



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61J 3/00 (2023.08)

(21)(22) Заявка: 2023111526, 04.05.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
04.05.2023

Дата регистрации:
27.12.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 04.05.2023

(45) Опубликовано: 27.12.2023 Бюл. № 36

Адрес для переписки:
410012, г. Саратов, пр-кт им. Петра Столыпина,
зд. 4, стр. 3, ФГБОУ ВО Вавиловский
университет, патентный отдел

(72) Автор(ы):

Поддубная Ирина Васильевна (RU),
Гуркина Оксана Александровна (RU),
Руднева Оксана Николаевна (RU),
Тарасов Петр Сергеевич (RU),
Кудряшова Елена Вадимовна (RU),
Злотников Игорь Дмитриевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Саратовский государственный
университет генетики биотехнологии
инженерии имени Н.И.Вавилова" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: СКУРЕДИНА А.А. Молекулярные
механизмы формирования комплексов
включения фторхинолонов с мономерными и
полимерными производными β-
циклодекстрина как основа для регуляции
свойств антибактериальных препаратов,
диссертация, Москва, 2021, с.42-43.
МИКУЛИЧ Е.Л. Ихтиопатология: лечебные
и профилактические препараты, применяемые
в рыбоводстве республики (см. прод.)

(54) Способ безынъекционного введения лечебных и профилактических препаратов для рыбоводства

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии. Система доставки представляет собой полимер на основе нековалентных комплексов производных β-циклодекстрина с биологически активной молекулой, содержащей хотя бы один ароматический фрагмент. Способ безынъекционного введения лечебных и профилактических препаратов для рыбоводства, характеризующийся тем, что средство для доставки лекарственного вещества пролонгированного высвобождения добавляется к корму, отличается тем, что лекарственные средства смешиваются с кормом, при этом

носителями лекарственных средств являются «наногубки», которые предварительно заполняются антибиотиками, например левофлоксацином, причем приобретенные свойства медленного растворения в воде обеспечивают доставку «наногубки» с антибиотиком в организм рыбы практически без потерь, способствуют полному поеданию корма с «наногубкой» по причине устранения неприятного вкуса и запаха антибиотика, а процесс пролонгированного освобождения антибиотика происходит в пищеварительном тракте рыбы, что сокращает непроизводительные

потери дорогостоящего антибиотика и рыбоводных целях. 4 ил., 6 табл.
обеспечивает дальнейшее использование воды в

(56) (продолжение):

Беларусь, Горки, БГСХА, 2020, с.15. RU 2740 C1, 12.01.2021. LOFTSSON T., et al. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications, Int. J. Pharm., 2007, Vol. 329, N 1-2, p.1-11.

R U 2 8 1 0 5 8 3 C 1

R U 2 8 1 0 5 8 3 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
A61J 3/00 (2023.08)

(21)(22) Application: **2023111526, 04.05.2023**

(24) Effective date for property rights:
04.05.2023

Registration date:
27.12.2023

Priority:

(22) Date of filing: **04.05.2023**

(45) Date of publication: **27.12.2023 Bull. № 36**

Mail address:

**410012, g. Saratov, pr-kt im. Petra Stolypina, zd.
4, str. 3, FGBOU VO Vavilovskij universitet,
patentnyj otdel**

(72) Inventor(s):

**Poddubnaia Irina Vasilevna (RU),
Gurkina Oksana Aleksandrovna (RU),
Rudneva Oksana Nikolaevna (RU),
Tarasov Petr Sergeevich (RU),
Kudriashova Elena Vadimovna (RU),
Zlotnikov Igor Dmitrievich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe biudzhethnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniia "Saratovskii gosudarstvennyi
universitet genetiki biotekhnologii inzhenerii
imeni N.I.Vavilova" (RU)**

(54) **METHOD OF NON-INJECTION ADMINISTRATION OF THERAPEUTIC AND PROPHYLACTIC DRUGS FOR FISH FARMING**

(57) Abstract:

FIELD: fish farming.

