекции кровотока, инфекции мочевыводящих путей (ИМП) или респираторной инфекции, бактериемии), *например*, путем корреляции уровней колонизации (*например*, путем оценки подходящего образца на наличие или отсутствие заранее определенных бактериальных таксонов и/или оценки патогенной нагрузки) с риском инфицирования, при этом признаки колонизации коррелируют с повышенным риском инфицирования, при этом объекты с отрицательной культурой имеют более низкий риск инфицирования. В некоторых вариантах осуществления более высокие уровни бактерий приводят к более высокой частоте возникновения инфекций. В некоторых вариантах осуществления кишечная колонизация (*например*, патогеном, *например*, VRE) предшествует инфекции в других тканях (*например*, кровотоке). Примеры патогенов, колонизирующих желудочно-кишечный тракт, могут включать: Enterobacteriaceae (*например, E. coli, Klebsiella*, Enterobacter, Proteus) и Enterococcus. В некоторых вариантах осуществления патогены, колонизирующие желудочно-кишечный тракт, дополнительно включают бактерии с множественной лекарственной резистентностью (*например*, карбапенем-резистентные Enterobacteriaceae, ванкомицин-резистентные Enterococcus).

[00218] В некоторых вариантах осуществления результат скрининга популяций объектов в отношении статуса патогена определяет курс лечения инфекции кровотока. В некоторых вариантах осуществления способы скрининга включают забор образцов кала (*например*, ректального мазка) у объектов. В некоторых вариантах осуществления способ включает оценку присутствия/отсутствия (количества) резистентных к лекарственным средствам/антибиотикам патогенов (*например*, VRE) в кале. В некоторых вариантах осуществления уровень патогенов в кишечнике коррелирует с риском инфицирования. В некоторых вариантах осуществления объекты отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), объекты после трансплантации, объекты, получающие химиотерапию, и объекты, принимающие антибиотики, имеют более высокий риск наличия колонизации патогенами от резистентных к антибиотикам бактерий, таких как карбапенем-резистентные Enterobacteriaceae и ванкомицин-резистентные Enterococcus. В некоторых вариантах осуществления снижение уровня патогенов в кишечнике снижает риск (*например*, путем введения олигосахаридной композиции, если желательно, в комбинации

с антибиотиком). В некоторых вариантах осуществления, если резистентный к лекарственным средствам патоген отсутствует, объекту вводят олигосахаридную композицию для предотвращения инфекции (*например*, инфекции кровотока) или бактериемии. В некоторых вариантах осуществления, если резистентный к лекарственным средствам патоген присутствует, объекту вводят олигосахаридную композицию для снижения инфекции (*например*, инфекции кровотока) или бактериемии.

[00219] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ снижения уровня колонизации или распространенности резистентных к антибиотикам патогенов, переносимых в желудочно-кишечном тракте объектов с высоким риском (*например*, объектов). Примеры резистентных к антибиотикам патогенов включают карбапенем-резистентные Enterobacteriaceae (*например*, бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), продуцируемые Enterobacteriaciae (ESBLE)) и ванкомицин-резистентные Enterococcus.

[00220] В некоторых вариантах осуществления предоставлен способ снижения частоты возникновения инфекций (*например*, от патогенов, которые колонизируют желудочно-кишечный тракт) у тяжелобольных объектов или объектов с высоким риском (*например*, объектов). В некоторых вариантах осуществления способ включает снижение частоты возникновения инфекций мочевыводящих путей. В некоторых вариантах осуществления способ включает снижение частоты возникновения инфекций кровотока. В некоторых вариантах осуществления способ включает снижение частоты возникновения инфекций дыхательных путей.

[00221] В некоторых вариантах осуществления способ включает лечение инфекций у объектов. Примеры групп объектов с инфекциями (бактериемией) включают: объекты с инфекциями мочевыводящих путей (*например*, инфицированные Enterococcus, Enterobacteriaciae), объекты с инфекциями кровотока (*например*, инфицированные Enterococcus, Enterobacteriaciae), объекты после трансплантации (*например*, костного мозга (*например*, перенесшие трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток), солидных органов (*например*, печени)), пациенты реанимации и интенсивной терапии (*например*, инфицированные карбапенем-резистентными Enterobacteriaceae и патогенами, продуцирующими БЛРС), пациенты с печеночной недостаточностью до трансплантации (*например*, инфицированные ванкомицин-резистентными Enterococcus), пациенты с печеночной недостаточностью после трансплантации (*например*, инфицированные ванкомицин-резистентными Enterococcus). Объекты, проходящие химиотерапию, испытывают высокие уровни бактериемии кишечных патогенов, инфекции, вызванной C. difficile (CDI)C, и диареи, вызванной химиотерапией, по сравнению с другими объектами (*например*, популяцией пациентов больницы общего профиля). В некоторых вариантах осуществления объекты, получавшие антибиотики, имеют более высокую нагрузку патогенов, включая резистентные к антибиотикам патогены. В некоторых вариантах осуществления объекты, которые переносят или предстоит перенести трансплантацию, объекты с раком, объекты с заболеванием печени (*например*, терминальной почечной

недостаточностью) или объекты с подавленной иммунной системой (*например*, объекты с ослабленным иммунитетом) могут иметь высокий риск развития инфекций, *например*, кишечных инфекций. В некоторых вариантах осуществления способ включает профилактическое лечение, *например*, олигосахаридной композицией объекта, *например*, объекта с высоким риском развития инфекции. В некоторых вариантах осуществления у объектов, проходящих курс химиотерапии или лечения антибиотиками, снижено разнообразие комменсальных бактерий. В некоторых вариантах осуществления способ включает лечение объекта для сокращения колонизации патогенов, *например*, патогенов с множественной лекарственной резистентностью, у объекта, *например*, объектов в учреждении, *например*, в больнице или учреждении долговременного ухода. В некоторых вариантах осуществления способ включает лечение объекта для снижения передачи патогенов, *например*, патогенов с множественной лекарственной резистентностью, от первого объекта ко второму объекту, *например*, объектам в учреждении, *например*, в больнице или учреждении долговременного ухода. В некоторых вариантах осуществления бактерии, которые представляют риск колонизации у объектов (или способны колонизировать желудочно-кишечный тракт объектов), включают резистентные субпопуляции Enterobacteriaceae (*например, E. cloacae*), Enterococcus, C. difficile (включая Nap1 (пандемический гипервирулентный) C. difficile штамм) и бактерии, которые вызывают инфекционную диарею (*например, Campylobacter, Salmonella, Shigella*, энтерогеморрагическая E. coli (EHEC), энтеротоксигенная E. coli (ETEC), энтеропатогенная E. coli (EPEC), энтероинвазивная E. coli (EIEC), энтероагрегативная E. coli (EAEC), диффузно-адгезивная E. coli (DAEC) и уропатогенная E. coli).

[00222] В некоторых вариантах осуществления способ включает лечение инфекций у объектов, которые нуждаются в трансплантации органа, *например*, трансплантации печени или костного мозга. В некоторых вариантах осуществления способ включает лечение инфекций у объектов немедленно или незадолго до того, как указанный объект получит трансплантат органа, *например*, трансплантат печени или костного мозга. В некоторых вариантах осуществления способ включает лечение инфекций у объектов немедленно или вскоре после того, как указанный объект получит трансплантат органа, *например*, трансплантат печени или костного мозга. В некоторых вариантах осуществления способ включает лечение инфекций у объектов, которые имеют, подозреваются в наличии или подвержены риску терминальной стадии заболевания печени (ESLD).

[00223] В некоторых вариантах осуществления способ сокращает соотношение патогенных бактерий и комменсальных бактерий, *например*, у объекта, *например*, в желудочно-кишечном тракте объекта (*например*, в толстой кишке). В некоторых вариантах осуществления соотношение патогенных бактерий и комменсальных бактерий сокращается, по меньшей мере, на 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150% или 200%. В некоторых вариантах осуществления соотношение патогенных бактерий и комменсальных бактерий сокращается на 1-10%, 5-20%, 10-25%,

20-40%, 30-50%, 40-60%, 50-70%, 60-80%, 70-90%, 80-100%, 90-110%, 100-125%, 110-150%, 125-175% или 150-200%.

[00224] В некоторых вариантах осуществления способ сокращает количество патогенов и/или увеличивает количество комменсальных бактерий, *например*, у объекта, *например*, в желудочно-кишечном тракте объекта (*например*, в толстой кишке). В некоторых вариантах осуществления способ увеличивает альфа-разнообразие (*например*, высокую степень разнообразия) микробного сообщества (*например*, сообщества комменсальных бактерий), *например*, кишечника объекта.

[00225] В некоторых вариантах осуществления способ сокращает количество патогенов, по меньшей мере, на 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150% или 200%. В некоторых вариантах осуществления способ сокращает количество патогенов на 1-10%, 5-20%, 10-25%, 20-40%, 30-50%, 40-60%, 50-70%, 60-80%, 70-90%, 80-100%, 90-110%, 100-125%, 110-150%, 125-175% или 150-200%.

[00226] В некоторых вариантах осуществления способ увеличивает количество комменсальных бактерий, по меньшей мере, на 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 125%, 150% или 200%. В некоторых вариантах осуществления способ увеличивает количество комменсальных бактерий на 1-10%, 5-20%, 10-25%, 20-40%, 30-50%, 40-60%, 50-70%, 60%-80%, 70-90%, 80-100%, 90-110%, 100-125%, 110-150%, 125-175% или 150-200%.

[00227] В некоторых вариантах осуществления способ увеличивает альфа-разнообразие (*например*, высокую степень разнообразия) микробиома в желудочно-кишечном тракте. Альфа-разнообразие можно измерить с использованием индекса Шеннона в комбинации с секвенированием нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах осуществления индекс Шеннона указывает, что объекты, нуждающиеся в лечении (*например*, пациенты ОРИТ), имеют сообщества, которые значительно менее разнообразны по своему представлению бактериальных таксонов, чем здоровые объекты. В некоторых вариантах осуществления многообразие сообщества или количество уникальных таксонов в образце значительно ниже у объектов, нуждающихся в лечении (*например*, пациентов ОРИТ), по сравнению со здоровыми объектами.

[00228] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции по существу ферментируются или потребляются комменсальными бактериями и не ферментируются или не потребляются патогенами. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридные композиции по существу ферментируются или потребляются комменсальными бактериями и ферментируются или потребляются патогенами при низких уровнях. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция, которая по существу потребляется комменсальными бактериями, может увеличивать разнообразие и биомассу комменсальной микробиоты и приводить к снижению относительного количества или абсолютного количества патогена(ов), такого как бактериальный патоген (*например*, патогенный таксон). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция по существу не ферментируется или не

потребляется видами VRE или CRE. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция по существу не ферментируется или не потребляется C. difficile.

[00229] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция поддерживает рост комменсальных или пробиотических бактерий, *например*, в микробиоме кишечника. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция не поддерживает рост, по меньшей мере, одного патогена, *например*, не поддерживает рост видов CRE, VRE и/или C. difficile.

[00230] В некоторых вариантах осуществления введение олигосахаридной композиции может увеличивать концентрацию, численность или количество (*например*, относительное количество или абсолютное количество) комменсальных бактерий по сравнению с патогенными бактериями в микробиоме объекта (*например*, пациента-человека). В некоторых вариантах осуществления введение олигосахаридной композиции и популяции жизнеспособных комменсальных или пробиотических бактерий может увеличивать концентрацию, численность или количество (*например*, относительное количество или абсолютное количество) комменсальных бактерий по сравнению с патогенными бактериями в микробиоме объекта (*например*, пациента-человека). В некоторых вариантах осуществления введение олигосахаридной композиции, которая поддерживает рост комменсальных или пробиотических бактерий, *например*, в микробиоме кишечника, может увеличивать концентрацию, численность или количество (*например*, относительное количество или абсолютное количество) комменсальных бактерий по сравнению с патогенными бактериями в микробиоме объекта (*например*, пациента-человека). В некоторых вариантах осуществления введение олигосахаридной композиции, которая не поддерживает рост, по меньшей мере, одного патогена, *например*, не поддерживает рост видов CRE, VRE и/или C. difficile, *например*, в микробиоме кишечника, может увеличивать концентрацию, численность или количество (*например*, относительное количество или абсолютное количество) комменсальных бактерий по сравнению с патогенными бактериями в микробиоме объекта (*например*, пациента-человека). В некоторых вариантах осуществления введение олигосахаридной композиции, которая поддерживает рост комменсальных или пробиотических бактерий и не поддерживает рост, по меньшей мере, одного патогена, *например*, не поддерживает рост видов CRE, VRE и/или C. difficile, *например*, в микробиоме кишечника, может увеличивать концентрацию, численность или количество (*например*, относительное количество или абсолютное количество) комменсальных бактерий по сравнению с патогенными бактериями в микробиоме объекта (*например*, пациента-человека).

[00231] В некоторых вариантах осуществления введение олигосахаридной композиции может увеличивать концентрацию, численность или количество (*например*, относительное количество или абсолютное количество) Bacteroidetes (*например,* Bacteroidales) по сравнению с патогенными бактериями в микробиоме объекта (*например*, пациента-человека).

[00232] В вариантах осуществления олигосахаридная композиция, описанная в настоящей заявке, вводится совместно с комменсальными или пробиотическими бактериальными таксонами и бактериями, которые обычно признаются безопасными (GRAS) или известными комменсальными или пробиотическими микробами. В некоторых вариантах осуществления пробиотические или комменсальные бактериальные таксоны (или их препараты) можно вводить объекту до или после введения объекту олигосахаридной композиции. В некоторых вариантах осуществления пробиотические или комменсальные бактериальные таксоны (или их препараты) можно вводить объекту одновременно с введением объекту олигосахаридной композиции.

[00233] В вариантах осуществления олигосахаридная композиция, описанная в настоящей заявке, вводится с популяцией Bacteroidetes. В вариантах осуществления олигосахаридная композиция, описанная в настоящей заявке, вводится с популяцией Bacteroidales.

[00234] Комменсальные или пробиотические бактерии также называют пробиотиками. Пробиотики могут включать метаболиты, вырабатываемые пробиотическими бактериями во время ферментации. Эти метаболиты могут высвобождаться в среду ферментации, *например*, в организм-хозяина (*например*, объекта) или они могут храниться в бактериях. Пробиотические бактерии включают бактерии, бактериальные гомогенаты, бактериальные белки, бактериальные экстракты, супернатанты бактериальных ферментов и их комбинации, которые выполняют полезные функции для животного-хозяина, *например*, при введении в терапевтической дозе.

[00235] Пригодные пробиотики включают, по меньшей мере, одну бактерию, продуцирующую молочную кислоту, и/или уксусную кислоту, и/или пропионовую кислоту, *например*, микробы, которые продуцируют молочную кислоту, и/или уксусную кислоту, и/или пропионовую кислоту путем разложения углеводов, таких как глюкоза и лактоза. Предпочтительно пробиотические бактерии представляют собой молочнокислые бактерии. В вариантах осуществления молочнокислые бактерии включают Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus, Streptococcus и Bifidobacterium. Подходящие пробиотические бактерии могут также включать другие бактерии, которые благотворно влияют на хозяина, улучшая микробный баланс кишечника хозяина, такие как, но не ограничиваясь ими, дрожжи, такие как Saccharomyces, Debaromyces, Candida, Pichia и Torulopsis, плесневые грибки, такие как Aspergillus, Rhizopus, Mucor, и Penicillium, и Torulopsis, и другие бактерии, такие как, но не ограничиваясь ими, роды Bacteriodes, Clostridium, Fusobacterium, Melissococcus, Propionibacterium, Enterococcus, Lactococcus, Staphylococcus, Peptostreptococcus, Bacillus, Pediococcus, Micrococcus, Leuconostoc, Weissella, Aerococcus, и Oenococcus, и их комбинации.

[00236] Неограничивающие примеры молочнокислых бактерий, пригодных в раскрытии в настоящем описании, включают штаммы Streptococcus lactis, Streptococcus cremoris, Streptococcus diacetylactis, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus bifidus, Lactobacillus casei,

Lactobacillus lactis, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus delbruekii, Lactobacillus thermophilus, Lactobacillus fermentii, Lactobacillus salivarius, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus brevis, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium animalis, Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium adolescentis, и Pediococcus cerevisiae и их комбинации, в частности Lactobacillus, Bifidobacterium и их комбинации.

[00237] Комменсальные или пробиотические бактерии, которые являются наиболее пригодными в настоящем раскрытии, включают те, которые (для введения человеку) имеют человеческое происхождение (или происхождение от млекопитающего, которому вводят пробиотические бактерии), являются непатогенными для организма, сопротивляются технологическим процессам (*т. е.* могут оставаться жизнеспособными и активными во время обработки и в средствах доставки), являются устойчивыми к кислотности желудочного сока и токсичности желчи, прикрепляются к эпителиальной ткани кишечника, обладают способностью колонизировать желудочно-кишечный тракт, продуцируют антимикробные вещества, модулируют иммунный ответ в организме и влияют на метаболическую активность (*например*, на усвоение холестерина, активность лактазы, выработку витаминов).

[00238] Комменсальные или пробиотические бактерии можно использовать в виде одноштаммовых или комбинации множественных штаммов, при этом общее количество бактерий в дозе пробиотических бактерий составляет от приблизительно 1×10^3 до приблизительно 1×10^{14}, или от приблизительно 1×10 до приблизительно 1×10^{12}, или от приблизительно 1×10^7 до приблизительно 1×10^{11} КОЕ на дозу.

[00239] Комменсальные или пробиотические бактерии могут быть составлены с олигосахаридными композициями, пока пробиотические бактерии живы, но находятся в состоянии «анабиоза» или сонливости. После сублимационной сушки жизнеспособные культур(ы) пробиотических бактерий обрабатываются таким образом, чтобы свести к минимуму воздействие влаги, которое могло бы реанимировать культуры, потому что после реанимации культуры могут демонстрировать высокие показатели патологических проявлений, если вскоре не будут культивированы в среде повышенной влажности. Кроме того, с культурами обращаются, чтобы сократить возможное воздействие высоких температур (особенно в присутствии влаги), чтобы снизить патологические проявления.

[00240] Пробиотические бактерии можно использовать в порошковой сухой форме. Пробиотические бактерии также можно вводить в олигосахаридной композиции или в отдельной олигосахаридной композиции, вводимой одновременно или в разное время с олигосахаридными композициями.

[00241] Другие подходящие пробиотические бактерии включают Bifidobacterium lactis, B. animalis, B. bifidum, B. longum, B. adolescentis и B. infantis.

[00242] В вариантах осуществления комменсальные бактериальные таксоны, которые можно использовать и/или в комбинации с олигосахаридной композицией, описанной в настоящей заявке, включают Akkermansia, Anaerococcus, Bacteroides,

Bifidobacterium (включая Bifidobacterium lactis, B. animalis, B. bifidum, B. longum, B. adolescentis, B. breve и B. infantis), Blautia, Clostridium, Corynebacterium, Dialister, Eubacterium, Faecalibacterium, Finegoldia, Fusobacterium, Lactobacillus (включая L. acidophilus, L. helveticus, L. bifidus, L. lactis, L. fermentii, L. salivarius, L. paracasei, L. brevis, L. delbruekii, L. thermophiles, L. crispatus, L. casei, L. rhamnosus, L. reuteri, L. fermentum, L. plantarum, L. sporogenes и L. bulgaricus), Peptococcus, Peptostreptococcus, Peptoniphilus, Prevotella, Roseburia, Ruminococcus, Staphylococcus и/или Streptococcus (включая S. lactis, S. cremoris, S. diacetylactis, S. thermophiles).

[00243] В вариантах осуществления комменсальные бактериальные таксоны, *например*, штамм GRAS, которые можно использовать и/или в комбинации с олигосахаридной композицией, описанной в настоящей заявке, включают Bacillus coagulans GBI-30, 6086; Bifidobacterium animalis subsp. Lactis BB-12; Bifidobacterium breve Yakult; Bifidobacterium infantis 35624; Bifidobacterium animalis subsp. Lactis UNO 19 (DR10); Bifidobacterium longum BB536; Escherichia coli M-17; Escherichia coli Nissle 1917; Lactobacillus acidophilus DDS-1; Lactobacillus acidophilus LA-5; Lactobacillus acidophilus NCFM; Lactobacillus casei DN 114-001 (Lactobacillus casei Immunitas(s)/Defensis); Lactobacillus casei CRL431; Lactobacillus casei F19; Lactobacillus paracasei Stl 1 (или NCC2461); Lactobacillus johnsonii Lai (Lactobacillus LCI, Lactobacillus johnsonii NCC533); Lactococcus lactis L1A; Lactobacillus plantarum 299V; Lactobacillus reuteri ATTC 55730 (Lactobacillus reuteri SD2112); Lactobacillus rhamnosus ATCC 53013; Lactobacillus rhamnosus LB21; Saccharomyces cerevisiae (boulardii) лиофилизат; смесь Lactobacillus rhamnosus GR-1 и Lactobacillus reuteri RC-14; смесь Lactobacillus acidophilus NCFM и Bifidobacterium lactis BB-12 или BL-04; смесь Lactobacillus acidophilus CL1285 и Lactobacillus casei и смесь Lactobacillus helveticus R0052, Lactobacillus rhamnosus R0011 и/или Lactobacillus rhamnosus GG (LGG).

[00244] В некоторых вариантах осуществления способ включает введение олигосахаридной композиции и введение комменсальных или пробиотических бактериальных видов. В некоторых вариантах осуществления комбинированное введение олигосахаридных композиций и комменсальных бактерий может быть использовано для оказания помощи пациентам с истощенными микробиомами (*например*, пациентам с небольшим количеством или отсутствием обнаруживаемых комменсальных бактерий), *например*, пациентам, которые проходят химиотерапию или получают антибиотики. В некоторых вариантах осуществления комбинированное введение олигосахаридных композиций и комменсальных бактерий может быть использовано для оказания помощи объекту или пациенту, имеющему микробиом кишечника, лишенный каких-либо обнаруживаемых комменсальных бактерий. В некоторых вариантах осуществления способ включает комбинированное введение олигосахаридных композиций и комменсальных бактерий объекту или пациенту, у которого микробиом кишечника лишен каких-либо обнаруживаемых комменсальных бактерий.

[00245] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция,

описанная в настоящей заявке, может быть использована для лечения нарушения цикла мочевины (UCD) у человека. В некоторых вариантах осуществления у объекта имеется печеночная энцефалопатия (ПЭ). В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция, описанная в настоящей заявке, может быть использована для лечения объекта, страдающего терминальной стадией заболевания печени (ESLD). В некоторых вариантах осуществления объект относится к педиатрической популяции (*например*, в возрасте от 2 до 24 месяцев или от 2 до 18 лет).

[00246] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция, описанная в настоящей заявке, может быть использована для лечения инфекции, *например*, бактериальной инфекции, *например*, связанной с бактериальным патогеном или патобионтом. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция, описанная в настоящей заявке, может быть использована для лечения инфекции, *например*, бактериальной инфекции, *например*, связанной с антибиотикорезистентным (*например*, резистентным к множественным лекарственным средствам) бактериальным патогеном. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция, описанная в настоящей заявке, может быть использована для лечения инфекции, *например*, грибковой инфекции.

[00247] В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция, описанная в настоящей заявке, может быть использована для сокращения относительного или абсолютного количества патогенов или патобионтов у человека (*например*, в желудочно-кишечном тракте, тракте ИМП, кровотоке или другом участке, *например*, в сердечно-сосудистой системе или дыхательной системе).

[00248] Для лечения инфекций, *например*, путем сокращения относительного или абсолютного количества патогенов или патобионтов у человека олигосахаридную композицию вводят в количестве, эффективном для модуляции (*например*, сокращения или ингибирования) колонизации или модуляции (*например*, увеличения) деколонизации патогена, *например*, в кишечнике (*например*, в тонком кишечнике, толстом кишечнике и/или толстой кишке) человека. В некоторых вариантах осуществления лечение включает одно или оба из (i) сокращения количества патогенных бактерий, *например*, в желудочно-кишечном тракте, по сравнению с контролем (*например*, контрольным объектом или исходным измерением) и (ii) увеличения количества комменсальных бактерий, *например*, в желудочно-кишечном тракте, по сравнению с контролем (*например*, контрольным объектом или исходным измерением). В некоторых вариантах осуществления объект для способов, описанных в настоящей заявке (*например*, лечения инфекции или способов сокращения относительного или абсолютного количества патогенов), и который получает пользу от введения олигосахаридной композиции, описанной в настоящей заявке, является человеком. В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который является пациентом, получающим антибиотики широкого спектра действия. В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который особенно восприимчив к патогенной инфекции, *например*, объект находится в тяжелом состоянии

и/или с ослабленным иммунитетом. В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который является пациентом, имеющим более низкое содержание комменсальных бактерий по сравнению со здоровым объектом в своем желудочно-кишечном тракте (*например*, своей толстой кишке или кишечнике).

[00249] В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который получал или в настоящее время получает лечение рака. В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который получал или в настоящее время получает иммуносупрессию. В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который готовится или восстанавливается после операции на желудочно-кишечном тракте. В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который является пациентом отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который является здоровым объектом. В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, у которого нет симптомов, но который обнаруживаемо колонизируется патогенами. В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который подвержен риску развития патогенной инфекции (*например*, и лечение олигосахаридной композицией снижает вероятность инфицирования). В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который является реципиентом трансплантата или готовится получить трансплантат. В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который является реципиентом лечения гемопоэтическими стволовыми клетками (ТГСК) или готовится получить лечение гемопоэтическими стволовыми клетками. В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который является реципиентом трансплантата солидного органа или готовится получить трансплантат солидного органа. Объект, подвергающийся любому лечению или хирургическому вмешательству (*например*, лечению рака, хирургии желудочно-кишечного тракта, операции по трансплантации), можно лечить олигосахаридной композицией до, во время и/или после лечения или хирургического вмешательства. В некоторых вариантах осуществления лечение олигосахаридной композицией до, во время и/или после другого лечения или хирургического вмешательства (*например*, в отделении ОРИТ) предотвращает патогенную инфекцию. В некоторых вариантах осуществления лечение олигосахаридной композицией до, во время и/или после другого лечения или хирургического вмешательства (*например*, в отделении ОРИТ) предотвращает болезнь трансплантат против хозяина (GvHD).

[00250] В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который имеет аутоиммунное заболевание (*например*, системную красную волчанку, ревматоидный артрит, синдром Шегрена или болезнь Крона). В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который имеет гематологическое злокачественное новообразование. В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который имеет цирроз. В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который имеет положительный посев кала на карбапенем-

резистентные Enterobacteriaciae (CRE), бета-лактамазу расширенного спектра (БЛРС), продуцируемую Enterobacteriaciae (БЛРС), и/или ванкомицин-резистентные Enterococcus (VRE). В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который имеет низкое разнообразие бактериальных сообществ в желудочно-кишечном тракте. В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который имеет или находится в группе риска развития терминальной стадии заболевания печени (ESLD). В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который прошел несколько курсов антибиотиков, и/или длительно употреблял антибиотики, и/или которому антибиотики были прописаны в избыточном количестве. В некоторых вариантах осуществления способы относятся к объекту, который испытывает или находится в группе риска чрезмерно агрессивного иммунного ответа, такого как, например, цитокиновый шторм.

[00251] Цитокиновый шторм (также известный как гиперцитокинемия) в некоторых вариантах осуществления включает иммунную реакцию, при которой организм слишком быстро высвобождает слишком много цитокинов в кровоток (*например*, одновременно). Высвобождение большого количества цитокинов в одно время может быть опасным. В некоторых вариантах осуществления цитокиновый шторм характеризуется высокой температурой, воспалением (*например*, покраснением и отеком), сильной усталостью и/или тошнотой. В некоторых вариантах осуществления цитокиновый шторм является серьезным или опасным для жизни и/или может привести к полиорганной недостаточности.

[00252] В некоторых вариантах осуществления способы (*например*, способы лечения), предоставленные в настоящей заявке, включают введение олигосахаридной композиции одновременно с введением антибиотиков или любого другого стандартного лечения. В некоторых вариантах осуществления способы, предоставленные в настоящей заявке, включают введение олигосахаридной композиции после введения антибиотиков или любого другого стандартного лечения. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция предоставляет дополнительную пользу объектам, которым вводят антибиотики или любое другое стандартное лечение. В некоторых вариантах осуществления олигосахаридная композиция предоставляет синергетический эффект (*например*, за счет сокращения соотношения патогенных бактерий и комменсальных бактерий) для объектов, которым вводят антибиотики или любое другое стандартное лечение. В некоторых вариантах осуществления антибиотики представляют собой антибиотики широкого спектра действия. В некоторых вариантах осуществления антибиотики представляют собой внутривенные грамположительные (*например*, ванкомицин) или грамотрицательные (*например*, цефтриаксон, цефепим или пиперациллин-тазобактам) антибиотики или одновременно грамположительные и грамотрицательные агенты вместе.

IV. Наборы

[00253] Также предусмотрены наборы. Например, набор может включать

стандартные лекарственные формы олигосахаридной композиции и вкладыш в упаковку, содержащий инструкции по применению композиции при лечении. В некоторых вариантах осуществления композиция предоставлена в форме сухого порошка. В некоторых вариантах осуществления композиция предоставлена в виде раствора. Наборы включают олигосахаридную композицию в подходящей упаковке для применения объектом, нуждающимся в таком лечении. Любая из композиций, описанных в настоящей заявке, может быть упакована в форме набора. Набор может содержать количество олигосахаридной композиции, достаточное для всего курса лечения или для части курса лечения. Дозы олигосахаридной композиции могут быть индивидуально упакованы, или олигосахаридная композиция может быть предоставлена в большом количестве, или их комбинации. Таким образом, в одном варианте осуществления набор предоставляет в подходящей упаковке индивидуальные дозы олигосахаридной композиции, которые соответствуют единицам дозирования в схеме лечения, в которой дозы упакованы в одну или более упаковок.

