



KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

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

Опубликована :

- с отчётом о международном поиске (статья 21.3)
- до истечения срока для изменения формулы изобретения и с повторной публикацией в случае получения изменений (правило 48.2(h))
- в черно-белом варианте ; международная заявка в поданном виде содержит цвет или оттенки серого и доступна для загрузки из *PATENTSCOPE*.

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ВАКЦИНЫ  
ГЕМОФИЛЬНОЙ ТИП В КОНЪЮГИРОВАННОЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Область техники .

Изобретение относится к области биотехнологии и касается способа получения конъюгированной вакцины для профилактики гемофильной инфекции из штамма *Haemophilus influenzae* тип b «ГКПМ - Оболенск » В -7884.

Уровень техники .

Описан способ получения капсулярного полисахарида *Haemophilus influenzae* типа b (Hib), заключающийся в культивировании штамма в культуральной среде, сборе и обработке супернатанта культуры для экстрагирования капсулярного полисахарида с последующим его конъюгированием с белком -носителем (патент RU 2644246). Недостатком данного способа является использование для культивирования продуцента питательной среды сложного состава, состоящей из 33 компонентов, многие из которых требуют отдельной предварительной подготовки. Кроме того, инактивацию биомассы проводят раствором формалина в конечной концентрации 0,35-0,37% (об./об.), отсутствие остатков которого необходимо подтверждать в готовой вакцине.

В патенте (RU 2542393) раскрывается способ получения конъюгата капсульного полисахарида *Haemophilus influenzae* тип b с антигенами, который включает получение смеси столбнячного и дифтерийного анатоксинов, адсорбированных на геле гидроокиси или фосфата алюминия, ее очистку, связывание карбодиимидным способом через дигидразид адипиновой кислоты с капсульным полисахаридом Hib и отмывку центрифугированием. Недостатком данного способа является использование анатоксинов адсорбированных на геле гидроокиси или фосфата алюминия. Присутствие гидроокиси или фосфата алюминия в составе вакцины потенциально увеличивает ее реактогенность и поствакцинальные осложнения, а также может приводить к формированию иммунного ответа в том числе и на анатоксины.

Наиболее близким аналогом заявляемого изобретения является способ получения антигенного вакцинного препарата *Haemophilus influenzae* типа B путем выращивания бактерий на жидких питательных средах с последующим отделением биомассы методом ультрафильтрации на молекулярных волоконных фильтрах для извлечения экзогенного полисахарида. Далее концентрат клеток обрабатывают 2,5%-ным раствором натрия хлорида с натриевой солью ЭДТА и из полученного экстракта ультрафильтрацией на молекулярных волоконных фильтрах выделяют капсульный полисахарид Hib в комплексе с белком, который соединяют с экзогенным полисахаридом Hib в соотношении 1:1 (патент RU 2185191).

Недостатком данного способа является долгая подготовка посевного материала (10 ч) с использованием твердой питательной среды, что приводит к необходимости смыва клеток с поверхности физиологическим раствором, сопровождающийся высоким риском контаминации и дополнительными трудозатратами по подготовке матрасов со стерильной средой. Инактивацию биомассы проводят раствором формалина, что приводит к необходимости последующего подтверждения его отсутствия в готовой вакцине и, следовательно, проведения дополнительного контроля. Использование ультрафильтрации для отделения биомассы из культуральной жидкости приводит к потерям по капсульному полисахариду ввиду использования молекулярных волокон с малым размером пор (20 кДа), на которых в процессе фильтрации скапливается слой бактериальных клеток, задерживающих целевой продукт - полисахарид ПРФ. Экзогенный полисахарид Hib после отделения биомассы концентрируется только на молекулярных волокнах без дальнейшей очистки, а капсульный полисахарид в комплексе с белком Hib также подвергается дополнительно только диализу, что может усиливать реактогенность готовой вакцины.

#### Описание фигур

На Фиг. 1 показано подтверждение подлинности полученного продукта. А - образец, Б - контроль (положительная реакция латекс-агглютинации).

