

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043258**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.05.02

(21) Номер заявки
202000209

(22) Дата подачи заявки
2020.05.19

(51) Int. Cl. **A61K 38/21** (2006.01)
A61K 31/07 (2006.01)
A61K 31/355 (2006.01)
A61K 31/375 (2006.01)
A61K 31/593 (2006.01)
A61D 19/00 (2006.01)

(54) **ВЕТЕРИНАРНЫЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ РАННЕЙ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ СМЕРТНОСТИ И ПРОФИЛАКТИКИ ЗАДЕРЖКИ РАЗВИТИЯ ПЛОДА У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ**

(43) **2021.11.30**

(96) **2020/EA/0028 (BY) 2020.05.19**

(71)(72)(73) Заявитель, изобретатель и патентовладелец:

**ПРОКУЛЕВИЧ ВЛАДИМИР
АНТОНОВИЧ; ПОТАПОВИЧ
МАКСИМ ИОСИФОВИЧ (BY)**

(74) Представитель:
**Беляева Е.Н., Беляев С.Б., Сапега
Л.Л. (BY)**

(56) ПРОКУЛЕВИЧ В.А. и др.: "Ветеринарные препараты на основе интерферона", Вестник БГУ, 2011, серия 2: Химия. Биология. География, № 3, с. 51-55

RU-C1-2684784

CAMPANILE G. et al.: "Embryonic mortality in buffalo cows", Italian Journal of Animal Science, 2007, vol. 6, suppl. 2, p. 119-129, DOI: 10.4081/ijas.2007.s2.119

ШАБУНИН Сергей Викторович и др.: "Рекомбинантный интерферон-TAU в профилактике эмбриопатий у коров", Ветеринария, 2019, № 10, с. 37-42, DOI: 10.30896/0042-4846.2019.22.10.37-42

(57) Изобретение относится к животноводству и ветеринарии и может быть использовано в скотоводстве на животноводческих фермах и комплексах, а также в личных подсобных хозяйствах населения для снижения ранней эмбриональной смертности и профилактики задержки развития плода у крупного рогатого скота (КРС). Предложен высокоэффективный ветеринарный препарат для снижения ранней эмбриональной смертности и профилактики задержки развития плода у крупного рогатого скота, содержащий в качестве основного биологически активного вещества рекомбинантный бычий интерферон-тау и дополнительно жирорастворимые витамины, выбранные из группы, включающей витамин А в форме ретинола ацетата или пальмитата, витамин Е в форме токоферола ацетата и водорастворимый витамин С в форме аскорбиновой кислоты, а в качестве ветеринарно приемлемых вспомогательных веществ содержащий, по меньшей мере, растворители, представляющие собой неионогенный растворитель и воду для инъекций, при следующем содержании компонентов из расчета г на 100 мл: рекомбинантный бычий интерферон-тау - 0,0001-0,0007; витамин А (в пересчете на ретинола ацетат или на ретинола пальмитат) - 3-5; витамин Е (в пересчете на альфа-токоферол) - 4-6; аскорбиновая кислота - 1-5; неионогенный растворитель - 12-16; вода для инъекций - остальное. Предложен также способ получения ветеринарного препарата.

043258
B1

043258
B1

Изобретение относится к животноводству и ветеринарии и может быть использовано в скотоводстве на животноводческих фермах и комплексах, а также в личных подсобных хозяйствах населения для снижения ранней эмбриональной смертности и профилактики задержки развития плода у крупного рогатого скота (КРС).

Эмбриональная смертность у коров является одной из причин низкой результативности осеменения. Потери стельности в эмбриональный период в высокопродуктивных стадах достигают 40-55% и более [1]. Высокий уровень внутриутробных потерь и антенатальных патологий у плода приобретает особую актуальность в высокопродуктивных стадах в силу больших экономических потерь, связанных со снижением плодовитости, молочной продуктивности коров и жизнеспособности новорожденных телят.

Известно средство для повышения репродуктивной активности животных и снижения эмбриональной смертности приплода, представляющее собой трис-(2-оксиэтил) аммония эрто-крезоксацетата [о-крезоксацетат-трис-(2-оксиэтил)аммония (2-СН₃С₆Н₄ОСН₂СОО)⁻(NH(CH₂CH₂ОН)₃)⁺]. Препарат получают либо смешиванием спиртовых растворов реагентов с последующим нагреванием реакционной смеси до кипения, либо сплавлением о-крезоксикусусной кислоты трис-(2-оксиэтил) амина [2]. Применение препарата позволило получить повышенную (на 10-12%) рождаемость телят в различных группах КРС. Однако данный препарат не нашел применения в скотоводстве.