[00254] Наборы могут дополнительно включать письменные материалы, такие как инструкции, ожидаемые результаты, рекомендации, разъяснения, предупреждения, клинические данные, информацию для специалистов здравоохранения и подобное. В одном варианте осуществления наборы содержат этикетку или другую информацию, указывающую, что набор предназначен только для использования под руководством медицинского работника. Контейнер может дополнительно включать лопатки, шприцы, бутылки, чашки, аппликаторы или другие измерительные или служащие для подачи устройства.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Сокращение количества патогенов в определенном микробном сообществе в присутствии олигосахаридных композиций

[00255] Приблизительно четыреста пятнадцать различных олигосахаридных композиций были исследованы в отношении их способности модулировать (*например*, сокращать) количество (*например*, относительное количество или абсолютное количество) патогенов и поддерживать рост комменсальных бактерий в определенном микробном сообществе (включающем 46 различных комменсальных бактериальных штаммов). Этот скрининг проводили путем добавления в определенное микробное сообщество трех резистентных к лекарственным средствам бактерий (CRE Klebsiella pneumoniae, CRE Escherichia coli и VRE Enterococcus faceium) и последующего выращивания меченного микробного сообщества в присутствии единственной исследуемой олигосахаридной композиции, в котором единственная исследуемая олигосахаридная композиция представляла собой единственный источник углерода.

[00256] Определенное микробное сообщество было сконструировано путем объединения 46 штаммов, которые принадлежали к типам Actinobacteria, Firmicutes и Bacteroidetes: Blautia producta, Blautia hansenii, Clostridium celatum, Bacteroiodes cellulosilyticus, Odoribacter splanchnicus, Bifidobacterium catenulatum, Eubacterium hallii,

Bacteroides dorei, Bifidobacterium pseudocatenulatum, Bifidobacterium adolescentis, Bacteroides coprophilus, Lactobacillus casei, Coprococcus catus, Bifidobacterium angulatum, Eubacterium ventriosum, Lachnospira multipara, Parabacteroides merdae, Bacteroides finegoldii, Parabacteroides distasonis, Bacteroides thetaiotaomicron, Blautia hydrogenotrophica, Blautia coccoides, Clostridium bolteae, Clostridium scindens, Holdemanella biformis, Bifidobacterium longum sub. Infantalis, Ruminococcus obeum, Dorea formicigenerans, Collinsella aerofaciens, Eubacterium eligens, Faecalibacterium prausnitzii, Bifidobacterium longum, Prevotella copri, Eubacterium rectale, Bacteroides uniformis, Succinivibrio dextrinosolvens, Roseburia intestinalis, Clostridium nexile, Bacteroides caccae, Bacteroides vulgatus, Dorea longicatena, Akkermansia muciniphila, Bacteroides thetaiotaomicron, Bacteroides cellulosilyticus, Clostridium symbiosum и Ruminococcus gnavus.

[00257] Для получения определенного микробного сообщества каждый из 46 различных комменсальных бактериальных штаммов независимо выращивали в стандартной среде из рубленого мяса с глюкозой (CMG) в течение 18-48 часов в зависимости от штамма. После выращивания оптическую плотность (OD_{600}) каждого бактериального штамма доводили до 0,2 и равные объемы каждого из 46 штаммов объединяли в один флакон с конечной концентрацией глицерина 15%. Аликвоты 1,5 мл определенного микробного сообщества замораживали при -80°. Штаммы CRE Klebsiella pneumoniae, CRE Escherichia coli и VRE Enterococcus faecium для использования в этом Примере получали из Центров по контролю и профилактике заболеваний (CDC) и выращивали в аэробных условиях в среде BHI в течение 12 часов при 37°C перед их добавлением в определенное микробное сообщество.

[00258] Замороженные аликвоты образца определенного микробного сообщества позже оттаивали и промывали средой, состоящей из 900 мг/л хлорида натрия, 26 мг/л дигидрата хлорида кальция, 20 мг/л гексагидрата хлорида магния, 10 мг/л тетрагидрата хлорида марганца, 40 мг/л сульфата аммония, 4 мг/л гептагидрата сульфата железа, 1 мг/л гексагидрата хлорида кобальта, 300 мг/л двухосновного фосфата калия, 1,5 г/л двухосновного фосфата натрия, 5 г/л бикарбоната натрия, 0,125 мг/л биотина, 1 мг/л пиридоксина, 1 мг/л пантотената, 75 мг/л гистидина, 75 мг/л глицина, 75 мг/л триптофана, 150 мг/л аргинина, 150 мг/л метионина, 150 мг/л треонина , 225 мг/л валина, 225 мг/л изолейцина, 300 мг/л лейцина, 400 мг/л цистеина и 450 мг/л пролина (Theriot CM et al. Nat Commun. 2014; 5:3114), в которую дополнительно добавляли 0,1% пептона и 0,75 мМ мочевины, чтобы довести образец определенного микробного сообщества до OD_{600} 0,01. Затем к образцу определенного микробного сообщества добавляли (*m. e.* использовали в качестве добавки) CRE Klebsiella pneumoniae, CRE Escherichia coli и VRE Enterococcus faecium, все с OD_{600} 0,01. Каждой меченой аликвоте добавляли одну из четырехсот пятнадцати различных олигосахаридных композиций (в качестве единственного источника углерода, присутствующего в аликвоте) в конечной концентрации 0,5% масс./об. или 0,05% масс./об. и инкубировали в течение 24 часов в анаэробной камере при 37°C. Воду использовали в качестве отрицательного контроля (*m. e.* без источника

углерода). Каждую олигосахаридную композицию воспроизводили до 3 раз. После 24 часов инкубации измеряли OD_{600} каждого меченого микробного сообщества, чтобы предоставить приблизительное значение общего анаэробного роста.

[00259] Для определения уровня патогенов в каждом меченом микробном сообществе каждое сообщество разводили в 200 раз в свежей среде Лурия-Бертани (LB) и инкубировали при аэробных условиях в течение 24 часов при 37°C. OD_{600} измеряли каждые 15 минут для построения кривых роста с использованием планшет-ридера Biotek. Время до середины логарифмической фазы роста рассчитывали и использовали для определения общей патогенной нагрузки в конце анаэробной фазы эксперимента. Меньшее значение времени до середины логарифмической фазы роста соответствовало более высоким уровням патогенов.

[00260] Для идентификации олигосахаридных композиций, которые поддерживали общий рост сообщества при снижении роста патогенов, как OD_{600} в конце анаэробной фазы (выше является признаком большего количества комменсалов), так и время до середины логарифмической фазы роста во время вторичного аэробного роста были нормированы в пределах их соответствующих показателей от 0 до 1. Эти два значения были умножены и вычтены из 1 (*т. е.* 1 - (анаэробный рост*аэробный рост)). Эти конечные значения, репрезентативные для отдельных олигосахаридных композиций, были нормированы к отрицательному контролю (воде) для идентификации олигосахаридных композиций, которые снижали уровни патогенных бактерий и повышали уровни комменсальных бактерий.

Пример 2. Сокращение количества патогенов в суспензиях кала человека в присутствии олигосахаридных композиций

[00261] Сто тридцать пять олигосахаридных композиций, которые сокращали количество патогенов и поддерживали комменсальный рост в меченом микробном сообществе Примера 1, дополнительно оценивали в отношении их способности аналогичным образом функционировать в суспензиях кала ex vivo людей, в которые добавляли единичные штаммы патогенов (VRE E. faecium, CRE K. pneumoniae или CRE E. coli). Олигосахаридные композиции получали при 5% масс./об. в воде, стерилизовали фильтрованием и добавляли в аналитические планшеты для 96-луночных микропланшетов с глубокими лунками до конечной концентрации 0,5% или 0,05% масс./об. в анализе, при этом вода представляла отрицательный контроль.

[00262] Образцы кала человека хранили при -80°C. Для приготовления рабочих растворов суспензии кала образец кала переносили в анаэробную камеру и давали ему оттаять. Затем готовили образец кала в 20% масс./об. в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) pH 7,4 (P0261, Teknova Inc., Hollister, CA), 15% глицерине. Суспензию кала 20% масс./об+15% глицерина центрифугировали при 2000×g, супернатант удаляли и осадок суспендировали в 1% ФСБ перед разбавлением в среде СМ, состоящей из 900 мг/л хлорида натрия, 26 мг/л дигидрата хлорида кальция, 20 мг/л гексагидрата хлорида магния, 10 мг/л тетрагидрата хлорида марганца, 40 мг/л сульфата аммония, 4 мг/л гептагидрата

сульфата железа, 1 мг/л гексагидрата хлорида кобальта, 300 мг/л двухосновного фосфата калия, 1,5 г/л двухосновного фосфата натрия, 5 г/л бикарбоната натрия, 0,125 мг/л биотина, 1 мг/л пиридоксина, 1 мг/л пантотената, 75 мг/л гистидина, 75 мг/л глицина, 75 мг/л триптофана, 150 мг/л аргинина, 150 мг/л метионина, 150 мг/л треонина, 225 мг/л валина, 225 мг/л изолейцина, 300 мг/л лейцина, 400 мг/л цистеина и 450 мг/л пролина (Theriot CM et al. Nat Commun. 2014; 5:3114), в которую дополнительно добавляли 750 мкМ мочевины для обеспечения конечного разведения суспензии кала 1% масс./об.

[00263] За день до начала эксперимента одноштаммовую CRE K. pneumoniae, одноштаммовую CRE E. coli и одноштаммовую VRE независимо выращивали в течение ночи в среде CM с 0,5% D-глюкозы в анаэробной камере. В день эксперимента аликвоты патогенных культур промывали ФСБ и оптическую плотность (OD_{600}) каждой патогенной культуры и 1% суспензии кала доводили до OD 0,1 в среде CM. Затем каждую из трех патогенных культур отдельно добавляли к трем аликвотам суспензии кала так, чтобы патогенные культуры составляли 8% конечного объема смеси суспензии кала/патогена. Каждую из трех смесей суспензии кала/патогена подвергали воздействию в 96-луночных планшетах с олигосахаридными композициями при конечной концентрации 0,05% масс./об. или 0,5% масс./об., конечный объем 350 мкл на лунку, при 37°C в течение 45 часов, анаэробно.

[00264] После инкубации ex vivo планшеты удаляли из анаэробной камеры и производили 200-кратное разведение каждой культуры в свежей среде Лурия-Бертани (LB). Эти разбавленные культуры инкубировали при аэробных условиях в течение 24 часов при 37°C. OD_{600} измеряли каждые 15 минут в течение 24 часов для построения кривых роста с использованием планшет-ридера Biotek. Время до середины логарифмической фазы роста рассчитывали и использовали для определения общей патогенной нагрузки в конце анаэробной фазы эксперимента. Меньшее значение времени до середины логарифмической фазы роста соответствовало более высоким уровням патогенов в конце анаэробной фазы эксперимента.

[00265] Комменсальные штаммы в сообществах суспензий кала являются строгими анаэробами и, следовательно, не растут в аэробных условиях. OD_{600}, измеренный в конце анаэробной инкубации (обозначаемый как анаэробный OD_{600}), и время до середины логарифмической фазы роста, рассчитанное по кривым аэробного роста, позволило идентифицировать выбранную олигосахаридную композицию, которая поддерживает исключительно комменсальный рост (*например*, высокий анаэробный OD_{600} и длительный период до середины логарифмической фазы роста).

Пример 3: Исследование способности олигосахаридных композиций поддерживать рост отдельных патогенов

[00266] Всего пятьдесят пять олигосахаридных композиций Примера 2 были дополнительно отобраны для исследования в дополнительном анализе, разработанном для непосредственного исследования, могут ли олигосахаридные композиции поддерживать рост отдельных патогенов.

[00267] Отдельные патогенные бактериальные штаммы, включая CRE Escherichia coli, CRE Klebsiella pneumoniae и Clostridium difficile, выращивали в CM и одноштаммовую VRE Enterococcus faecium выращивали в мегасреде (MM) до добавления одного препарата гликана или воды (без контроля углерода). Мегасреда (MM) содержит 10 г/л триптон-пептона, 5 г/л дрожжевого экстракта, 4,1 мМ L-цистеина, 100 мМ калий-фосфатного буфера (pH 7,2), 0,008 мМ сульфата магния, 4,8 мМ бикарбоната натрия, 1,37 мМ хлорида натрия, 5,8 мМ витамина K, 0,8% хлорида кальция, 1,44 мМ гептагидрата сульфата железа (II), 4 мМ резазурина, 0,1% гистидин-гематина, 1% микроэлементной добавки ATCC, 1% витаминной добавки ATCC, 29,7 мМ уксусной кислоты, 0,9 мМ изовалериановой кислоты, 8,1 мМ пропионовой кислоты, 4,4 мМ N-масляной кислоты с pH, доведенным до 7 с использованием гидроксида натрия. Эту среду стерилизовали фильтрованием с использованием фильтра 0,2 мкм и хранили в анаэробной камере перед использованием, чтобы позволить любому растворенному кислороду рассеяться. Отдельные штаммы E. coli (BAA-2340, BAA-97, 4 штамма, выделенные от пациентов, и ECO.139), K. pneumoniae (ATCC 33259, BAA-1705, BAA-2342 и 7 штаммов, выделенных от пациентов) и C. difficile выращивали изолированно в течение ночи в CM с 0,5% D-глюкозы в анаэробной камере COY. Отдельные штаммы E. faecium (ATCC 700221 и 9 штаммов, выделенных от пациентов, и EFM.70) выращивали изолированно в течение ночи в MM с 0,5% D-глюкозы в анаэробной камере COY. 1 мл каждой ночной культуры промывали ФСБ и измеряли оптическую плотность (OD_{600}) каждой культуры. Каждую культуру доводили до OD_{600} 0,01 в среде (*например*, CM или MM).

[00268] Внутри анаэробной камеры COY нормализованные одноштаммовые культуры E. coli, K. pneumoniae или C.difficile добавляли в 96-луночные микропланшеты с одной из олигосахаридных композиций в качестве единственного источника углерода в каждой лунке. Вода, добавляемая в среду (*например*, CM или MM) без какого-либо источника углерода, выполняла функцию контроля. Эти микропланшеты затем инкубировали при 37°C в анаэробной камере COY в течение 45 часов и OD_{600} измеряли каждые 15 минут для построения кривой роста для каждой экспериментальной лунки. Каждую олигосахаридную композицию исследовали в трех повторностях в отношении каждого бактериального патогена.

[00269] Площадь под кривой (AUC) вычисляли для кривой роста и определяли время до середины логарифмической фазы роста для каждого эксперимента.

[00270] Выбранная олигосахаридная композиция не поддерживала рост (или поддерживала очень низкий рост) CRE E. coli, CRE K. pneumoniae, VRE E. faecium или C. difficile. Эти результаты дополнительно продемонстрировали, что выбранная олигосахаридная композиция не поддерживает рост патогенов и, таким образом, препятствует росту патогенов и их количества в микробных сообществах, избирательно способствуя росту комменсальных бактерий.

Пример 4. Сокращение роста и количества патогенов в присутствии выбранной олигосахаридной композиции в культурах отдельных штаммов

патогенов

[00271] Выбранную олигосахаридную композицию, состоящую из множества олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III), и полученную способом, описанным в Примерах 7-9, дополнительно исследовали в отношении ее способности снижать рост и количество отдельных штаммов патогенов, которые часто встречаются у тяжелобольных пациентов и пациентов с ослабленным иммунитетом.

[00272] Три штамма Nap1 C.difficile и один штамм C.difficile из риботипа 012 получали от ATCC® (ATCC® BAA-1870™, ATCC® BAA-1803™, ATCC® BAA-1805™ и ATCC® BAA-1382™). Каждый штамм выращивали анаэробно в среде CM при 37°C в течение 24 часов до тех пор, пока каждый штамм не достигал оптической плотности (OD_{600}) приблизительно 1. Каждую культуру доводили до OD_{600} 0,01 и затем инкубировали с глюкозой или образцом выбранной олигосахаридной композиции. Воду добавляли в среду без какого-либо добавленного источника углерода в качестве отрицательного контроля. Конечная концентрация глюкозы или выбранной олигосахридной композиции в каждом анализе составляла 0,5% масс./об. и каждый анализ проводили в 3 повторностях в каждой пластинке роста. Планшеты инкубировали при 37°C в анаэробной камере в течение 48 часов. Оптическую плотность определяли для каждого штамма каждые 15 минут в течение 48 часов.

[00273] Исследуемые штаммы C. difficile минимально росли на олигосахаридных композициях, как и штаммы, выращенные в присутствии воды (ФИГ. 2). Между тем, каждый из штаммов C. difficile рос до высокого OD_{600} в присутствии глюкозы.

[00274] Выбранную олигосахаридную композицию дополнительно исследовали в отношении ее способности снижать рост и количество отдельных штаммов CRE Escherichia coli, CRE Klebsiella pneumoniae и VRE E. faecium. Отдельные штаммы E. coli (один штамм, полученный из панели пограничных значений CDC Enterobacteriaceae-карбапенем, другой, выделенный от пациента) и K. pneumoniae (один штамм из панели CDC, другой, выделенный от пациента) выращивали изолированно в течение ночи в среде CM с 0,5% D-глюкозы в анаэробной камере COY. Отдельные штаммы E. faecium (ATCC 700221 и 2 штамма, выделенные от пациентов) выращивали изолированно в течение ночи в среде MM с 0,5% D-глюкозы в анаэробной камере COY. Среду стерилизовали фильтрованием с использованием фильтра 0,2 мкм и хранили в анаэробной камере перед использованием, чтобы позволить любому растворенному кислороду рассеяться. 1 мл каждой ночной культуры промывали ФСБ и измеряли OD_{600} каждой культуры. Каждую культуру доводили до OD_{600} 0,01 и затем инкубировали с глюкозой, фруктоолигосахаридом (ФОС) или образцом выбранной олигосахаридной композиции. Воду добавляли к среде без какого-либо добавленного источника углерода в качестве отрицательного контроля. Конечная концентрация глюкозы, ФОС или выбранной олигосахридной композиции в каждом анализе составляла 0,5% масс./об., и каждый анализ проводили в 3 повторностях в каждой пластинке роста. Планшеты инкубировали при 37°C в анаэробной камере в течение 45 часов. Оптическую плотность определяли для

каждого штамма каждые 15 минут в течение 48 часов.

[00275] Патогены CRE и VRE демонстрировали незначительный рост или его отсутствие в присутствии образцов выбранной олигосахаридной композиции, аналогично росту патогенов в присутствии водного контроля (ФИГ. 3 и ФИГ. 4).

[00276] Выбранную олигосахаридную композицию исследовали в отношении ее способности снижать рост и количество отдельных штаммов грибковых патогенов (Candida albicans, Candida glabrata, Candida krusei и Candida tropicalis). Каждый из четырех штаммов Candida albicans, Candida glabrata, Candida krusei и Candida tropicalis получали от ATCC (ATCC MYA-2950, ATCC 14243, ATCC 201380 и ATCC MYA-2876). Исследовали также дополнительные штаммы Candida lusitaniae (ATCC 66035 и ATCC 42720). Все штаммы Candida выращивали в аэробных условиях в модифицированном бульоне Сабуро (раствор 10 г/л пептона) с глюкозой при 2% конечной концентрации при 37°C в течение 24 часов до тех пор, пока каждый штамм не достигал оптической плотности (OD_{600}) приблизительно 1. 200 мкл каждой культуры разводили в 3 мл модифицированного бульона Сабуро и добавляли 120 мкл в каждую лунку 96-луночного планшета, содержащего 80 мкл одного из следующих 5% масс./об. растворов на лунку: глюкоза, ФОС или образец выбранной олигосахаридной композиции. Воду использовали в качестве отрицательного контроля. Конечная концентрация глюкозы, ФОС или выбранной олигосахаридной композиции в каждом анализе для исследования Candida albicans, Candida glabrata, Candida krusei или Candida tropicalis составляла 2%, каждый анализ проводили в 3 повторностях и планшеты инкубировали при 37°C в течение в общей сложности 65 часов. Конечная концентрация глюкозы, ФОС или выбранной олигосахаридной композиции в каждом анализе для исследования штаммов Candida lusitaniae составляла 0,5%, каждый анализ проводили в 3 повторностях и планшеты инкубировали при 37°C в течение в общей сложности 48 часов. Данные по оптической плотности собирали для каждого штамма Candida albicans, Candida glabrata, Candida krusei или Candida tropicalis каждые 15 минут; данные по оптической плотности собирали для штаммов Candida lusitaniae в конце эксперимента.

[00277] Каждый из штаммов Candida albicans, Candida glabrata, Candida krusei или Candida tropicalis минимально рос в присутствии образцов выбранной олигосахаридной композиции (ФИГ. 5). Между тем, каждый из этих штаммов рос до высокого OD_{600} в присутствии глюкозы. Кроме того, рост каждого штамма Candida в присутствии выбранной олигосахаридной композиции был аналогичен росту в присутствии воды (отрицательный контроль, без источника углерода).

[00278] Оба штамма Candida lusitaniae минимально росли в присутствии образцов выбранной олигосахаридной композиции (ФИГ. 6А-6В). Между тем, каждый из этих штаммов рос до высокого OD_{600} в присутствии глюкозы. Кроме того, рост обоих штаммов Candida в присутствии выбранной олигосахаридной композиции был аналогичен росту в присутствии воды (отрицательный контроль, без источника углерода).

[00279] Эти данные в совокупности демонстрируют, что выбранная

олигосахаридная композиция, полученная в соответствии с Примерами 7-9, не поддерживает рост и количество патогенных микробов (бактерий и грибов), о чем свидетельствует неспособность любого из исследованных C. difficile, VRE. (E. faecium) и CRE (CRE E. coli, CRE K. pneumoniae) и штаммов Candida. Напротив, все исследуемые штаммы показали значительный рост в присутствии глюкозы и/или ФОС.

Пример 5. Оценка выбранных олигосахаридных композиций в суспензиях кала госпитализированных пациентов

[00280] Способность выбранной олигосахаридной композиции, состоящей из множества олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III), полученной способом, аналогичным описанному в Примерах 7-9, снижать рост патогена в образцах микробиома из суспензий кала оценивали у тринадцати госпитализированных пациентов, получающих лечение антибиотиками в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ).

[00281] Образцы кала пациентов ОРИТ и здоровых объектов собирали и хранили при -80°C. Для приготовления материала кала для применения в анализе ex vivo аликвоты 20% масс./об. суспензии в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) и глицерине размораживали в анаэробной камере COY. Эту суспензию разбавляли до конечной концентрации 1% (масс./об.) в мегасреде (ММ). Композиция мегасреды представляет собой, как описано в Romano, K.A. et. al., mBio. 2015 Mar-Apr; 6(2): e02481-14. Эту среду стерилизовали фильтрованием с использованием фильтра 0,2 мкм и хранили в анаэробной камере перед использованием, чтобы позволить любому растворенному кислороду рассеяться.

[00282] Отдельный штамм карбапенем-резистентных Enterobacteriaceae (CRE) и ванкомицин-резистентных Enterococcaceae (VRE) выращивали изолированно в течение ночи в ММ с 0,5% D-глюкозы в камере COY. В день эксперимента аликвоты ночных культур промывали ФСБ и измеряли оптическую плотность (OD_{600}) культур. Культуры доводили до OD_{600} 0,1 в ММ.

[00283] Суспензии кала пациентов ОРИТ и здоровых объектов смешивали или с культурой карбапенем-резистентных Enterobacteriaceae (CRE), или с культурой ванкомицин-резистентных Enterococcaceae (VRE), так что эти патогены составляли 8% (об./об.) конечной смеси. Затем суспензии кала подвергали метагеномному секвенированию 16S для определения исходного количества (*например*, относительного количества или абсолютного количества) патогенов и комменсальных бактерий. Затем культуры добавляли в 96-луночные микропланшеты с одним из следующих источников углерода (конечная концентрация 0,5% масс./об.) в каждой лунке: мальтодекстрин, фруктоолигосахарид, образец выбранной олигосахаридной композиции или вода (отрицательный контроль, *т. е.* без источника углерода). Эти микропланшеты затем инкубировали при 37°C в камере COY в течение в общей сложности 45 часов, при этом каждое экспериментальное условие исследовали в трех повторностях на каждом планшете.

[00284] В конце 45-часовой инкубации образец культуры из каждой лунки

подвергали метагеномному секвенированию 16S для определения конечного количества (*например*, относительного количества или абсолютного количества) патогена и комменсальных бактерий в сообществе после воздействия олигосахаридной композиции.

[00285] Для метагеномного секвенирования 16S геномная ДНК была извлечена из суспензий кала и вариабельная область 4 гена 16S рРНК была амплифицирована и секвенирована (Earth Microbiome Project protocol www.earthmicrobiome.org/emp-standard-protocols/16s/ и Caporaso JG et al. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. ISME J. (2012) Aug;6(8):1621-4). Необработанные последовательности были демультиплексированы, и каждый образец был обработан отдельно с помощью UNOISE2 (Robert Edgar UNOISE2: improved error-correction for Illumina 16S and ITS amplicon sequencing. bioRxiv (2016) Oct. 15). Считывания из данных секвенирования ампликона 16S рРНК были уменьшены до 5000 считываний без замены, и результирующая таблица OTU использовалась в последующих вычислениях.

[00286] Суспензии кала здоровых объектов содержали большее разнообразие комменсальных таксонов по сравнению с суспензиями кала пациентов ОРИТ (ФИГ. 12). Например, суспензии кала трех из тринадцати пациентов ОРИТ содержали низкие уровни комменсальных бактерий (ФИГ. 12).

[00287] Выбранная олигосахаридная композиция снижала количество карбапенем-резистентных Enterobacteriaceae (ФИГ. 7A) и ванкомицин-резистентных Enterococcaceae (ФИГ. 7B) в меченых суспензиях кала пациентов ОРИТ, как оценивалось с помощью секвенирования 16S. Сокращение количества (*например*, относительного количества или абсолютного количества) карбапенем-резистентных Enterobacteriaceae наблюдали в суспензиях кала у десяти из тринадцати пациентов ОРИТ. Наблюдали меньшее сокращение количества карбапенем-резистентных Enterobacteriaceae у трех пациентов ОРИТ, у которых было мало комменсальных бактерий, что указывает на то, что количество комменсальных бактерий в микробиоме кишечника может влиять на степень сокращения патогенов выбранной олигосахаридной композицией. Количество каждого из этих патогенов (карбапенем-резистентных Enterobacteriaceae и ванкомицин-резистентных Enterococcaceae) было больше в тех меченых суспензиях кала, которые инкубировали в присутствии ФОС (коммерческое волокно) или мальтодекстрина. Это демонстрирует, что выбранная олигосахаридная композиция, состоящая из множества олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III), полученная способом, аналогичным описанному в Примерах 7-9, способна снижать или предотвращать рост патогенов, таких как карбапенем-резистентные Enterobacteriaceae (CRE) и ванкомицин-резистентные Enterococcaceae (VRE) в медицинской релевантной модели.

Пример 6. Оценка выбранных олигосахаридных композиций в суспензиях кала пациентов с печеночной энцефалопатией (ПЭ)

[00288] В некоторых случаях патогенная инфекция потенциально может быть провоцирующим фактором печеночной энцефалопатии (ПЭ) у определенных пациентов. Кроме того, пациенты с ПЭ могут иметь ослабленный иммунитет и быть восприимчивыми

к патогенной инфекции. Исследовалась способность выбранной олигосахаридной композиции, состоящей из множества олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III), полученной способом, аналогичным описанному в Примерах 7-9, снижать количество патогенов у пациентов с ПЭ. В образцы микробиома 44 пациентов с ПЭ добавляли один штамм патогена (CRE E. coli или VRE E. faecium) и затем выращивали в присутствии выбранной олигосахаридной композиции, ФОС или воды (отрицательный контроль, *т. е.* без источника углерода).

[00289] Образцы кала пациентов с ПЭ и здоровых объектов собирали и хранили при -80°. Для приготовления материала кала для применения в анализе ex vivo его помещали в анаэробную камеру COY и превращали в 20% масс./об. суспензию в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) с 15% глицерина. Аликвоты каждой суспензии кала хранили при -80°. Для этого эксперимента аликвоту каждой суспензии размораживали при температуре окружающей среды в камере COY. Аликвоты центрифугировали при 2000×g в течение 5 минут и супернатант отбрасывали. Осадок клеток ресуспендировали в ФСБ и затем дополнительно разбавляли 1% раствором в мега среде (ММ). Эту среду стерилизовали фильтрованием с использованием фильтра 0,2 мкм и хранили в анаэробной камере перед использованием, чтобы позволить любому растворенному кислороду рассеяться.

[00290] Отдельный штамм карбапенем-резистентных Enterobacteriaceae (CRE) и ванкомицин-резистентных Enterococcaceae (VRE) выращивали изолированно в течение ночи в ММ с 0,5% D-глюкозы в камере COY. В день эксперимента аликвоты ночных культур промывали ФСБ и измеряли оптическую плотность (OD_{600}) культур и суспензий кала. Измерения OD_{600} использовали для нормализации бактериальных культур или до OD_{600} 0,01, или до OD_{600} 0,1 и суспензий кала до OD_{600} 0,1 в ММ. После нормализации штамм CRE или штамм VRE добавляли к суспензиям кала при 8% (об./об.) общей культуры. Каждую партию штамма CRE и штамма VRE, которые были нормализованы до OD_{600} 0,01, добавляли к 12 суспензиям кала. К оставшимся 32 суспензиям кала добавляли культуры этих патогенов, которые были нормализованы до OD_{600} 0,1. Затем образец каждой суспензии кала с добавкой патогенов подвергали поверхностному секвенированию «методом дробовика» (секвенированию 16S) для определения исходного количества (*например*, относительного количества или абсолютного количества) патогенов и комменсальных бактерий. Затем смешанную культуру добавляли в 96-луночные микропланшеты с одним из следующих источников углерода (конечная концентрация 0,5% масс./об.) в каждой лунке: выбранная олигосахаридная композиция, ФОС или вода. Затем эти микропланшеты инкубировали при 37°C в камере COY в течение 45 часов. Каждую олигосахаридную композицию исследовали в трех повторностях на каждом планшете, при этом каждое экспериментальное условие исследовали в трех повторностях на каждом планшете.

[00291] После инкубации выполняли секвенирование 16S, как в Примере 5 для определения количества патогена в каждом образце суспензии кала.

