

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

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро

(43) Дата международной публикации
30 сентября 2021 (30.09.2021)



(10) Номер международной публикации
WO 2021/194375 A1

(51) Международная патентная классификация:
A61K 31/115 (2006.01) *A61P 31/14* (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)

(21) Номер международной заявки: PCT/RU2020/050334

(22) Дата международной подачи:
19 ноября 2020 (19.11.2020)

(25) Язык подачи: Русский

(26) Язык публикации: Русский

(30) Данные о приоритете:
2020112322 26 марта 2020 (26.03.2020) RU

(72) Изобретатели; и

(71) Заявители: **ЛАСКАВЫЙ, Владислав Николаевич (LASKAVYI, Vladislav Nikolaevich)** [RU/RU]; ул. Усть-Курдюмская, д. 4, кв. 174 Саратов, 410018, Saratov (RU). **ШУРДОВ, Михаил Аркадьевич (SHURDOV, Mikhail Arkadevich)** [RU/RU]; ул. Усачева, д. 2, стр. 3, кв. 233 Москва, 119049, Moscow (RU).

(74) Агент: **ГЕМБИЦКАЯ, Елена Ивановна и др. (GEMBICKAYA, Elena Ivanovna et al.)**; ул. Посадского, д. 228/244, кв 59 Саратов, 410005, Saratov (RU).

(81) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида национальной охраны): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

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

Декларации в соответствии с правилом 4.17:

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

Опубликована:

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

(54) Title: DRUG FOR TREATING CORONAVIRAL AND RETROVIRAL INFECTIONS AND HEPATITIS C

(54) Название изобретения: СРЕДСТВО ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КОРОНАВИРУСНЫХ, РЕТРОВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ГЕПАТИТА С

(57) Abstract: The invention relates to medicine and veterinary medicine, and more specifically to pharmacology, and can be used to treat viral infections caused by RNA viruses that have a lipid envelope, in particular coronaviral infections, AIDS and hepatitis C. The invention extends the range of drugs for the claimed purpose. The technical result is the creation of a drug having an intracellular, antiseptic effect that activates the production of endogenous formaldehyde in the body of a human and animals without having side effects and toxicity. The technical result is achieved by the use of an immunomodulating drug comprising 0.073-0.075% of formaldehyde in an isotonic solution of sodium chloride as a drug for intramuscular injections with a single 5 ml injection dosage for treating coronaviral and retroviral infections and hepatitis C.

(57) Реферат: Изобретение относится к медицине и ветеринарии, а более конкретно - к фармакологии и может использоваться для лечения вирусных инфекций, вызванных РНК-содержащими вирусами, имеющими липидную оболочку, в частности, коронавирусных инфекций, СПИДа, гепатита С. Изобретение расширяет арсенал средств заявленного назначения. Техническим результатом является создание средства, обладающего внутриклеточным антисептическим действием, активизирующим выработку эндогенного муравьиного альдегида в организме человека и животных при отсутствии побочных эффектов и токсического действия. Технический результат достигается применением иммуномодулирующего средства, содержащего муравьиный альдегид в количестве 0,073-0,075% в изотоническом растворе хлорида натрия в качестве средства для внутримышечных инъекций с одноразовой дозировкой 5 мл на инъекцию для лечения коронавирусных, ретровирусных инфекций и гепатита С.

WO 2021/194375 A1

**СРЕДСТВО ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КОРОНАВИРУСНЫХ,
РЕТРОВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ГЕПАТИТА С**

Изобретение относится к медицине и ветеринарии, а более конкретно – к фармакологии и может использоваться для лечения вирусных инфекций, вызванных РНК-содержащими вирусами, имеющими липидную оболочку, в частности, коронавирусных инфекций, СПИДа, гепатита С. Изобретение расширяет арсенал средств заявленного назначения.

Известно средство для лечения гепатита С (см. патент РФ № 2244554 по кл. МПК A61K35/78, опуб. 20.01.2005), содержащее экстракт бересты с содержанием бетулина более 70% и фармацевтически приемлемый носитель. Препарат вводят пациенту перорально.

Поскольку средство представляет собой препарат растительного происхождения и является многокомпонентной системой, которая может не только стимулировать защиту от вирусов, но и изменять гомеостаз организма человека и животных, вызывая аллергические реакции на компоненты препарата у потенциальных аллергиков, беременных и кормящих женщин. Следует отметить, что взаимодействие Бетулина с другими лекарственными средствами не установлено, однако и не исключено.

Известна композиция из высокоочищенного экстракта дрожжевой РНК, имеющей по массе не менее 75% фрагментов 25 ± 10 нуклеотидов, с чистотой предпочтительно, по меньшей мере, 99%, в сочетании с маннитом в пропорции по весу от 2:1 до 3:1 (см. патент РФ № 2597150 по кл. МПК A61K31/7105, опуб. 10.09.2016), при этом экстракт дрожжевой РНК составляет не менее 50% от веса композиции. Композиция предназначена для лечения вирусных заболеваний, вызываемых вирусами семейств Orthomyxoviridae, Paramyxovirus, Hepatitis, семейства Herpesviridae, энтеровирусами и адено-вирусами. Кроме того, модифицированная дрожжевая РНК способна ингибировать размножение вирусов гриппа, вируса гепатита С, genitalного герпеса, вируса иммунодефицита человека, вируса Коксаки В.

Однако, данный препарат не может полностью излечить от всех указанных вирусов, а может только снизить вирусную нагрузку, например при вирусном гепатите С. К тому же такое серьезное вмешательство в РНК не может не влиять на гомеостаз организма.