## Раскрытие сущности изобретения

Нами разработан способ получения вакцины гемофильной тип b конъюгированной, получаемой путем культивирования оригинального штамма *Haemophilus influenzae* тип b «ГКПМ -Оболенск» В-7884 (штамм защищен патентом RU 2624014) в жидкой питательной среде простого состава с последующим выделением, концентрированием и очисткой субстанции полирибозилрибитолфосфата (ПРФ), которую активируют, конъюгируют с модифицированным белком-носителем и подвергают дополнительной постадийной очистке. Полученный конъюгат стерилизуют фильтрацией, добавляют необходимые растворители в рассчитанном количестве, разливают по флаконам и лиофильно высушивают.

Техническими результатами, достигаемыми при осуществлении изобретения, являются следующие.

По сравнению с используемыми способами получения конъюгированных вакцин для профилактики гемофильной инфекции субстанцию ПРФ получают из высокопродуктивного штамма *Haemophilus influenzae* тип b «ГКПМ -Оболенск» В-7884, культивируемого в жидкой питательной среде простого состава, в которую в одном из вариантов дополнительно внесен раствор рибозы. При этом концентрация полисахарида в культуральной жидкости выше, описанной в патенте RU 2644246 (до 300 мкг /мл), и составляет 528-594

мкг /мл в случае с добавлением рибозы и 400-450 мкг /мл без добавления рибозы .

В предлагаемой технологии исключена стадия подготовки посевного материала путем культивирования продуцента на твердой питательной среде , что сокращает время и затраты на получение вакцины . Инактивация культуральной жидкости проводится путем нагревания , а не добавлением формалина , что исключает необходимость контроля его содержания в готовой вакцине . Инактивированная культуральная жидкость подвергается очистке через каскад глубинных фильтров с диаметром пор от 3,0-0,8 до 0,3-0,1 мкм , что позволяет отделить бактериальную массу и при этом минимизировать потери по полисахариду . При очистке и выделении субстанции нативный раствор ПРФ предварительно подвергается концентрированию (в одном из вариантов ), что значительно снижает объемы продукта , а значит позволяет уменьшить затраты на реагенты и упрощает процесс . В качестве белка -носителя используется столбнячный анатоксин не сорбированный на геле гидроокиси или фосфата алюминия , что делает полученную вакцину не реактогенной и при этом высоко иммуногенной . Очистка полисахарида ПРФ и конъюгата с белком -носителем проводится с использованием ультрафильтрационных кассет из современных материалов - полиэфирсульфон , гель -хроматографии , в одном из вариантов осветлением путем фильтрации через угольные картонные фильтры с диаметром пор 0,5-1,0 мкм , что позволяет снизить

содержание эндотоксинов , нуклеиновых кислот , белка , удалить остаточные реагенты , используемые для конъюгации .

Таким образом , изобретение представляет собой способ получения вакцины гемофильной тип b конъюгированной , включающий следующие этапы : культивирование штамма *Haemophilus influenzae* тип b «ГКПМ -Оболенск » В-7884 на жидкой питательной среде следующего состава (г/л): глюкоза - 5,0; дрожжевой экстракт - 2,0; пептон - 15,0;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  - 0,7;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  - 2,5;  $\text{KCl}$  - 0,5;  $\text{NaCl}$  - 3,3; L-глутаминовая кислота - 1,2; L-цистеин - 0,015; НАД - 0,02; гемин - 0,04, инактивацию культуры при помощи нагревания до  $55^\circ\text{C}\pm 5$  и выдерживания  $15\pm 3$  мин , центрифугирование для отделения биомассы с последующей фильтрацией через каскад глубинных фильтров с диаметром пор от 3,0-0,8 до 0,3-0,1 мкм , выделение полирибозилрибитолфосфата (ПРФ ) путем осаждения 10%-ным раствором цетилтриметиламмония бромида (ЦТАБ ) , концентрирование и очистку , активацию полученной субстанции растворами 1-циано -4-диметил -аминопиридиния тетрафторбората (ЦДАФ ) и триэтиламина и смешивание со столбнячным анатоксином , модифицированным раствором этилдиметиламинопролинкарбодиимида (ЭДАК ) , не сорбированным на геле гидроокиси или фосфата алюминия , очистку , стерилизацию , добавление фармацевтически приемлемых носителей , розлив и лиофильную сушку . Осуществление изобретения .