[00292] Кратное сокращение количества патогена CRE или патогена VRE для каждой экспериментальной композиции и образца пациента определяли относительно воды (отрицательный контроль). Выбранная олигосахаридная композиция сокращала количество как карбапенем-резистентных Enterobacteriaceae (ФИГ. 8A), так и ванкомицин-резистентных Enterococcaceae (ФИГ. 8B) в большей степени, чем ФОС, коммерчески доступное волокно. Сокращение относительного численности как карбапенем-резистентных Enterobacteriaceae, так и ванкомицин-резистентных Enterococcaceae сопровождалось увеличением количества комменсальных бактерий в суспензиях кала пациента (ФИГ. 13). Например, наблюдали сокращение количества Firmicutes (таких как VRE E. faecium и Clostridiales) и увеличение количества комменсальных бактерий, таких как Bacteroidetes (*например*, Bacteroidales) в образцах кала, в которые были добавлены VRE E. faecium. Кроме того, наблюдали сокращение количества Proteobacteria (таких как Enterobacteriales) и увеличение количества комменсальных бактерий, таких как Bacteroidetes (*например*, Bacteroidales) в образцах кала, в которые были добавлены CRE E. coli. Эти результаты демонстрируют, что выбранная олигосахаридная композиция, состоящая из множества олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III), полученная способом, аналогичным описанному в Примерах 7-9, способна сокращать или предотвращать рост патогенов, таких как карбапенем-резистентные Enterobacteriaceae (CRE) и ванкомицин-резистентные Enterococcaceae (VRE) на соответствующей модели печеночной энцефалопатии (ПЭ). Кроме того, выбранная олигосахаридная композиция способна индуцировать рост и увеличивать количество комменсальных микробных видов в этой соответствующей модели печеночной энцефалопатии (ПЭ).

Пример 7. Получение выбранной олигосахаридной композиции в масштабе 10 кг из моногидрата декстрозы, галактозы и маннозы с использованием твердого полимерного катализатора

[00293] Методика была разработана для синтеза выбранной олигосахаридной композиции, как описано в Примерах 4-6, в масштабе 10 килограмм. 4,46 кг моногидрата декстрозы, 4,05 кг галактозы, 0,90 кг маннозы и 0,90 кг (0,450 кг в пересчете на сухое твердое основание) предварительно кондиционированного твердого полимерно-кислотного катализатора (смола Dowex® Marathon® C) добавляли в реакционный сосуд (22 л Littleford-Day горизонтальный плуговый смеситель) с присоединенной перегонной конденсаторной установкой.

[00294] Регулятор температуры устанавливали до 140°C и инициировали перемешивание (взбалтывание) содержимого сосуда при 30 об/мин для обеспечения равномерной теплопередачи и плавления твердых частиц сахара, когда температура сиропа была доведена до приблизительно 140°C при давлении окружающей среды (атмосферном) постепенно в течение периода 2,5 часов.

[00295] Реакционную смесь выдерживали при температуре приблизительно 140°C в течение 1,5 часов (90 минут), после чего нагревание прекращали и к реакционной смеси

постепенно добавляли предварительно нагретую воду со скоростью 60 мл/мин до тех пор, пока температура содержимого реактора не снижалась до 120°C, затем со скоростью 150 мл/мин, пока температура содержимого реактора не снижалась до 110°C, и затем со скоростью 480 мл/мин, пока температура содержимого реактора не снижалась ниже 100°C, и всего было добавлено 6 кг воды. В реактор добавляли дополнительно 1,75 кг воды для дальнейшего разбавления.

[00296] Реакционную смесь сливали из сосуда и твердые вещества удаляли фильтрованием, в результате чего получали 15 кг неочищенного материала продукта олигосахаридной композиции в виде водного раствора (приблизительно 45 масс.%).

[00297] Композицию олигосахаридной композиции очищали, пропуская ее через колонку с катионообменной смолой (Dowex® Monosphere® 88H), две колонки с обесцвечивающей полимерной смолой (Dowex® OptiPore® SD-2) и колонку с анионообменной смолой (Dowex® Monosphere® 77WBA). Полученная очищенная олигосахаридная композиция имела концентрацию приблизительно 35 масс.% и затем была сконцентрирована до конечной концентрации приблизительно 75 масс.% твердых веществ с помощью роторного испарения под вакуумом.

Пример 8. Получение олигосахаридной композиции в масштабе 100 г из моногидрата декстрозы, галактозы и маннозы с использованием твердого полимерного катализатора

[00298] Методика была разработана для синтеза выбранной олигосахаридной композиции, как описано в Примерах 4-6, в масштабе 100 грамм. 45 г моногидрата декстрозы, 45 г галактозы, 10 г маннозы добавляли в реакционный сосуд (1 л трехгорлую круглодонную колбу). Реакционный сосуд снабжали нагревательным кожухом с верхней мешалкой. Термопара зонда была расположена в сосуде через перегородку, так что наконечник зонда находился над лопастью мешалки и не соприкасался со стенками реакционного сосуда. Перед добавлением катализатора реакционный сосуд оборудовали конденсатором, работающим с обратным холодильником.

[00299] В методике также использовали кислотный катализатор олигомеризации (Dowex Marathon C) (3-5% масс./масс.) и деионизированную воду для гашения. В некоторых случаях с катализатором обращались во влажном виде, *например*, при номинальном содержании влаги 45-50 масс.% H_2O. Точное содержание влаги в катализаторе обычно определяли для каждого эксперимента с использованием, например, весов для анализа влажности (*например*, Mettler-Toledo MJ-33). После добавления катализатора реакционный сосуд устанавливали в положение для дистилляции для удаления избытка воды в ходе протекания реакции.

[00300] Регулятор температуры устанавливали на заданную температуру (от 100 до 160°C) и инициировали перемешивание содержимого сосуда для обеспечения равномерной теплопередачи и плавления твердых частиц сахара, когда температура сиропа была доведена до до заданной температуры при давлении окружающей среды (атмосферном).

[00301] После добавления катализатора реакцию поддерживали при заданной температуре при непрерывном перемешивании в течение приблизительно 4 часов, определяемую после реакции с помощью ВЭЖХ. Затем отключали нагрев, в то время как поддерживая постоянное перемешивание.

[00302] Затем реакцию гасили, медленно добавляя приблизительно 60 мл деионизированной (ДИ) воды (комнатной температуры) для разбавления и охлаждения смеси продуктов с целью достижения конечной концентрации 60-70 масс.% растворенных твердых веществ. Обычно скорость добавления воды выполнялась для регулирования вязкости смеси по мере охлаждения и разбавления олигосахаридной композиции.

[00303] После разбавления олигосахаридную композицию охлаждали приблизительно до 60°C. Затем катализатор удаляли вакуумной фильтрацией через сито с размером ячеек 100 микрон или стеклянный фильтр с пористой пластинкой с получением конечной олигосахаридной композиции при приблизительно 40°Bx.

Пример 9. Получение выбранной олигосахаридной композиции в масштабе 10 кг из моногидрата декстрозы, галактозы и маннозы с использованием катализатора лимонной кислоты

[00304] Методика была разработана для синтеза выбранной олигосахаридной композиции, как описано в Примерах 4-6, в масштабе 10 килограмм. 4,46 кг моногидрата декстрозы, 4,05 кг галактозы, 0,90 кг маннозы, 0,29 кг кислотного катализатора моногидрата лимонной кислоты (или 0,27 кг безводной лимонной кислоты) и 0,48 кг воды добавляли в реакционный сосуд (22 л Littleford-Day горизонтальный плуговый смеситель). К реактору была присоединена перегонная конденсаторная установка.

[00305] Содержимое перемешивали при приблизительно 30 об/мин и температуру сосуда постепенно повышали в течение периода 2,5 часов до приблизительно 139°C при атмосферном давлении. Смесь выдерживали при температуре полтора часа. В дальнейшем нагревание прекращали и к реакционной смеси постепенно добавляли предварительно нагретую воду при скорости 60 мл/мин до тех пор, пока температура содержимого реактора не снижалась до 120°C, затем при 150 мл/мин, пока температура содержимого реактора не снижалась до 110°C, затем при 480 мл/мин, пока не было добавлено всего 6 кг воды и температура содержимого реактора не снижалась ниже 100°C. В реактор добавляли дополнительно 1,75 кг воды для дальнейшего разбавления. Реакционную смесь сливали из сосуда, в результате чего получали 15 кг неочищенного продукта олигосахаридной композиции в виде водного раствора (приблизительно 53 масс.%).

Пример 10. Методика демономеризации

[00306] Отдельные партии олигосахаридной композиции, полученные в Примерах 7-9, концентрировали на роторном испарителе до приблизительно 50 Брикс, как измерено с помощью рефрактометра Brix, после обработки ионообменными смолами (*например*, как описано в настоящей заявке). Полученный сироп (200 мг) загружали в колонку Teledyne ISCO RediSep Rf Gold Amine (11 грамм неподвижной фазы) с помощью шприца с люэровским наконечником. Также можно использовать другие аналогичные колонки,

такие как Biotage SNAP KP-NH Catridges. Образец очищали на Biotage Isolera, оборудованном детектором ELSD, с использованием градиента подвижной фазы от 20/80 до 50/50 (об./об.) деионизированная вода/ACN на 55 объемах колонки. Также можно использовать другие системы флэш-хроматографии, такие как Teledyne ISCO Rf. Скорость потока была установлена в соответствии со спецификациями производителя для колонки и системы. После того, как фракция мономера полностью элюировалась при ~20 объемах колонки, подвижная фаза была установлена до 100% воды до тех пор, пока не элюировался и не собирался остаток олигосахаридной композиции. Фракции, содержащие немономеры, концентрировали на роторном испарителе с получением демономеризованного продукта.

Пример 11. Сбор образцов кала

[00307] Образцы кала собирали, предоставляя объектам систему сбора образцов Fisherbrand Commode (Fisher Scientific) и соответствующие инструкции по применению. Собранные образцы хранили со льдом или при -80°C до обработки (Mclnnes & Cutting, Manual of Procedures for Human Microbiome Project: Core Microbiome Sampling Protocol A, 2010, hmpdacc.org/doc/HMP_MOP_Versionl2_0_072910.pdf). Также можно использовать альтернативные устройства для сбора. Например, образцы можно собирать в пробирку для кала 54×28 мм (Sarstedt AG, 25 мл SC контейнер для кала с/ложкой), контейнер с завинчивающейся крышкой с ложкой Globe Scientific (Fisher Scientific) или систему сбора OMNIgene-GUT (DNA Genotek, Inc.), которая стабилизирует микробную ДНК для последующей экстракции и анализа нуклеиновых кислот. Аликвоты образцов кала хранили при -20°C и -80°C, следуя стандартным протоколам, известным специалисту в данной области техники.

Пример 12. Определение уровня патогенов у объектов

[00308] Для определения титра патогенов, переносимых в желудочно-кишечном тракте, с помощью подходящего способа собирают образцы кала или ректальные мазки. Материал образца культивируют, *например*, на i) циклосерин-цефокситин-фруктозном агаре (доступном, например, от Anaerobe Systems), культивируемом анаэробно для селективного и дифференцированного роста Clostridium difficile; ii) агаре с эозином и метиленовым синим (доступном, например, от Teknova), культивируемом аэробно для определения титра Escherichia coli и других грамотрицательных кишечных бактерий, большинство из которых являются условно-патогенными микроорганизмами; iii) желчно-эскулиновом агаре (BD), культивируемом аэробно для определения титра видов Enterococcus; iv) кровяном агаре с фенилэтиловым спиртом (Becton Dickinson) или кровяном агаре с колистин-налидиксовой кислотой (CNA) (например, от Hardy Diagnostics), культивируемом аэробно для выращивания видов Enterococcus и/или Streptococcus; v) селективном агаре для Bifidobacterium (Anaerobe Systems) для определения титра видов Bifidobacterium; vi) или агаре МакКонки (Fisher Scientific) для определения титра E. coli и других грамотрицательных кишечных бактерий. В зависимости от конкретного случая можно использовать дополнительные антибиотики

для выбора резистентных к лекарственным средствам подгрупп этих бактерий, например, ванкомицин (*например*, для ванкомицин-резистентных Enterococcus), цефокситин (*например*, для бета-лактамаз расширенного спектра или Enterococcus), ципрофлоксацин (*например*, для резистентности к фторхинолонам), ампициллин (*например*, для ампициллин-резистентных бактерий) и цефтазидим (*например*, для цефалоспорин-резистентных бактерий). Кроме того, могут быть добавлены хромогенные субстраты для облегчения дифференциации патогенов от комменсальных штаммов, например, с помощью планшетов ChromID (Biomerieux) или ChromAgar (Becton Dickinson). Планшеты инкубируют при 35-37°C при аэробных, анаэробных или микроаэрофильных условиях, в зависимости от патогена. Через 16-48 часов колонии подсчитывают и используют для обратного расчета концентрации жизнеспособных клеток в исходном образце.

[00309] Для количественной оценки измеряют объем или массу образца объектов и готовят серийные разведения 1:10 в фосфатно-солевом буфере или другом разбавителе с последующим посевом, ростом и подсчетом колоний для определения уровня патогена в образце.

[00310] В качестве альтернативы количество патогена измеряют с помощью количественной ПЦР. Для этого способа разрабатывают праймеры, специфичные для одного или более патогенов (включая бактериальные патогены, вирусные патогены и патогенные простейшие), описанных в настоящей заявке, и используют в количественной ПЦР в реальном времени (например, с использованием реакции ПЦР, для которой двуцепочечный специфичный флуоресцентный краситель, такой как Sybr Green, или зонд Taqman, специфичный для последовательности (Applied Biosystems/Thermo Scientific). Геномную ДНК экстрагируют из каждого образца с использованием набора для выделения ДНК Mo Bio Powersoil®-htp 96 Well Soil (Mo Bio Laboratories, Carlsbad, Calif.) в соответствии с инструкциями изготовителя или путем взбивания гранул, *например*, выполняемого в течение 2 минут с использованием BioSpec Mini-Beadbeater-96 (BioSpec Products, Bartlesville, Okla.). Альтернативно, геномную ДНК выделяют с использованием набора для выделения ДНК Mo Bio Powersoil® (Mo Bio Laboratories, Carlsbad, Calif.) или мининабора the QIAamp DNA Stool (QIAGEN, Valencia, Calif.) в соответствии с инструкциями изготовителя. Пороговое значение цикла образца объекта в количественной ПЦР затем сравнивают со стандартной кривой известного количества патогенов, чтобы определить уровень патогена в образце. Разработка анализов описана (*например*, в «Application of the fluorogenic probe technique (TaqMan PCR) to the detection of Enterococcus spp. and Escherichia coli in water samples», Edith Frahm and Ursala Obst, J. Microbiol. Meth. 2003 Jan;52(1):123-31). В качестве альтернативы, чтобы упростить метод анализа, для многих патогенов доступны реагенты, специфичные для аналитов, например, от Luminex, Inc (www.luminexcorp.com). Альтернативно или дополнительно универсальные рибосомные праймеры используют для количественного измерения общего числа копий геномов от патогенов с целью определения относительного вместо абсолютного количества патогенов. В случае необходимости рассчитывают соотношение патогена и

общего количества копий. Подсчет колоний может быть нормализован (*например*, рассчитывается соотношение) к общему содержанию ДНК в образце или к количественному показателю, *например*, определенному с помощью кПЦР с использованием универсальных рибосомных праймеров.

[00311] В качестве альтернативы, количество колоний патогена или всех объединенных патогенов сравнивают с общим количеством колоний образца, культивируемого при неселективных условиях. Образцы культивируют на обогащенной среде или агаре, таком как кровяной агар для Brucella (Anaerobe Systems), бульон с сердечно-мозговым экстрактом (Teknova) или шоколадный агар (Anaerobe Systems). Максимальное количество колоний на этих средах, выращенных анаэробно, используют в качестве знаменателя в нормализованном соотношении патогенов и комменсалов в качестве относительного показателя.

[00312] Количество патогена также можно оценить с помощью профилирования 16s рибосомной ДНК. Геномная ДНК извлекается из исследуемых образцов (*например*, образцов кала, ректальных мазков, мазков с кожи или слизистых оболочек, биопсий или образцов тканей) и вариабельная область 4 гена 16S рРНК амплифицируется и секвенируется (Earth Microbiome Project protocol www.earthmicrobiome.org/emp-standard-protocols/16s/ и Caporaso JG et al. 2012. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. ISME J.). Операционные таксономические единицы (OTUs) генерируются путем выравнивания последовательностей 16S рРНК с идентичностью 97% или ниже, в зависимости от ситуации. Затем OTUs, потенциально представляющие патогенные виды, оценивают путем сопоставления OTUs с известными таксономическими структурами, такими как те, которые поддерживаются NCBI (ncbi.nlm.nih.gov) или Проектом рибосомных баз данных (https://rdp.cme.msu.edu), и их количество оценивается, например, как соотношение количества последовательностей патогенов и общего количества последовательностей.

Пример 13. Определение распределения гликозидных связей с использованием анализа перметилирования

[00313] Определение распределения гликозидных связей в образцах выбранной олигосахаридной композиции, полученной способом в Примерах 7 и 9, проводили с использованием анализа перметилирования в соответствии с протоколом, описанным ниже. Перед анализом перметилирования образцы подвергали демономеризации.

[00314] Используемые реагенты представляли собой метанол, уксусную кислоту, бородейтерид натрия, карбонат натрия, дихлорметан, изопропанол, трифторуксусную кислоту (ТФУК) и уксусный ангидрид. Оборудование включало нагревательный блок, сушильный аппарат, газовый хроматограф, оборудованный для капиллярных колонок и детектором RID/MSD, и 30-метровый RTX®-2330 (RESTEK). Все методики получения производили в вытяжном шкафу.

Получение ацетатов альдита

А. Стандартное получение

[00315] Готовили 1 мг/мл растворы следующих стандартных аналитов: арабинозы, рамнозы, фукозы, ксилозы, маннозы, галактозы, глюкозы и инозита. Стандарт получали с помощью смешивания 50 мкл каждой из арабинозы, ксилозы, фукозы, глюкозы, маннозы и галактозы с 20 мкл инозита в виале. В дальнейшем стандарт лиофилизировали.

B. Получение образца

[00316] Каждый образец готовили путем смешивания 100-500 мкг выбранной олигосахаридной композиции (как взвешено на аналитических весах) с 20 мкг (20 мкл) инозита в виале.

C. Гидролиз

[00317] 200 мкл 2 М трифторуксусной кислоты (ТФУК) добавляли к образцу(ам). Виалу, содержащую образец, плотно закрывали и инкубировали на нагревательном блоке в течение 2 часов при 121°C. Через 2 часа образец вынимали из нагревательного блока и оставляли остывать до комнатной температуры. Затем образец высушивали N_2/воздухом. Добавляли 200 мкл ИПС (изопропанола) и снова высушивали N_2/воздухом. Эту стадию гидролиза (добавление ТФУК в течение двух часов при 121°C; промывание изопропанолом) повторяли дважды.

[00318] Стандарт аналогичным образом подвергали гидролизу с использованием ТФУК, как описано для образца.

D. Восстановление и ацетилирование

[00319] Готовили 10 мг/мл раствор бордейтерида натрия в 1 М гидроксиде аммония. К образцу добавляли 200 мкл этого раствора. Затем образец инкубировали при комнатной температуре в течение, по меньшей мере, одного часа или в течение ночи. После инкубации с раствором бордейтерида натрия к образцу добавляли 5 капель ледяной уксусной кислоты с последующим добавлением 5 капель метанола. Затем образец высушивали. К образцу добавляли 500 мкл 9:1 MeOH:HOAc и в дальнейшем высушивали (повторяли дважды). Затем к образцу добавляли 500 мкл MeOH и в дальнейшем высушивали (повторяли один раз). На стенке виалы с образцом образовывался твердый белый осадок.

[00320] Затем в виалу с образцом добавляли 250 мкл уксусного ангидрида и образец встряхивали для растворения. К образцу добавляли 230 мкл концентрированной ТФУК и образец инкубировали при 50°C в течение 20 минут. Образец удаляли из нагревательного блока и оставляли остывать до комнатной температуры. Добавляли приблизительно 1 мл изопропанола и образец высушивали. Затем добавляли приблизительно 200 мкл изопропанола и образец снова высушивали. Затем к образцу добавляли приблизительно 1 мл 0,2 М карбоната натрия и осторожно перемешивали. Наконец, к образцу добавляли приблизительно 2 мл дихлорметана, после чего его встряхивали и недолго центрифугировали. Водный верхний слой отбрасывали. Добавляли 1 мл воды, и образец встряхивали, и недолго центрифугировали. Эту стадию повторяли перед тем, как органический слой (нижний) удаляли и переносили в другую виалу. Образец концентрировали, используя N_2/воздух, до конечного объема приблизительно 100

мкл. Затем с помощью ГХ-МС вводили 1 мкл конечного образца.

[00321] Температурную программу ГХ SP2330 использовали для анализа ГХ-МС. Начальная температура составляла 80°C, и начальное время составляло 2,0 минуты. Первое изменение происходило при скорости 30°C/мин с конечной температурой 170°C и конечным временем 0,0 минут. Второе изменение происходило при скорости 4°C/мин с конечной температурой 240°C и конечным временем 20,0 минут.

Анализ гликозильных связей поли- и олигосахаридов с помощью метилирования по Хакомори

A. Получение основания NaOH

[00322] В стеклянной пробирке с завинчивающейся крышкой объединяли 100 мкл 50/50 раствора NaOH и 200 мкл сухого MeOH. Пластиковые пипетки использовали для NaOH и стеклянные пипетки использовали для MeOH. Раствор недолго встряхивали, добавляли приблизительно 4 мл сухого ДМСО и раствор снова встряхивали. Пробирку центрифугировали для концентрирования раствора и пипеткой отбирали ДМСО и соли из осадка. Предыдущие две стадии повторяли приблизительно четыре раза, чтобы удалить всю воду из осадка. Все белые осадки удаляли с боковых сторон пробирки. После того как весь остаток удалили и осадок стал прозрачным, добавляли приблизительно 1 мл сухого ДМСО и раствор встряхивали. Основание было тогда готово к применению. Каждый раз, когда это было необходимо, основание готовили свежим.

B. Перметилирование

[00323] Каждый образец готовили путем смешивания 600-1000 мкг выбранной олигосахаридной композиции (как взвешено на аналитических весах) с 200 мкл ДМСО. Образец перемешивали в течение ночи до растворения олигосахаридной композиции.

[00324] К образцу добавляли равное количество основания NaOH (400 мкл), после чего образец снова помещали на мешалку и тщательно перемешивали в течение 10 минут. К образцу добавляли 100 мкл йодметана (CH_3I). Образец перемешивали на мешалке в течение 20 минут и затем повторяли предыдущие стадии (добавление основания NaOH и йодметана).

[00325] К образцу добавляли приблизительно 2 мл сверхчистой воды и образец тщательно перемешивали, так что он становился мутным. Наконечник пипетки помещали в раствор образца на дно пробирки и CH_3I выдували очень слабым потоком воздуха. Образец становился прозрачным, после того как выдули CH_3I. Пипетку перемещали по раствору, чтобы убедиться, что весь CH_3I ушел. Затем добавляли приблизительно 2 мл метиленхлорида и раствор тщательно перемешивали на вортексе в течение 30 секунд. Затем образец центрифугировали и удаляли верхний водный слой. Добавляли приблизительно 2 мл воды и образец перемешивали, затем недолго центрифугировали, затем удаляли верхний водный слой. Повторяли добавление метиленхлорида и воды. Нижний органический слой удаляли, и переносили в другую пробирку, и высушивали с использованием N_2. Анализ продолжали с ацетатами альдита.

C. Гидролиз

[00326] 200 мкл 2 М трифторуксусной кислоты (ТФУК) добавляли к образцу(ам). Виалу, содержащую образец, плотно закрывали и инкубировали на нагревательном блоке в течение 2 часов при 121°С. Через 2 часа образец вынимали из нагревательного блока и оставляли остывать до комнатной температуры. Затем образец высушивали N_2/воздухом. Добавляли 200 мкл ИПС (изопропанола) и снова высушивали N_2/воздухом. Эту стадию гидролиза (добавление ТФУК в течение двух часов при 121°С; промывание изопропанолом) повторяли дважды.

D. Восстановление и ацетилирование

[00327] Готовили 10 мг/мл раствор бордейтерида натрия в 1 М гидроксиде аммония. К образцу добавляли 200 мкл этого раствора. Затем образец инкубировали при комнатной температуре в течение, по меньшей мере, одного часа или в течение ночи. После инкубации с раствором бордейтерида натрия к образцу добавляли 5 капель ледяной уксусной кислоты с последующим добавлением 5 капель метанола. Затем образец высушивали. К образцу добавляли 500 мкл 9:1 MeOH:HOAc и в дальнейшем высушивали (повторяли дважды). Затем к образцу добавляли 500 мкл MeOH и в дальнейшем высушивали (повторяли один раз). На стенке виалы с образцом образовывался твердый белый осадок.

[00328] Затем в виалу с образцом добавляли 250 мкл уксусного ангидрида и образец встряхивали для растворения. К образцу добавляли 230 мкл концентрированной ТФУК и образец инкубировали при 50°С в течение 20 минут. Образец удаляли из нагревательного блока и оставляли остывать до комнатной температуры. Добавляли приблизительно 1 мл изопропанола и образец высушивали. Затем добавляли приблизительно 200 мкл изопропанола и образец снова высушивали. Затем к образцу добавляли приблизительно 1 мл 0,2 М карбоната натрия и осторожно перемешивали. Наконец, к образцу добавляли приблизительно 2 мл дихлорметана, после чего его встряхивали и недолго центрифугировали. Водный верхний слой отбрасывали. Добавляли 1 мл воды, и образец встряхивали, и недолго центрифугировали. Эту стадию повторяли перед тем, как органический слой (нижний) удаляли и переносили в другую виалу. Образец концентрировали, используя N_2/воздух, до конечного объема приблизительно 100 мкл. Затем с помощью ГХ-МС вводили 1 мкл конечного образца.

[00329] Температурную программу ГХ SP2330 использовали для анализа ГХ-МС. Начальная температура составляла 80°С, и начальное время составляло 2,0 минуты. Первое изменение происходило при скорости 30°С/мин с конечной температурой 170°С и конечным временем 0,0 минут. Второе изменение происходило при скорости 4°С/мин с конечной температурой 240°С и конечным временем 20,0 минут.

Результаты

[00330] Данные перметилирования собирали с использованием способов, описанных выше, для четырех партий демономеризованной олигосахаридной композиции, полученной способом, описанным в Примере 7 (катализатор Marathon C). Каждую партию анализировали в двух повторностях. Усредненные данные, относящиеся

к радикалам, присутствующим в этих десяти партиях демономеризованной олигосахаридной композиции, предоставлены ниже:

Радикалы	**Средний мол.%+3 STD**	**Средний мол.%**	**Средний мол.%-3 STD**
t-маннопираноза	4,10%	3,56%	3,02%
t-глюкопираноза	16,33%	13,89%	11,44%
t-галактофураноза	7,78%	4,52%	1,26%
t-глюкофураноза	1,38%	0,64%	0,00%
t-галактопираноза	12,48%	10,38%	8,29%
3-глюкопираноза	4,88%	3,95%	3,02%
2-маннопираноза и/или 3-маннопираноза	1,94%	1,57%	1,20%
2-глюкопираноза	3,22%	2,83%	2,44%
2-галактофураноза и/или 2-глюкофураноза	2,32%	1,62%	0,93%
3-галактопираноза	3,92%	3,43%	2,94%
4-маннопираноза, и/или 5-маннофураноза, и/или 3-галактофураноза	2,93%	2,34%	1,75%
6-маннопираноза	2,87%	2,44%	2,01%
2-галактопираноза	2,71%	2,28%	1,85%
6-глюкопираноза	10,78%	9,22%	7,66%
4-галактопираноза и/или 5-галактофураноза	3,80%	3,22%	2,65%
4-глюкопираноза, и/или 5-глюкофураноза, и/или 6-маннофураноза	4,25%	3,66%	3,06%
6-глюкофураноза	1,55%	0,81%	0,08%
6-галактофураноза	4,96%	3,19%	1,42%
6-галактопираноза	9,06%	7,44%	5,81%
3,4-галактопираноза, и/или 3,5-галактофураноза, и/или 2,3-галактопираноза	1,42%	1,16%	0,90%
3,4-глюкопираноза и/или 3,5-	1,04%	0,43%	0,00%

глюкофураноза			
2,4-глюкопираноза, и/или 2,5-глюкофураноза, и/или 2,4-галактопираноза, и/или 2,5-галактофураноза	1,39%	1,16%	0,92%
4,6-маннопираноза и/или 5,6-маннофураноза	0,69%	0,59%	0,49%
3,6-маннофураноза	0,11%	0,02%	0,00%
3,6-глюкопираноза	2,80%	2,10%	1,40%
3,6-маннопираноза и/или 2,6-маннофураноза	0,67%	0,53%	0,39%
2,6-маннопираноза	0,54%	0,41%	0,28%
3,6-глюкофураноза	0,39%	0,27%	0,16%
2,6-глюкопираноза, и/или 4,6-глюкопираноза, и/или 5,6-глюкофураноза	3,58%	2,33%	1,08%
3,6-галактофураноза	1,37%	1,15%	0,93%
4,6-галактопираноза и/или 5,6-галактофураноза	2,86%	2,48%	2,11%
3,6-галактопираноза и/или 2,6-галактофураноза	2,98%	2,28%	1,58%
2,6-галактопираноза	1,62%	1,15%	0,68%
3,4,6-маннопираноза, и/или 3,5,6-маннофураноза, и/или 2,3,6-маннофураноза	0,30%	0,07%	0,00%
3,4,6-галактопираноза, и/или 3,5,6-галактофураноза, и/или 2,3,6-галактофураноза	1,11%	0,82%	0,53%
3,4,6-глюкопираноза и/или 3,5,6-глюкофураноза	0,47%	0,35%	0,22%
2,3,6-маннопираноза, и/или 2,4,6-маннопираноза, и/или 2,5,6-маннофураноза	0,49%	0,17%	0,00%
2,4,6-глюкопираноза и/или 2,5,6-	1,36%	0,56%	0,00%

глюкофураноза			
2,3,6-галактопираноза, и/или 2,4,6-галактопираноза, и/или 2,5,6-галактофураноза	0,91%	0,66%	0,41%
2,3,6-глюкопираноза	0,48%	0,31%	0,13%

[00331] Данные перметилирования собирали с использованием способов, описанных выше для пяти партий демономеризованной олигосахаридной композиции, полученной способом, описанным в Примере 9 (катализатор лимонная кислота). Каждую партию анализировали в двух повторностях. Усредненные данные, относящиеся к радикалам, присутствующим в этих десяти партиях демономеризованной олигосахаридной композиции, предоставлены ниже:

Радикалы	**Средний мол.%+3 STD**	**Средний мол.%**	**Средний мол.%-3 STD**
t-маннопираноза	4,14%	3,57%	3,00%
t-глюкопираноза	17,59%	15,58%	13,58%
t-галактофураноза	4,20%	3,59%	2,98%
t-глюкофураноза	0,73%	0,15%	0,00%
t-галактопираноза	11,69%	10,67%	9,65%
3-глюкопираноза	4,61%	4,22%	3,84%
2-маннопираноза и/или 3-маннопираноза	1,99%	1,41%	0,83%
2-глюкопираноза	3,03%	2,88%	2,72%
2-галактофураноза, и/или 2-глюкофураноза, и/или 3-глюкофураноза	1,78%	1,30%	0,83%
3-галактопираноза	3,77%	3,28%	2,79%
3-галактофураноза	2,24%	1,92%	1,60%
6-маннопираноза	2,47%	2,28%	2,08%
2-галактопираноза	2,42%	2,03%	1,65%
6-глюкопираноза	11,06%	10,29%	9,53%
4-галактопираноза и/или 5-галактофураноза	3,06%	2,75%	2,45%
4-глюкопираноза, и/или 5-глюкофураноза, и/или 6-	3,89%	3,45%	3,00%

маннофураноза			
2,3-галактофураноза	0,42%	0,05%	0,00%
6-глюкофураноза	0,77%	0,31%	0,00%
6-галактофураноза	2,68%	2,50%	2,31%
6-галактопираноза	8,75%	7,90%	7,06%
3,4-галактопираноза, и/или 3,5-галактофураноза, и/или 2,3-галактопираноза	1,08%	0,97%	0,86%
3,4-глюкопираноза и/или 3,5-глюкофураноза	0,75%	0,61%	0,47%
2,3-глюкопираноза	2,11%	0,89%	0,00%
2,4-маннопираноза и/или 2,5-маннофураноза	0,85%	0,21%	0,00%
2,4-глюкопираноза, и/или 2,5-глюкофураноза, и/или 2,4-галактопираноза, и/или 2,5-галактофураноза	1,88%	1,17%	0,45%
4,6-маннопираноза и/или 5,6-маннофураноза	0,70%	0,53%	0,35%
3,6-глюкопираноза	2,93%	2,47%	2,02%
3,6-маннопираноза	0,66%	0,54%	0,43%
2,6-маннопираноза	0,51%	0,45%	0,39%
3,6-глюкофураноза	0,33%	0,12%	0,00%
2,6-глюкопираноза, и/или 4,6-глюкопираноза, и/или 5,6-глюкофураноза	2,55%	2,15%	1,74%
3,6-галактофураноза	1,16%	1,01%	0,86%
4,6-галактопираноза и/или 5,6-галактофураноза	2,86%	2,47%	2,09%
3,6-галактопираноза	2,73%	2,36%	1,99%
2,6-галактопираноза	1,49%	1,24%	0,99%
3,4,6-маннопираноза, и/или 3,5,6-маннофураноза, и/или 2,3,6-маннофураноза	0,12%	0,01%	0,00%

3,4,6-галактопираноза, и/или 3,5,6-галактофураноза, и/или 2,3,6-галактофураноза	0,96%	0,75%	0,54%
3,4,6-глюкопираноза и/или 3,5,6-глюкофураноза	0,63%	0,28%	0,00%
2,3,6-маннопираноза	0,34%	0,12%	0,00%
2,4,6-глюкопираноза и/или 2,5,6-глюкофураноза	0,80%	0,40%	0,00%
2,3,6-галактопираноза, и/или 2,4,6-галактопираноза, и/или 2,5,6-галактофураноза	1,31%	0,59%	0,00%
2,4,6-галактопираноза и/или 2,5,6-галактофураноза	0,92%	0,15%	0,00%
2,3,6-глюкопираноза	0,74%	0,37%	0,00%

Пример 14. Методика анализа HSQC ЯМР с использованием ЯМР-устройства Varian Unity Inova

[00332] Определение спектров ЯМР HSQC образцов выбранной олигосахаридной композиции, полученной способами в Примерах 7 и 9, проводили с использованием ЯМР Varian Unity Inova в соответствии с протоколом, описанным ниже.