Известна композиция для лечения тяжелых форм вирусных инфекций в виде таблеток (см. 2559179 по кл. МПК A61K9/10, опуб. 10.08.2015), содержащая

рекомбинантный интерферон, выбранный из группы: рекомбинантный интерферон-альфа, рекомбинантный интерферон-бета, рекомбинантный интерферон-гамма; антиоксиданты, выбранные из группы: мексидол, эмоксипин, дибунол, альфа-липоевая кислота, карнитина хлорид; аминокислоты, выбранные из группы: ацетилцистеин, цистеин, лизин, аргинин; регенеранты анаболического действия, выбранные из группы: калия оротат, рибоксин, метилурацил, а также формообразующую основу.

Однако, при использовании такого сложносоставного препарата имеются ограничения. Препарат следует с осторожностью применять при заболеваниях печени, тяжелых депрессивных заболеваниях и/или при суицидальных мыслях в анамнезе, при эпилепсии и беременности. Необходимо соблюдать осторожность при лечении препаратом пациентов, получающих противосудорожные средства, пациентов с сердечной недостаточностью III–IV стадии по классификации NYHA и у больных с кардиомиопатией, с нарушениями функции костного мозга, анемией или тромбоцитопенией.

Известно антисептическое средство против гриппа (см. патент РФ № 2355391 по кл. МПК A61K31/045, опуб. 20.05.2009), содержащее катионное поверхностно-активное вещество, низкомолекулярный гликоль или глицерин, соль аммония и конституенс, карбамид, а в качестве соли аммония дополнительно - азотокислый аммоний, при определенном соотношении компонентов. В качестве катионного поверхностно-активного вещества используют дидецилдиметиламмоний бромид, или дидецилдиметиламмоний хлорид. В качестве низкомолекулярного гликоля используют триэтиленгликоль, или 1,2-пропиленгликоль, или полипропиленгликоль. В качестве конституенса содержит воду, или 8-20%-ный водный раствор этилового или изопропилового спирта. Изобретение обеспечивает повышение биоцидной активности целевого продукта при длительном хранении, расширение спектра действия, снижение раздражающих свойств и токсичности.

Однако, это средство может использоваться только для уничтожения вирусов, находящихся вне организма. И это средство не предполагается для лечения вирусных заболеваний.

Известно также средство для профилактики и лечения вирусных инфекций, вызываемых РНК-содержащими вирусами, предпочтительно вирусами гриппа А или риновирусами (см. патент РФ № 2524304 по кл. МПК A61M15/00, опуб. 27.07.2014). Средство содержит в качестве активной части соль о-ацетилсалициловой кислоты, а в качестве целевой добавки - аминокислоту,

выбранную из группы, включающей лизин, аргинин, орнитин, диаминомасляную кислоту. Средство предназначено для аэрозольного введения путём ингаляций через нос или рот.

Основным недостатком данного средства является то, что применение 5 ацетилсалициловой кислоты может вызывать сильное раздражение дыхательных путей. И даже снижение такой возможности при помощи комплекса соли о-ацетилсалициловой кислоты с аминокислотой, полностью не исключают возможности аллергических реакций.

Большой риск при применения данной композиции существует у людей в 10 анамнезе которых есть указания на крапивницу, ринит, вызванные приемом ацетилсалициловой кислоты и других НПВС, гемофилия, геморрагический диатез, гипопротромбинемия, расслаивающая аневризма аорты, портальная гипертензия, дефицит витамина К, печеночная и/или почечная недостаточность, дефицит глюкозо-б-фосфатдегидрогеназы, синдром Рейе, детский возраст (до 15 лет - риск развития 15 синдрома Рейе у детей с гипертермией на фоне вирусных заболеваний), повышенная чувствительность к ацетилсалициловой кислоте и другим салицилатам.

Ацетилсалициловая кислота даже в небольших дозах уменьшает выведение мочевой кислоты из организма, что может стать причиной острого приступа подагры у предрасположенных пациентов.

20 Следует отметить, что ацетилсалициловая кислота часто вступает в лекарственное взаимодействие с другими препаратами, например с блокаторами кальциевых каналов, средствами, ограничивающими поступление кальция или увеличивающими выведение кальция из организма или при одновременном применении снижается эффективность диуретиков (спиронолактона, фуросемида) и т.д.

25 Наиболее близким к заявляемому является иммуномодулирующее средство, содержащее активное начало и целевые добавки (см. патент РФ № 2077882 по кл. МПК A61K 31/115, опуб. 27.04.1997). В качестве активного начала оно содержит формальдегид, а в качестве целевых добавок NaCl и дистиллированную воду, при этом оно представляет собой инъекционный раствор, содержащий, мас.%: формальдегид 0,07 0,24, NaCl 0,9 0,95, дистиллированная вода - остальное до 100%.

Приведенные аналоги показывают, что создание противовирусных средств является далеко не решенной задачей. Поэтому поиск новых средств защиты от вирусных инфекций весьма актуален.

Технической проблемой заявляемого изобретения является создание эффективного инъекционного средства для лечения инфекций, вызванных РНК-содержащими вирусами человека и животных и расширение арсенала фармацевтических средств против коронавирусных, ретровирусных инфекций и 5 гепатита С.

Техническим результатом является создание средства, обладающего внутриклеточным антисептическим действием, активизирующим выработку эндогенного муравьиного альдегида в организме человека и животных при отсутствии побочных эффектов и токсического действия.