Известен витаминный препарат на масляном растворе с содержанием в 1 мл раствора 25 мг витамина. Трехкратное введение витамина Е на 2, 6 и 12-е сутки после осеменения в дозе 5 мл способствовало повышению стельности коров на 10,5-14,9% [3].

Препарат усиливает метаболические процессы в эндометрии, что способствует созданию благоприятных условий для питания эмбриона на ранних стадиях развития и последующей имплантации. Недостаток препарата заключается в относительно низкой эффективности вследствие того, что витамин Е непосредственно не влияет на статус систем организма, регулирующих развитие эмбриона, дискоординация которых способна привести к гибели эмбриона на ранних стадиях развития.

Более эффективным для профилактики эмбриональной смертности у крупного рогатого скота оказался поливитаминный препарат "Тривитамин" [4].

Коровам в течение 30 дней после осеменения, внутримышечно вводили по 5 мл "Тривитамин" - стерилизованный масляный раствор витаминов А (15000 МЕ/мл), Д3 (20000 МЕ/мл) и Е (10 мг/мл) с интервалом 6-7 дней. У опытных животных по сравнению с контрольными выживаемость зародышей к 30-33, а также к 60-65 дню после осеменения была на 25% выше. Кроме того, для повышения выхода новорожденных телят применение препарата также требуется и в период около 60 дней до отела в указанных дозах и интервалах введения. Таким образом, использование препарата "Тривитамин" способствовало снижению уровня ранней эмбриональной смертности и спонтанных аборт у коров. Однако способ профилактики эмбриональной смертности у КРС с использованием данного препарата является сравнительно трудоемким и обладает теми же функциональными недостатками, что и с применением монопрепарата в виде витамина Е.

Аналогичный результат достигнут при применении средства для снижения ранней эмбриональной смертности у коров, включающего 6 компонентов: известные витамины А, Д3, Е и растительное масло, кроме того, дополнительно йодистый калий и АСД (антисептик-стимулятор Дорогова) 2-й фракции, причем в качестве масла средство включает масло подсолнечное или персиковое, при следующем соотношении компонентов: витамин А - 15000-24000 МЕ, витамин Д3 - 20000-32000 МЕ, витамин Е 20-36 мг, йодистый калий 12 мг, АСД 2-й фракции 0,12 мл, масло подсолнечное или персиковое до 1 мл [5].

Недостаток препарата заключается в его многокомпонентности (6 действующих веществ) и получении некоторых компонентов из природного сырья, что приводит к трудностям в стандартизации его выпуска.

Известен препарат на основе бусерелина, при введении которого коровам через 5-8 дней после осеменения оплодотворяемость повышалась на 6-12% [6]. Бусерелин конкурентно связывается с рецепторами гонадотропин-рилизинг гормона клеток передней доли гипофиза. При начальном или интермиттирующем введении бусерелин стимулирует высвобождение гонадотропинов (лютеинизирующий гормон (ЛГ) и фолликулостимулирующий гормон (ФСГ)) гипофизом, что, в свою очередь, вызывает кратковременное повышение уровня половых гормонов в плазме крови. Недостаток препарата заключается в том, что его применение в конечном итоге приводит к блокаде гонадотропной функции гипофиза и прекращению выделения ЛГ и ФСГ (в среднем через 12-14 дней). В результате наблюдается подавление синтеза половых гормонов в яичниках и снижение концентрации эстрадиола в крови, характерного для состояния "лекарственной кастрации". Низкий уровень повышения оплодотворяемости не компенсирует последующие потери. Этот способ профилактики - применение бусерелина - не способен регулировать обменные процессы в эндометрии, что в некоторых случаях также приводит к эмбриональной смертности из-за недостаточной обеспеченности эмбриона питательными веществами до имплантации и во время нее. В ряде случаев иммунная система матери воспринимает эмбрион как антиген, что в конечном итоге также приводит к его гибели. Вышеизложенный способ профилактики также не способен влиять на иммунный статус материнского организма.