Способ

Получение образца:

[00333] 25 мг предварительно лиофилизированного твердого образца растворяли в 300 мкл D2O с 0,1% ацетона в качестве внутреннего стандарта. Затем раствор помещали в 3 мм ампулу для ЯМР.

ЯМР эксперимент:

[00334] Образец анализировали в Varian Unity Inova, работающем при 499,83 МГц (125,69 МГц, 13C), оборудованном широкополосным зондом XDB с градиентом Z-оси, настроенном на 13C и работающем при 25°C. Образец подвергали гетероатомной одноквантовой когерентности (HSQC), эхо-антиэхо, с выбором градиента HSQCETGP в эксперименте с импульсной последовательностью с использованием следующих параметров сбора данных и обработки в Таблице 3:

Таблица 3

Параметр сбора данных	
Количество сканирований	8
Ожидание восстановления	1 секунда
Количество точек в измерении сбора данных	596 × 600

Диапазон развертки (м.д.)	4 м.д. × 110 м.д.
Несущая частота	4,0 м.д. - 65 м.д.
Константа связи CH	146 Гц
Параметр обработки	
Размер матрицы	1024 × 2048
Оконная функция	Гаусса (7,66, 26,48 Гц)
Коррекция базовой линии	Нет коррекции

Спектральный анализ:

[00335] Полученный спектр анализировали с использованием программного обеспечения MNova от Mestrelab Research (Santiago de Compostela, Spain). Спектр был привязан к внутреннему сигналу ацетона (1H - 2,22 м.д.; 13C - 30,8 м.д.) и фазирован с использованием метода Regions2D как в измерении F2, так и в F1. Аподизацию с использованием синусоидального сигнала, смещенного на 90 градусов, применяли как в измерении F2, так и в F1. Индивидуальные сигналы (корреляции C-H) количественно оценивали путем интегрирования их соответствующих пиков с использованием «предварительно определенных интегральных областей» с эллиптическими интеграционными формами. Результирующая таблица интегральных областей и значений была нормализована до суммы 100, чтобы значение представляло процент от общего количества. Выбирали интегральные области пиков, чтобы избежать пиков, связанных с мономерами.

Результаты

[00336] Десять партий выбранной олигосахаридной композиции, полученной в соответствии со способом Примера 7 (катализатор Marathon C) и проанализированной с помощью SEC, как описано в Примере 15, анализировали с использованием вышеуказанных методов ЯМР. В общей сложности эти партии содержали следующие сигналы пиков ЯМР (Таблица 4).

Таблица 4. Пики HSQC ЯМР выбранной олигосахаридной композиции

Сигнал	^{1}H Положение (м.д.)			^{13}C Положение (м.д.)		
	Центральное положение	^{1}H Интегральная область		Центральное положение	^{13}C Интегральная область	
		от	до		от	до
1	3,68	3,61	3,75	63,42	62,64	64,20
2	3,75	3,72	3,78	66,06	65,50	66,62
3	3,97	3,94	4,00	66,15	65,81	66,49
4	3,96	3,94	3,98	69,28	69,04	69,52
5	3,96	3,9	4,03	70,62	70,20	71,05

6	3,92	3,9	3,94	71,26	71,02	71,50
7	3,55	3,51	3,59	71,34	71,06	71,62
8	3,97	3,94	4,00	71,56	71,29	71,84
9	3,72	3,67	3,77	72,35	71,95	72,74
15	4,44	4,41	4,46	103,86	103,56	104,15
10	3,33	3,27	3,4	73,74	73,26	74,22
14	4,5	4,47	4,54	103,29	102,87	103,70
11	4,06	4,04	4,09	77,34	76,89	77,78
12	4,11	4,08	4,14	81,59	81,16	82,01
13	4,96	4,92	5,01	98,7	98,02	99,39
14	4,5	4,54	4,47	103,29	102,87	103,70
15	4,44	4,46	4,41	103,86	103,56	104,15

[00337] Относительную величину каждого из пиков (AUC), собранных для спектров ЯМР выбранной олигосахаридной композиции, полученной в соответствии со способом, описанным в Примере 7, дополнительно определяли, как показано ниже:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	20,38-25,74
2	3,75	66,06	3,69-6,38
3	3,97	66,15	2,21-3,40
4	3,96	69,28	1,46-3,71
5	3,96	70,62	9,28-10,71
6	3,92	71,26	1,52-2,03
7	3,55	71,34	3,40-6,13
8	3,97	71,56	3,40-4,41
9	3,72	72,35	5,66-10,14
10	3,33	73,74	10,21-12,09
11	4,06	77,34	3,68-4,50
12	4,11	81,59	3,10-3,82
13	4,96	98,7	10,65-12,31
14	4,5	103,29	5,03-6,41
15	4,44	103,86	1,84-2,44

[00338] Типичные спектры HSQC ЯМР выбранной олигосахаридной композиции предоставлены на ФИГ. 11.

[00339] Двадцать три партии выбранной олигосахаридной композиции, полученной в соответствии со способом Примера 9 (катализатор лимонная кислота) и проанализированной с помощью SEC, как описано в Примере 15, анализировали с использованием вышеуказанных методов ЯМР. В общей сложности эти партии содержали сигналы пиков ЯМР, как показано в Таблице 4. Относительную величину каждого из пиков (AUC), собранных для спектров ЯМР выбранной олигосахаридной композиции, полученной в соответствии со способом, описанным в Примере 9, дополнительно определяли, как показано ниже:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	21,57-25,73
2	3,75	66,06	3,87-5,54
3	3,97	66,15	2,63-3,43
4	3,96	69,28	1,28-3,86
5	3,96	70,62	9,08-11,04
6	3,92	71,26	1,49-2,70
7	3,55	71,34	4,48-5,90
8	3,97	71,56	3,07-3,99
9	3,72	72,35	6,87-8,66
10	3,33	73,74	10,79-11,70
11	4,06	77,34	3,28-3,99
12	4,11	81,59	2,82-3,39
13	4,96	98,7	10,60-12,69
14	4,5	103,29	4,90-6,25
15	4,44	103,86	1,81-2,42

Пример 15. Метод эксклюзионной хроматографии

[00340] Средневесовую молекулярную массу (MWw), среднечисловую молекулярную массу (MWn) и коэффициент полидисперсности (PDI) партий и образцов выбранной олигосахаридной композиции, как получено способами в Примерах 7 и 9, определяли с помощью SEC ВЭЖХ

Метод

[00341] Эти методы включали применение Agilent 1100 с детектором показателя преломления (ПП), оборудованным защитной колонкой (Shodex SUGAR SP-G 6B

защитная колонка 6 × 50 мм, 10 мкм) и двумя последовательными хроматографическими колонками: 1) Shodex OHpak SB-802 HQ, 8,0 × 300 мм, 8 мкм, P/N F6429100; 2) Shodex OHpak SB-803 HQ, 8,0 × 300 мм, 6 мкм, P/N F6429102.

[00342] Подвижную фазу (0,1 M $NaNO_3$) получали путем взвешивания 17 г $NaNO_3$ (реагент ACS) и растворения в 2000 мл деионизированной (ДИ) воды (из водяного фильтра MiliQ). Раствор отфильтровывали через фильтр 0,2 мкм.

[00343] Стандартные растворы полимеров (10,0 мг/мл) каждого из D-(+)-глюкозы Mp 180, Carbosynth Ltd Standard или эквивалентов (CAS # 50-99-7); мальтозы Mp 342, Carbosynth Ltd Standard или эквивалентов (CAS # 69-79-4); мальтотетраозы Mp 667, Carbosynth Ltd Standard или эквивалентов (CAS # 34612-38-9); мальтооктаозы Mp 1315, Carbosynth Ltd Standard или эквивалентов (CAS # 6156-84-9); номинала Mp 6100 Pullulan Standard, PSS # PPS-pul6k; номинала Mp 9600 Pullulan Standard, PSS # PPS-pul10k и номинала Mp 22000 Pullulan Standard, PSS # PPS-pul22k получали путем взвешивания 20 мг стандарта в 20 мл отдельном сцинтилляционном флаконе и добавления 2,0 мл ДИ в каждый флакон. Смесь полимерного раствора №1 получали путем взвешивания 10 мг каждого стандарта глюкозы, мальтозы, мальтооктаозы и Mp 9600 во флаконе для ВЭЖХ, добавления 1,0 мл разбавителя и тщательного перемешивания. Смесь полимерного раствора №1 получали путем взвешивания 10 мг каждого стандарта мальтотетраозы, Mp 6100 и Mp 21100 во флаконе для ВЭЖХ, добавления 1,0 мл разбавителя и тщательного перемешивания.

[00344] Образец A получали в двух экземплярах. Приблизительно 300 мг образца олигосахарида взвешивали в 20 мл сцинтилляционном флаконе и добавляли 10 мл ДИ воды. Раствор смешивали и отфильтровывали через шприцевой фильтр PES с 0,2 мкм полиэфирсульфоновой мембраной.

[00345] Образец B получали в двух экземплярах. Приблизительно 220 мг образца олигосахарида взвешивали в 20 мл сцинтилляционном флаконе и добавляли 10 мл ДИ воды. Раствор смешивали и отфильтровывали через шприцевой фильтр PES с 0,2 мкм полиэфирсульфоновой мембраной.

[00346] Скорость потока устанавливали до 0,7 мл/мин, по меньшей мере, за 2 часа перед анализом образцов с температурой колонки, установленной до 65°C, и температурой детектора ПП, установленной до 50°C, с включенной продувкой детектора ПП.

[00347] Перед анализом образцов, в котором вводимый объем для всех образцов составлял 10 мкл и время анализа составляло 40 минут, продувку детектора отключали и насос работал при 0,7 мл/мин до получения приемлемого исходного уровня.

[00348] Исследовали холостой образец, состоящий из ДИ воды. Исследовали образцы стандартных смесей №1 и №2. Исследовали образец A. Исследовали образец B.

[00349] Пики между 18 и 25,5 минутами объединяли. Мономер и широкий пик (продукт) объединяли, как показано на хроматограмме образца (ФИГ. 9). Тип подгонки калибровочной кривой в программном обеспечении Empower 3 устанавливали до 3-^{ero}

порядка. Распределение молекулярной массы и полидисперсность рассчитывали с использованием программного обеспечения Empower 3 для широкого пика. С использованием этих методов определяли Mw, Mn и полидисперсность пика продукта (СП2+).

Результаты

[00350] Четырнадцать партий выбранной олигосахаридной композиции, полученной с использованием способа в Примере 7 (катализатор Marathon C), анализировали с использованием вышеуказанных методов SEC. Партии олигосахаридной композиции включали олигосахариды со средней MWw 2074 г/моль (в диапазоне от 1905 до 2286 г/моль), средней MWn 1097 г/моль (в диапазоне от 1033 до 1184 г/моль) и средним PDI 1,9 (в диапазоне от 1,84 до 1,97). Анализируемые партии содержали СП2+ 91,1% (СП2+ в диапазоне от 86,3 до 95,9%) и в среднем приблизительно 8,9% мономера (в диапазоне от 4,1 до 13,8% мономера). Анализируемые партии имели среднюю степень полимеризации (СП) 12,7 (в диапазоне от 11,6 до 14,0).

[00351] Двадцать три партии выбранной олигосахаридной композиции, полученной с использованием способа в Примере 9 (катализатор лимонная кислота), анализировали с использованием вышеуказанных методов SEC. Партии олигосахаридной композиции включали олигосахариды со средней MWw 1998 г/моль (в диапазоне от 1863 до 2268 г/моль), средней MWn 1030 г/моль (в диапазоне от 984 до 1106,00 г/моль) и средним PDI 1,94 (в диапазоне 1,88-2,05). Анализируемые партии содержали СП2+ 87,3% (СП2+ в диапазоне от 83,6 до 91,0%) и в среднем приблизительно 12,7% мономера (в диапазоне от 9,0 до 16,4% мономера). Анализируемые партии имели среднюю степень полимеризации (СП) 12,2 (в диапазоне от 11,4 до 13,9).

Пример 16. Методика SEC ВЭЖХ для определения примесей

[00352] Присутствие остаточных примесей органических кислот и родственных веществ в партиях и образцах выбранной олигосахаридной композиции, ка получено способами в Примерах 7 и 9, определяли с помощью SEC ВЭЖХ.

Методы

[00353] Эти методы включали использование Agilent 1100 с детектором показателя преломления (ПП), оборудованным защитной колонкой (Bio-Rad MicroGuard Cation H+ картриджем, PIN 125-0129 или эквивалентом) и Bio-Rad Aminex HPX-87H, 300 × 7,8 мм, 9 мкм, PIN 125-0140 колонкой или эквивалентом.

[00354] Подвижную фазу (25 мМ H_2SO_4 в воде) получали, заполняя бутыль 2000 мл ДИ воды и медленно добавляя 2,7 мл H_2SO_4. Раствор отфильтровывали через 0,2 мкм фильтр.

[00355] Стандартный раствор получали, отмеряя 50±2 мг стандартного образца в 100 мл мерную колбу, добавляя подвижную фазу до отметки 100 мл и тщательно перемешивая.

[00356] Образец выбранной олигосахаридной композиции (Образец А) получали в двух экземплярах. Приблизительно 1000 мг образца олигосахарида отвешивали в 10 мл

мерную колбу и добавляли подвижную фазу до метки. Раствор перемешивали и отфильтровывали через шприцевой фильтр PES с 0,2 мкм полиэфирсульфоновой мембраной.

[00357] Образец выбранной олигосахаридной композиции (Образец B) получали в двух экземплярах. Приблизительно 700 мг образца олигосахарида отвешивали в 10 мл мерную колбу и добавляли подвижную фазу до метки. Раствор перемешивали и отфильтровывали через шприцевой фильтр PES с 0,2 мкм полиэфирсульфоновой мембраной.

[00358] Скорость потока устанавливали до 0,65 мл/мин, по меньшей мере, за 2 часа перед анализом образцов с температурой колонки, установленной до 50°C, и температурой детектора ПП, установленной до 50°C, с включенной продувкой детектора ПП.

[00359] Перед анализом образцов, в котором вводимый объем для всех образцов составлял 50 мкл и время анализа составляло 40 минут, продувку детектора отключали и насос работал при 0,65 мл/мин до получения приемлемого исходного уровня.

[00360] Исследовали холостой образец, состоящий из ДИ воды. Стандарт, образец A и образец B исследовали каждый независимо друг от друга.

[00361] Пики при 7,5 мин (глюкуроновая кислота), 9,4 мин (малеиновая кислота), 11,3 мин (левоглюкозан), 11,9 мин (молочная кислота), 13,1 мин (муравьиная кислота), 14,2 мин (уксусная кислота), 15,5 мин (левулиновая кислота), 31,8 мин (гидроксиметилфурфурол, HMF) и 8,3 мин (глюкоза) были интегрированы. Тип подгонки калибровочной кривой в программном обеспечении Empower 3 устанавливали до 3-^{ero} порядка.

Результаты

[00362] Десять партий выбранного олигосахарида, полученного способом в Примере 7 (катализатор Marathon C), исследовали с использованием вышеописанного метода. Выбранная олигосахаридная композиция содержала 0,35% масс./масс. (±0,05%) левоглюкозана, 0,03% масс./масс. (±0,01%) молочной кислоты и 0,06% масс./масс. (±0,01%) муравьиной кислоты. Образцы выбранной олигосахаридной композиции содержали 0,28-0,43% масс./масс. левоглюкозана, 0,00-0,03% масс./масс. молочной кислоты и 0,05-0,07% масс./масс. муравьиной кислоты.

[00363] Партии выбранного олигосахарида, полученного способом в Примере 9 (катализатор лимонная кислота), исследовали с использованием вышеописанного метода. Выбранная олигосахаридная композиция содержала 0,47% масс./масс. (±0,02%) левоглюкозана (23 партии выбранного олигосахарида), 0,01% масс./масс. молочной кислоты (11 партий выбранного олигосахарида), 0,02% масс./масс. муравьиной кислоты (12 партий выбранного олигосахарида) и 0,02% масс./масс. лимонной кислоты (23 партии выбранного олигосахарида). Образцы выбранной олигосахаридной композиции содержали 0,43-0,51% масс./масс. левоглюкозана, 0,01-0,02% масс./масс. молочной кислоты, 0,00-0,03% масс./масс. муравьиной кислоты и 0,00-0,03% масс./масс. лимонной

кислоты.

Пример 17. Методика SEC ВЭЖХ для определения СП1-СП7

[00364] Относительные количества олигосахаридов со степенью полимеризации (СП) 1, 2 и 3+ в партиях и образцах выбранной олигосахаридной композиции, полученной способами в Примерах 7-9, определяли с помощью SEC ВЭЖХ.

Методы

[00365] Эти методы включали использование Agilent 1100 с детектором показателя преломления (ПП), оборудованным защитной колонкой (Shodex SUGAR SP-G 6B защитной колонкой 6 × 50 мм, 10 мкм, P/N F6700081 или эквивалентом) и хроматографической колонкой (Shodex Sugar SP0810, 8,0 × 300 мм, 8 мкм, P/N F6378105 или эквивалентом).

[00366] Подвижную фазу (0,1 М $NaNO_3$) получали путем взвешивания 42,5 г $NaNO_3$ (реагент ACS) и растворения в 5000 мл деионизированной (ДИ) воды (из водяного фильтра MiliQ). Раствор отфильтровывали через 0,2 мкм фильтр.

[00367] Стандартные растворы полимеров (10,0 мг/мл) каждого из D-(+) глюкозы Mp 180, Carbosynth Ltd Standard или эквивалента (CAS # 50-99-7) (СП1); мальтозы Mp 342, Carbosynth Ltd Standard или эквивалента (CAS # 69-79-4) (СП2); мальтотриозы Mp 504, Carbosynth Ltd Standard или эквивалента (CAS # 1109-28-0) (СП3); мальтотетраозы Mp 667, Carbosynth Ltd Standard или эквивалента (CAS # 34612-38-9) (СП4); мальтопентаозы Mp 828, Carbosynth Ltd Standard или эквивалента (CAS # 34620-76-3) (СП5); мальтогексаозы Mp 990, Carbosynth Ltd Standard или эквивалента (CAS # 34620-77-4) (СП6); мальтогептаозы Mp 1153, Carbosynth Ltd Standard или эквивалента (CAS # 34620-78-5) (СП7) и мальтооктаозы Mp 1315, Carbosynth Ltd Standard или эквивалента (CAS # 6156-84-9) (СП8) получали путем взвешивания 10 мг стандарта в отдельной 1,5 мл центрифужной пробирке и добавления ДИ воды для получения 10 мг/мл раствора.

[00368] Образцы выбранной олигосахаридной композиции получали в виде 10 мг/мл концентрированных образцов или разбавленных водных образцов до 2,5-3,5 Брикс.

[00369] Скорость потока устанавливали до 1,0 мл/мин, по меньшей мере, за 2 часа до анализа образцов с температурой колонки, установленной до 70°C, и температурой детектора ПП, установленной до 40°C, с включенной продувкой детектора ПП.

[00370] Перед анализом образцов, в котором вводимый объем для всех образцов составлял 5 мкл и время анализа составляло 15 минут, продувку детектора отключали и насос работал при 1,0 мл/мин до получения приемлемого исходного уровня.

[00371] Холостую пробу, состоящую из ДИ воды, отдельные стандарты и образец исследовали независимо.

[00372] Каждый пик между 4 и 9,2 минутами в исследовании образца, соответствующий отдельным стандартам, интегрировали. Наложение стандартов показано на ФИГ. 10. Тип подгонки калибровочной кривой в программном обеспечении Empower 3 устанавливали до 3-^{ero} порядка. С использованием этих методов определяли значения СП1, СП2 и СП3+ образцов (образцов выбранной олигосахаридной композиции).

Результаты

[00373] Десять образцов выбранной олигосахаридной композиции, полученной с использованием способа в Примере 7 (катализатор Marathon C), анализировали с использованием этого метода. Выбранная олигосахаридная композиция содержала 5,24% (±0,35%) мономера (СП1), 7,52% (±0,44%) дисахарида (СП2) и 87,25% (±0,78%) олигомеров, имеющих, по меньшей мере, три связанных мономерных звена (СП3+).

Пример 18. Определение общего количества пищевых волокон

[00374] Количество пищевых волокон в партиях выбранной олигосахаридной композиции, полученной способом в Примере 7 (катализатор Marathon C), измеряли в соответствии со способами AOAC 2011.25 (AOAC International, AOAC Official Method 2011.25). Среднее количество общих пищевых волокон составляло 87,44% (в сухом состоянии) в 10 партиях (в диапазоне от 84,9 до 90,5%). Процент эквивалента декстрозы (DE) (в сухом состоянии) этих партий олигосахаридов также измеряли в соответствии с Кодексом пищевых химикатов (FCC). Среднее количество эквивалента декстрозы (в сухом состоянии) составляло 16,60% для двух партий (одна при 15,10% DE и другая при 18,10% DE).

[00375] Количество пищевых волокон и эквивалентов декстрозы (DE) в партиях выбранной олигосахаридной композиции, полученной способом в Примере 9 (катализатор лимонная кислота), измеряли в соответствии со способами AOAC 2011.25 (AOAC International, AOAC Official Method 2011.25). Процент эквивалента декстрозы (DE) (в сухом состоянии) этих партий олигосахаридов также измеряли в соответствии с Кодексом пищевых химикатов (FCC). Среднее количество общих пищевых волокн составляло 64,14% (в сухом состоянии) в четырнадцати партиях (в диапазоне от 47,10 до 73,10%). Среднее количество эквивалента декстрозы (в сухом состоянии) составляло 20,60% для двух партий (одна при 18,60% DE и другая при 22,60% DE).

Пример 19. Клиническое исследование для оценки способности выбранной олигосахаридной композиции сокращать относительное или абсолютное количество патогенов

[00376] Способность выбранной олигосахаридной композиции, состоящей из множества олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III), полученной аналогичным способом, как описано в Примерах 7-9, оценивают в отношении ее способности сокращать количество (*например*, относительное количество или абсолютное количество) патогенных бактерий (*например*, Enterobacteriaceae, Enterococcus и C. difficile).

[00377] Исследование представляет собой рандомизированное контролируемое многоцентровое открытое клиническое исследование для оценки безопасности выбранной олигосахаридной композиции, также как доли объектов с клинически значимым снижением по сравнению с исходным уровнем количества представляющих интерес таксонов (Enterobacteriaceae, Enterococcus и C. difficile в совокупности), как измерено с помощью метагеномного секвенирования.

[00378] Достаточное количество пациентов рандомизировано 3:2 в группу лечения (*т. е.* лечение выбранной олигосахаридной композицией) или в группу наблюдательного контроля.

[00379] Пациенты имеют возраст, по меньшей мере, 18 лет и должны иметь положительный образец кала в отношении VRE, БЛРС или CRE, основываясь на метагеномном анализе 16S образца кала пациента.

[00380] Пациентам в группе лечения вводят (*например*, перорально самостоятельно) дозу олигосахаридной композиции (*например*, один или два раза в день) на протяжении исследования (*например*, 28 дней). Пациенты в группе лечения и группе наблюдения проходят регулярные медицинские осмотры на протяжении всего исследования, которые могут включать наблюдение за жизненно важными показателями, сбор образцов кала для микробиологического и/или метагеномного исследования 16S, регистрацию частоты стула и оценку BSS и/или регистрацию побочных действий.

[00381] Конечные точки исследования могут включать количество пациентов, у которых возникли нежелательные явления, возникшие в ходе лечения исследуемым продуктом (НЯВЛ); серьезные нежелательные явления (СНЯ), изменение по сравнению с исходным уровнем основных показателей жизнедеятельности, электрокардиограммы (ЭКГ), физических обследований, лабораторных анализов безопасности; и изменение по сравнению с исходным уровнем частоты стула, Бристольской шкалы формы кала (BSS); и долю объектов со снижением по сравнению с исходным уровнем (*например*, снижение ≥30%) в конце исследования (*например*, на 28 день) количества (*например*, относительного количества или абсолютного количества) представляющих интерес таксонов (Enterobacteriaceae, Enterococcus и C. difficile в совокупности и/или по отдельности), как измерено с помощью метагеномного секвенирования.

[00382] Дополнительные конечные точки могут включать (i) долю объектов со снижением уровня организмов с МЛР (КОЕ/г кала в культуре), включая VRE, БЛРС и CRE в совокупности и/или по отдельности; (ii) альфа-разнообразие (индекс Шеннона) с помощью секвенирования нуклеиновых кислот на стадии приема по сравнению с исходным уровнем; (iii) количество бактерий, как измерено с помощью секвенирования нуклеиновых кислот на стадии приема по сравнению с исходным уровнем; (iv) изменение уровня воспалительных биомаркеров кала (*например*, липокалина) на стадии приема по сравнению с исходным уровнем; (v) изменение маркеров воспаления в крови (*например*, ИФН-γ, ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12p70, ИЛ-13 и ФНО-α) на стадии приема по сравнению с исходным уровнем; (vi) изменение концентрации микробных метаболитов (например, п-крезолсульфата, триметиламина оксида) в образцах кала, мочи или крови на стадии приема по сравнению с исходным уровнем; (vii) изменение количества (*например*, относительного количества или абсолютного количества) бактериальных таксонов, как определено с помощью секвенирования нуклеиновых кислот образцов кала на исходном уровне по сравнению со стадией приема, по сравнению с изменениями бактериальных таксонов, наблюдаемыми в системе культивирования ex vivo

с использованием образцов кала объекта; и/или (viii) частоту инфицирований и госпитализаций на одного объекта в неделю в течение стадий приема и промывания в группе лечения по сравнению с контрольной группой.

ЭКВИВАЛЕНТЫ И ТЕРМИНОЛОГИЯ

[00383] Раскрытие, иллюстративно описанное в настоящей заявке, подходящим образом может быть осуществлено на практике при отсутствии какого-либо элемента или элементов, ограничения или ограничений, которые конкретно не раскрыты в настоящей заявке. Таким образом, например, в каждом случае в настоящей заявке любой из терминов «содержащий», «состоящий по существу из» и «состоящий из» может быть заменен любым из двух других терминов. Термины и выражения, которые были использованы, применяются как термины описания, а не ограничения, и нет намерения, чтобы при использовании таких терминов и выражений исключались какие-либо эквиваленты показанных и описанных признаков или их части, но признается, что в объеме раскрытия возможны различные модификации. Таким образом, следует понимать, что, хотя настоящее раскрытие было конкретно раскрыто посредством предпочтительных вариантов осуществления, специалист в данной области техники может прибегать к дополнительным признакам, модификации и вариациям концепций, раскрытых в настоящей заявке, и что такие модификации и вариации рассматриваются в рамках данного раскрытия.