Техническая проблема достигается применением иммуномодулирующего средства, содержащего муравьиный альдегид в количестве 0,073-0,075% в изотоническом растворе хлорида натрия в качестве средства для внутримышечных инъекций с одноразовой дозировкой 5 мл на инъекцию для лечения коронавирусных, ретровирусных инфекций и гепатита С. В зависимости от тяжести заболевания 10 средство вводят по различным схемам: либо 1 раз в день в течение 7 дней, либо дважды, при этом второй раз или на 7 сутки после первого введения или через месяц 15 после первого введения. Средство можно вводить на 2-й, 3-й и 10-й день после первого введения. В особо сложных случаях средство вводят 3 раза с интервалом между каждым введением 12 часов, затем через одни или двое суток вводят ещё 5 раз с 20 интервалом между каждым введением 12 часов, затем через сутки после последнего введения средство вводят однократно, затем через трое суток осуществляют повторное однократное введение, после чего через пять суток после последнего введения проводят завершающее однократное введение средства.

В известных авторам источниках патентной и научно-технической информации 25 не описано средства для лечения вирусных инфекций, вызванных РНК-содержащими вирусами, в частности, коронавирусных инфекций, СПИДа, гепатита С человека и животных на основе активизации выработки внутриклеточного эндогенного муравьиного альдегида. При этом, его новая функция и предлагаемое назначение не вытекают с очевидностью из его ранее известных свойств. Способы введения 30 средства нигде ранее не описывались.

В настоящее время не существует универсального антисептического препарата, который мог бы уничтожать возбудителей инфекционных заболеваний (вирусов) внутри клеток организма человека и животных без негативного влияния на гомеостаз. Существующие антисептические средства применяются, как 35 правило, для инактивации патогенов во внешней среде.

Большой интерес вызывает муравьиный альдегид (формальдегид) - одно из простейших соединений в природе. Это вещество относят к асептическим средствам химической природы (органическим соединениям) для уничтожения возбудителей инфекционных заболеваний во внешней среде, как химический консервант для клеток и ткани в гистологии и патологической анатомии.

В настоящее время установлено, что в живых организмах имеется эндогенный формальдегид, который является естественным метаболитом и участвует во многих биохимических реакциях организма. Концентрация эндогенного формальдегида может достигать 0,2-0,5 мМ, и его содержание в крови

10 0,05-0,1 мМ (M. Casanova, H. D. Heck, J. I. Everitt, W. W. Harrington, J. A. Popp.

Formaldehyde concentrations in the blood of Rhesus monkeys after inhalation exposure // Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc. 1988, 26, 715; X. Song, X.

Han, F. Yu, J. Zhang, L. Chen, C. Lv, A reversible fluorescent probe based on C[double bond, length as m-dash]N isomerization for the selective detection of formaldehyde in

15 living cells and in vivo.//The Analyst 2018, 143, 429; Human Endogenous Formaldehyde

as an Anticancer Metabolite: Its Oxidation Downregulation May Be a Means of Improving Therapy Yuri L. Dorokhov Ekaterina V. Sheshukova Tatiana E. Bialik

Tatiana V. Komarova //BioEssays 2018, 1800136). Известно, что формальдегид легко

проникает во все клетки и легко удаляется при превышении концентрации его

20 физиологической нормы. Физиологический уровень формальдегида в организме постоянно поддерживается за счет непрерывного действия клеточных ферментов,

окисляющих формальдегид в трех отдельных путях с участием Р450 монооксигеназ, митохондриальной АлДГ2 и с участием гена, кодирующего ADH5,

или формальдегиддегидрогеназы (Dorokhov Y. L. Metabolic methanol: molecular

25 pathways and physiological role //Physiol. Rev. 2015. 95(2), 603-644; Yuri L. Dorokhov

Ekaterina V. Sheshukova Tatiana E. Bialik Tatiana V. Komarova Human Endogenous

Formaldehyde as an Anticancer Metabolite: Its Oxidation Downregulation May Be a

Means of Improving Therapy //BioEssays 2018, 1800136). Формальдегид образуется в

печени при действии микросомальной диметилазы, при биотрансформации

30 дигалоидпроизводных метана и метилметакрилата (Малютина Н.Н., Тараненко

Л.А. Патофизиологические и клинические аспекты воздействия метанола и

формальдегида на организм человека // Современные проблемы науки и

образования. – 2014. – № 2.; URL: [http://science-](http://science-education.ru/ru/article/view?id=12826)

education.ru/ru/article/view?id=12826 (дата обращения: 17.03.2020)). Формальдегид

35 используется организмом для синтеза тимидиновых, пуриновых и других кислот,

образуется при разрушении серина и в меньшей степени других аминокислот. При попадании в кровь через ряд ферментативных превращений в печени окисляется до муравьиной кислоты, одновременно в печени образуется метиловый спирт. Далее муравьиная кислота метаболизируется под действием формиатдегидрогеназы до 5 CO_2 или вовлекается в систему тетрагидрофолиевой кислоты в обмен одноуглеродных остатков. Формальдегид легко взаимодействует с белками, аминами, амидами, нуклеопротеидами, нуклеиновыми кислотами (Малютина Н.Н., Тараненко Л.А. Патофизиологические и клинические аспекты воздействия метанола и формальдегида на организм человека // Современные проблемы науки 10 и образования. – 2014. – № 2.; URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=12826> (дата обращения: 17.03.2020)).

Он обнаруживается во всех внутренних жидкостях человека и животных в небольших количествах и только в моче его на 20% больше, чем, например, в крови, что указывает на основной способ его выведения из организма.