Известен способ снижения ранней эмбриональной смертности у крупного рогатого скота, включающий введение прогестерона - "гормона беременности" - в дозе 250-750 мг на 7-10 дни после осеменения [7]. Этот способ позволил повысить оплодотворяемость коров на 16,6%. Попытки повысить эффективность препарата путем многократного введения экзогенного прогестерона в виде 1-2,5%-ного масляного раствора на 3-, 4-, 8-, 9-10- или 3-, 10- и 20-й дни после осеменения оказались неудачными [8]. Таким способом повысить эффективность осеменения удалось только на 15% с 41% без обработки до 56% с применением препарата.

Преимуществом применения экзогенного гормона является возможность быстрого повышения уровня прогестерона, недостаток заключается в том, что при использовании гормонального препарата невозможно повлиять на стабильность и функциональную активность желтого тела - гаранта нормального протекания процесса эмбриогенеза. Кроме того, введение гормональных препаратов пагубно сказывается на последующих циклах репродукции, приводя к значительному сокращению вероятности получения приплода.

Все вышеперечисленные выше способы и подходы к профилактике ранней эмбриональной гибели у КРС носят чисто симптоматический характер, малоэффективны и практически не влияют на тяжесть протекания беременности, а также не повышают на должный уровень сохранность и выживаемость эмбрионов.

Известен способ профилактики эмбриональной смертности и внутриутробной задержки развития эмбрионов у молочных коров, включающий парентеральное введение биологически активного вещества, в котором в качестве биологически активного вещества вводят субстанцию бычьего рекомбинантного интерферона-тау (ИФН-τ) трижды на 12, 14 и 16 дни после осеменения в дозе 5 мл [9]. Данный способ обеспечивает самое большое из известных повышение эффективности профилактики эмбриональной смертности и внутриутробной задержки развития эмбрионов у молочных коров. Конечная результативность осеменения коров при использовании данного способа профилактики эмбриональной смертности превзошла показатели группы отрицательного контроля в 2,5 раза и повысилась на 45% (с 30% в контроле до 75% в опытной группе). Однако недостаток этого способа заключается в том, что в качестве профилактического средства используется субстанция [10], а не стабилизированная, нормированная лекарственная форма препарата, обладающая определенной степенью стабильности при хранении, пролонгированным способом действия и высокой эффективностью профилактического действия.

Известен также ветеринарный препарат "Миксоферон", который представляет собой смесь белков лейкоцитарного интерферона в стабильной препаративной форме -однородный порошок или пористая масса белого цвета, хорошо растворимый в дистиллированной воде. Выпускается во флаконах по 50 доз и 100 доз [11]. Препарат "Миксоферон" применяют, в том числе для предотвращения эмбриональной смертности у коров [12]. Однако эффективность его применения недостаточно высока и намного ниже эффективности, которая достигается при применении для профилактики рассмотренной выше субстанции бычьего рекомбинантного интерферона-тау.

Проведенные исследования показали, что из уровня техники не известны простые по составу ветеринарные препараты для профилактики ранней эмбриональной смертности КРС, которые могли бы получены простыми и экономически выгодными способами и обеспечивали бы при этом существенное упрощение и повышение эффективности способов профилактики аномалий в протекании развития эмбриона осемененных животных. При этом по с учетом содержания в препарате "Миксоферон" смеси белков лейкоцитарного интерферона в качестве биологически активного вещества, а также с учетом его применения для снижения ранней эмбриональной смертности и профилактики задержки развития плода у КРС, данный препарат может быть принят в качестве прототипа для заявляемого ветеринарного препарата.

Таким образом, задачей изобретения является разработка высокоэффективного ветеринарного препарата для снижения ранней эмбриональной смертности и профилактики задержки развития плода у КРС, а также способа его получения. Препарат должен содержать в качестве биологически активного вещества интерферон и представлять собой стабилизированную, нормированную лекарственную форму. Препарат должен также обеспечивать высокую эффективность профилактики ранней смертности и внутриутробной задержки развития эмбрионов крупного рогатого скота, как с точки зрения сокращения трудоемкости профилактических мероприятий, так и с точки зрения существенного сокращения летальности, то есть обеспечивать максимальный профилактический эффект на любой из стадий развития эмбриона. Способ получения препарата, кроме того, должен быть максимально простым и обеспечивать наименее трудоемкое получение дешевого препарата в промышленных масштабах.