SUBSTANCE: delivery system is a polymer based on non-covalent derivative complexes of β -cyclodextrin with a biologically active molecule containing at least one aromatic fragment. A method of non-injection administration of therapeutic and prophylactic drugs for fish farming characterized by the following: a means for delivering a drug substance of prolonged release is added to the feed, is characteristic of the drugs being mixed with the feed, while the drug carriers are "nanosponges", which are pre-filled with antibiotics, for example, levofloxacin, and the acquired properties of slow dissolution in water ensure the delivery of the

"nanosponge" with the antibiotic to the fish's body with virtually no loss, it promotes complete consumption of the food with the "nanosponge" due to the elimination of the unpleasant taste and smell of the antibiotic, and the process of prolonged release of the antibiotic occurs in the digestive tract of the fish, which reduces wasteful losses of expensive antibiotics and ensures the continued use of water for fish farming purposes.

EFFECT: obtaining a method of non-injection administration of therapeutic and prophylactic drugs for fish farming.

1 cl, 4 dwg, 6 tbl

Изобретение относится к медицине и нанобиотехнологиям, в частности к средствам для доставки лекарственных препаратов пролонгированного действия. Система доставки представляет собой полимер на основе нековалентных комплексов производных β -циклодекстрина с биологически активной молекулой, содержащей хотя бы один ароматический фрагмент.

Известна композиция микрочастиц и/или наночастиц для локальной доставки активного ингредиента к слизистой поверхности млекопитающих, способ их получения и композиция из них (патент №2413506 RU от 11.08.2007, МПК А61J3/00).

Однако, данное изобретение применяется только для доставки лекарственных препаратов к слизистой поверхности млекопитающих и не может быть использовано для пероральной доставки лекарственных препаратов у рыб.

Известна лекарственная форма для доставки лекарственного средства в толстую кишку (патент №2478372 RU от 13.04.2007, МПК А61K47/69).

Однако, лекарственная форма включает частицу с ядром и покрытием ядра, где ядро включает лекарственное средство и покрытие. Покрытие включает смесь чувствительного к воздействию бактерий толстой кишки вещества и пленкообразующего полимерного вещества, которое нерастворимо при рН менее 5 и растворимо при рН выше 5.

Лекарственная форма нерастворима в кислой среде желудка с рН менее 5, что не позволяет применять ее для пролонгированного действия у рыб.

Известна 3D-матриксная структура для доставки лекарственных препаратов (патент №2740287 RU от 30.08.2019, МПК А61K47/49), представляющая собой водорастворимую или образующую коллоидный раствор частицу с размером 100-600 нм, которая имеет 3D-матриксную структуру, образованную из комплексов производного β -циклодекстрина, содержащего не менее трех свободных гидроксильных групп, и лекарственного соединения, содержащего по меньшей мере один ароматический фрагмент, где производные β -циклодекстрина соединены между собой уретановыми связями.

Данная структура не использовалась для введения в организм животных перорально, что является существенным недостатком заявленной композиции.

Технической задачей заявляемого изобретения является создание способа перорального введения лекарственных и профилактических препаратов рыбам.

Техническим результатом является разработка безынъекционного способа введения лечебных и профилактических препаратов для рыбоводства с помощью «наногубки».

Техническая задача решается, а технический результат достигается в способе безынъекционного введения лечебных и профилактических препаратов для рыбоводства, характеризующимся тем, что средство для доставки лекарственного вещества пролонгированного высвобождения добавляется к корму, отличающимся тем, что лекарственные средства смешиваются с кормом, при этом носителями лекарственных средств являются «наногубки», которые предварительно заполняются антибиотиками, например, левофлоксацином, причем приобретенные свойства медленного растворения в воде обеспечивают доставку «наногубки» с антибиотиком в организм рыбы практически без потерь, способствуют полному поеданию корма с «наногубкой» по причине устранения неприятного вкуса и запаха антибиотика, а процесс пролонгированного освобождения антибиотика происходит в пищеварительном тракте рыбы, что сокращает непроизводительные потери дорогостоящего антибиотика и обеспечивает дальнейшее использование воды в рыбоводных целях.