15 Исследования показали, что низкие концентрации формальдегида (например, 10 ммоль / л) способствуют пролиферации клеток HeLa. Однако, когда концентрация формальдегида достигает 62,5 ммоль/л, он ингибирует рост клеток.

20 Определенная концентрация формальдегида в организме важна для жизнедеятельности клеток, так как эндогенный формальдегид является важным метаболитом, однако, в случае сильного повышения концентрации, он может действовать и как генотоксин (Richard J. Hopkinson, Christopher J. Schofield. Deciphering Functions of Intracellular Formaldehyde: Linking Cancer and Aldehyde Metabolism// Biochemistry 2018, 57, 6, 904-906).

На примере вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней, который 25 относится к коронавирусам, установлено, что формалин инактивирует вирус в концентрации 0,01% (Stepanek J., Mensik J., Pospisil Z., Rozkony V. Vlev formalinu a betapropiolaktonuna infekcnost a antigenicitu puvodce virovegastroenterit du prasat (VGR). // Veter. Med. (CSSR). – 1973. – V. 18. -#5. – P. 269-280). Под действием формалина при 37°C этот вирус теряет свою патогенность уже через 150 минут 30 (Bohl E.H. Transmissible gastroenteritis virus (classical enteric variant). // Virus Infec. Procines. Amsterdam ect. – 1989. – P. 139-153). Другие коронавирусы (вирусы гепатита мышей, инфекционного бронхита кур, инфекционного перитонита кошек, вирусы гастроэнтерита и респираторных инфекций у крупного рогатого скота, гастроэнтерита человека и др.) также чувствительны к формальдегиду.

Разработанное средство представляет собой раствор муравьиного альдегида в изотоническом растворе хлорида натрия, полученный с использованием методов приготовления препаратов, активная составляющая которых растворена в носителе в сверхмалой дозе и используемая концентрация не вызывает токсического 5 эффекта у нормальных клеток

Препарат оказывает комплексное воздействие на организм и способствует поддержанию гомеостаза. Он относится к новому классу препаратов, способствующих активации антигенспецифического иммунного ответа, при развитии которого достигается полная элиминация инфекционного агента из 10 организма.

По нашему мнению, парентеральное **введение экзогенного** муравьиного альдегида (формальдегида) приводит к увеличению его концентрации в лимфе и крови человека. Это, в свою очередь, нарушает отток формальдегида из клеток организма в межклеточное пространство, что приводит к повышению его 15 количества внутри клеток в соответствии с одним из правил **Ле Шателье-Брауна**, которое гласит, что при повышении концентрации одного из продуктов реакции равновесие сдвигается в направлении образования исходных веществ (влево). Благодаря этому происходит инактивация вирусов внутри клеток.

Водный раствор муравьиного альдегида - прозрачная бесцветная жидкость со 20 своеобразным острым запахом, смешивающаяся с водой и спиртом во всех соотношениях.

Муравьиный альдегид - представитель класса альдегидов НСОН. Представляет собой бесцветный газ с резким запахом, мол, массой 30,03, плотность его при 20°C равна 0,815, температура плавления 92°C, температура кипения 19,2°C. Хорошо 25 растворим в воде, спирте.

Изотонический раствор натрия хлорида для инъекций - бесцветная прозрачная жидкость солоноватого вкуса с концентрацией натрия хлорида 0,85-0,95%. Раствор стерileн, апирогенен.

Хлорид натрия - кубические кристаллы или белый кристаллический порошок 30 соленого вкуса, без запаха. Растворим в воде (1:3).

Заявляемое средство представляет собой прозрачную бесцветную жидкость без запаха, слегка солоноватого вкуса.

Средство готовят следующим образом.

Берут 2 весовых части 36,5-37,5%-ного медицинского раствора муравьиного 35 альдегида, добавляют его в 998 весовых частей стерильного 0,85-0,95%-ного раствора

хлорида натрия для инъекций до получения концентрации муравьиного альдегида в средстве 0,073-0,075%. Средство хранят в темном месте при температуре 15-35°C.

Пример 1. Берут 0,2 мл 37%-ного медицинского раствора муравьиного альдегида, добавляют его в 99,8 мл стерильного 0,9%-ного (или 0,95%-ного) изотонического раствора хлорида натрия. Смесь растворов тщательно перемешивают. Конечная концентрация муравьиного альдегида в полученном средстве будет составлять 0,074 мас.%.

Пример 2. Берут 0,2 мл 36,5%-ного медицинского раствора муравьиного альдегида, добавляют его в 99,8 мл стерильного 0,9%-ного (или 0,95%-ного) изотонического раствора хлорида натрия. Смесь растворов тщательно перемешивают. Конечная концентрация муравьиного альдегида в полученном средстве будет равна 0,073 мас.%.

Пример 3.

Способность экзогенного формальдегида активизировать выработку эндогенного формальдегида была исследована при помощи инкубации клеток с меченным ¹⁴C формальдегидом. Использовали меченный формальдегид с удельной активностью 1,7 ТБк/М и объемной активностью 10,1 ГБк/л (5,9 мМ раствор) и радиохимической чистотой 98%. Для получения растворов с необходимой концентрацией использовали свежий 37% формальдегид фирмы Sigma, США.

В качестве отрицательного контрольного образца были использованы образцы клеток, которые не инкубировали с радиоактивно-меченным формальдегидом.