Пример получения вакцины гемофильной тип b конъюгированной из оригинального штамма *Haemophilus influenzae* тип b «ГКПМ - Оболенск » В-7884.

Пример 1. Первый технологический этап получения субстанции ПРФ заключается в создании Главного банка культуры (ГБК ) и Рабочего банка культуры (РБК ). Для этого оригинальный штамм *Haemophilus influenzae* тип b «ГКПМ -Оболенск » В-7884 культивируют в жидкой питательной среде в колбах на протяжении 4-6 часов , при температуре  $(35\pm 2)^{\circ}\text{C}$  и  $(150\pm 10)$  об/мин до достижения середины экспоненциальной фазы роста . К культуральной жидкости *Haemophilus influenzae* тип b «ГКПМ -Оболенск » В-7884 добавляют стерильный 80% раствор глицерина в объеме , соответствующем 25% объема культуральной жидкости (или соотношение 1:4). Розлив культуральной жидкости с криопротектором осуществляют в криопробирки вместимостью 5,0 мл по 1,0 мл. Каждую криопробирку маркируют .Полученные пробирки ГБК хранят в низкотемпературном холодильнике при температуре минус  $(80\pm 3)^{\circ}\text{C}$  на протяжении не более 10 лет .Пробирки ГБК используют для получения РБК по описанной выше схеме .

В таблице 1 представлены результаты контроля Рабочего банка культуры *Haemophilus influenzae* тип b «ГКПМ -Оболенск » В-7884 о соответствии по всем показателям нормативным значениям .

Таблица 1 - Результаты контроля Рабочего банка культуры *Haemophilus influenzae* тип b «ГКПМ -Оболенск » В-7884.

Наименование показателя	Нормативные значения	Результат контроля
Окраска по Граму	Культура <i>Haemophilus influenzae</i> тип b по Граму должна окрашиваться отрицательно, при микроскопии должны наблюдаться мелкие неподвижные неспорообразующие палочки овоидной формы.	Грамотрицательные мелкие неподвижные неспорообразующие палочки овоидной формы.
Каталазная активность	Положительная	Положительная
Оксидазная активность	Положительная	Положительная
Агглютинация со специфической к HiB сывороткой	Положительная	Положительная
Чистота культуры	Отсутствие контаминации	Контаминация отсутствует
Рост в присутствии X и V фактора	Положительный	Положительный
Жизнеспособность	$\geq 1 \cdot 10^7$ КОЕ/мл	$1,9 \cdot 10^7$ КОЕ/мл

РБК используют для получения рабочего посевного материала (РПМ). Для этого в асептических условиях восстановленную культуру из РБК переносят в жидкую питательную среду, разлитую в конические

колбы . Культуру выращивают на протяжении 4-6 часов , при температуре  $(35\pm 2)^{\circ}\text{C}$  и  $(150\pm 10)$  об/мин до достижения середины экспоненциальной фазы роста . Полученную культуральную жидкость объединяют в колбе и контролируют по показателям «Чистота культуры », «Окраска по Граму ». Рабочий посевной материал получают в количестве 10% от количества питательной среды , используемой в ферментере .

Далее проводят культивирование в ферментере Biostat® A M O UniVessel® Glass 2L 230V (Sartorius). Состав питательной среды для получения максимального количества ПРФ Haemophilus influenzae тип b «ГКПМ -Оболенск » В -7884 (г/л): глюкоза - 5,0; дрожжевой экстракт - 2,0; пептон - 15,0;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  - 0,7;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  - 2,5;  $\text{KCl}$  - 0,5;  $\text{NaCl}$  - 3,3; L-глутаминовая кислота - 1,2; L-цистеин - 0,015; НАД - 0,02; гемин - 0,04. Дополнительно добавляют питательные вещества к культуре , после достижения ею оптической плотности 1,0, в виде 20% раствора глюкозы и 10% дрожжевого экстракта (соотношение 1:1).