Более конкретно, технический результат настоящего изобретения заключается в разработке лекарственной формы и способа получения лекарственной формы, обладающей достаточной степенью стабильности белковой фракции, необходимой биологической активностью и характеризующейся пролонгированным способом действия на повышение воспроизводительной функции животных, выражающейся в снижении уровня ранней эмбриональной смертности и, как следствие, увеличении степени выживания эмбрионов, нормализации протекания процесса стельности коров.

Поставленная задача решается, и указанные выше технические результаты достигаются заявляемым

ветеринарным препаратом для снижения ранней эмбриональной смертности и профилактики задержки развития плода у крупного рогатого скота, содержащим интерферон в качестве биологически активного вещества и ветеринарно приемлемые вспомогательные вещества. Поставленная задача решается, и указанные выше технические результаты достигаются за счет того, что в качестве основного биологически активного вещества содержит рекомбинантный бычий интерферон-тау и дополнительно жирорастворимые витамины выбранные из группы, включающей витамин А в форме ретинола ацетата или пальмитата, витамин Е в форме токоферола ацетата и водорастворимый витамин С в форме аскорбиновой кислоты, а в качестве ветеринарно приемлемых вспомогательных веществ содержит, по меньшей мере, растворители, представляющие собой неионогенный растворитель и воду для инъекций, при следующем содержании компонентов, из расчета г на 100 мл:

рекомбинантный бычий интерферон-тау	0,0001-0,0007
витамин А (в пересчёте на ретинола ацетат или на ретинола пальмитат)	3-5
витамин Е (в пересчёте на альфа-токоферол)	4-6
аскорбиновая кислота	1-5
неионогенный растворитель	12-16
вода для инъекций	остальное.

Отличительной чертой заявляемого препарата является то, что он представляет собой комплексный, видоспецифический и полифункциональный препарат, предназначенный для профилактики ранней смертности и внутриутробной задержки развития эмбрионов крупного рогатого скота. Данный препарат оказывает множественные реакции, влияя как на организм животного на уровне генома, осуществляя регуляторные функции в пределах желтого тела, так и на внутриматочные трофические и инфекционные процессы. Видоспецифическим компонентом в составе указанного препарата является рекомбинантный белок, в частности бычий рекомбинантный тау-интерферон.

Антилютеолитический трофобластный интерферон-тау относится к фармакологической группе: цитокины 1-го типа - сигнальные молекулы. Интерферон-тау, не будучи гормоном, является сигналом для материнского распознавания беременности у жвачных животных, тормозит развитие реакций отторжения иммуногенной blastocysts, предотвращает синтез простагландинов и их рецепторов, защищает желтое тело от рассасывания, обеспечивает имплантацию и развитие эмбриона. Он обладает как прямым, так и опосредованным антилютеолитическим действием, сохраняет гормон-синтезирующую функцию желтого тела и физиологический уровень продукции прогестерона - гормона беременности. Недостаточный уровень синтеза зародышем интерферона-тау является одной из главных причин ранних эмбриональных потерь и задержки развития эмбриона и плода.

Данный цитокин обладает также антистрессовым, опосредованным антивирусным и, не относясь к классу антибиотиков, противобактериальным действием, выступает одним из посредников индукции противовоспалительной реакции в матке.

Таким образом, трофобластный антилютеолитический интерферон-тау, как и все цитокины полифункционален, и основные из его функций благоприятствуют развитию эмбриона и значительному повышению эффективности осеменения в процессе репродуктивного цикла коров, в первую очередь, обеспечивая структурную и функциональную стабилизацию желтого тела.

Витамины - жирорастворимые (в частности, витамины А, Е и Д) и водорастворимые (в частности, витамин С) благотворно влияют на протекание процессов становления и сохранности эмбриона дополнительно повышая результативность осеменения на 10-15%. В физиологически обоснованной дозировке, обеспечивают антиоксидантную и иммунную защиту организма, рост и формирование клеточных структур эмбриона и плода, компенсируют возникающую трофическую недостаточность.