Радиоактивность образцов измеряли на β -счетчике Tri-Carb 2800 TR (PerkinElmer, США) в сцинтилляторе «ULTIMA GOLD LLT» (Perkin Elmer, США). Аликвоту образца (0,1 мл) тщательно смешивали со сцинтиллятором (0,9 мл), и радиоактивность измеряли в течение не более чем 2-х часов после приготовления смеси.

Клетки культивировали на поверхности полистирольных 48 луночных планшетов.

В качестве клеточных культур были использованы первичные фибробласты десны человека и клетки аденокарциномы шейки матки HeLa. Клетки культивировали в культуральной среде IMDM с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки и антибиотика (пенициллин и стрептомицин) в атмосфере 6% CO₂, 37°C.

При проведении эксперимента клетки рассаживали в 48-луночные полистирольные планшеты с диаметром лунки 1 см, в количестве 12 тысяч клеток на лунку, в трех повторах для каждого типа образца (в 0,5 мл культуральной среды).

После 24 часов инкубации после посева клеток убирали культуральную среду, клетки споласкивали 0,5мл физиологического раствора и вносили в контрольные и экспериментальные лунки физиологический раствор без или с формальдегидом и инкубировали с клетками в течение 30 мин, 1 и 2 часов (конечная концентрация 0,11%, 5 0,074%, 0,014%, 0,0028% и 0,00056% (пятикратные разведения), 10.000 имп/мин в лунку). Для исследования действия формальдегида в культуральной среде, в контрольные и экспериментальные лунки с 450 мкл культуральной среды вносили 50 мкл (1/10 объема) раствора формальдегида в физиологическом растворе (концентрации формалина в 10 раз больше, чем упомянуто ранее, в результате получали растворы 10 формальдегида в той же концентрации, как и в случае инкубации клеток в физиологическом растворе). После инкубации из супернатантов отбирали две аликвоты по 100 мкл среды (дубли) для определения общей внесенной радиоактивности, затем удаляли растворы формальдегида, клетки двукратно отмывали фосфатным буфером и обрабатывали 0,25% раствором трипсина (Sigma, США) для того, чтобы 15 диссоциировать клетки с поверхности культурального пластика. Суспензию клеток осаждали центрифугированием при 800g в течение 10 мин, отбирали аликвоты из трипсинового супернатанта. Осадок клеток ресуспендировали в 220 мкл физиологического раствора и отбирали 2 аликвоты по 100 мкл для определения радиоактивности образцов.

20 После получения данных о радиоактивности образцов определяли процентное содержание формальдегида во фракции исходя из удельной радиоактивности и исходного объема образца. Концентрации формальдегида во фракции определяли исходя из удельной молярной радиоактивности растворов формальдегида.

25 Таблица 1. Накопление формальдегида в клетках.
Инкубация в физиологическом растворе

Концентрация добавленного формальдегида, %	Первичные фибробlastы десны человека, % от добавленного*			Клетки adenокарциномы шейки матки HeLa, % от добавленного*		
	Супернатант**	Трипсиновый элюат	Клетки	Супернатант**	Трипсиновый элюат	Клетки
0,11	100	3.71±0,45	1.73±0,23	100	2.41±0.11	1.85±0,25
0,074	100	5.16±0,85	2.12±0,33	100	3.32±0.27	2.75±0,18
0,014	100	3.41±0,44	3.11±0,27	100	3.44±0,19	2.65±0,11
0,0028	100	1.73±0,23	1.26±0,11	100	2.14±0,08	1,34±0,05
0,00056	100	0.45±0,03	0.53±0,04	100	0,57±0,04	0,62±0,04

* в таблице приведены средние значения ± ошибка среднего.

** радиоактивность супернатанта принята за 100%

Как видно из таблицы 1, инкубирование клеток с формальдегидом, растворенном в физиологическом растворе, в концентрации 0,074% активизирует выработку эндогенного формальдегида на первичных фибробластах десны человека на 18,4%, а в аденокарциноме шейки матки на 32% по сравнению с инкубацией клеток в растворе формальдегида в концентрации 0,11%.

Следует отметить, что аналогичные результаты получены при инкубации клеток с формальдегидом, разведенном в культуральной среде. Так, инкубирование клеток с раствором формальдегида в концентрации 0,074% активизирует выработку эндогенного формальдегида на первичных фибробластах десны человека на 20,6%, а в аденокарциноме шейки матки на 30,2% по сравнению с инкубацией клеток в растворе формальдегида в концентрации 0,11% (таблица 2).

Таблица 2. Накопление формальдегида в клетках. Инкубация в культуральной среде.

Концентрация добавленного формальдегида, %	Первичные фибробlastы десны человека, % от добавленного*			Клетки аденокарциномы шейки матки HeLa, % от добавленного*		
	Супернатант**	Трипсиновый элюат	Клетки	Супернатант**	Трипсиновый элюат	Клетки
0,11	100	1.77±0,16	1.35±0,09	100	1.83±0,12	1.92±0,16
0,074	100	2.33±0,34	1.7±0,11	100	2.54±0,14	2.75±0,18
0,014	100	1.36±0,15	1.25±0,13	100	1,92±0,11	1.52±0,09
0,0028	100	0.56±0,16	0.55±0,07	100	0.45±0,06	0,64±0,13
0,00056	100	0.23±0,03	0.25±0,02	100	0,20±0,02	0,28±0,03

* в таблице приведены средние значения ± ошибка среднего.