Рабочий посевной материал при помощи перистальтического насоса (через сифон ) перекачивают в ферментер . Проводят культивирование при следующих условиях :

Количество оборотов мешалки : 100-300 об/мин ; температура :  $(35\pm 2)^{\circ}\text{C}$  ;

количество растворенного кислорода : 30% (регулируется карскадом ) ; рН:  $(7,2\pm 0,2)$  ;

Полученную производственную культуру контролируют по показателям «Окраска по Граму », «Чистота культуры ». Количество синтезированного полисахарида ПРФ составляет 400-450 мкг /мл.

По завершению процесса культивирования проводят инактивацию культуры при помощи нагревания до  $(55\pm 5)^{\circ}\text{C}$  и выдерживания  $(15\pm 3)$  мин без перемешивания . Инактивацию культуры подтверждают путем высева культуральной жидкости на шоколадный агар (отсутствие роста культуры ).

Полученную инактивированную культуру центрифугируют (центрифуга Beckman coulter AvantiJ-E) для отделения биомассы с последующей фильтрацией через каскад глубинных фильтров с диаметром пор 0,3-0,6 мкм и 0,1 -0,3 мкм .

Полисахарид из фильтрата выделяют путем осаждения 10% раствором цетилтриметиламмония бромида (ЦТАБ ). Смесь оставляют при температуре  $(5\pm 3)^{\circ}\text{C}$  до выпадения осадка . Полученный осадок ПРФ центрифугируют и гомогенизируют при помощи гомогенизатора RW 16 basic (производитель «1КА ») при скорости вращения  $(6000\pm 500)$  об/мин до полного его растворения . Экстракцию ПРФ проводят спиртом этиловым в количестве 40% по объему . После окончания экстракции приступают к отделению осадка центрифугированием . К полученному супернатанту добавляют 1,0% (по объему ) 4,0 М раствора натрия хлорида , содержимое бутыли встряхивают вручную и оставляют при температуре  $(5\pm 3)^{\circ}\text{C}$  на  $(13\pm 1)$  ч в холодной комнате . Осадок отделяют

центрифугированием , собирают и высушивают при уровне вакуума от 0,04 мБар в течении  $(24 \pm 4)$  ч. Полученную субстанцию ПРФ контролируют по показателям «Описание », «Вода », «Подлинность », «Распределение молекул ПРФ по размеру », «Рибоза », «ПРФ », «Фосфор », «Белок », «Нуклеиновые кислоты », «Бактериальные эндотоксины ».

При помощи реакции латекс -агглютинации подтверждают подлинность полученного продукта (Рис . 1). Образование хлопьевидного осадка свидетельствует о наличии ПРФ в субстанции .

В таблице 2 представлены результаты контроля полученной субстанции ПРФ о соответствии по всем показателям нормативным значениям .

Таблица 2 - Результаты контроля субстанции ПРФ , полученной из оригинального штамма *Haemophilus influenzae* тип b «ГКПМ -Оболенск » В -7884

Наименование показателя	Нормативные значения	Результат
Описание	Лиофильная масса белого цвета	Лиофильная масса белого цвета
Подлинность	Образование хлопьевидного осадка в реакции латекс-агглютинации	Положительная

Распределение молекул ПРФ по размеру	ПРФ $\geq 40\%$ ; $K_d \leq 0,3$	ПРФ = 41,4%; $K_d = 0,14$
Рибоза	Не менее 32%	32 %
Концентрация ПРФ	Не менее 0,73 мг/мг субстанции	0,74 мг/мг субстанции
Белок	Не более 1 %	0,8 %
Нуклеиновые кислоты	Не более 1 %	0,4 %
Бактериальные эндотоксины	Менее 25 ЕЭ в 1 мкг ПРФ	Менее 25 ЕЭ в 1 мкг ПРФ