[00384] Кроме того, если признаки или аспекты раскрытия описаны в терминах групп Маркуша или другой группировки альтернатив, специалисту в данной области техники будет очевидно, что раскрытие также таким образом описано в терминах любого отдельного члена или подгруппы членов группы Маркуша или другой группы.

[00385] Использование терминов единственного числа и подобных ссылок в контексте описания изобретения (в частности в контексте следующей формулы изобретения) должно толковаться как охватывающее как единственное, так и множественное число, если иначе не указано в настоящем описании или явно не противоречит контексту. Термины «содержащий», «имеющий», «включающий» и «содержащий» следует толковать как неограничивающие термины (*т. е.* означающие «включая, но не ограничиваясь»), если не указано иначе. Перечисление диапазонов значений в настоящем описании просто предназначено для использования в качестве сокращенного способа индивидуальной ссылки на каждое отдельное значение, попадающее в этот диапазон, если в настоящем описании не указано иначе, и каждое отдельное значение включено в описание, как если бы оно было отдельно изложено в настоящем описании. Все способы, описанные в настоящей заявке, могут выполняться в любом подходящем порядке, если иначе не указано в настоящем описании или иным образом явно не противоречит контексту. Использование любых и всех примеров или вводного слова перед примером (*например*, «такой как»), предоставленных в настоящем описании, предназначено просто для лучшего освещения изобретения и не налагает ограничения на объем изобретения, если не указано иначе. Никакие формулировки в

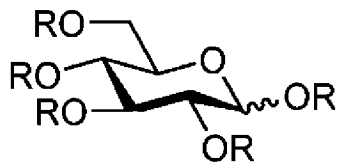
описании не следует истолковывать как указывающие на какой-либо не заявленный элемент как существенный для практического применения изобретения.

[00386] Варианты осуществления этого изобретения описаны в настоящей заявке. Вариации этих вариантов осуществления могут стать очевидными для специалиста в данной области техники после прочтения предшествующего описания.

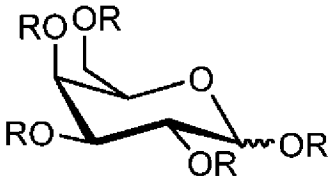
[00387] Изобретатели ожидают, что специалист в данной области техники будет использовать такие вариации в зависимости от обстоятельств, и изобретатели предполагают, что изобретение будет реализовано на практике иначе, чем конкретно описано в настоящей заявке. Соответственно, это изобретение включает все модификации и эквиваленты объекта, изложенные в прилагаемой формуле изобретения, как это разрешено применимым законодательством. Более того, любая комбинация вышеописанных элементов во всех их возможных вариациях охватывается изобретением, если не указано иначе в настоящем описании или иным образом явно не противоречит контексту. Специалист в данной области техники поймет или сможет установить, используя не более чем установленное проведение эксперимента, многие эквиваленты конкретных вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящей заявке. Такие эквиваленты охватываются следующей формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

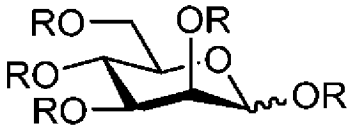
1. Способ сокращения относительного или абсолютного количества патогенов в желудочно-кишечном тракте человека, включающий введение в желудочно-кишечный тракт объекта эффективного количества олигосахаридной композиции, в котором олигосахаридная композиция содержит множество олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III):



(I)

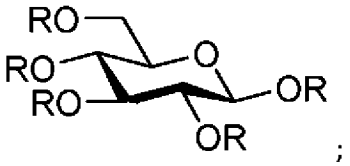


(II)

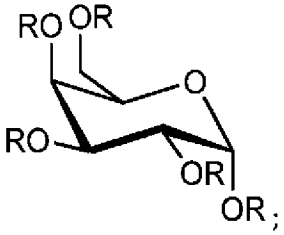


(III)

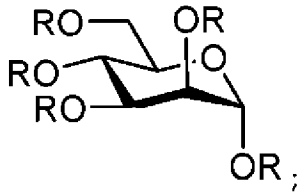
в которых каждый R независимо выбран из водорода, и Формул (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (IIa), (IIb), (IIc), (IId), (IIIa), (IIIb), (IIIc), (IIId):



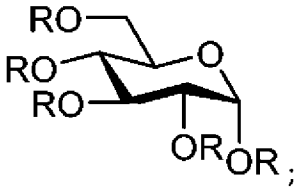
(Ia)



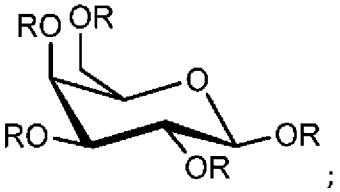
(IIa)



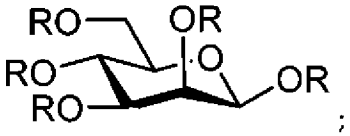
(IIIa)



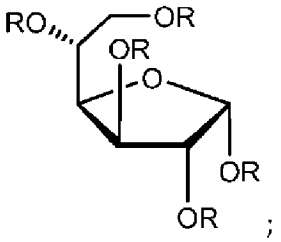
(Ib)



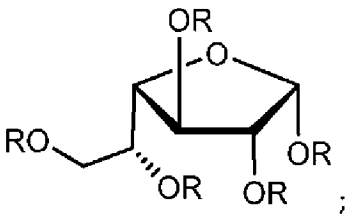
(IIb)



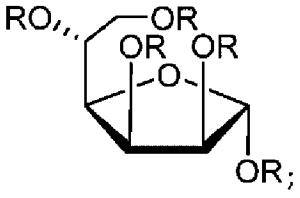
(IIIb)



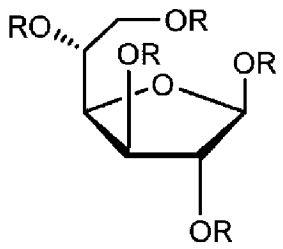
(Ic)



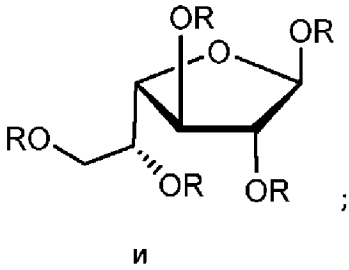
(IIc)



(IIIc)



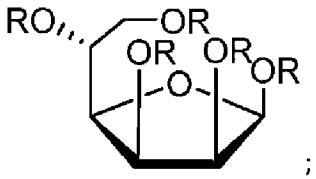
(Id)



;

и

(IId)



;

(IIId)

в которых каждый R независимо представляет собой, как определено выше;

в котором олигосахаридная композиция получена с помощью способа, включающего:

(a) образование реакционной смеси, содержащей мономер декстрозы, мономер галактозы и мономер маннозы, в котором молярное соотношение декстрозы и галактозы составляет приблизительно 1:1 и молярное соотношение декстрозы и маннозы составляет приблизительно 4,5:1, с кислотным катализатором, содержащим положительно заряженные ионы водорода; и

(b) промотирование катализируемого кислотой образования олигосахаридов в реакционной смеси путем передачи достаточного количества тепла реакционной смеси для поддержания реакционной смеси при ее температуре кипения.

2. Способ по п.1, в котором стадия (b) включает промотирование катализируемого кислотой образования олигосахаридов в реакционной смеси путем передачи достаточного количества тепла реакционной смеси для поддержания реакционной смеси при ее температуре кипения до тех пор, пока массовый процент общего содержания мономера в олигосахаридной композиции не будет находиться в диапазоне от 2% до 20%, в котором общее содержание мономера включает мономер декстрозы, мономер галактозы и/или мономер маннозы.

3. Способ по п.1 или 2, в котором средняя степень полимеризации всех олигосахаридных композиций находится в диапазоне 7-15,5.

4. Способ по любому одному из пп.1-3, в котором способ сокращает количество патогенных бактерий в желудочно-кишечном тракте.

5. Способ по любому одному из пп.1-4, в котором способ увеличивает количество комменсальных бактерий в желудочно-кишечном тракте.

6. Способ по любому одному из пп.1-5, в котором относительное или абсолютное количество патогенов определяют путем выполнения секвенирования нуклеиновых кислот (*например*, метагеномного секвенирования 16S) образца, взятого у объекта (*например*, образца кала).

7. Способ по п.6, в котором сокращение относительного или абсолютного количества патогенов определяют посредством:

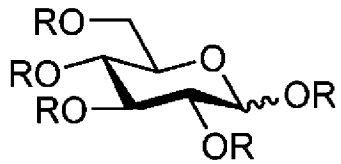
(i) выполнения секвенирования нуклеиновых кислот (*например*, метагеномного секвенирования 16S) образца, взятого у объекта перед введением олигосахаридной

композиции, или получения таких данных;

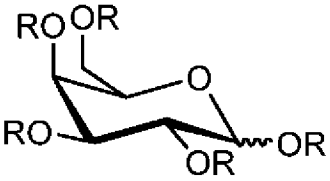
(ii) выполнения секвенирования нуклеиновых кислот (*например*, метагеномного секвенирования 16S) образца, взятого у объекта после введения олигосахаридной композиции, или получения таких данных и

(iii) сравнения относительного или абсолютного количества патогенов с использованием данных секвенирования, предоставленных в (ii), по сравнению с относительным или абсолютным количеством патогенов с использованием данных секвенирования, предоставленных в (i).

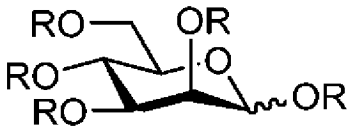
8. Олигосахаридная композиция, содержащая множество олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III):



(I)

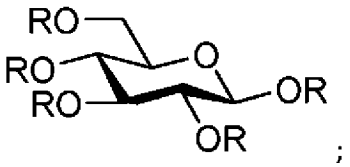


(II)

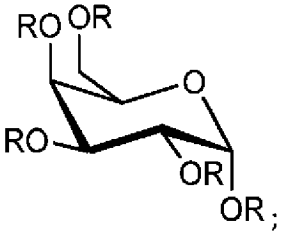


(III)

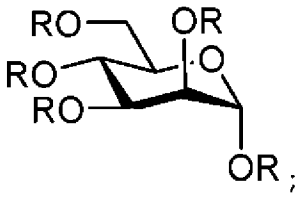
в которых каждый R независимо выбран из водорода, и Формул (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (IIa), (IIb), (IIc), (IId), (IIIa), (IIIb), (IIIc), (IIId):



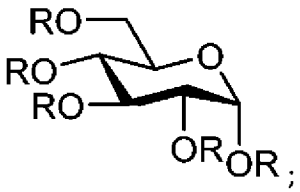
(Ia)



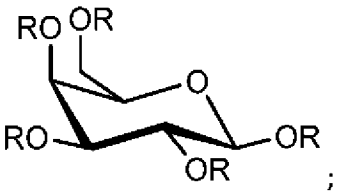
(IIa)



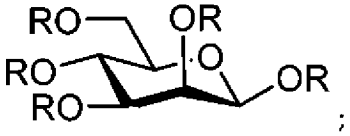
(IIIa)



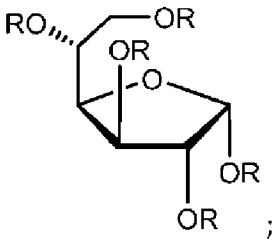
(Ib)



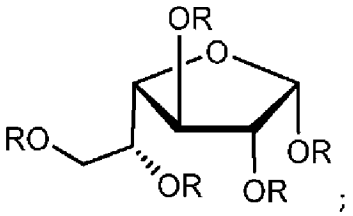
(IIb)



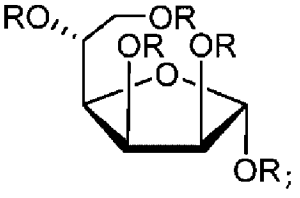
(IIIb)



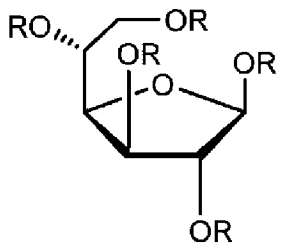
(Ic)



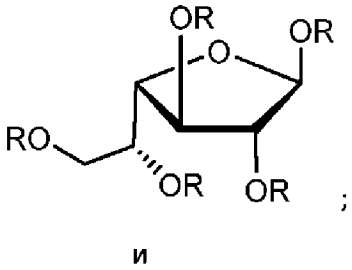
(IIc)



(IIIc)



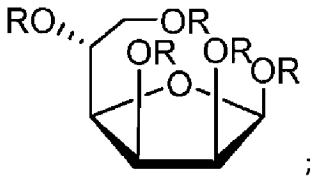
(Id)



;

и

(IId)



;

(IIId)

в которых каждый R независимо представляет собой, как определено выше;

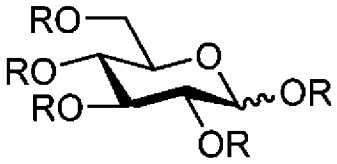
в которой олигосахаридная композиция получена с помощью способа, включающего:

(a) образование реакционной смеси, содержащей мономер декстрозы, мономер галактозы и мономер маннозы, в котором молярное соотношение декстрозы и галактозы составляет приблизительно 1:1 и молярное соотношение декстрозы и маннозы составляет приблизительно 4,5:1, с кислотным катализатором, содержащим положительно заряженные ионы водорода; и

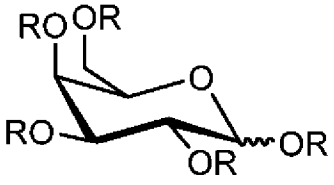
(b) промотирование катализируемого кислотой образования олигосахаридов в реакционной смеси путем передачи достаточного количества тепла реакционной смеси для поддержания реакционной смеси при ее температуре кипения.

9. Композиция по п.8, в которой стадия (b) включает промотирование катализируемого кислотой образования олигосахаридов в реакционной смеси путем передачи достаточного количества тепла реакционной смеси для поддержания реакционной смеси при ее температуре кипения до тех пор, пока массовый процент общего содержания мономера в олигосахаридной композиции не будет находиться в диапазоне от 2% до 20%, в которой общее содержание мономера включает мономер декстрозы, мономер галактозы и/или мономер маннозы.

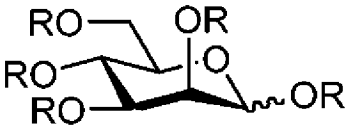
10. Олигосахаридная композиция, содержащая множество олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III):



(I)

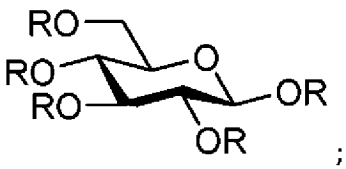


(II)

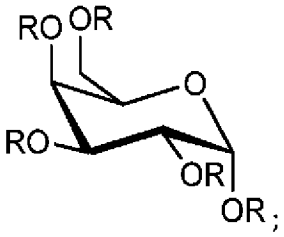


(III)

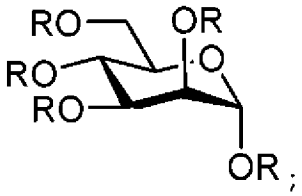
в которых каждый R независимо выбран из водорода, и Формул (IIa), (IIb), (IIc), (IId), (IIIa), (IIIb), (IIIc), (IIId):



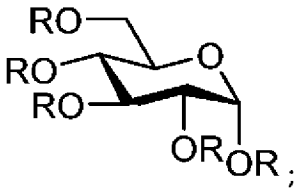
(Ia)



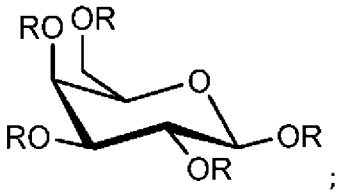
(IIa)



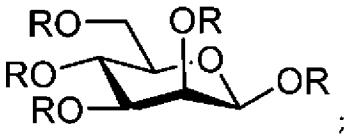
(IIIa)



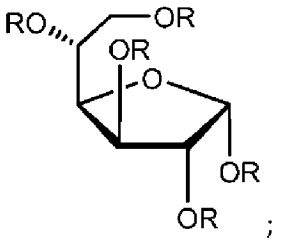
(Ib)



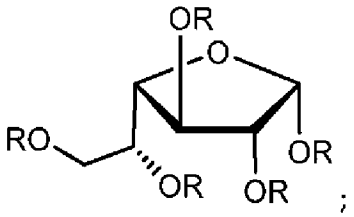
(IIb)



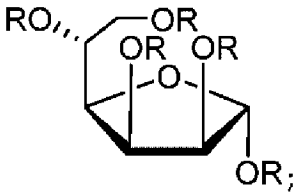
(IIIb)



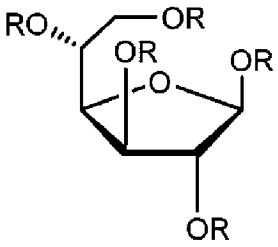
(Ic)



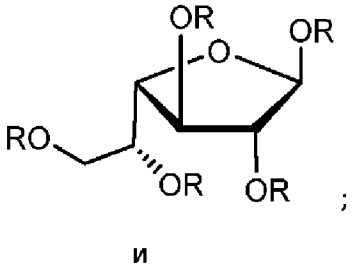
(IIc)



(IIIc)

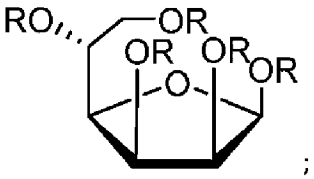


(Id)



и

(IId)



(IIId)

в которых каждый R независимо представляет собой, как определено выше;

в которой олигосахаридная композиция получена с помощью способа, включающего:

(a) образование реакционной смеси, содержащей мономер декстрозы, мономер галактозы и мономер маннозы, в котором молярное соотношение декстрозы и галактозы составляет приблизительно 1:1 и молярное соотношение декстрозы и маннозы составляет приблизительно 4,5:1, с кислотным катализатором, содержащим положительно заряженные ионы водорода; и

(b) поддержание реакционной смеси при ее температуре кипения, при давлении в диапазоне 0,5-1,5 атм, в условиях, которые способствуют катализируемому кислотой образованию олигосахаридов, до тех пор, пока массовый процент общего содержания

мономера в олигосахаридной композиции не будет находиться в диапазоне от 2% до 20%, в котором общее содержание мономера включает мономер декстрозы, мономер галактозы и/или мономер маннозы.

11. Олигосахаридная композиция, содержащая множество олигосахаридов, которые минимально усваиваются человеком, причем композиция характеризуется многократно отредактированным градиентно-усиленным ^{1}H-^{13}C гетероядерным одноквантовым корреляционным (HSQC) ЯМР спектром, содержащим сигналы 5, 6, 7 и 15 следующей таблицы, в которой спектр получен с использованием образца олигосахаридной композиции, содержащей менее 2% мономера:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	21,57-25,73
2	3,75	66,06	3,87-5,54
3	3,97	66,15	2,63-3,43
4	3,96	69,28	1,28-3,86
5	3,96	70,62	9,08-11,04
6	3,92	71,26	1,49-2,70
7	3,55	71,34	4,48-5,90
8	3,97	71,56	3,07-3,99
9	3,72	72,35	6,87-8,66
10	3,33	73,74	10,79-11,70
11	4,06	77,34	3,28-3,99
12	4,11	81,59	2,82-3,39
13	4,96	98,7	10,60-12,69
14	4,5	103,29	4,90-6,25
15	4,44	103,86	1,81-2,42

12. Композиция по п.11, в которой олигосахаридная композиция характеризуется многократно отредактированным градиентно-усиленным ^{1}H-^{13}C гетероядерным одноквантовым корреляционным (HSQC) ЯМР спектром, содержащим сигналы 5, 6, 7, 10, 14 и 15 следующей таблицы, в которой спектр получен с использованием образца олигосахаридной композиции, содержащей менее 2% мономера:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	

1	3,68	63,42	21,57-25,73
2	3,75	66,06	3,87-5,54
3	3,97	66,15	2,63-3,43
4	3,96	69,28	1,28-3,86
5	3,96	70,62	9,08-11,04
6	3,92	71,26	1,49-2,70
7	3,55	71,34	4,48-5,90
8	3,97	71,56	3,07-3,99
9	3,72	72,35	6,87-8,66
10	3,33	73,74	10,79-11,70
11	4,06	77,34	3,28-3,99
12	4,11	81,59	2,82-3,39
13	4,96	98,7	10,60-12,69
14	4,5	103,29	4,90-6,25
15	4,44	103,86	1,81-2,42

13. Композиция по п.11 или 12, в которой олигосахаридная композиция характеризуется многократно отредактированным градиентно-усиленным ^{1}H-^{13}C гетероядерным одноквантовым корреляционным (HSQC) ЯМР спектром, содержащим сигналы 5, 6, 7 и 10-15 следующей таблицы, в которой спектр получен с использованием образца олигосахаридной композиции, содержащей менее 2% мономера:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	21,57-25,73
2	3,75	66,06	3,87-5,54
3	3,97	66,15	2,63-3,43
4	3,96	69,28	1,28-3,86
5	3,96	70,62	9,08-11,04
6	3,92	71,26	1,49-2,70
7	3,55	71,34	4,48-5,90
8	3,97	71,56	3,07-3,99
9	3,72	72,35	6,87-8,66
10	3,33	73,74	10,79-11,70

11	4,06	77,34	3,28-3,99
12	4,11	81,59	2,82-3,39
13	4,96	98,7	10,60-12,69
14	4,5	103,29	4,90-6,25
15	4,44	103,86	1,81-2,42

14. Композиция по любому одному из пп.11-13, в которой олигосахаридная композиция характеризуется многократно отредактированным градиентно-усиленным ^{1}H-^{13}C гетероядерным одноквантовым корреляционным (HSQC) ЯМР спектром, содержащим сигналы 1-15 следующей таблицы, в которой спектр получен с использованием образца олигосахаридной композиции, содержащей менее 2% мономера:

Сигнал	Центральное положение (м.д.)		Площадь под кривой (AUC) (% общих площадей всех сигналов)
	^{1}H	^{13}C	
1	3,68	63,42	21,57-25,73
2	3,75	66,06	3,87-5,54
3	3,97	66,15	2,63-3,43
4	3,96	69,28	1,28-3,86
5	3,96	70,62	9,08-11,04
6	3,92	71,26	1,49-2,70
7	3,55	71,34	4,48-5,90
8	3,97	71,56	3,07-3,99
9	3,72	72,35	6,87-8,66
10	3,33	73,74	10,79-11,70
11	4,06	77,34	3,28-3,99
12	4,11	81,59	2,82-3,39
13	4,96	98,7	10,60-12,69
14	4,5	103,29	4,90-6,25
15	4,44	103,86	1,81-2,42

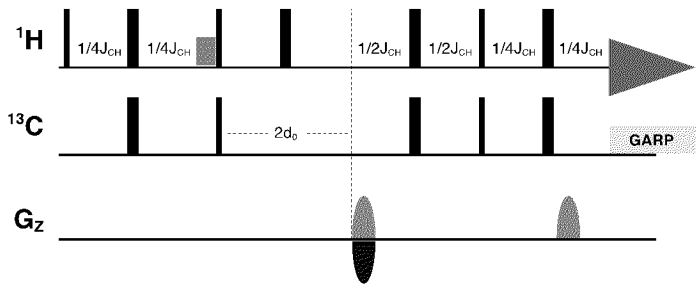
15. Композиция по любому одному из пп.11-14, в которой любой один из сигналов 1-15 дополнительно характеризуется ^{1}H интегральной областью и ^{13}C интегральной областью, определяемой следующим образом:

Сигнал	^{1}H Положение (м.д.)		^{13}C Положение (м.д.)	
	Центральное положение	^{1}H Интегральная область	Центральное положение	^{13}C Интегральная область

		от	до		от	до
1	3,68	3,61	3,75	63,42	62,64	64,20
2	3,75	3,72	3,78	66,06	65,50	66,62
3	3,97	3,94	4,00	66,15	65,81	66,49
4	3,96	3,94	3,98	69,28	69,04	69,52
5	3,96	3,9	4,03	70,62	70,20	71,05
6	3,92	3,9	3,94	71,26	71,02	71,50
7	3,55	3,51	3,59	71,34	71,06	71,62
8	3,97	3,94	4,00	71,56	71,29	71,84
9	3,72	3,67	3,77	72,35	71,95	72,74
10	3,33	3,27	3,4	73,74	73,26	74,22
11	4,06	4,04	4,09	77,34	76,89	77,78
12	4,11	4,08	4,14	81,59	81,16	82,01
13	4,96	4,92	5,01	98,7	98,02	99,39
14	4,5	4,47	4,54	103,29	102,87	103,70
15	4,44	4,41	4,46	103,86	103,56	104,15

16. Композиция по любому одному из пп.11-15, в которой спектр ЯМР получают, подвергая образец композиции многократно отредактированному градиентно-усиленному ^{1}H-^{13}C гетероядерному одноквантовому когерентному (HSQC) эксперименту с использованием схемы эхо-антиэхо для выбора когерентности с использованием следующей диаграммы импульсной последовательности, параметров сбора данных и параметров обработки:

Диаграмма импульсной последовательности



Параметры сбора данных

^{1}H Несущая частота=4 м.д.

^{13}C Несущая частота=65 м.д.

Количество точек в измерении сбора данных=596

Спектральный диапазон при измерении сбора данных=от 6,23 м.д. до 1,83 м.д.

Количество точек в косвенном измерении=300 комплексных точек

Спектральный диапазон в косвенном измерении=от 120 м.д. до 10 м.д.

Ожидание восстановления=1 секунда

Константа связи с одной связью ^{1}H-^{13}C=J_{CH}=146 Гц

Количество сканирований=8

Температура=298-299 К

Растворитель=D_2O

Параметры обработки

Оконная функция в прямом измерении=Гауссово расширение, 7,66 Гц

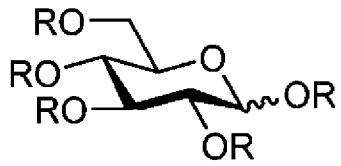
Оконная функция в косвенном измерении=Гауссово расширение, 26,48 Гц

Обработка=512 комплексных точек в прямом измерении, 1024 комплексных точки в косвенном измерении

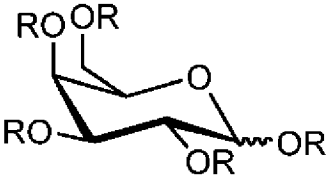
17. Композиция по любому одному из пп.11-16, в которой спектр ЯМР получают, подвергая образец олигосахаридной композиции HSQC ЯМР, в которой образец растворяют в D_2O.

18. Композиция по любому одному из пп.11-17, в которой олигосахаридная композиция была подвергнута методу демономеризации.

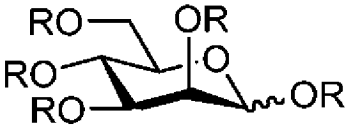
19. Композиция по любому одному из пп.11-17, в которой композиция содержит множество олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III):



(I)

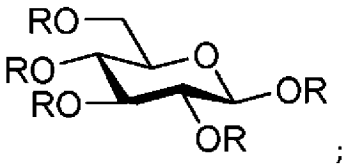


(II)

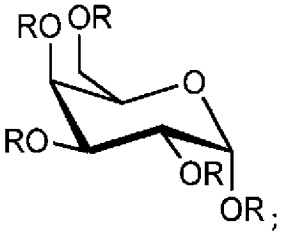


(III)

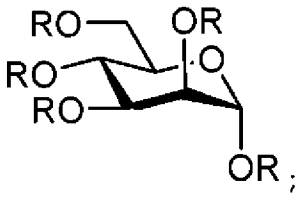
в которых каждый R независимо выбран из водорода, и Формул (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (IIa), (IIb), (IIc), (IId), (IIIa), (IIIb), (IIIc), (IIId):



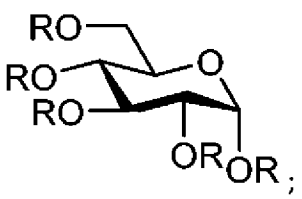
(Ia)



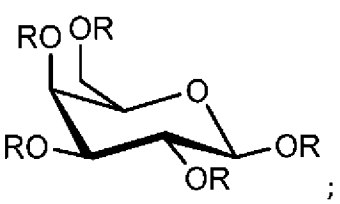
(IIa)



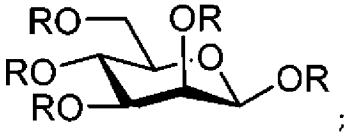
(IIIa)



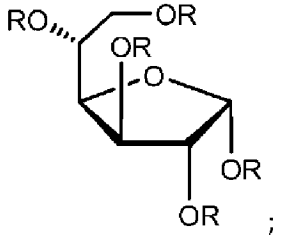
(Ib)



(IIb)

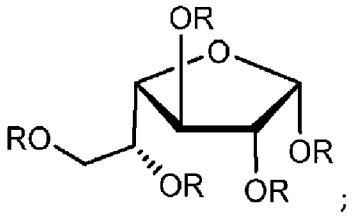


(IIIb)



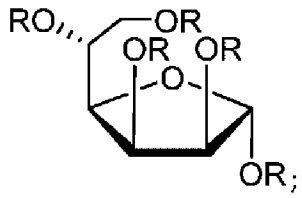
;

(Ic)



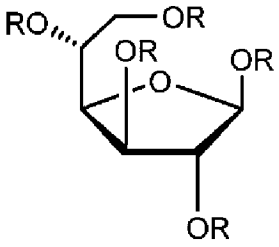
;

(IIc)

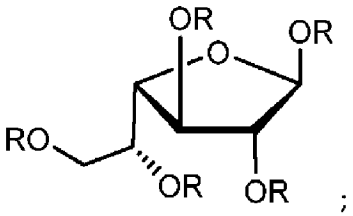


;

(IIIc)



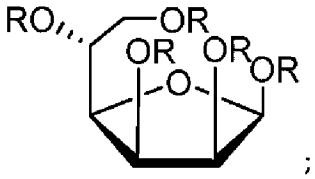
(Id)



;

и

(IId)



;

(IIId)

в которых каждый R независимо представляет собой, как определено выше;

в которой олигосахаридная композиция получена с помощью способа, включающего:

(a) образование реакционной смеси, содержащей мономер декстрозы, мономер галактозы и мономер маннозы, в котором молярное соотношение декстрозы и галактозы составляет приблизительно 1:1 и молярное соотношение декстрозы и маннозы составляет приблизительно 4,5:1, с кислотным катализатором, содержащим положительно заряженные ионы водорода; и

(b) промотирование катализируемого кислотой образования олигосахаридов в реакционной смеси путем передачи достаточного количества тепла реакционной смеси для поддержания реакционной смеси при ее температуре кипения.

20. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19, в которой стадия (b) включает загрузку реакционной смеси с кислотным катализатором, содержащим положительно заряженные ионы водорода, в таком количестве, что молярное соотношение положительно заряженных ионов водорода и общего содержания мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы находится в соответствующем диапазоне.

21. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-20, в которой стадии (a) и (b) выполняются одновременно.

22. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-21, в которой стадия (a) включает нагревание реакционной смеси при условиях перемешивания до температуры в диапазоне от 100°C до 160°C.

23. Композиция по п.22, в которой стадия (a) включает нагревание реакционной смеси при условиях перемешивания до температуры в диапазоне от 135°C до 145°C.

24. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-23, в которой стадия (a) включает нагревание реакционной смеси при условиях перемешивания при температуре в диапазоне от 100°C до 160°C.

25. Композиция по п.24, в которой стадия (a) включает нагревание реакционной смеси при условиях перемешивания при температуре в диапазоне от 135°C до 145°C.

26. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-25, в которой стадия (a) включает постепенное повышение температуры (*например*, от комнатной температуры) до приблизительно 140°C при подходящих условиях для достижения однородности и равномерной теплопередачи.

27. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-26, в которой стадия (b) включает поддержание реакционной смеси при атмосферном давлении или под вакуумом, при температуре в диапазоне от 135°C до 145°C, при условиях, которые способствуют катализируемому кислотой образованию олигосахаридной композиции до тех пор, пока массовый процент мономера декстрозы, мономера галактозы и мономера маннозы в олигосахаридной композиции не будет находиться в диапазоне 4-14.

28. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-27, в которой стадия (b) включает постепенное повышение температуры (*например*, от комнатной температуры) до приблизительно 140°C при подходящих условиях для достижения однородности и равномерной теплопередачи.

29. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-28, в которой кислотный катализатор представляет собой сильнокислотную катионообменную смолу, имеющую одно или более физических и химических свойств в соответствии с Таблицей 1 и/или в которой катализатор содержит >3,0 ммоль/г фрагментов сульфоновой кислоты и <1,0 ммоль/грамм катионных фрагментов.

30. Композиция по п.29, в которой катализатор имеет номинальное содержание влаги 45-50 массовых процентов.

31. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-30, в которой кислотный катализатор представляет собой растворимый катализатор.

32. Композиция по п.31, в которой растворимый катализатор представляет собой органическую кислоту.

33. Композиция по п.30 или 32, в которой растворимый катализатор представляет собой слабую органическую кислоту.

34. Композиция по любому одному из пп.31-33, в которой растворимый катализатор представляет собой лимонную кислоту.

35. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-34, в которой способ дополнительно включает:

(c) гашение реакционной смеси, например, с использованием воды, одновременно при доведении температуры реакционной смеси до температуры в диапазоне от 55°C до 95°C (*например*, 85°C, 90°C).

36. Композиция по п.35, в которой способ дополнительно включает:

(d) отделение олигосахаридной композиции от кислотного катализатора.

37. Композиция по п.36, в которой в (d) указанное разделение включает удаление катализатора фильтрацией.

38. Композиция по п.36 или 37, в которой (d) включает охлаждение реакционной смеси до температуры ниже приблизительно 85°C перед фильтрацией.

39. Композиция по любому одному из пп.36-38, в которой способ дополнительно включает:

(e) разбавление олигосахаридной композиции (d) водой до концентрации приблизительно 45-55 массовых процентов;

(f) пропускание разбавленной композиции через катионообменную смолу;

(g) пропускание разбавленной композиции через обесцвечивающую полимерную смолу и/или

(h) пропускание разбавленной композиции через анионообменную смолу;

в котором каждый из (f), (g) и (h) может проводиться один или более раз в любом порядке.

40. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-39, в которой средняя степень полимеризации всех олигосахаридных композиций находится в диапазоне 7-15,5.

41. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-40, в которой средняя степень полимеризации всех олигосахаридных композиций находится в диапазоне 11-15.

42. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-41, в которой указанное нагревание включает плавление реакционной смеси и/или нагревание реакционной смеси при подходящих условиях для достижения однородности и равномерной теплопередачи.

43. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-42, в которой указанное нагревание включает плавление реакционной смеси и/или нагревание реакционной смеси при подходящих условиях для достижения однородности и равномерной теплопередачи.

44. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-43, в которой (b) дополнительно включает удаление воды из реакционной смеси путем испарения.

45. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-44, в которой (b) дополнительно включает поддержание реакционной смеси при 93-94 массовых процентах растворенных твердых веществ.

46. Композиция по любому одному из пп.35-45, в которой в (c) вода представляет собой деионизированную воду.

47. Композиция по любому одному из пп.35-46, в которой в (c) вода имеет температуру приблизительно 95°C.

48. Композиция по любому одному из пп.37-47, в которой в (c) воду добавляют к реакционной смеси при условиях, достаточных для предотвращения затвердевания смеси.

49. Композиция по любому одному из пп.36-48, в которой в (d) указанное разделение включает удаление катализатора фильтрацией.

50. Композиция по любому одному из пп.36-49, в которой (d) включает охлаждение реакционной смеси до температуры ниже приблизительно 85°C перед фильтрацией.

51. Композиция по любому одному из пп.36-50, в которой способ дополнительно включает разбавление олигосахаридной композиции (d) водой до концентрации приблизительно 35-55 массовых процентов и пропускание разбавленной композиции через 45 мкм фильтр.

52. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-51, дополнительно содержащая воду при уровне ниже того, который необходим для роста микробов при хранении при комнатной температуре.

53. Композиция по любому одному из пп.8-10 или 19-52, в которой композиция содержит воду в диапазоне 45-55 массовых процентов.

54. Композиция по любому одному из пп.8-53, имеющая MWw (г/моль) в диапазоне 1905-2290.

55. Композиция по любому одному из пп.8-53, имеющая MWw (г/моль) в диапазоне 1740-2407.

56. Композиция по любому одному из пп.8-53, имеющая MWw (г/моль) в диапазоне 1863-2268.

57. Композиция по любому одному из пп.8-53, имеющая MWw (г/моль) в диапазоне 1700-2295.

58. Композиция по любому одному из пп.8-57, имеющая MWn (г/моль) в диапазоне 1033-1184.

59. Композиция по любому одному из пп.8-57, имеющая MWn (г/моль) в диапазоне 975-1155.

60. Композиция по любому одному из пп.8-57, имеющая MWn (г/моль) в диапазоне 984-1106.

61. Композиция по любому одному из пп.8-57, имеющая MWn (г/моль) в диапазоне 938-1120.

62. Композиция по любому одному из пп.8-61, в которой раствор, содержащий олигосахаридную композицию, имеет pH в диапазоне 2,50-7,00.

63. Композиция по любому одному из пп.8-62, в которой раствор, содержащий олигосахаридную композицию, имеет pH в диапазоне 2,50-3,50.

64. Композиция по любому одному из пп.8-63, в которой композиция содержит олигомеры, имеющие две или более повторяющихся единиц (СП2+) в диапазоне 86-96 массовых процентов.

65. Композиция по любому одному из пп.8-63, в которой композиция содержит олигомеры, имеющие две или более повторяющихся единиц (СП2+) в диапазоне 81-100 массовых процентов.

66. Композиция по любому одному из пп.8-65, в которой композиция содержит олигомеры, имеющие, по меньшей мере, три связанные мономерные единицы (СП3+) в диапазоне 85-90 массовых процентов.

67. Композиция по любому одному из пп.8-66, в которой композиция дополнительно содержит: 0,18-0,51% масс./масс. левоглюкозана, 0,01-0,05% масс./масс.

молочной кислоты и/или 0,04-0,07% масс./масс. муравьиной кислоты.

68. Композиция по любому одному из пп.8-67, в которой композиция дополнительно содержит: 0,40-0,53% масс./масс. левоглюкозана, 0,01-0,02% масс./масс. молочной кислоты, 0,01-0,04% масс./масс. муравьиной кислоты и/или 0,01-0,04% масс./масс. лимонной кислоты.

69. Композиция по любому одному из пп.8-68, в которой композиция по существу не абсорбируется у человека.

70. Способ сокращения соотношения патогенных бактерий и комменсальных бактерий в желудочно-кишечном тракте человека, включающий введение в желудочно-кишечный тракт объекта эффективного количества олигосахаридной композиции по любому одному из пп.8-69.

71. Способ сокращения относительного или абсолютного количества патогенов в желудочно-кишечном тракте человека, включающий введение в желудочно-кишечный тракт объекта эффективного количества олигосахаридной композиции по любому одному из пп.8-69.

72. Способ по п.70 или 71, в котором олигосахаридную композицию вводят в количестве, эффективном для уменьшения или ингибирования колонизации или для увеличения деколонизации патогена в кишечнике (*например*, тонком кишечнике, толстом кишечнике и/или толстой кишке) человека.

73. Способ по п.70 или 71, в котором способ сокращает количество патогенных бактерий в желудочно-кишечном тракте по сравнению с контролем (*например*, контрольным объектом или исходным измерением).

74. Способ по любому одному из пп.70-73, в котором способ увеличивает количество комменсальных бактерий в желудочно-кишечном тракте по сравнению с контролем (*например*, контрольным объектом или исходным измерением).

75. Способ по любому одному из пп.70-74, в котором сокращение относительного или абсолютного количества патогенов определяют путем выполнения секвенирования нуклеиновых кислот (*например*, метагеномного секвенирования 16S) образца, взятого у объекта (*например*, образца кала).

76. Способ по п.75, в котором сокращение относительного или абсолютного количества патогенов определяют посредством:

(i) выполнения секвенирования нуклеиновых кислот (*например*, метагеномного секвенирования 16S) образца, взятого у объекта перед введением олигосахаридной композиции, или получения таких данных;

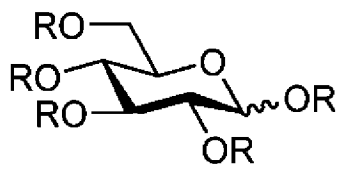
(ii) выполнения секвенирования нуклеиновых кислот (*например*, метагеномного секвенирования 16S) образца, взятого у объекта после введения олигосахаридной композиции, или получения таких данных и

(iii) сравнения относительного или абсолютного количества патогенов с использованием данных секвенирования, предоставленных в (ii), по сравнению с относительным или абсолютным количеством патогенов с использованием данных

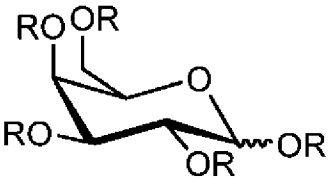
секвенирования, предоставленных в (i).

77. Способ лечения объекта от патогенной инфекции, включающий введение в желудочно-кишечный тракт объекта эффективного количества олигосахаридной композиции по любому одному из пп.8-69, таким образом проводя лечение объекта.

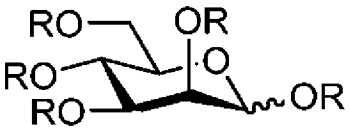
78. Способ лечения объекта от патогенной инфекции, включающий введение в желудочно-кишечный тракт объекта эффективного количества олигосахаридной композиции, в котором олигосахаридная композиция имеет среднюю степень полимеризации 5-20 и включает множество олигосахаридов, выбранных из Формулы (I), Формулы (II) и Формулы (III):



(I)

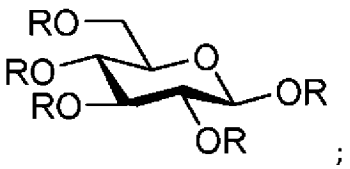


(II)

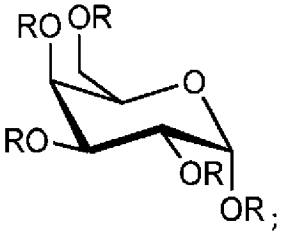


(III)

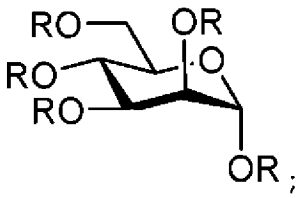
в которых каждый R независимо выбран из водорода, и Формул (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (IIa), (IIb), (IIc), (IId), (IIIa), (IIIb), (IIIc), (IIId):



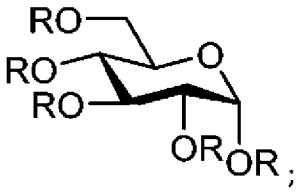
(Ia)



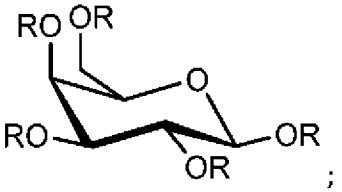
(IIa)



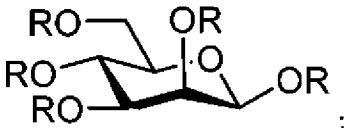
(IIIa)



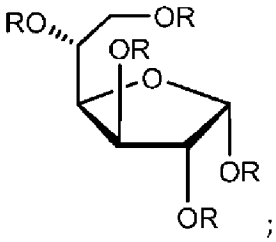
(Ib)



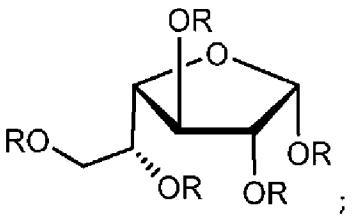
(IIb)



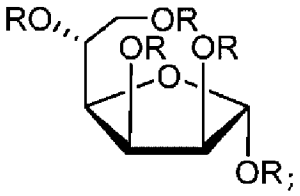
(IIIb)



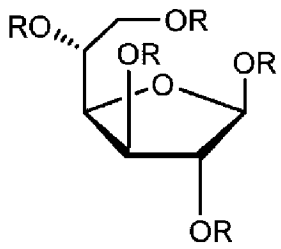
(Ic)



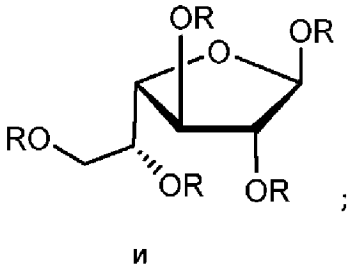
(IIc)



(IIIc)



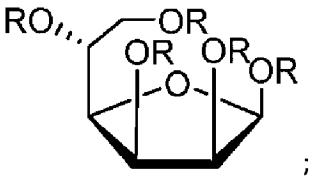
(Id)



;

и

(IId)



;

(IIId)

в которых каждый R независимо представляет собой, как определено выше;

таким образом проводя лечение объекта.

79. Способ по п.77 или 78, в котором способ снижает скорость инфицирования.

80. Способ по любому одному из пп.77-79, в котором способ сокращает количество патогена.

81. Способ по п.80, в котором способ сокращает количество патогена инфекции, по меньшей мере, на 5%, 10%, 20% или 30% по сравнению с исходным измерением (*например*, в котором исходное измерение определяют до лечения).

82. Способ по любому одному из пп.77-81, в котором способ сокращает колонизацию желудочно-кишечного тракта патогеном.

83. Способ по любому одному из пп.77-82, в котором способ предотвращает начало возникновения инфекции.

84. Способ по любому одному из пп.77-83, в котором патогенная инфекция представляет собой инфекцию желудочно-кишечного тракта, легких, кровотока, центральной нервной системы, лимфатической системы и/или мягких тканей объекта.

85. Способ по любому одному из пп.70-84, в котором олигосахаридную композицию вводят в количестве, достаточном для уменьшения или предотвращения дисбактериоза в кишечнике (*например*, тонком кишечнике, толстом кишечнике и/или толстой кишке) человека.

86. Способ по любому одному из пп.70-85, в котором олигосахаридная композиция снижает риск неблагоприятного воздействия патогена на человека.

87. Способ по любому одному из пп.70-86, в котором олигосахаридную композицию вводят в количестве, эффективном для:

(a) сокращения биомассы патогена (*например*, количества патогенов и/или количества носителей гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента);

(b) модуляции (*например*, повышения) уровня антимикробных соединений, продуцируемых объектом (*например*, резидентной микробиотой кишечника и/или организмом (*например*, человеческими клетками));

(c) модуляции среды желудочно-кишечного тракта (*например*, тонкого кишечника, толстого кишечника или толстой кишки), *например*, снижения pH (*например*, за счет увеличения продуцирования или уровней молочной кислоты, *например*, продуцируемой

резидентной микробиотой кишечника);

(d) модуляции (*например*, снижения) свойств конъюгации микроба-донора гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента или модуляции (*например*, снижения) способности микроба-донора разделять ген резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемент с реципиентом;

(e) сокращения количества гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента реципиентов;

(f) сокращения количества копий гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента (*например*, общего количества копий, *например*, в микробе-доноре) и/или

(g) увеличения стоимости приспособленности поддержания генов или элементов резистентности к антибиотикам

у человека.

88. Способ по любому одному из пп.70-87, в котором олигосахаридную композицию вводят в количестве, эффективном для:

(a) сокращения относительного или абсолютного количества патогенов и/или носителей гена резистентности к лекарственным средствам или антибиотикам или МЛР-элемента и

(b) увеличения относительного или абсолютного количества комменсальных или полезных бактерий.

89. Способ по любому из пп.70-88, в котором патоген представляет собой бактериальный микроорганизм (*например*, не резистентный к антибиотикам) или грибковый микроорганизм.

90. Способ по любому из пп.70-89, в котором патоген представляет собой патоген, резистентный к лекарственным средствам или антибиотикам, необязательно патоген с множественной лекарственной резистентностью (МЛР).

91. Способ по любому из пп.70-90, в котором патоген представляет собой ванкомицин-резистентные Enterococcus (VRE) или карбапенем-резистентные Enterobacteriaceae (CRE).

92. Способ по любому из пп.70-90, в котором патоген представляет собой VRE Enterococcus faecium.

93. Способ по любому из пп.70-90, в котором патоген представляет собой CRE Escherichia coli или CRE Klebsiella pneumoniae.

94. Способ по любому из пп.70-90, в котором патоген представляет собой Candida albicans, Candida glabrata, Candida krusei, Candida tropicalis или Candida lusitaniae.

95. Способ по любому из пп.70-90, в котором патоген представляет собой Clostridium difficile.

96. Способ по любому из пп.70-90, в котором патоген представляет собой грамположительные бактерии или грамотрицательные бактерии.

97. Способ по любому из пп.70-90, в котором патоген представляет собой грибок.

98. Способ по п.97, в котором патоген представляет собой Candida.

99. Способ по любому из пп.70-98, в котором человек:

(i) получал лечение рака;

(ii) является реципиентом трансплантата;

(iii) получал иммуносупрессию;

(iv) имеет аутоиммунное заболевание (*например*, системную красную волчанку, ревматоидный артрит, синдром Шегрена или болезнь Крона);

(v) имеет гематологическую злокачественную опухоль;

(vi) имеет цирроз (*например*, включая терминальную стадию заболевания печени (ESLD));

(vii) готовится или восстанавливается после операции на желудочно-кишечном тракте;

(viii) представляет собой пациента в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ);

(ix) прошел несколько курсов антибиотиков и/или постоянное применение антибиотиков;

(x) имеет положительный посев кала на карбапенем-резистентные Enterobacteriaciae (CRE), бета-лактамазу расширенного спектра (БЛРС), продуцируемую Enterobacteriaciae (БЛРС), и/или ванкомицин-резистентные Enterococcus (VRE);

(xi) имеет незначительное разнообразие бактериальных сообществ в желудочно-кишечном тракте и/или

(xii) недавно имел катетер-ассоциированную инфекцию кровотока (КАИК), катетер-ассоциированную инфекцию мочевыводящих путей (КАИМП) или инфекции, вызванные C. difficile.

100. Способ по п.99, в котором реципиент трансплантации является реципиентом трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) и/или реципиентом трансплантации солидного органа.

101. Способ, включающий:

(a) идентификацию человека, который

(i) получал лечение рака; (ii) является реципиентом трансплантата; (iii) получал иммуносупрессию; (iv) имеет аутоиммунное заболевание (*например*, системную красную волчанку, ревматоидный артрит, синдром Шегрена или болезнь Крона); (v) имеет гематологическую злокачественную опухоль; (vi) имеет цирроз (*например*, включая терминальную стадию заболевания печени (ESLD)); (vii) готовится или восстанавливается после операции на желудочно-кишечном тракте; (viii) представляет собой пациента в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ); (ix) прошел несколько курсов антибиотиков и/или постоянное применение антибиотиков; (x) имеет положительный посев кала на карбапенем-резистентные Enterobacteriaciae (CRE), бета-лактамазу расширенного спектра (БЛРС), продуцируемую Enterobacteriaciae (БЛРС), и/или

ванкомицин-резистентные Enterococcus (VRE); (xi) имеет незначительное разнообразие бактериальных сообществ в желудочно-кишечном тракте; (xii) имеет повышенные уровни патогенов, резистентых к лекарственным средствам или антибиотикам (*например*, VRE, CRE, Candida или Clostridium difficile), грамположительных бактерий или грамотрицательных бактерий и/или (xiii) недавно имел катетер-ассоциированную инфекцию кровотока (КАИК), катетер-ассоциированную инфекцию мочевыводящих путей (КАИМП) или инфекции, вызванные C. difficile; и

(b) лечение объекта эффективным количеством олигосахаридной композиции по любому одному из пп.8-69.

102. Способ по любому одному из пп.70-101, дополнительно включающий введение человеку популяции комменсальных или пробиотических бактерий.

103. Способ по п.102, в котором человек представляет собой пациента, имеющего микробиом кишечника, лишенный каких-либо обнаруживаемых уровней комменсальных бактерий.

104. Способ по любому одному из пп.70-103, дополнительно включающий введение человеку антибиотиков (*например*, антибиотиков широкого спектра действия) или другого стандартного лечения одновременно с олигосахаридной композицией.

105. Способ по любому одному из пп.70-104, в котором объекта лечили антибиотиками (*например*, антибиотиками широкого спектра действия) или другим стандартным лечением перед введением олигосахаридной композиции.

106. Способ по любому одному из пп.70-105, в котором олигосахаридную композицию вводят объекту от одного до двадцати восьми дней до лечения рака, хирургического вмешательства (*например*, трансплантации, *например*, гемопоэтических стволовых клеток) или поступления в отделение реанимации и интенсивной терапии.

107. Способ по любому одному из пп.70-106, в котором олигосахаридную композицию вводят объекту от одного до двадцати восьми дней после лечения рака, хирургического вмешательства (*например*, трансплантации, *например*, гемопоэтических стволовых клеток) или поступления в отделение реанимации и интенсивной терапии.

108. Способ по любому одному из пп.70-107, в котором олигосахаридную композицию вводят объекту, по меньшей мере, от одного до двадцати восьми дней после начала возникновения патогенной инфекции.

109. Способ по любому одному из пп.70-108, в котором способ включает введение олигосахаридной композиции в кишечник (*например*, толстый кишечник).

110. Способ по любому одному из пп.70-109, в котором олигосахаридную композицию вводят объекту самостоятельно.

111. Способ по любому одному из пп.70-110, в котором олигосахаридная композиция составлена в виде фармацевтической композиции для пероральной доставки.

112. Способ по любому одному из пп.70-111, в котором олигосахаридную композицию вводят объекту перорально.

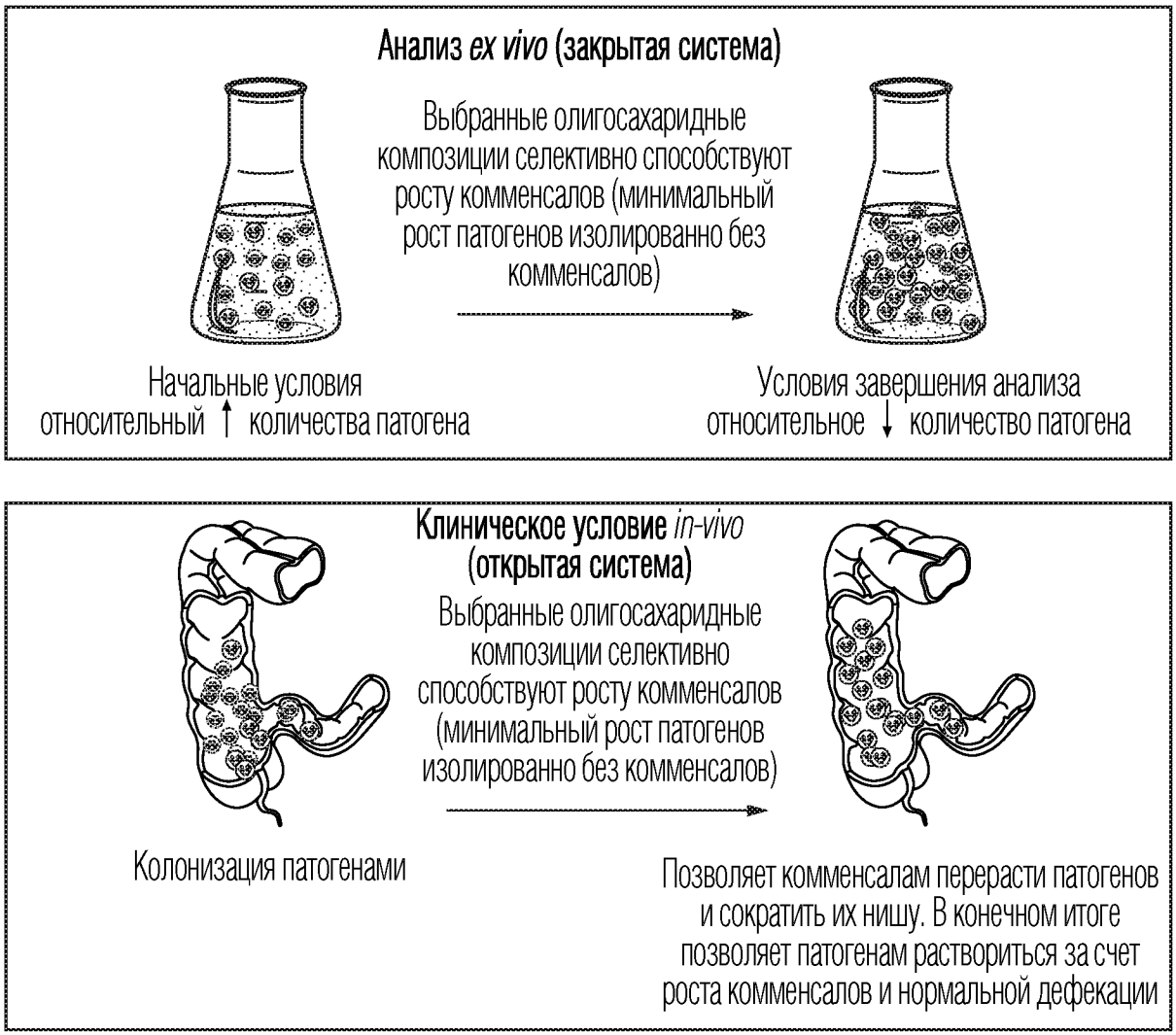
113. Способ по любому одному из пп.70-110, в котором олигосахаридная

композиция составлена в виде фармацевтической композиции для доставки через зонд для питания.

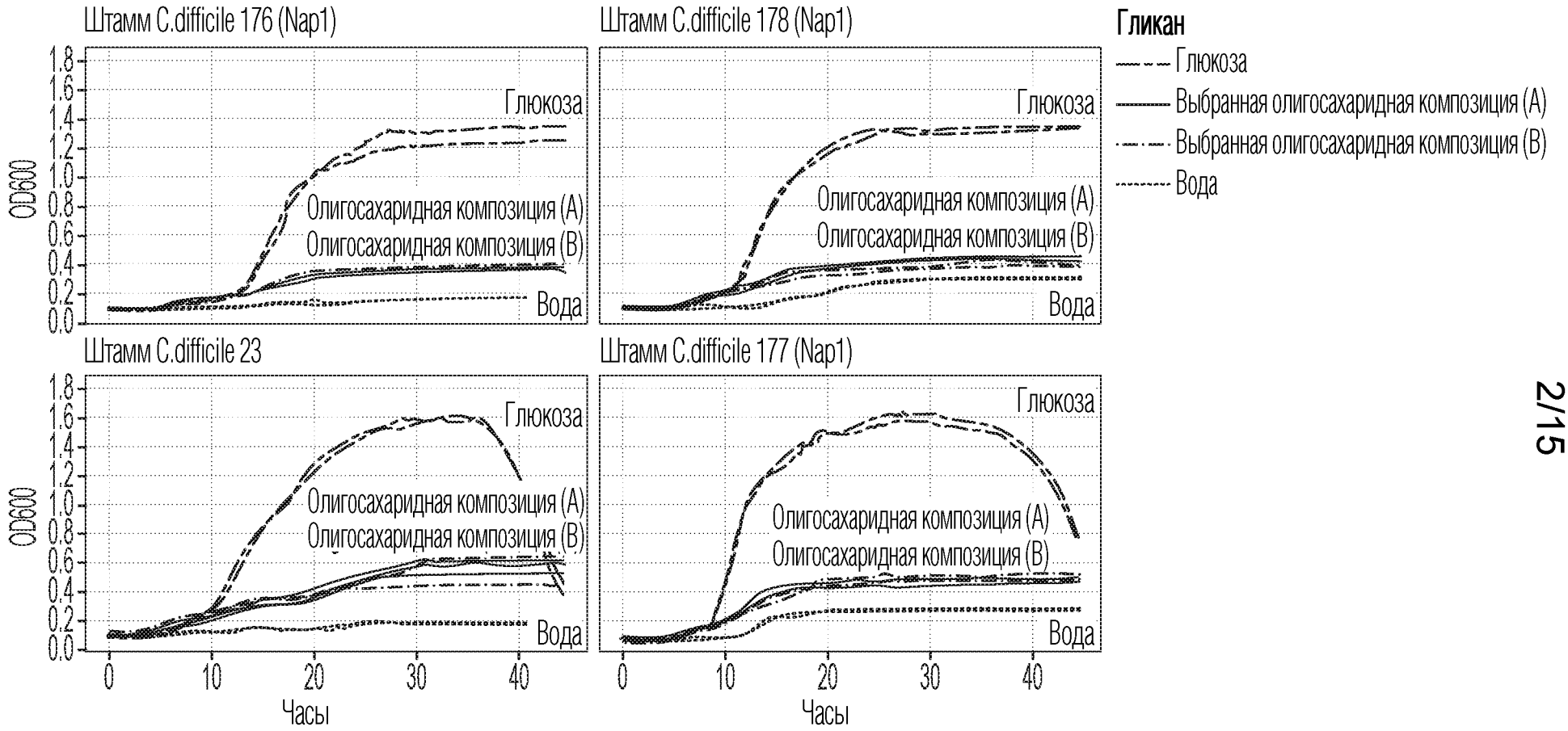
114. Способ по любому одному из пп.70-110 или 113, в котором олигосахаридную композицию вводят объекту через зонд для питания.