Так, в частности, в рамках упомянутых выше притязаний был разработан препарат с торговым наименованием "Таутин", в котором действующее (биологически активное) вещество представляет собой антилютеолитический бычий рекомбинантный интерферон-тау, находящийся в стабилизированной лекарственной инъекционной форме, обеспечивающей пролонгированность действия интерферона и мощный антилютеолитический и прогестеронстимулирующий эффекты. Исходя из упомянутых выше свойств компонентов препарата "Таутин" является полифункциональным, обладает противовирусным, противобактериальным, антистрессовым и иммуномодулирующим действием и способен выступать в качестве неспецифического противоионогенного средства, оказывая терапевтический эффект при введении в организм животного не путем прямого воздействия на факторы патогенеза (вирусы и бактерии), а опосредовано активируя защитные системы макроорганизма. Именно эти свойства действующих веществ (интерферон-тау, жирорастворимые витамины А, Е и Д, водорастворимый витамин С) препарата "Таутин" позволяют успешно применять его для профилактики ранней смертности эмбрионов крупного

рогатого скота. Причем рекомбинантный интерферон-тау, полученный микробным биосинтезом, ничем не отличается от естественных молекул животных. Мясная и молочная продукция может использоваться без всяких ограничений в пищу человека во время и после применения препарата. С созданием препарата "Таутин" у ветеринарных врачей появилась возможность профилактировать животных не гормональными препаратами или чужеродными химиотерапевтическими средствами, которые всегда вредны для организма, а собственными аутентичными компонентами организма животных. Суть терапии, которая состоит во включении механизмов собственной защиты путем введения препарата в нужное время и в достаточном объеме, проявляется как полифункциональная и оказывает разноплановую помощь.

При добавлении в состав заявляемого препарата дополнительных биологически активных веществ из групп, включающей жирорастворимые и водорастворимые витамины, эффективность действия препарата еще больше повышается, поскольку

препарат приобретает двойное действие одновременно против ряда факторов генетико-функциональной и трофической природы, приводящих к гибели эмбрионов, - выраженный синергизм действия;

противоинфекционная эффективность препарата в эндометрии увеличивается по сравнению с известными противомикробными средствами, поскольку проявляется противобактериальный синергизм интерферона и витамина А; в силу этого требуется меньшая дозировка (экономический эффект);

иммуномодулирующая и антистрессовая активности интерферона снимают депрессивное состояние организма животных, что приводит к быстрой адаптации к наступающему состоянию беременности;

применение указанного комплексного препарата стимулирует и ускоряет выработку специфического ответа за счет каскадного регуляторного действия на группы генов, обеспечивающих нормальное протекание беременности.

Наиболее предпочтительными являются формы реализации заявляемого препарата, которые содержат смесь жирорастворимых витаминов.

В частности, в уже упомянутом выше препарате "Таутин", который обладает всеми свойствами субстанции бычьего рекомбинантного интерферона-тау, для усиления профилактического эффекта в лекарственную форму добавлены жирорастворимые витамины А и Е в физиологически обоснованных концентрациях и использован неионогенный разбавитель, пролонгирующий влияние действующих веществ препарата.

Предпочтительными также являются формы реализации заявляемого препарата, в которых препарат в качестве ветеринарно приемлемых вспомогательных веществ дополнительно содержит сульфит натрия в количестве 0,1-0,3 г на 100 мл препарата и бензоат натрия в количестве 0,1-0,3 г на 100 мл препарата.

С учетом содержания дополнительных ветеринарно приемлемых вспомогательных веществ предпочтительными являются формы реализации заявляемого препарата, в которых препарат содержит, из расчета г на 100 мл:

рекомбинантный бычий интерферон-тау	0,0001-0,0007
витамин А (в пересчёте на ретинола ацетат или на ретинола пальмитат)	3-5
витамин Е (в пересчёте на альфа-токоферол)	4-6
аскорбиновая кислота	1-5
сульфит натрия	0,1-0,3
бензоат натрия	0,1-0,3
неионогенный растворитель	12-16
вода для инъекций	остальное.

Поставленная задача решается также заявляемым способом получения ветеринарного препарата, при котором, смешивают при постоянном перемешивании полученный в воде для инъекций раствор ветеринарно приемлемых вспомогательных веществ и полученный в неионогенном растворителе концентрат коллоидного раствора жирорастворимых витаминов А и Е и перемешивают полученную смесь при температуре 20-22°C в течение около 5 мин, добавляют аскорбиновую кислоту и перемешивают около 10 мин, после чего к полученной смеси добавляют субстанцию рекомбинантного бычьего интерферона-тау, перемешивают до полного растворения и доводят объем до заданного рецептурного значения путем добавления при перемешивании воды для инъекций с последующей стерилизующей фильтрацией раствора, стерильной фасовкой дозами от 5 до 100 мл и герметичной упаковкой.