Полученную субстанцию ПРФ используют для получения вакцины гемофильной тип b конъюгированной. Для этого готовят раствор субстанции, ПРФ активируют растворами 1-циано-4-диметил-аминопиридиния тетрафторбората (ЦДАФ) и триэтиламина и смешивают со столбнячным анатоксином, модифицированным раствором этилдиметиламинопролинкарбодиимида (ЭДАК). Полученный конъюгат концентрируют и проводят его диафильтрацию на ультрафильтрационной установке с кассетой 100 кДа. Далее предварительно фильтруют через мембрану 0,45 мкм и очищают на хроматографической колонке с сорбентом «Сефадекс G-25». Собранный элюат подвергают стерилизующей фильтрации через мембрану 0,22 мкм и контролируют.

Полученный конъюгат ПРФ со столбнячным анатоксином контролируют по показателям «Описание », «Подлинность », «рН», «Белок », «Соотношение ПРФ к белку », «Концентрация ПРФ », «Свободный ПРФ », «Свободный белок », «Распределение молекул ПРФ по размеру », «Стерильность », «ЭДАК », «ЦДАФ », «Бактериальные эндотоксины ».

Результаты контроля полученного конъюгата ПРФ со столбнячным анатоксином соответствует по всем показателям нормативным значениям .

Полученный промежуточный продукт используют на стадии сведения вакцины : используют рассчитанное количество промежуточного продукта (конъюгата ), стерильного 0,5 М раствора сахарозы , стерильного 0,1 М раствора трис -HCl и стерильной воды для инъекций . Розлив сведенной вакцины (доза розлива - 0,6 мл) осуществляют в предварительно подготовленные флаконы 2R. Вакцину лиофильно высушивают при заданных параметрах и передают на стадию упаковки и маркировки . Контроль готовой продукции проводят согласно НД по следующим показателям : «Описание », «Подлинность », «Растворимость », «Механические включения », «рН», «Вода », «Точность розлива », «Фосфор », «Капсульный полисахарид », «Стерильность », «Аномальная токсичность », «Пирогенность », «Сахароза ». По всем показателям полученная вакцина гемофильная тип b конъюгированная соответствует требованиям нормативной документации .

Пример 2. Получение вакцины гемофильной тип b конъюгированной из штамма *Haemophilus influenzae* тип b «ГКПМ - Оболенск » В-7884 осуществляют как описано в примере 1.

Интенсифицируют образование полисахарида ПРФ добавлением в питательную среду 0,5% раствора рибозы , что приводит к увеличению еще на 32% концентрации образуемого ПРФ (до 528-594 мкг /мл).

Фильтрат после отделения биомассы концентрируют (в 10 раз) и подвергают диафильтрации на ультрафильтрационной установке с номинальным отсечением по молекулярной массе 30 к Да.

Супернатант после экстракции этиловым спиртом и отделения осадка фильтруют через угольные глубинные фильтры с диаметром пор 0,5-1,0 мкм , после чего определяют оптическую плотность полученного фильтрата (при длине волны 275 нм).

Приведенные дополнительные технологические этапы позволяют увеличить содержание ПРФ в субстанции с 0,74 до 0,95 мг/мг субстанции , а также снизить количество нуклеиновых кислот и белка с 0,8 до 0,1%, количество эндотоксинов - со значения менее 25 ЕЭ в 1 мкг ПРФ до менее 5 ЕЭ в 1 мкг ПРФ .

Вакцина гемофильная тип b конъюгированная из штамма *Haemophilus influenzae* тип b «ГКПМ -Оболенск » В-7884 успешно прошла доклинические исследования на половозрелых и неполовозрелых животных , в ходе которых была доказана ее безопасность и иммуногенность в сравнении с препаратом сравнения

«Акт -ХИБ ®» (производства Sanofi Pasteur, Франция ) и «Вакцина гемофильная тип b конъюгированная , лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного введения 0,5 мл/доза» (производства ФБУН Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии ).

Способ позволяет получить вакцину гемофильную тип b конъюгированную из оригинального штамма *Haemophilus influenzae* тип b «ГКПМ -Оболенск » В-7884, обладающую протективной активностью , не уступающую существующим конъюгированным вакцинам и сохраняющую стабильность всех показателей качества в течение установленного срока годности (1,5 года).