«Наногубки циклодекстрина» состоят из трехмерной сшитой полимерной сети D-

5 глюкопиранозных звеньев. Они могут быть получены с α -, β - и γ -циклодекстринами. Вследствие особенностей строения и большого количества гидроксильных групп циклодекстрины имеют тороидальную форму с внешней гидрофильной поверхностью и внутренней гидрофобной полостью, куда могут поместиться другие

молекулы и объем которой зависит от количества D-глюкозных звеньев. Гидрофобной полости свойственны постоянные геометрические размеры, и она способна инкапсулировать различные молекулы.

10 В результате вхождения молекулы (гость) в полость макромолекулы циклодекстрина (хозяин) могут образовываться комплексы включения типа «гость-хозяин». Благодаря образованию таких комплексов можно улучшить физические, химические и биологические свойства молекулы гостя.

15 Преимуществом представленного способа для дальнейшего перорального применения лекарственных и профилактических препаратов у рыб, является медленное высвобождение лекарства в воду (в течение часа 85% левофлоксацина сохраняется на носителе), и поэтому весь антибиотик рыбы могут съесть в виде частичек с кормом. Использование β -циклодекстринов при пероральном введении рыбам, при котором возрастает скорость адсорбции и биодоступность лекарственных веществ, увеличивает биодоступность и эффективность антибактериального и заживляющего действия.

20 Использование данного способа доставки обеспечивает достижение требуемого времени циркуляции в кровотоке в широком временном промежутке. Разработанные амфифильные полимерные частицы крайне медленно растворяются в воде, но поскольку в их состав входит хитозан и циклодекстрин, то их можно добавить в корм для рыб. Хитозан биосовместим, безопасен и обладает заживляющим действием.

25 Для придания более длительного растворения, в течение 40 мин. - 1 часа, полученные частицы покрывали пленкой высокомолекулярного хитозана (160 кДА), получая частицы, фиксированные на геле. Это усиливает мукоадгезивные свойства - прилипание к слизистым и пролонгированное растворение в желудке и кишечнике. Набухание и растворение частиц начинается в кислой среде желудка, постепенно высвобождая антибиотик в течение 3-4 дней.

30 Изобретение поясняется фигурами и таблицами.

На фиг.1 поэтапно представлен способ введения циклодекстриновой «наногубки» в организм рыбы.

На фиг.2 представлен процесс повреждения спинной мышцы рыб в районе спинного плавника.

35 На фиг.3 представлены комплексы производных β -циклодекстринов.

На фиг.4 представлены химические и пространственные структуры α -циклодекстрина, β -циклодекстрина и γ -циклодекстрина.

40 В таблице 1 отражены данные по использованию комплексов хитозан- β -циклодекстрин и хитозан- β -циклодекстрин-эвгинол с левофлоксацином, где эвгинол - растительный антисептик. Представлены четыре подопытные группы: контрольная и 3 опытные с гибридами русского и сибирского осетра по 10 особей в каждой со средней массой 110,0 г, получавшие в первой и второй опытной группе различные количества антибиотика (23% и 15%), а контрольная и третья опытная группа антибиотик не получали.

45 В таблице 2 представлены данные применения комплексов силикагель-хитозан- β -циклодекстрин и силикагель- β -циклодекстрин с левофлоксацином.

Представлены четыре подопытные группы: контрольная и 3 опытные с гибридами осетра по 10 особей в каждой со средней массой 405,0 г, получавшие во второй и третьей

опытной группе различные количества антибиотика (16% и 5%), а контрольная и третья опытная группа антибиотик не получали.

В таблице 3 представлены данные эффективности использования кормов с комплексами хитозан- β -циклодекстринов с левофлоксацином. Затраты комбикорма на 1 кг прироста во всех группах различны: минимальные - во 2-й опытной группе (профилактическая), что на 2,7% меньше, чем в контрольной группе из-за меньшего количества антибиотика, влияющего на интенсивность роста. Аналогичная тенденция отмечается по обменной энергии и сырому протеину.