115. Способ по любому одному из пп.70-110, в котором олигосахаридную композицию вводят объекту один раз в день или два раза в день.

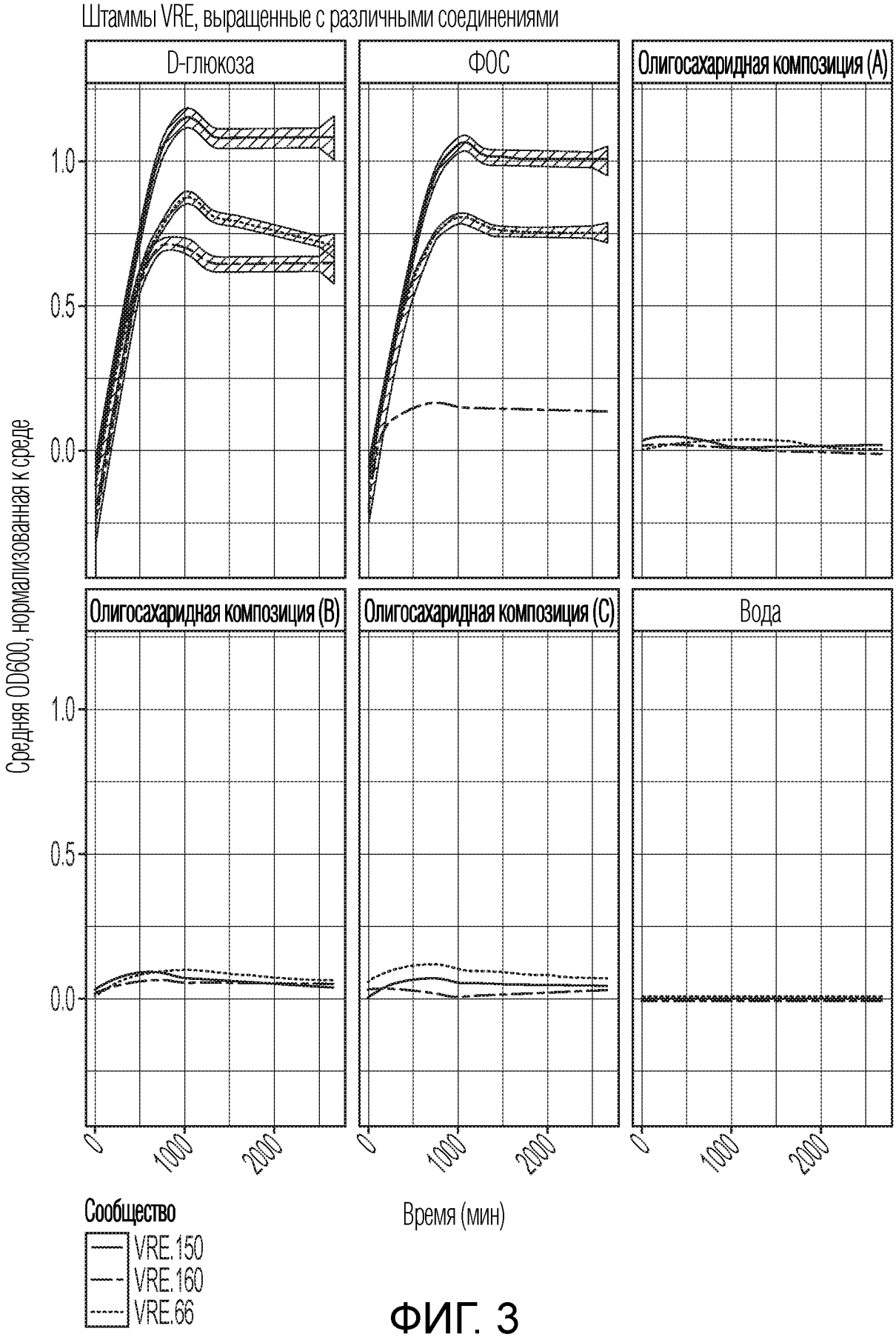
По доверенности


Анализ ex vivo (закрытая система)
Выбранные олигосахаридные композиции селективно способствуют росту комменсалов (минимальный рост патогенов изолированно без комменсалов)
Начальные условия
относительный ↑ количества патогена
Условия завершения анализа
относительное ↓ количество патогена
Клиническое условие in-vivo
(открытая система)
Выбранные олигосахаридные композиции селективно способствуют росту комменсалов (минимальный рост патогенов изолированно без комменсалов)
Колонизация патогенами
Позволяет комменсалам перерасти патогенов и сократить их нишу. В конечном итоге позволяет патогенам раствориться за счет роста комменсалов и нормальной дефекации

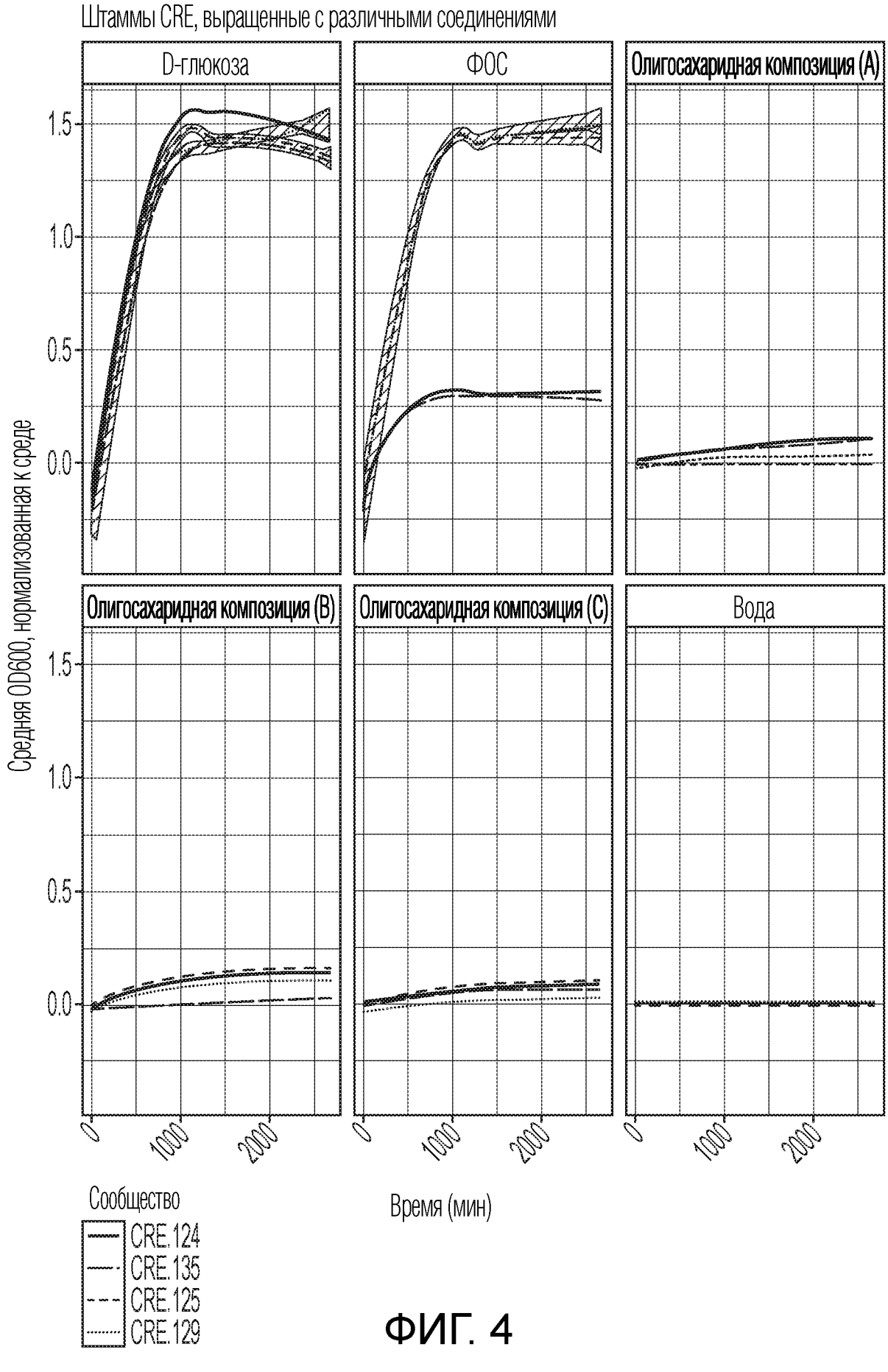
ФИГ. 1


Штамм C.difficile 176 (Nap1)
Штамм C.difficile 178 (Nap1)
Штамм C.difficile 23
Штамм C.difficile 177 (Nap1)
OD600
Часы
Глюкоза
Олигосахаридная композиция (A)
Олигосахаридная композиция (B)
Вода
Гликан
Глюкоза
Выбранная олигосахаридная композиция (A)
Выбранная олигосахаридная композиция (B)
Вода

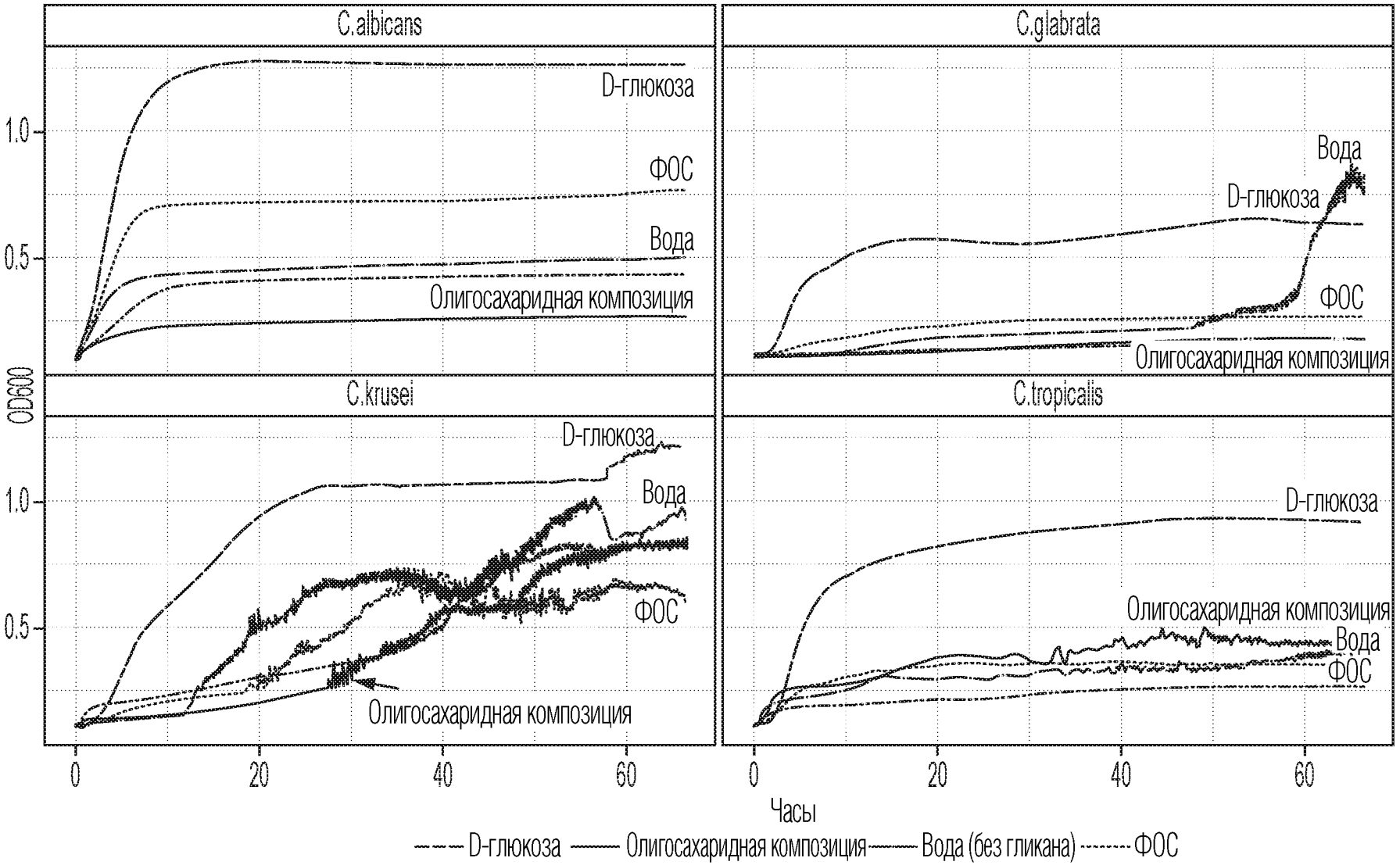
ФИГ. 2


Штаммы VRE, выращенные с различными соединениями
D-глюкоза
ФОС
Олигосахаридная композиция (A)
Олигосахаридная композиция (B)
Олигосахаридная композиция (C)
Вода
Средняя OD600, нормализованная к среде
1.0
0.5
0.0
0
1000
2000
Время (мин)
Сообщество
VRE.150
VRE.160
VRE.66

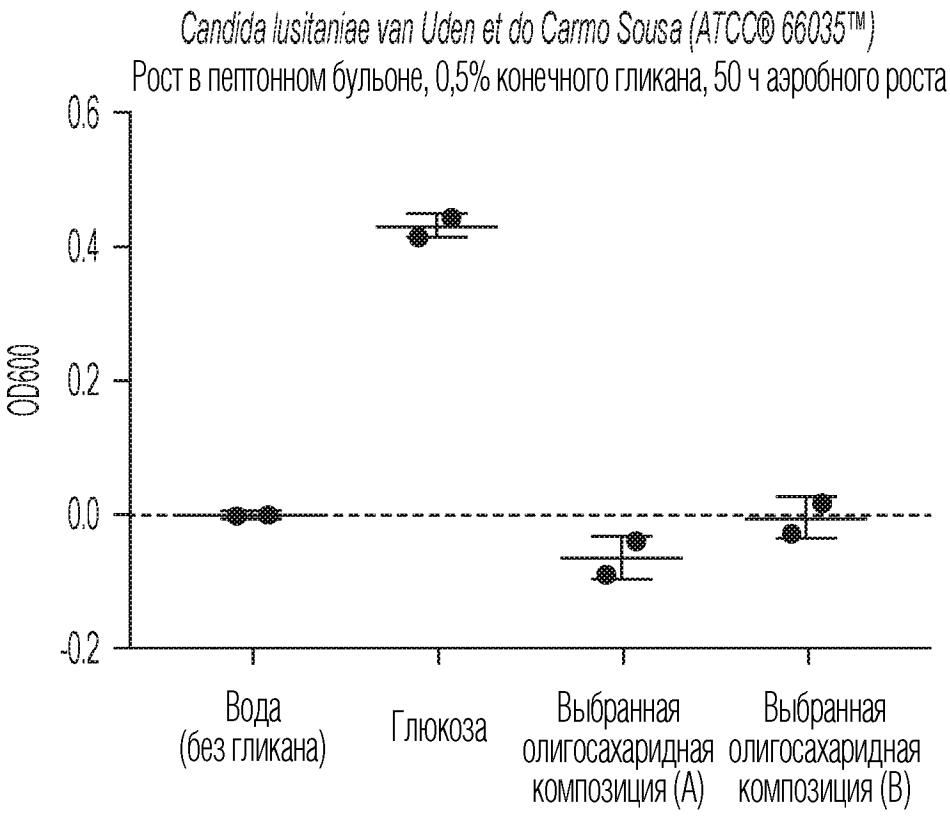
ФИГ. 3


Штаммы CRE, выращенные с различными соединениями
D-глюкоза
ФОС
Олигосахаридная композиция (A)
Олигосахаридная композиция (B)
Олигосахаридная композиция (C)
Вода
Средняя OD600, нормализованная к среде
1.5
1.0
0.5
0.0
0
1000
2000
Время (мин)
Сообщество
CRE.124
CRE.135
CRE.125
CRE.129

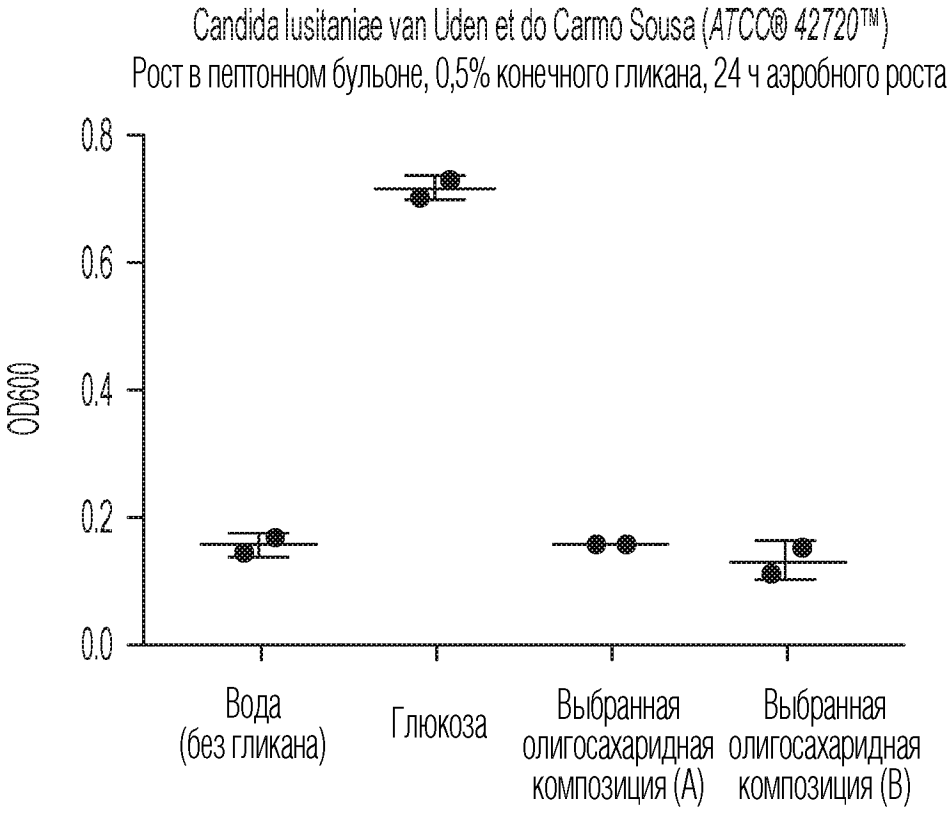
ФИГ. 4


C.albicans
C.glabrata
C.krusei
C.tropicalis
D-глюкоза
ФОС
Вода
Олигосахаридная композиция
OD600
1.0
0.5
0
20
40
60
Часы
D-глюкоза
Олигосахаридная композиция
Вода (без гликана)
ФОС

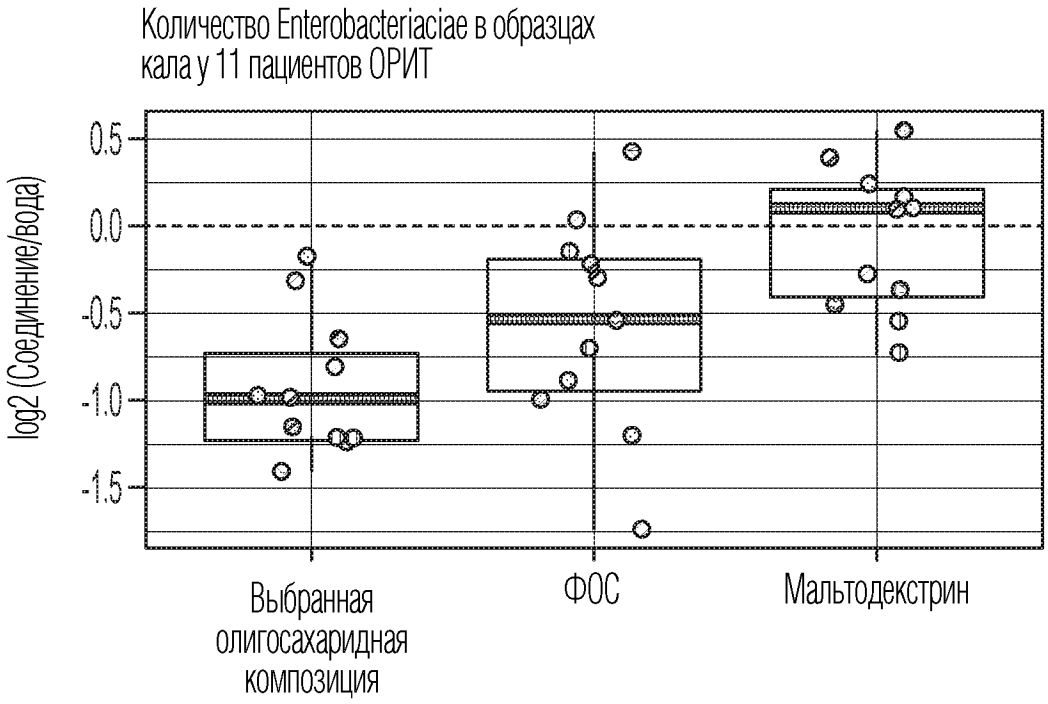
ФИГ. 5


Candida lusitaniae van Uden et do Carmo Sousa (ATCC® 66035™)
Рост в пептонном бульоне, 0,5% конечного гликана, 50 ч аэробного роста
OD600
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
Вода (без гликана)
Глюкоза
Выбранная олигосахаридная композиция (A)
Выбранная олигосахаридная композиция (B)

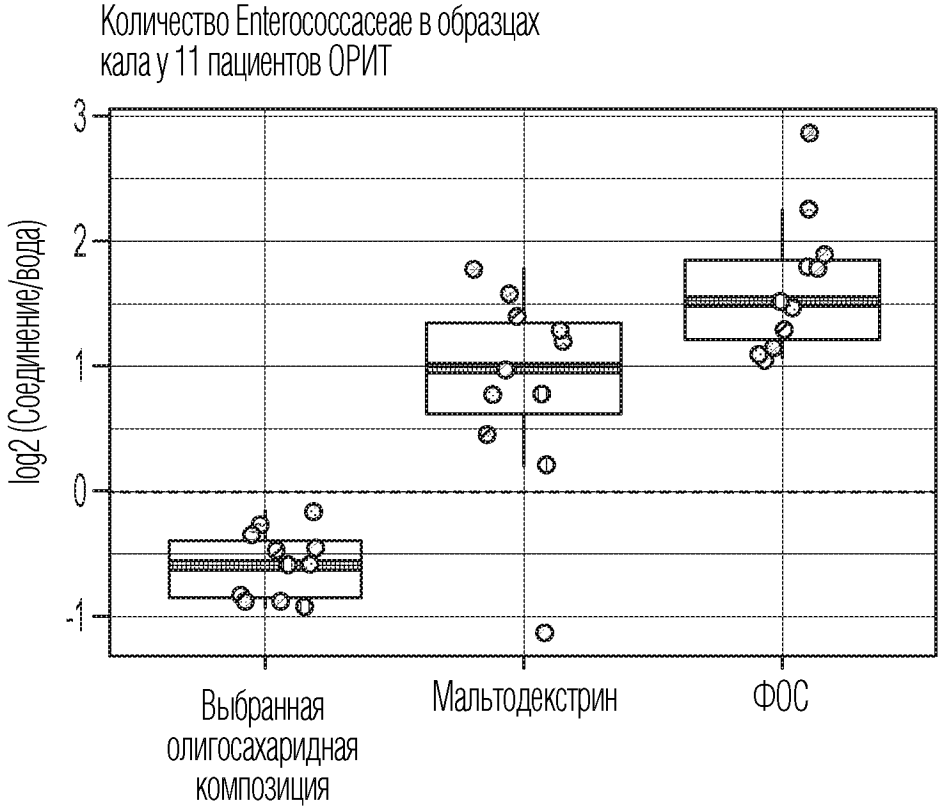
ФИГ. 6A


Candida lusitaniae van Uden et do Carmo Sousa (ATCC® 42720™)
Рост в пептонном бульоне, 0,5% конечного гликана, 24 ч аэробного роста
OD600
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
Вода (без гликана)
Глюкоза
Выбранная олигосахаридная композиция (A)
Выбранная олигосахаридная композиция (B)

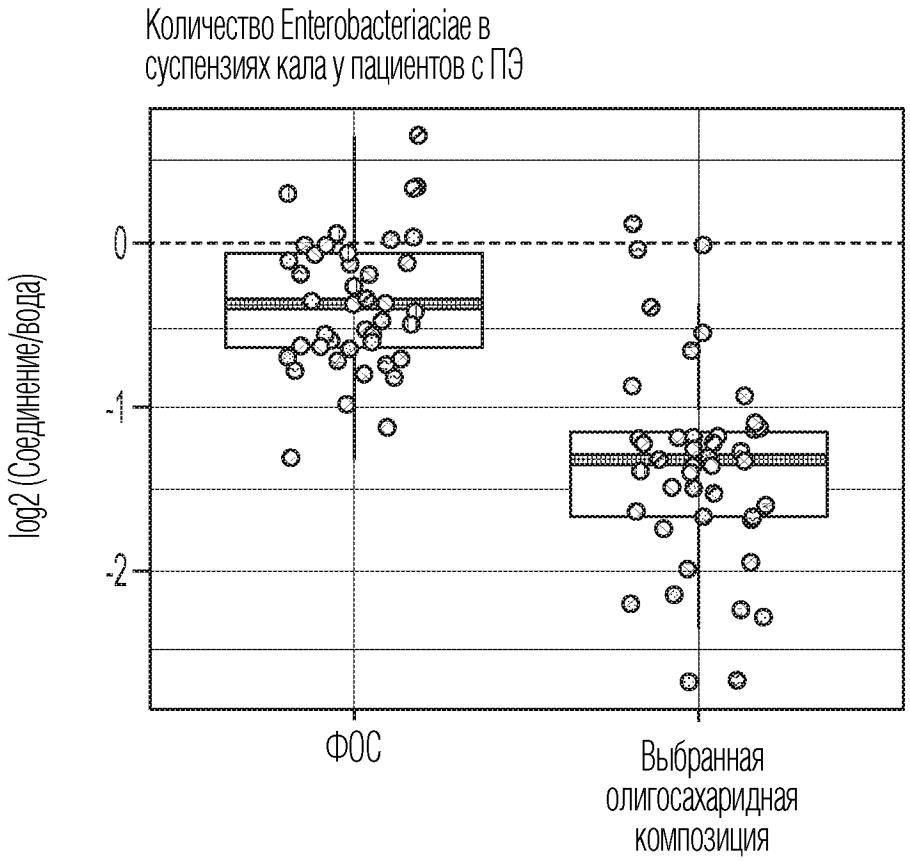
ФИГ. 6B


Количество Enterobacteriaciae в образцах кала у 11 пациентов ОРИТ
log2 (Соединение/вода)
0.5
0.0
-0.5
-1.0
-1.5
Выбранная олигосахаридная композиция
ФОС
Мальтодекстрин

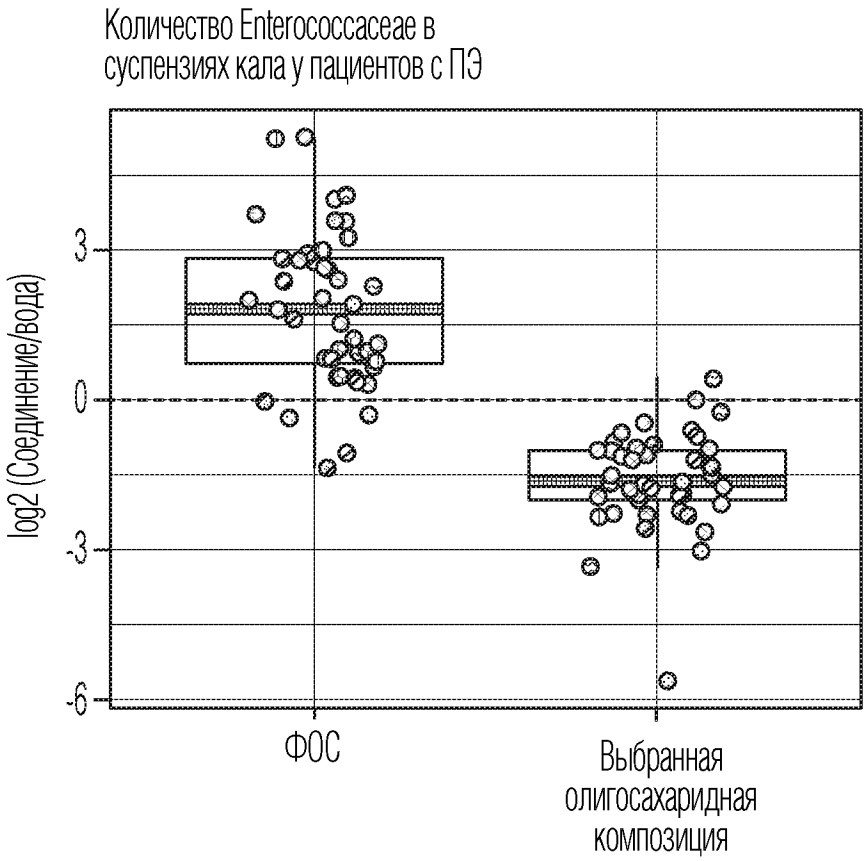
ФИГ. 7A


Количество Enterococcaceae в образцах кала у 11 пациентов ОРИТ
log2 (Соединение/вода)
3
2
1
0
-1
Выбранная олигосахаридная композиция
Мальтодекстрин
ФОС