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения вакцины гемофильной тип b конъюгированной, включающий следующие этапы:

- культивирование штамма *Haemophilus influenzae* тип b «ГКПМ - Оболенск» В-7884 на жидкой питательной среде следующего состава (г/л): глюкоза - 5,0; дрожжевой экстракт - 2,0; пептон - 15,0;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  - 0,7;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  - 2,5;  $\text{KCl}$  - 0,5;  $\text{NaCl}$  - 3,3; L-глутаминовая кислота - 1,2; L-цистеин - 0,015; НАД - 0,02; гемин - 0,04,

- добавление в питательную среду для культивирования *Haemophilus influenzae* тип b «ГКПМ - Оболенск» В-7884 рибозы,

- инактивацию культуры при помощи нагревания до  $55 \pm 5^\circ\text{C}$  и выдерживания  $15 \pm 3$  мин,

- центрифугирование для отделения биомассы с последующей фильтрацией через каскад глубинных фильтров с диаметром пор от 3,0-0,8 до 0,3-0,1 мкм,

- выделение полирибозилрибитолфосфата (ПРФ) путем осаждения 10%-ным раствором цетилтриметиламмония бромида (ЦТАБ), концентрирование и очистку,

- осветление путем фильтрации через угольные глубинные фильтры с диаметром пор 0,5-1,0 мкм,

- активацию полученной субстанции растворами 1-циано-4-диметил-аминопиридиния тетрафторо бората (ЦДАФ) и триэтиламина и

смешивание со столбнячным анатоксином , модифицированным раствором этилдиметиламинопролинкарбодиимида (ЭДАК ) , не сорбированным на геле гидроокиси или фосфата алюминия ,  
- очистку , стерилизацию , добавление фармацевтически приемлемых носителей , розлив и лиофильную сушку .

2. Способ по и. 1, отличающийся тем , что после отделения биомассы осуществляют стадию концентрирования нативного раствора ПРФ 10% раствором цетилтриметиламмония бромида .

1/1

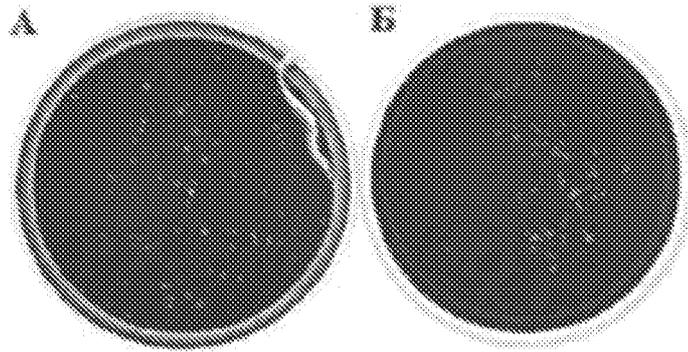


Fig. 1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		<i>A61K 39/102 (2006.01)</i>	<i>C12N 1/20 (2006.01)</i>
		<i>C12P 19/04 (2006.01)</i>	<i>C12R 1/21 (2006.01)</i>
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC			
B. FIELDS SEARCHED			
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)			
A61K 39/102, C12P 19/04, C12N 1/20, C12R 1/21			
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched			
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)			
EAPATIS, ESPACENET, PatSearch (RUPTO internal), Information Retrieval System of FIPS, USPTO, PATENTSCOPE, Google, E-Library, PubMed			
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages		Relevant to claim No.
A	WO 2014/006318 A1 (SANOFI PASTEUR) 09.01.2014, p. 3, lines 1-20, p. 10, lines 8-16, p. 11, lines 26-32, claims 15, 16		1, 2
A	SALIMOVA E.L. et al. «Tekhnologia poluchenia poliribozilribitolfosfata v kachestve aktivnoi farmatsevticheskoi substantsii dlia proizvodstva polisakharidnykh vaktsin». Farmatsiia i farmakologiya, 2018, Tom 6, No. 1, p. 47-62, DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-1-47-62, p. 48, column 2, lines 12-14, p. 49, column. 1, lines 1-4, 14-20, 31-33		1, 2
A, D	RU 2542393 C2 (FEDERALNOE BIUDZHETNOE UCHREZHDENIE NAUKI «ROSTOVSKY NAUCHNO-ISSLEDOVATELSKY INSTITUT MIKROBIOLOGII I PARAZITOLOGII (FBUN ROSTOVNII MIKROBIOLOGII I PARAZITOLOGII) 20.02.2015, abstract, the claims		1, 2
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input type="checkbox"/> See patent family annex.	
* Special categories of cited documents:			
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date		"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed			
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report	
07 September 2020 (07.09.2020)		08 October 2020 (08.10.2020)	
Name and mailing address of the ISA/ RU		Authorized officer	
Facsimile No.		Telephone No.	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/RU 2020/050077