** радиоактивность супернатанта принята за 100%

15

Таким образом, исследования показали, что только использованный 0,074% формальдегид по сравнению с другими концентрациями (0,11%, 0,028%, 0,00052% и 0,014%) способен активизировать в клетках первичных фибробластов человека и аденокарциномы шейки матки HeLa выработку эндогенного формальдегида, что соответствует правилу Ле Шателье-Брауна. Оно гласит, что при повышении концентрации одного из продуктов реакции (в нашем случае экзогенного формальдегида в концентрации 0,074%) равновесие сдвигается в направлении увеличения образования исходного (эндогенного) формальдегида в клетках.

Ниже приведены примеры использования средства при различных вирусных 25 инфекциях.

С лечебной целью средство вводят внутримышечно по 5 мл в одной инъекции, при этом схемы введения могут быть различными. А именно:

- по первой схеме средство вводят дважды: на 1 и 7 сутки после первого введения;

- по второй схеме – также дважды, но с интервалом один месяц;
- по третьей схеме – на, 2-й, 3-й и 10-й день после первого введения;
- по четвёртой схеме средство вводят 3 раза с интервалом между каждой инъекцией 12 часов, затем через 1-2 суток вводят ещё 5 раз с интервалом между каждой 5 инъекцией 12 часов. Затем через сутки после последней инъекции препарат вводят однократно, затем через трое суток осуществляют повторное однократное введение, после чего проводят завершающую однократную инъекцию через пять суток после последнего введения;
- по пятой схеме – 1 раз в день в течение семи дней.

10 Количество инъекций в схемах может быть увеличено в соответствии с тяжестью заболевания.

Пример 4. Коронавирусная инфекция свиней (трансмиссивный гастроэнтерит свиней), регистрируется у свиноматок, поросят сосунов и поросят-отъемышей.

15 В неблагополучных по трансмиссивному гастроэнтериту хозяйствах у свиноматок после опороса проявляется легочная форма заболевания, у поросят-отъемышей регистрируется одновременно легочная и кишечная, а у поросят-сосунов – кишечная.

Провели опыт на 16 свиноматках-аналогах с 153 новорожденными поросятами в одном из корпусов-маточников, где регистрировался трансмиссивный гастроэнтерит.

20 Для этого приготовили 0,074%-ный раствор муравьиного альдегида. Первой группе животных (8 свиноматок с 75 новорожденными поросятами) вводили 0,074% раствор муравьиного альдегида из расчета 5 мл свиноматке и 2 мл каждому поросенку. Контрольной группе (8 свиноматок с 78 новорожденными поросятами) вводили аналогичный объем физиологического раствора. Средство вводили дважды: на первые 25 и 7 сутки после первого введения.

За животными вели клиническое наблюдение до двухнедельного возраста, регистрировали клиническое проявление трансмиссивного гастроэнтерита и гибель животных. Полученные результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3

30 Результаты введения свиноматкам 0,074% раствора муравьиного альдегида

Группа	Применяемый препарат	Количество		Заболело		Пало	
		свиноматок	поросят	поросят	%	поросят	%
1	0,074%-ный раствор муравьиного альдегида	8	75	18	24,0	6	8,0
2	физиологический раствор	8	78	58	74,4	37	47,4

Результаты исследований показали, что введение 0,074%-ного раствора муравьиного альдегида одновременно свиноматкам и новорожденным поросятам достоверно обеспечивало снижение заболеваемости и падежа поросят-сосунов от трансмиссивного гастроэнтерита. Это действие при двухзвенной цепи (свиноматки и новорожденные поросята) необходимо рассматривать с двух позиций. Первое введение препарата свиноматкам обеспечивало снижение количества возбудителей в организме матерей, уменьшая дозу инфекта для новорожденных. А введение препарата поросятам обеспечивало лечебный эффект.

Как видно из таблицы, заболеваемость снизилась на 50% (74,4-24,0), что было связано с профилактическим эффектом, снизившим количество вируса у матерей, а падеж снизился в 6 раз в связи с лечебным эффектом после введения препарата поросятам.

Пример 5. Доказательство антисептического действия средства на примере ретровирусной инфекции (СПИД). Исследования проводились на 6 добровольцах.

При этом, первым пяти пациентам средство вводили в дозе 5 мл на 2-й, 3-й и 10-й день после первого введения, а последнему (шестому) пациенту средство вводили в дозе 5 мл дважды, причём второй раз через месяц после первого введения.

Результаты лечения:

Пациент 1, исходная вирусная нагрузка – 750 000 РНК/мл, вирусная нагрузка через два месяца после лечения – 2 187 РНК/мл, отмечено снижение вирусной нагрузки в 342 раза.

Пациент 2, исходная вирусная нагрузка – 150 201 РНК/мл, вирусная нагрузка через два месяца после лечения – 1 230 РНК/мл, отмечено снижение вирусной нагрузки в 122 раза.

Пациент 3, исходная вирусная нагрузка – 97 171 РНК/мл, вирусная нагрузка через два месяца после лечения – 1 101 РНК/мл, отмечено снижение вирусной нагрузки в 88 раз.

Пациент 4, исходная вирусная нагрузка – 78 122 РНК/мл, вирусная нагрузка через два месяца после лечения – 1 037 РНК/мл, отмечено снижение вирусной нагрузки в 75 раз.

Пациент 5, исходная вирусная нагрузка – 78 122 РНК/мл, вирусная нагрузка через два месяца после лечения – 1 837 РНК/мл, отмечено снижение вирусной нагрузки в 42,5 раза.

Пациент 6, исходная вирусная нагрузка – 11 182 РНК/мл, вирусная нагрузка через два месяца после лечения – 1 165 РНК/мл, отмечено снижение вирусной нагрузки в 9 раз.