Заявляемый способ получения ветеринарного препарата является максимально простым и обеспе-

чивает получение дешевого и высокоэффективного препарата в промышленных масштабах.

При разработке схем профилактики ранней эмбриональной гибели и задержки развития эмбриона с помощью заявляемого ветеринарного препарата были использованы данные, полученные в упомянутом выше патенте RU 2684784 [9], в котором в качестве профилактического моносредства применялась только субстанция интерферона-гау, изготовленная по ТУ ВУ 691457701.046-2017 [10].

Высокая эффективность заявленного ветеринарного препарата в различных формах реализации и способы профилактики с помощью препарата "Таутин" ранней эмбриональной смертности КРС, а также исключительная простота способа получения препарата будут проиллюстрированы на нижеприведенных примерах.

Примеры

Пример 1. Способ производства ветеринарного препарата для снижения ранней эмбриональной смертности и профилактики задержки развития плода у КРС (препарат "Таутин").

Приготовление заявляемого препарата, обладающего антилютеолитическим, противовирусным и иммуномодулирующим действием, осуществляют следующим образом.

В 500 мл воды для инъекций помещают 2 г сульфита натрия (точная навеска), 2 г бензоата натрия (C_6H_5COONa) и перемешивают до полного растворения. Не прекращая перемешивания, прибавляют 250 мл заранее приготовленного концентрата коллоидного раствора в неионогенном растворителе витаминов А с содержанием ретинола ацетата или ретинола пальмитата 20 г и Е с содержанием альфа-токоферола в количестве 50 г. Добавляют 30 г аскорбиновой кислоты и перемешивают 10 мин при комнатной температуре, при необходимости доводят рН раствора с использованием 1 М NaOH, после чего добавляют субстанцию бычьего рекомбинантного интерферона-гау в количестве 3 мг. После растворения субстанции объем полученного раствора при перемешивании доводят водой для инъекций до 1000 мл, проводят стерилизующую фильтрацию. Раствор разливают в асептических условиях в стерильные флаконы по 5-100 мл и укупоривают резиновыми пробками с обкаткой металлическими колпачками.

В заявляемом препарате активность интерферона-гау определяют по нейтрализации вируса везикулярного стоматита человека с использованием перевиваемой культуры клеток линии MDBK. Содержание и подлинность витаминов определяют посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Дополнительно контролируют соответствие всем требованиям, предъявляемым к биологически активным препаратам для инъекций: отсутствие механических включений, прозрачность, цветность, рН, стерильность и др., согласно табл. 2.

Получаемый препарат (препарат "Таутин") по физико-химическим и биологическим показателям должен соответствовать требованиям, указанным в табл. 1.

Таблица 1

Физико-химические и биологические показатели препарата "Таутин"

	Наименование показателя	Характеристика и норма показателя
1	Внешний вид, цвет, наличие посторонних примесей	Жидкость прозрачная, от зеленовато-жёлтого до коричневого цвета без посторонних примесей. Допускается опалесценция.
2	Стерильность	Должен выдерживать испытание
3	Токсичность (безвредность)	Должен выдерживать испытание
4	Противовирусная активность, МЕ/мл	10-100 тыс.
5	Показатель концентрации водородных ионов препарата (рН), ед. рН	4,0 – 8,0
6	Подлинность витамина А	Одинаковое время удерживания пика витамина А на хроматограмме испытуемого раствора и пика витамина А на хроматограмме раствора стандарта
7	Содержание витамина А, г/мл	0,02 – 0,04
8	Подлинность витамина Е	Одинаковое время удерживания пика витамина Е на хроматограмме испытуемого раствора и пика витамина Е на хроматограмме раствора стандарта
9	Содержание витамина Е, г/мл	0,04 – 0,06

Пример 2. Эффективность применения препарата "Таутин" для профилактики ранней смертности и задержки развития эмбрионов КРС.

Эффективность профилактики эмбриопатий у коров при применении заявляемого препарата определена путем сравнения результатов, полученных на 20 осемененных коровах, разделенных по принципу аналогов на три группы, с результатами, представленными в патенте RU № 2684784.

Коровам первой группы (n=10) препараты не назначали, и они служили в качестве отрицательного контроля.