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SALIMOVA E.L. et al. «Osobnosti kultivirovania shtammov Haemophilus influenza tip b - produtsentov poliribozilribitolfosfat: - osnovnogo komponenta polisakharidnykh vaktsin». Farmatsia i farmakologia, 2017, Tom 5, No. 5, p. 422-441, DOI:10.19163/2307-9266-2017-5-5-422-441, p. 423, column 1, lines 12-15, p. 427, column 2, lines 15-22	1, 2

**ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ**

Номер международной заявки

PCT/RU 2020/050077

<p><b>A. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ</b>  <i>A61K 39/102 (2006.01)</i>  <i>C12P 19/04 (2006.01)</i>  <i>C12N 1/20 (2006.01)</i>  <i>C12R 1/21 (2006.01)</i></p> <p>Согласно Международной патентной классификации МПК</p>														
<p><b>B. ОБЛАСТЬ ПОИСКА</b></p> <p>Проверенный минимум документации (система классификации с индексами классификации)</p> <p style="text-align: center;">A61K 39/102, C12P 19/04, C12N 1/20, C12R 1/21</p> <p>Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки</p> <p>Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)</p> <p style="text-align: center;">EAPATIS, ESPACENET, PatSearch (RUPTO internal), Information Retrieval System of FIPS, USPTO, PATENTSCOPE, Google, E-Library, PubMed</p>														
<p><b>C. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Категория*</th> <th>Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей</th> <th>Относится к пункту №</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>WO 2014/006318 A1 (SANOFI PASTEUR) 09.01.2014, с. 3, строки 1-20, с. 10, строки 8-16, с. 11, строки 26-32, пункты 15, 16 формулы</td> <td>1, 2</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>САЛИМОВА Е.Л. и др. «Технология получения полирибозилрибитолфосфата в качестве активной фармацевтической субстанции для производства полисахаридных вакцин». Фармация и фармакология, 2018, Том 6, No. 1, с. 47-62, DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-1-47-62, с. 48, столб. 2, строки 12-14, с. 49, столб. 1, строки 1-4, 14-20, 31-33</td> <td>1, 2</td> </tr> <tr> <td>A, D</td> <td>RU 2542393 C2 (ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ «РОСТОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ И ПАЗАРИТОЛОГИИ (ФБУН РОСТОВНИИ МИКРОБИОЛОГИИ И ПАЗАРИТОЛОГИИ) 20.02.2015, реферат, формула</td> <td>1, 2</td> </tr> </tbody> </table>			Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №	A	WO 2014/006318 A1 (SANOFI PASTEUR) 09.01.2014, с. 3, строки 1-20, с. 10, строки 8-16, с. 11, строки 26-32, пункты 15, 16 формулы	1, 2	A	САЛИМОВА Е.Л. и др. «Технология получения полирибозилрибитолфосфата в качестве активной фармацевтической субстанции для производства полисахаридных вакцин». Фармация и фармакология, 2018, Том 6, No. 1, с. 47-62, DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-1-47-62, с. 48, столб. 2, строки 12-14, с. 49, столб. 1, строки 1-4, 14-20, 31-33	1, 2	A, D	RU 2542393 C2 (ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ «РОСТОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ И ПАЗАРИТОЛОГИИ (ФБУН РОСТОВНИИ МИКРОБИОЛОГИИ И ПАЗАРИТОЛОГИИ) 20.02.2015, реферат, формула	1, 2
Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №												
A	WO 2014/006318 A1 (SANOFI PASTEUR) 09.01.2014, с. 3, строки 1-20, с. 10, строки 8-16, с. 11, строки 26-32, пункты 15, 16 формулы	1, 2												
A	САЛИМОВА Е.Л. и др. «Технология получения полирибозилрибитолфосфата в качестве активной фармацевтической субстанции для производства полисахаридных вакцин». Фармация и фармакология, 2018, Том 6, No. 1, с. 47-62, DOI: 10.19163/2307-9266-2018-6-1-47-62, с. 48, столб. 2, строки 12-14, с. 49, столб. 1, строки 1-4, 14-20, 31-33	1, 2												