У всех пациентов отмечено резкое снижение вирусной нагрузки за счет антисептического воздействия препарата на клеточном уровне без отрицательного действия на организм и при отсутствии токсического эффекта.

Пример 6. Доказательство антисептического действия препарата на примере вирусного гепатита С. Лечение было проведено на десяти добровольцах.

У всех пациентов наблюдались ремиттирующие изменения репликации вируса, уровень вирусной нагрузки колебался с интервалом в 1 десятичный логарифм каждые 1-3- месяца (периодически снижался и повышался). У трех пациентов лечение было начато в серонегативную фазу заболевания.

Минимизация вирусной нагрузки отмечалась у 7 пациентов: конечный уровень 1000 копий РНК /мл при исходном уровне от 2 500 000 копий РНК/мл.

Отрицательная ПЦР была отмечена в 3-х случаях при начале терапии в серонегативную фазу заболевания.

Все пациенты с вирусными гепатитами отмечали улучшение общего состояния, сна, настроения, повышение работоспособности, лучше переносились физические нагрузки. Повысилась социальная активность пациентов, улучшились взаимоотношения в семье, на работе.

Пример 7. Больной М., 46 лет – коронавирусная инфекция SARS-CoV-2 (на основании анамнеза, клинических признаков и рентгенограммы).

Клинические признаки: высокая температура (38-39,2 °C), непродуктивный упорный кашель, дыхательная недостаточность с болью в грудной клетке, недомогание, умеренная головная боль.

Рентгенограмма грудной полости: наличие в периферических отделах легочных полей мелких очагов воспаления.

Лечение антибиотиками в течение трех дней не дало результатов.

Было проведено лечение по следующей схеме. Средство вводили в дозе 5 мл.

Проведено три инъекции препарата через каждые 12 часов, затем через сутки еще пять инъекций препарата через каждые 12 часов. Затем через сутки вводили одну инъекцию препарата, через трое суток еще одну и через пять суток после предыдущей инъекции вводили завершающую инъекцию.

Результат: клинические признаки исчезли, на рентгенограмме отсутствовали очаги воспаления. Отмечалось отсутствие побочных эффектов и токсического действия препарата.

Пример 8. Больной С., 35 лет – коронавирусная инфекция (на основании 5 анамнеза и клинических признаков).

Клинические признаки: температура тела 37,2-37,7 °C, непродуктивный упорный кашель, недомогание, умеренная головная боль. Больной был в контакте с людьми с подтвержденным диагнозом - коронавирусная инфекция. Лечение антибиотиками в течение 10 дней не дало результатов.

10 Был проведен курс лечения по следующей схеме: внутримышечно в дозе 5 мл один раз в сутки в течение семи дней.

Результат: клинические признаки исчезли, наступило полное выздоровление. Отмечено отсутствие побочных эффектов и токсического действия препарата.

Пример 9. Больной С., 56 лет, диагностирован COVID-19 (методом ПЦР).

15 Клинические признаки на момент начала лечения: температура 39,2, двустороннее поражение лёгких (по 25% с каждой стороны) по данным компьютерной томографии (КТ), сухой кашель, боль в загрудинном пространстве, общая слабость, потливость, не чувствует запахи. С первого дня заболевания принимал антибиотики без видимого результата.

20 На 3-й день заболевания было начато лечение заявляемым средством по следующей схеме: средство вводили по 5 мл ежедневно в течение 7 дней с интервалом 24 часа. При этом, антибиотики больше не использовались.

Результат.

25 На 2-й день кашель усилился и перешел в стадию влажного. Температура снизилась до 37,4, прошла головная боль. На 3 день с начала терапии температура нормализовалась (36,6), болевые симптомы прошли. Общее состояние улучшилось. Пациент отмечает прилив сил, отсутствие потливости .На 7 день объективно пациент фиксировал полное выздоровление.

30 На 14 день после начала терапии заявляемым средством была проведена КТ легких. Заключение по результатам исследования – здоров. Никаких следов воспаления или остаточных проявлений не выявлено. Контрольный тест ПЦР – отрицательный.

Пример 10. Больной Р., 46 лет, диагностирован COVID-19 (методом ПЦР).

Клинические признаки на момент начала лечения: температура 39,6, двустороннее поражение лёгких (20% и 30%) по данным КТ, сухой кашель, боль в

загрудинном пространстве, общая слабость, потливость, постоянная головная боль, не чувствует запахи.

Лечение заявляемым средством было начато на 5-й день заболевания. Средство вводили по 5 мл ежедневно в течение 7 дней с интервалом 24 часа. При этом, 5 антибиотики больше не использовались.

Результат.

На 2 день с начала лечения заявлляемым средством кашель усилился и перешел в стадию влажного. Температура снизилась до 37,0, прошла головная боль. На 3 день с 10 начала терапии температура нормализовалась (36,6), болевые симптомы прошли.

Общее состояние улучшилось. Пациент отмечает активное отхождение мокроты из 10 лёгких, прилив сил, отсутствие потливости. На 7 день объективно пациент фиксировал полное выздоровление.

На 14 день после начала терапии заявлляемым средством была проведена КТ легких. Заключение по результатам исследования – здоров. Никаких следов воспаления 15 или остаточных проявлений не выявлено. Контрольный тест ПЦР – отрицательный.