В таблице 4 представлены данные эффективности использования кормов с комплексами хитозан- β -циклодекстрин и силикагель- β -циклодекстрин с левофлоксацином. По затратам комбикорма на 1 кг прироста лучшими оказались особи 2-й опытной группы (профилактическая), этот показатель был ниже на 0,01 кг по сравнению с контрольной группой, по затратам обменной энергии ниже на 0,05 МДж, по затратам сырого протеина - на 0,11 г.

В таблице 5 показано влияние комплекса хитозан- β -циклодекстрин с левофлоксацином на микрофлору резаных ран осетров. Представлены результаты антимикробной активности резанных ран на теле осетров с лечением и без него (1-я и 3-я опытные группы).

В таблице 6 дано экономическое обоснование использования комплексов β -циклодекстринов для доставки лекарственных и профилактических препаратов. Представлен расчет экономической эффективности использования «наногубки» определены затраты на выращивание гибрида осетра для групп, использовавших комплексы β -циклодекстринов.

Для разработки нового безыглекционного способа введения лекарственных с целью лечения и профилактики болезней рыб были проведены эксперименты по использованию «наногубки» как биологически активной субстанции, заполненной антимикробным препаратом с активным действующим веществом левофлоксацин.

Комплексы производных β -циклодекстринов с левофлоксацином представляет собой порошки с гелеобразными частицами от светло-желтого до насыщенно-желтого цвета в зависимости от сшивающего агента (фиг.3). Исследуемые вещества вносили в корм и интенсивно перемешивали в течение 4-5 минут для равномерного распределения.

В соответствии с методикой (Овсянников А.И. Основа опытного дела в животноводстве. М.: Колос, 1976. - 304 с.) по принципу групп-аналогов сформировали четыре подопытные группы для двух этапов эксперимента. На первом этапе отобрали 40 гибридных особей сеголетков русского и сибирского осетра со средней массой 110,0 г и разместили их по 10 экземпляров в четыре аквариума объемом 250 л каждый по схеме, представленной в таблице 1.

Дозы ввода действующего вещества были следующими: первая опытная группа поврежденных особей получала левофлоксацин в количестве 4,1 мг на 1 кг массы рыбы для лечения в течение 5 суток; вторая опытная группа неповрежденной рыбы - 0,96 мг на 1 кг массы рыбы для профилактических целей в течение 10 суток.

На втором этапе отобрали 40 гибридных особей русского и сибирского осетра со средней массой 405,0 г и разместили их по 10 экземпляров в четыре аквариума объемом 250 л каждый. Схема опыта была аналогичной предыдущему этапу, представлена в таблице 2.

Контрольная группа здоровых особей, а также третья опытная группа поврежденной рыбы изучаемое вещество не получала. Две опытные группы получали корм с комплексами β -циклодекстринов и различной дозировкой левофлоксацина. Дозы ввода

действующего вещества были следующими: первая опытная группа поврежденных особей получала левофлоксацин в количестве 0,99 мг на 1 кг массы рыбы для лечения в течение 5 суток подряд; вторая опытная группа здоровой рыбы - 0,35 мг на 1 кг массы рыбы для профилактических целей в течение 10 суток.

5 На шестые и одиннадцатые сутки эксперимента проводили контрольные взвешивания рыбы для определения динамики роста. В эти же временные периоды были проведены контрольные убои подопытных особей по 3 особи из каждой группы для изучения состояния мышечной ткани и внутренних органов, смывы с ран, взятие крови из сердечной мышцы для анализа биохимических показателей и проведения микроядерного
10 теста, отбиралось содержимое кишечника для посева на средах с последующим анализом микрофлоры.

Для выращивания осетровых оптимальна температура 18-20°C. В связи с этим еженедельно проводились наблюдения за основными показателями воды, такими как температура, содержание кислорода, рН, прозрачность.

15 В опыте температура воды в аквариумах была в среднем 19,9°C. Содержание растворенного в воде кислорода 6,2 мг/л, рН - 7,8.

Отмечено лечебное и профилактическое воздействие «наногубки» с антибиотиком на ростовые процессы и выживаемость рыбы.