A, D	RU 2542393 C2 (ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ «РОСТОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ И ПАЗАРИТОЛОГИИ (ФБУН РОСТОВНИИ МИКРОБИОЛОГИИ И ПАЗАРИТОЛОГИИ) 20.02.2015, реферат, формула	1, 2												
<p><input checked="" type="checkbox"/> последующие документы указаны в продолжении графы C. <input type="checkbox"/> данные о патентах-аналогах указаны в приложении</p>														
<table border="0"> <tr> <td style="vertical-align: top;"> <p>* Особые категории ссылочных документов:</p> <p>“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным</p> <p>“D” документ, цитируемый заявителем в международной заявке</p> <p>“E” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее</p> <p>“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)</p> <p>“O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.</p> <p>“P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета</p> </td> <td style="vertical-align: top;"> <p>“T” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение</p> <p>“X” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности</p> <p>“Y” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста</p> <p>“&amp;” документ, являющийся патентом-аналогом</p> </td> </tr> </table>			<p>* Особые категории ссылочных документов:</p> <p>“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным</p> <p>“D” документ, цитируемый заявителем в международной заявке</p> <p>“E” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее</p> <p>“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)</p> <p>“O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.</p> <p>“P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета</p>	<p>“T” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение</p> <p>“X” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности</p> <p>“Y” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста</p> <p>“&amp;” документ, являющийся патентом-аналогом</p>										
<p>* Особые категории ссылочных документов:</p> <p>“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным</p> <p>“D” документ, цитируемый заявителем в международной заявке</p> <p>“E” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее</p> <p>“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)</p> <p>“O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.</p> <p>“P” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета</p>	<p>“T” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение</p> <p>“X” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности</p> <p>“Y” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста</p> <p>“&amp;” документ, являющийся патентом-аналогом</p>													
<p>Дата действительного завершения международного поиска</p> <p style="text-align: center;">07 сентября 2020 (07.09.2020)</p>		<p>Дата отправки настоящего отчета о международном поиске</p> <p style="text-align: center;">08 октября 2020 (08.10.2020)</p>												
<p>Наименование и адрес ISA/RU:                  Федеральный институт промышленной собственности,                  Бережковская наб., 30-1, Москва, Г-59,                  ГСП-3, Россия, 125993                  Факс: (8-495) 531-63-18, (8-499) 243-33-37</p>		<p>Уполномоченное лицо:  <p style="text-align: center;">Таратунина Л.</p> <p>Телефон № +7 (495) 531-64-81</p> </p>												

С. (Продолжение). ДОКУМЕНТЫ СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕВАЛЕНТНЫМИ		
Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
А	САЛИМОВА Е.Л. и др. «Особенности культивирования штаммов <i>Haemophilus influenza</i> тип b – продуцентов полирибозилрибитолфосфата – основного компонента полисахаридных вакцин». Фармация и фармакология, 2017, Том 5, No. 5, с. 422-441, DOI: 10.19163/2307-9266-2017-5-5-422-441, с. 423, столб. 1, строки 12-15, с. 427, столб. 2, строки 15-22	1, 2