Таким образом, средство обладает внутриклеточным антисептическим действием, активизирует выработку эндогенного муравьиного альдегида в организме человека и животных при отсутствии побочных эффектов и токсического действия.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение иммуномодулирующего средства, содержащего муравьиный альдегид в количестве 0,073-0,075% в изотоническом растворе хлорида натрия в качестве средства для внутримышечных инъекций с одноразовой дозировкой 5 мл на 5 инъекцию для лечения коронавирусных, ретровирусных инфекций и гепатита С.

2. Применение средства по п.1. путём введения его 1 раз в день в течение семи дней.

3. Применение средства по п.1. путём введения его дважды, причём второй раз либо на 7 сутки после первого введения либо через месяц после первого введения.

10 4. Применение средства по п.1. путём введения его на 2-й, 3-й и 10-й день после первого введения.

15 5. Применение средства по п.1. путём введения его 3 раза с интервалом между каждым введением 12 часов, затем через одни или двое суток ещё 5 раз с интервалом между каждым введением 12 часов, затем через сутки после последнего введения осуществляют однократное введение, затем через трое суток осуществляют повторное однократное введение, после чего через пять суток после последнего введения проводят завершающее однократное введение средства.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/RU 2020/050334

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61 K31/115 (2006.01) A61K9/08 (2006.01)

A61P 31/14(2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K, A61P

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)

CIPOL, DWPI, ESPACENET, PatSearch, RUPTO, PubMed, MEDLINE, Google

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	RU 2077882 C1 (LASKAVYI V.N. et al.), 27.04.1997, the claims, p. 4, column 1	1-5
Y	RABENAU H. F. Stability and inactivation of SARS coronavirus, Med Microbiol Immunol. 2005; 194(1): 1-6, especially, p. 4, table 2, [on-line], [retrieved on 2021-03-09]. Retrieved from < https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00430-004-0219-0.pdf >	1-5
Y	KAMPF G. et al. Persistence of corona viruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents J Hosp Infect. 2020 Mar; 104(3): 246-251, Published online 2020 Feb 6	1-5
Y	HONGSHUO SONG et al., Thermal stability and inactivation of hepatitis C virus grown in cell culture, Virology Journal, 2010, 7:40, p. 4, [on-line], [retrieved on 2021-03-09], Retrieved from < https://virologyj.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1743-422X-7-40.pdf >	1-5



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 March 2021 (11.03.2021)

Date of mailing of the international search report

18 March 2021 (18.03.2021)

Name and mailing address of the ISA/
RU

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/RU 2020/050334

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LASKAVYI V.N. Profilaktika virusnogo (transmissivnogo) gastroenterite svinei v promyshlennykh kompleksakh: avtoreferat dip. doktora veterinarnykh nauk: 16.00.03. Saratovskaia n.-i. vet. stantsii RASKHN. - Moscow, 1998, p. 22, < https://www.dissercat.com/content/profilaktika-virusnogo-transmissivnogo-gastroenterita-svinei-v-promyshlennykh-kompleksakh/read >	1-5

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Номер международной заявки

PCT/RU 2020/050334

- A. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ
A61K 31/115(2006.01)
A61K 9/08(2006.01)
A61P 31/14(2006.01)

Согласно Международной патентной классификации МПК

B. ОБЛАСТЬ ПОИСКА

Проверенный минимум документации (система классификации с индексами классификации)

A61K, A61P

Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)

CIPO, DWPI, ESPACENET, PatSearch, RUPTO, PubMed, MEDLINE, Google

C. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:

Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
Y	RU 2077882 C1 (ЛАСКАВЫЙ В.Н. и др.), 27.04.1997, формула, с. 4, колонка 1	1-5
Y	RABENAU H. F. Stability and inactivation of SARS coronavirus, Med Microbiol Immunol. 2005; 194(1): 1-6, особенно, с. 4, табл. 2, [онлайн], [найдено 2021-03-09]. Найдено в < https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00430-004-0219-0.pdf >	1-5
Y	KAMPF G. et al. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents J Hosp Infect. 2020 Mar; 104(3): 246-251, Published online 2020 Feb 6,	1-5
Y	HONGSHUO SONG et al., Thermal stability and inactivation of hepatitis C virus grown in cell culture, Virology Journal, 2010, 7:40, с. 4, [онлайн], [найдено 2021-03-09], Найдено в < https://virologyj.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1743-422X-7-40.pdf >	1-5



последующие документы указаны в продолжении графы С.



данные о патентах-аналогах указаны в приложении

* Особые категории ссылочных документов:	
“A”	документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным
“D”	документ, цитируемый заявителем в международной заявке
“E”	более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее
“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)
“O”	документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.
“P”	документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета
“T”	более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение
“X”	документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности
“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
“&”	документ, являющийся патентом-аналогом

Дата действительного завершения международного поиска

11 марта 2021 (11.03.2021)

Дата отправки настоящего отчета о международном поиске

18 марта 2021 (18.03.2021)

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

Уполномоченное лицо:

Докшина Н.Ю.

Телефон № (8-499) 240-25-91

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Номер международной заявки

PCT/RU 2020/050334

С. (Продолжение). ДОКУМЕНТЫ СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕВАЛЕНТНЫМИ

Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	ЛАСКАВЫЙ В.Н. Профилактика вирусного (трансмиссивного) гастроэнтерита свиней в промышленных комплексах: автореферат дис. доктора ветеринарных наук: 16.00.03. Саратовская н.-и. вет. станция РАСХН. - Москва, 1998, с. 22, < https://www.disscat.com/content/profilaktika-virusnogo-transmissivnogo-gastroenterita-svinei-v-promyshlennykh-kompleksakh/read >	1-5