Коровам второй группы (n=8) трижды - на 12, 14 и 16 дни после осеменения - парентерально вводили бычий рекомбинантный интерферон-тау (субстанция) в дозе 5 мл/животное (по патенту № 2684784).

Коровам третьей группы (n=20) трижды - на 12, 14 и 16 дни после осеменения - парентерально вводили ветеринарный препарат по изобретению (препарат "Таутин") в дозе 5 мл/животное.

Все включенные в опыт животные дважды на 28-30 и 60-65 дни после осеменения подвергались трансректальному обследованию половых органов с ультразвуковым сканированием матки и формирующегося эмбриона. При наличии в матке коров эмбриона на 28-30 дни гестации и его отсутствии на 60-65 дни у тех же животных ставили диагноз - эмбриональная смертность. О задержке развития эмбриона судили по метрическим показателям его длины.

Результаты проведенных исследований коров представлены в табл. 2.

Таблица 2

Эффективность применения препарата "Таутин" для профилактики ранней смертности и задержки развития эмбрионов КРС

Группа	Кол-во коров	Оплодотворились		Гибель эмбриона		Задержка развития эмбриона		Конечная результативность осеменения	
		Число	Процент	Число	Процент	Число	Процент	Число	Процент
Контроль	10	4	40,0	1	25,0	1	25,0	3	30,0
Субстанция (по патенту № 2684784)	8	6	75,0	0	0	1	16,7	6	75,0
Препарат по изобретению	20	18	90,0	0	0	2	11,1	18	90,0

Из приведенных в таблице данных следует, что после трехкратного введения интерферона-тау (субстанция) не зарегистрировано случаев эмбриональной смертности, так же, как и в опытной группе (препарат по изобретению "Таутин"). В то время как в группе отрицательного контроля гибель эмбриона обнаружена у 25,0% животных. После использования заявляемого ветеринарного препарата произошло снижение случаев задержки развития эмбриона на 5,6% по сравнению с прототипом и на 13,9% в сравнении с отрицательным контролем.

Конечная результативность осеменения коров при использовании заявляемого препарата - степень профилактики эмбриональной смертности - превзошла показатели прототипа на 15%, а группы отрицательного контроля на 60%.

Таким образом, при применении заявляемого ветеринарного препарата согласно схемы, ранее описанной в патенте RU № 2684784, включающей на курс 3 инъекции препарата (в случае заявляемого препарата, содержащего смесь рекомбинантного бычьего интерферона-тау с жирорастворимыми витаминами А и Е) при дозировке 5 мл на животное на 12, 14 и 16 сутки после осеменения, обеспечивается более высокая степень профилактической активности по сравнению с субстанцией интерферона-тау (патент RU № 2684784) вследствие стабилизации и пролонгированности действия белкового компонента в лекарственной форме ("Таутин"), наряду с проявлением биологической активности витаминного компонента (витамины А и Е), а также проявляющегося эффекта синергизма.

Приведенные выше примеры подтверждают высокую эффективность заявленного ветеринарного препарата и способа профилактики эмбриональной смертности и задержки развития эмбрионов КРС, а также простоту и экономическую эффективность заявленного способа получения данного препарата. При этом, из совокупности информации в патентной и научно-технической литературе не обнаружена аналогичная совокупность признаков и достигаемых при реализации изобретения технических результатов, что позволяет говорить о новизне и изобретательском уровне заявленных решений.

Испытания показали, что заявленный препарат обеспечивает высокую эффективность во всех возможных в рамках независимого п.1 формулы изобретения формах реализации.

Источники информации.

1. Дюльгер Г. Репродуктивные потери у коров в период плодonoшения // Ветеринария. Сельскохозяйственные животные. - 2012. - №11. - С. 30-35; Нежданов А.Г., Михалев В.И., Дюльгер Г.П., Лозовая Е.Г. К вопросу внутриутробной гибели и задержки развития зародышей у молочных коров //

- Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2014. - №3. - С. 120-124.
2. Авторское свидетельство SU № 704618, опубл. 25.12.1979 г.
 3. Столбов В.М., Бахмут Л.Н., Римарова Л.Д., Харитошин О.Л. Повышение воспроизводительной функции коров путем применения витаминных препаратов. // Доклады ВАСХНИЛ. - №2. - 1984. - с.19-21.
 4. Мингазов Т.А. Профилактика эмбриональной смертности у крупного рогатого скота «Тривитаминном» // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана. - 1976. - №3. - с.79-82.
 5. Патент RU № 2287985 С1, опубл. 27.11.2006.
 6. Ryan D.P., Kopel E., Boland M.P. Pregnancy rates in dairy cows following the administration of a GnRH analogue at the time of artificial insemination or at midcycle post insemination // Theriogenology. - 1991. - V.36. - №3. - pp.367-377.
 7. Lukaszewski I., Marcinkowski K., Krolinski I. Wplyw egzogenego progesteronu na wyniki zacielen w swietle badan klinicznych i endokrynologicznych // Med. Wet. - 1993. - V.49. - №7. - S.322-323.
 8. В.И. Нетеча, Т.В. Агалакова, Л.В. Перминова, Р.В. Русаков. //Рекомендации по повышению эффективности воспроизводства молочного скота - Киров, 2001. - 80 с.
 9. Патент RU № 2684784 С1, опубл. 15.04.2019.
 10. Прокулевич В.А., Потапович М.И. «Субстанция Тау-интерферона бычьего рекомбинантного» ТУ ВУ 691457701.046-2017/
 11. Миксоферон. Интернет-ресурс vetlek.ru. [Электронный ресурс] – найдено 10.12.2019 г. – режим доступа: <https://www.vetlek.ru/directions/?id=398>
 12. Эмбриональную смертность у коров предотвратит Миксоферон. Сайт Федерального центра сельскохозяйственного консультирования агропромышленного комплекса. [Электронный ресурс] – найдено 10.12.2019 г. – режим доступа: <http://mcx-consult.ru/embrionalnyu-smertnost-u-korov-pre>

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Ветеринарный препарат для снижения ранней эмбриональной смертности и профилактики задержки развития плода у крупного рогатого скота, содержащий интерферон в качестве биологически активного вещества и ветеринарно приемлемые вспомогательные вещества, отличающийся тем, что в качестве основного биологически активного вещества содержит рекомбинантный бычий интерферон-тау и дополнительно жирорастворимые витамины, выбранные из группы, включающей витамин А в форме ретинола ацетата или пальмитата, витамин Е в форме токоферола ацетата и водорастворимый витамин С в форме аскорбиновой кислоты, а в качестве ветеринарно приемлемых вспомогательных веществ содержит, по меньшей мере, растворители, представляющие собой неионогенный растворитель и воду для инъекций, при следующем содержании компонентов из расчета г на 100 мл: рекомбинантный бычий интерферон-тау - 0,0001-0,0007; витамин А (в пересчете на ретинола ацетат или на ретинола пальмитат) - 3-5; витамин Е (в пересчете на альфа-токоферол) - 4-6; аскорбиновая кислота - 1-5; неионогенный растворитель - 12-16; вода для инъекций - остальное.

2. Препарат по п.1, отличающийся тем, что в качестве ветеринарно приемлемых вспомогательных веществ дополнительно содержит сульфит натрия в количестве 0,1-0,3 г на 100 мл препарата и бензоат натрия в количестве 0,1-0,3 г на 100 мл препарата.

3. Препарат по любому из пп.1 или 2, отличающийся тем, что содержит из расчета г на 100 мл: рекомбинантный бычий интерферон-тау - 0,0001-0,0007; витамин А (в пересчете на ретинола ацетат или на ретинола пальмитат) - 3-5; витамин Е (в пересчете на альфа-токоферол) - 4-6; аскорбиновая кислота - 1-5; сульфит натрия - 0,1-0,3; бензоат натрия - 0,1-0,3; неионогенный растворитель - 12-16; вода для инъекций - остальное.

4. Способ получения ветеринарного препарата по любому из пп.1-3, при котором смешивают при постоянном перемешивании полученный в воде для инъекций раствор ветеринарно приемлемых вспомогательных веществ и полученный в неионогенном растворителе концентрат коллоидного раствора жирорастворимых витаминов А и Е и перемешивают полученную смесь при температуре 20-22°C в течение около 5 мин, добавляют аскорбиновую кислоту и перемешивают около 10 мин, после чего к полученной смеси добавляют субстанцию рекомбинантного бычьего интерферона-тау, перемешивают до полного растворения и доводят объем до заданного рецептурного значения путем добавления при перемешивании воды для инъекций с последующей стерилизующей фильтрацией раствора, стерильной фасовкой дозами от 5 до 100 мл и герметичной упаковкой.