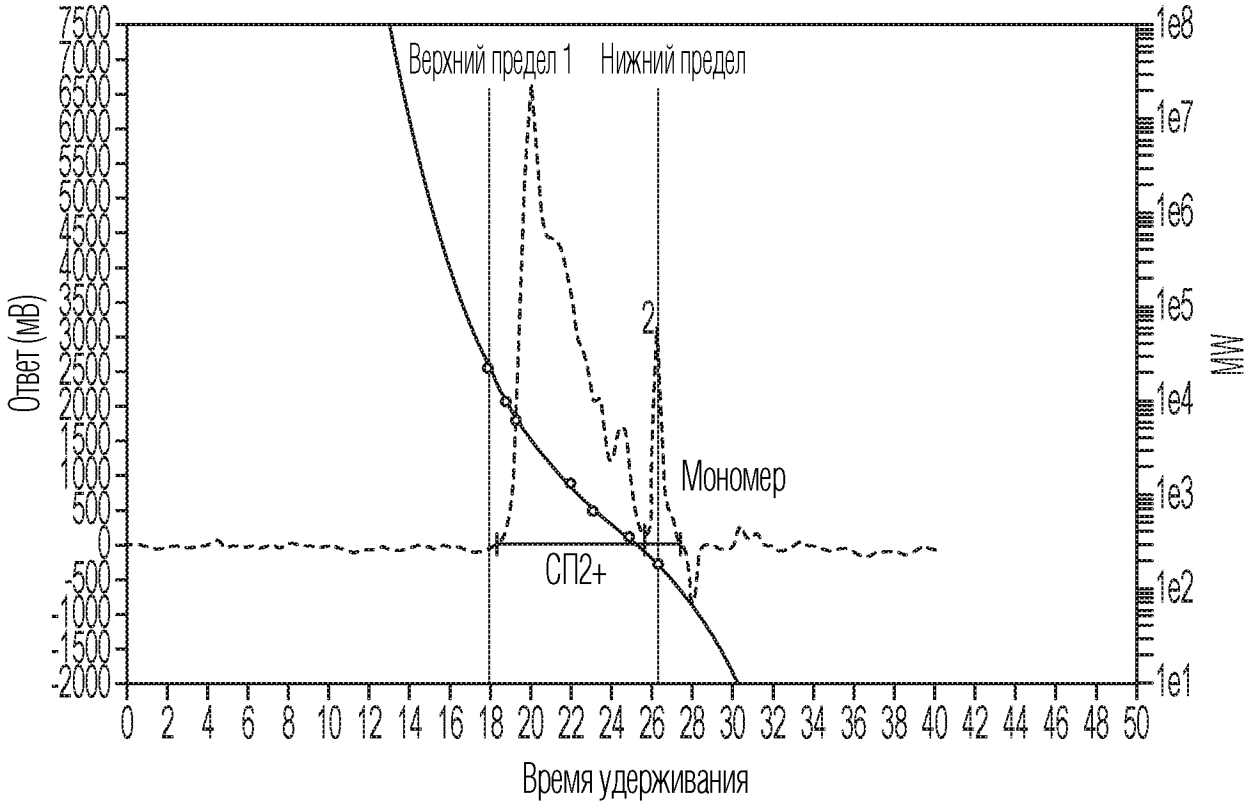
ФИГ. 7B


Количество Enterobacteriaciae в суспензиях кала у пациентов с ПЭ
log2 (Соединение/вода)
0
-1
-2
ФОС
Выбранная олигосахаридная композиция

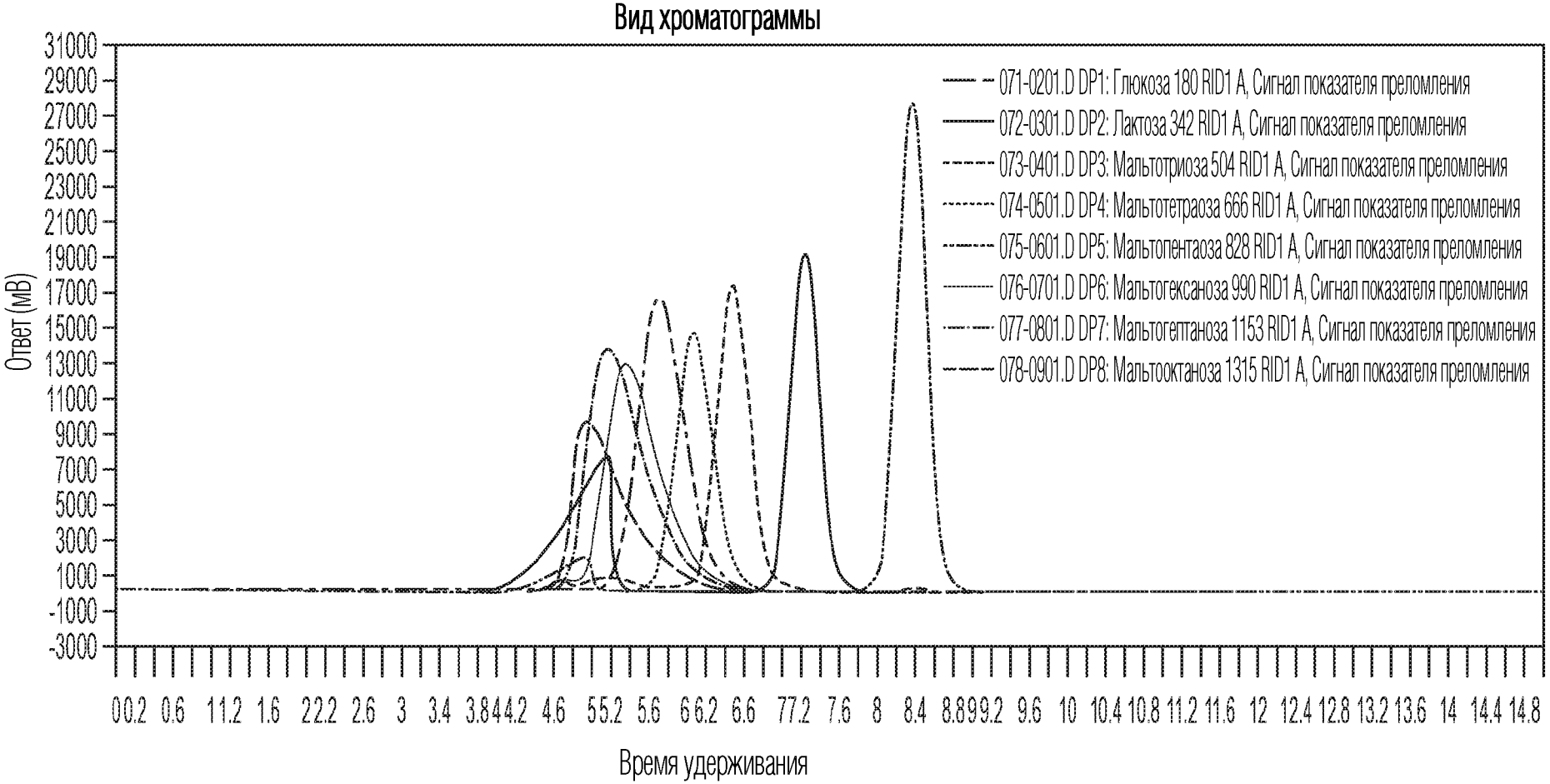
ФИГ. 8А


Количество Enterococcaceae в
суспензиях кала у пациентов с ПЭ
log2 (Соединение/вода)
3
0
-3
-6
ФОС
Выбранная
олигосахаридная
композиция

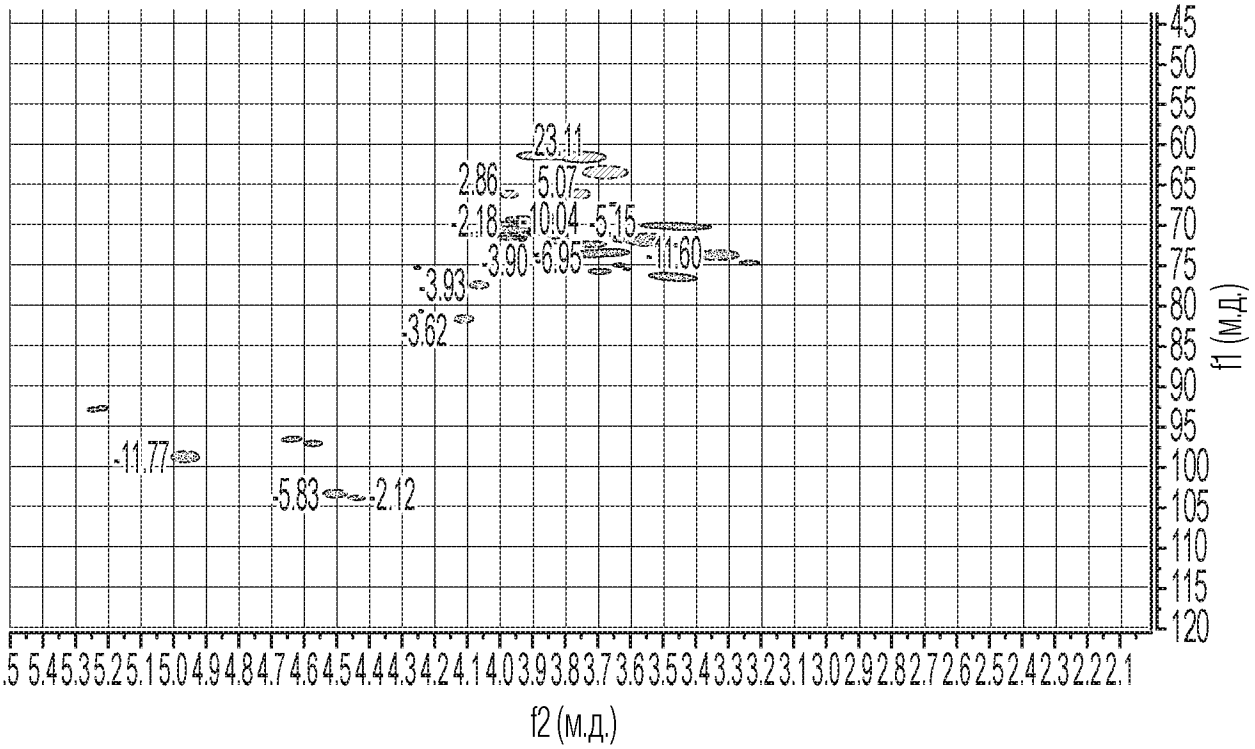
ФИГ. 8B


Верхний предел 1
Нижний предел
2
Мономер
СП2+
Ответ (мВ)
MW
Время удерживания
7500
7000
6500
6000
5500
5000
4500
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
-500
-1000
-1500
-2000
1e8
1e7
1e6
1e5
1e4
1e3
1e2
1e1
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40 42 44 46 48 50

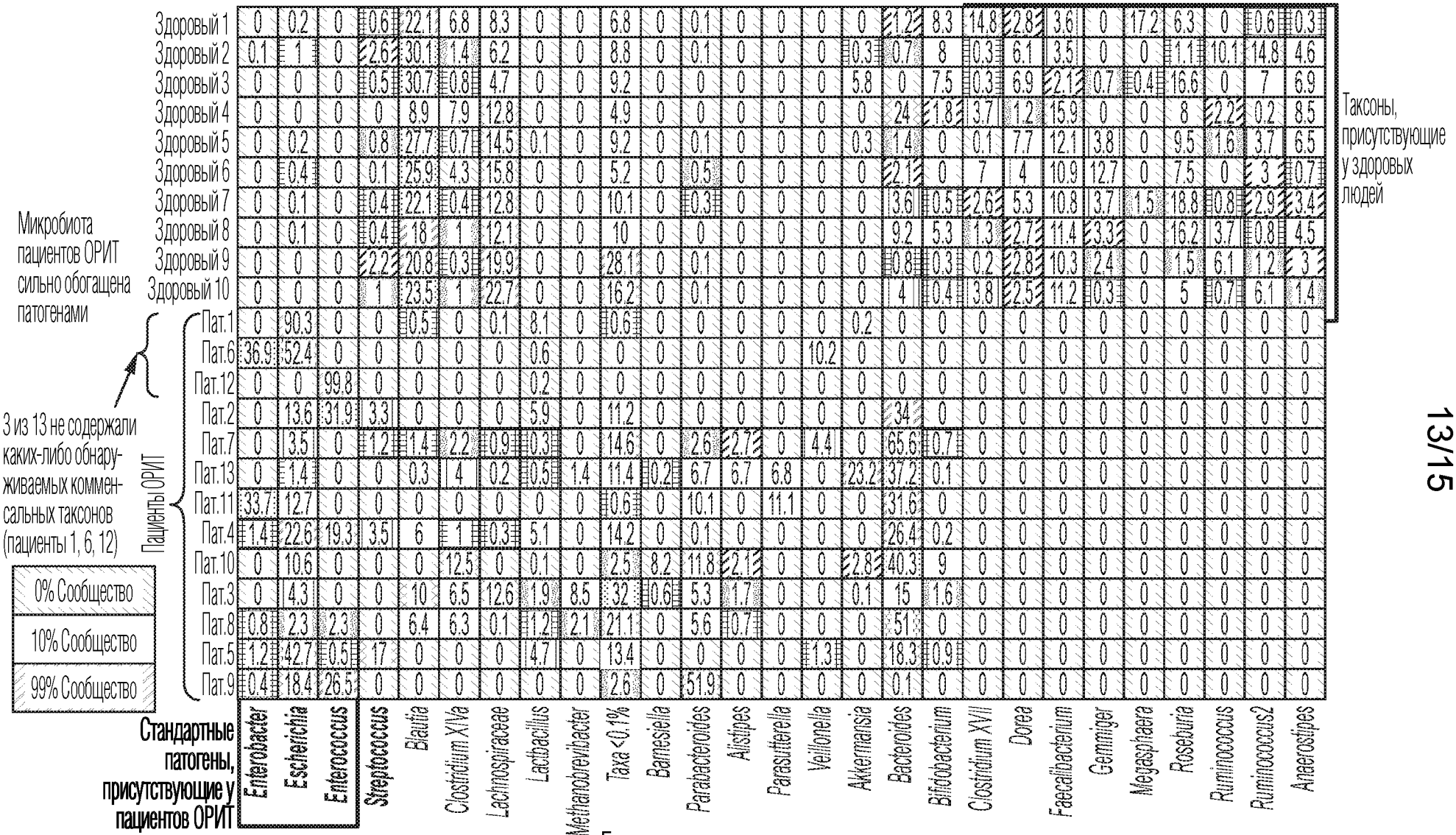
ФИГ. 9


Вид хроматограммы
Ответ (мВ)
31000
29000
27000
25000
23000
21000
19000
17000
15000
13000
11000
9000
7000
5000
3000
1000
-1000
-3000
0 0.2 0.6 1 1.2 1.6 2 2.2 2.6 3 3.4 3.8 4 4.2 4.6 5 5.2 5.6 6 6.2 6.6 7 7.2 7.6 8 8.4 8.8 9 9.2 9.6 10 10.4 10.8 11.2 11.6 12 12.4 12.8 13.2 13.6 14 14.4 14.8
Время удерживания
071-0201.D DP1: Глюкоза 180 RID1 A, Сигнал показателя преломления
072-0301.D DP2: Лактоза 342 RID1 A, Сигнал показателя преломления
073-0401.D DP3: Мальтотриоза 504 RID1 A, Сигнал показателя преломления
074-0501.D DP4: Мальтотетраоза 666 RID1 A, Сигнал показателя преломления
075-0601.D DP5: Мальтопентаоза 828 RID1 A, Сигнал показателя преломления
076-0701.D DP6: Мальтогексаноза 990 RID1 A, Сигнал показателя преломления
077-0801.D DP7: Мальтогептаноза 1153 RID1 A, Сигнал показателя преломления
078-0901.D DP8: Мальтооктаноза 1315 RID1 A, Сигнал показателя преломления

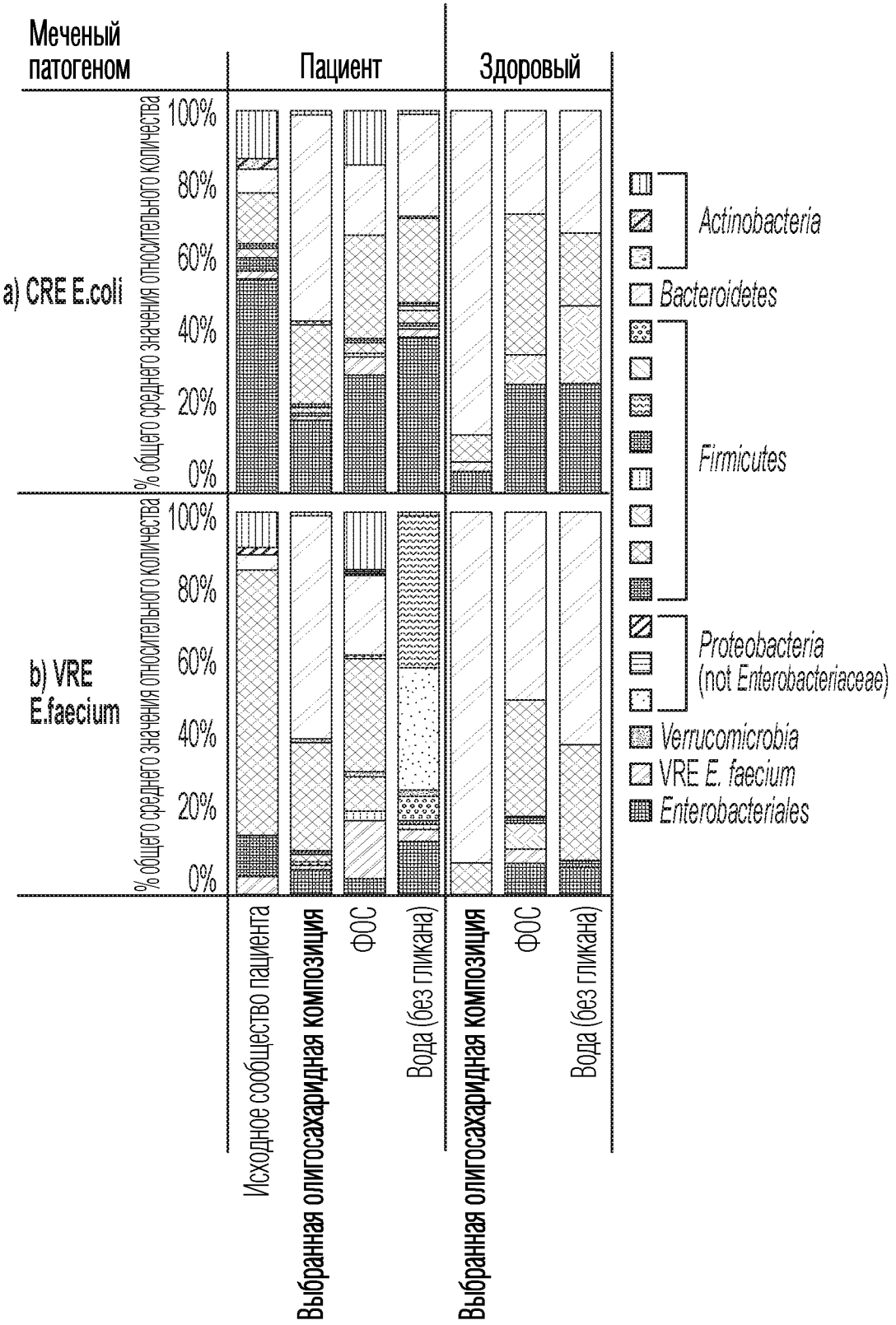
ФИГ. 10


23.11
2.86
5.07
-2.18
10.04
-5.15
-3.90
-6.95
-11.60
-3.93
-3.62
-11.77
-5.83
-2.12
45
50
55
60
65
70
75
80
85
90
95
100
105
110
115
120
f1 (м.д.)
.5 5.4 5.3 5.2 5.1 5.0 4.9 4.8 4.7 4.6 4.5 4.4 4.3 4.2 4.1 4.0 3.9 3.8 3.7 3.6 3.5 3.4 3.3 3.2 3.1 3.0 2.9 2.8 2.7 2.6 2.5 2.4 2.3 2.2 2.1
f2 (м.д.)

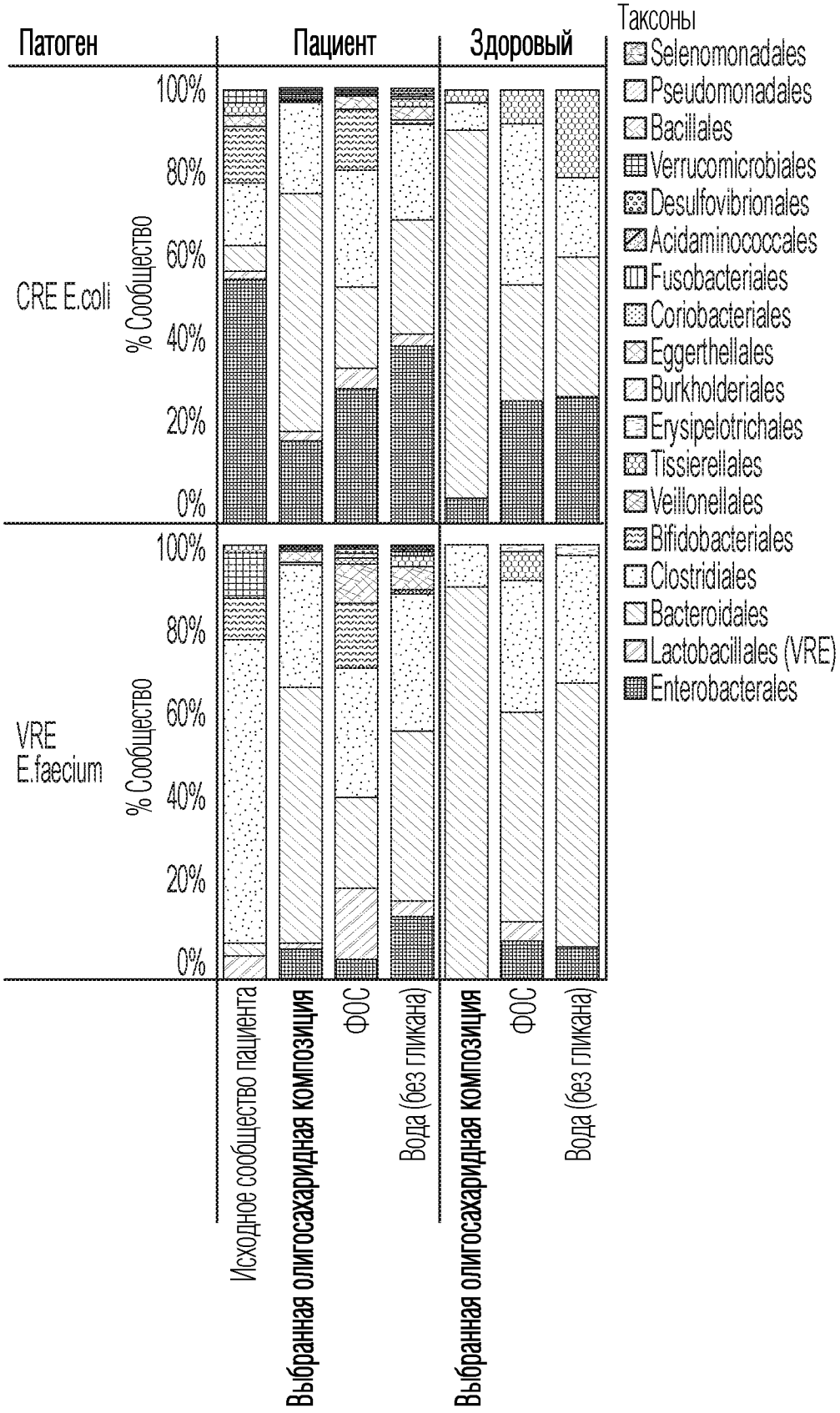
ФИГ. 11


Здоровый 1 0 0.2 0 0.6 22.1 6.8 8.3 0 0 6.8 0 0.1 0 0 0 0 1.2 8.3 14.8 2.8 3.6 0 17.2 6.3 0 0.6 0.3
Здоровый 2 0.1 1 0 2.6 30.1 1.4 6.2 0 0 8.8 0 0.1 0 0 0 0.3 0.7 8 0.3 6.1 3.5 0 0 1.1 10.1 14.8 4.6
Здоровый 3 0 0 0 0.5 30.7 0.8 4.7 0 0 9.2 0 0 0 0 0 5.8 0 7.5 0.3 6.9 2.1 0.7 0.4 16.6 0 7 6.9
Здоровый 4 0 0 0 0 8.9 7.9 12.8 0 0 4.9 0 0 0 0 0 0 24 1.8 3.7 1.2 15.9 0 0 8 2.2 0.2 8.5
Здоровый 5 0 0.2 0 0.8 27.7 0.7 14.5 0.1 0 9.2 0 0.1 0 0 0 0.3 1.4 0 0.1 7.7 12.1 3.8 0 9.5 1.6 3.7 6.5
Здоровый 6 0 0.4 0 0.1 25.9 4.3 15.8 0 0 5.2 0 0.5 0 0 0 0 2.1 0 7 4 10.9 12.7 0 7.5 0 3 0.7
Здоровый 7 0 0.1 0 0.4 22.1 0.4 12.8 0 0 10.1 0 0.3 0 0 0 0 3.6 0.5 2.6 5.3 10.8 3.7 1.5 18.8 0.8 2.9 3.4
Здоровый 8 0 0.1 0 0.4 18 1 12.1 0 0 10 0 0 0 0 0 0 9.2 5.3 1.3 2.7 11.4 3.3 0 16.2 3.7 0.8 4.5
Здоровый 9 0 0 0 2.2 20.8 0.3 19.9 0 0 28.1 0 0.1 0 0 0 0 0.8 0.3 0.2 2.8 10.3 2.4 0 1.5 6.1 1.2 3
Здоровый 10 0 0 0 1 23.5 1 22.7 0 0 16.2 0 0.1 0 0 0 0 1 0.4 3.8 2.5 11.2 0.3 0 5 0.7 6.1 1.4
Пат.1 0 90.3 0 0 0.5 0 0.1 8.1 0 0.6 0 0 0 0 0 0.2 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Пат.6 36.9 52.4 0 0 0 0 0 0.6 0 0 0 0 0 0 10.2 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Пат.12 0 0 99.8 0 0 0 0 0.2 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Пат.2 0 13.6 31.9 3.3 0 0 0 5.9 0 11.2 0 0 0 0 0 0 34 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Пат.7 0 3.5 0 1.2 1.4 2.2 0.9 0.3 0 14.6 0 2.6 2.7 0 4.4 0 65.6 0.7 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Пат.13 0 1.4 0 0 0.3 4 0.2 0.5 1.4 11.4 0.2 6.7 6.7 6.8 0 23.2 37.2 0.1 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Пат.11 33.7 12.7 0 0 0 0 0 0 0 0.6 0 10.1 0 11.1 0 0 31.6 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Пат.4 1.4 22.6 19.3 3.5 6 1 0.3 5.1 0 14.2 0 0.1 0 0 0 0 26.4 0.2 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Пат.10 0 10.6 0 0 0 12.5 0 0.1 0 2.5 8.2 11.8 2.1 0 0 2.8 40.3 9 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Пат.3 0 4.3 0 0 10 6.5 12.6 1.9 8.5 32 0.6 5.3 1.7 0 0 0.1 15 1.6 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Пат.8 0.8 2.3 2.3 0 6.4 6.3 0.1 1.2 2.1 21.1 0 5.6 0.7 0 0 0 51 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Пат.5 1.2 42.7 0.5 17 0 0 0 14.7 0 13.4 0 0 0 0 1.3 0 18.3 0.9 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Пат.9 0.4 18.4 26.5 0 0 0 0 0 0 2.6 0 51.9 0 0 0 0 0.1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
Микробиота пациентов ОРИТ сильно обогащена патогенами
3 из 13 не содержали каких-либо обнаруживаемых коммен-сальных таксонов (пациенты 1, 6, 12)
Пациенты ОРИТ
0% Сообщество
10% Сообщество
99% Сообщество
Таксоны, присутствующие у здоровых людей
Стандартные патогены, присутствующие у пациентов ОРИТ
Enterobacter
Escherichia
Enterococcus
Streptococcus
Blautia
Clostridium XlVa
Lachnospiraceae
Lactbacillus
Methanobrevibacter
Taxa <0.1%
Barnesiella
Parabacteroides
Alistipes
Parasutterella
Veillonella
Akkermansia
Bacteroides
Bifidobacterium
Clostridium XVIII
Dorea
Faecalibacterium
Gemmiger
Meyasphaera
Roseburia
Ruminococcus
Ruminococcus2
Anaerostipes
Бактериальные таксоны на уровне рода

ФИГ. 12


Меченый патогеном
Пациент
Здоровый
a) CRE E.coli
b) VRE E.faecium
% общего среднего значения относительного количества
100%
80%
60%
40%
20%
0%
Actinobacteria
Bacteroidetes
Firmicutes
Proteobacteria (not Enterobacteriaceae)
Verrucomicrobia
VRE E. faecium
Enterobacteriales
Исходное сообщество пациента
Выбранная олигосахаридная композиция
ФОС
Вода (без гликана)
Выбранная олигосахаридная композиция
ФОС
Вода (без гликана)

ФИГ. 13А


Патоген
Пациент
Здоровый
CRE E.coli
VRE
E.faecium
% Сообщество
100%
80%
60%
40%
20%
0%
Таксоны
Selenomonadales
Pseudomonadales
Bacillales
Verrucomicrobiales
Desulfovibrionales
Acidaminococcales
Fusobacteriales
Coriobacteriales
Eggerthellales
Burkholderiales
Erysipelotrichales
Tissierellales
Veillonellales
Bifidobacteriales
Clostridiales
Bacteroidales
Lactobacillales (VRE)
Enterobacterales
Исходное сообщество пациента
Выбранная олигосахаридная композиция
ФОС
Вода (без гликана)
Выбранная олигосахаридная композиция
ФОС
Вода (без гликана)

ФИГ. 13В