Комплексы β-циклодекстринов с левофлоксацином оказали положительное
20 воздействие на конверсию корма. Затраты комбикорма на 1 кг прироста в двух экспериментах у 2-й опытной группы (профилактические) были ниже на 3,0% и 1,4% по сравнению с контрольной группой, соответственно (таблицы 3 и 4).

Отрицательного влияния «наногубки» с антибиотиком на биохимические показатели крови опытных групп не выявлено.

25 Негативного воздействия «наногубки» с антибиотиком на функциональное состояние внутренних органов и тканей рыбы не отмечено. Антимикробная активность хитозан-β-циклодекстрин с левофлоксацином существенно снижает обсемененность поверхности ран, способствуя заживлению. Комплекс хитозан-β-циклодекстрин с левофлоксацином
30 значительно (в 1000 раз) снижает обсемененность поверхности ран, способствуя заживлению. Комплекс силикагель-β-циклодекстрин с левофлоксацином снижает обсемененность поверхности ран лишь в 10 раз.

Установлена антибактериальная активность левофлоксацина в составе комплексов β-циклодекстринов по отношению к кишечной микрофлоре осетровых рыб.

В толстом кишечнике рыб под действием комплекса хитозан-β-циклодекстрин с
35 левофлоксацином в группе с лечением (1-я опытная) общее микробное число и количество молочнокислых бактерий меньше в 1250 и 3000 раз, соответственно, по сравнению с комплексом силикагель-хитозан-β-циклодекстрин с левофлоксацином. При этом во 2-й опытной группе (профилактической) под действием этого комплекса хитозан-β-циклодекстрин-эвгинолом с левофлоксацином (15%) общее микробное число
40 и число молочнокислых бактерий меньше в 10 тысяч и 1500 раз соответственно по сравнению с антимикробным действием комплекса силикагель-β-циклодекстрин с левофлоксацином (5%), что также подтверждает его эффективность и биодоступность для рыб.

Наименьшие затраты на 1 кг живой массы рыбы отмечены в группах, где
45 использовались в лечебных и профилактических целях комплексы силикагель-β-циклодекстрин с левофлоксацином в количестве действующего вещества 15 и 5%, что является экономически выгодным при использовании этих комплексов для лечения и профилактики заболеваний у осетровых рыб (таблица 6).

Полимеры на основе производных β -циклодекстринов с плотной структурой - «наногубки», включенные в поры силикагеля или высокомолекулярных хитозанов, перспективны для использования в рыбном хозяйстве.

5 Использование «наногубки» в адресной доставке лекарственных и профилактических препаратов для поддержания жизнедеятельности рыб на оптимальном уровне эффективно и экономически целесообразно, что свидетельствует о промышленной применимости заявленного изобретения.

(57) Формула изобретения

10 Способ безыглекционного введения лечебных и профилактических препаратов для рыбоводства, характеризующийся тем, что средство для доставки лекарственного вещества пролонгированного высвобождения добавляется к корму, отличающийся тем, что лекарственные средства смешиваются с кормом, при этом носителями лекарственных средств являются «наногубки», которые предварительно заполняют
15 левофлоксацином, причем для лечебных и профилактических целей применяются производные комплексов хитозан- β -циклодекстрин и силикагель- β -циклодекстрин, при этом полученные частицы покрывают пленкой высокомолекулярного хитозана 160 кДа и фиксируют на геле, а введение комплексов в корм производят путем интенсивного перемешивания в течение 4-5 минут, причем количество левофлоксацина в производных
20 комплексов хитозан- β -циклодекстрин определяют из расчета в количестве для лечения 4,1 мг на 1 кг массы рыбы в течение 5 суток, для профилактических целей 0,96 мг на 1 кг массы рыбы в течение 10 суток; а в производных комплексов силикагель- β -циклодекстрин - для лечения 0,99 мг на 1 кг массы рыбы в течение 5 суток и для профилактических целей 0,35 мг на 1 кг массы рыбы в течение 10 суток.

25

30

35

40

45

1

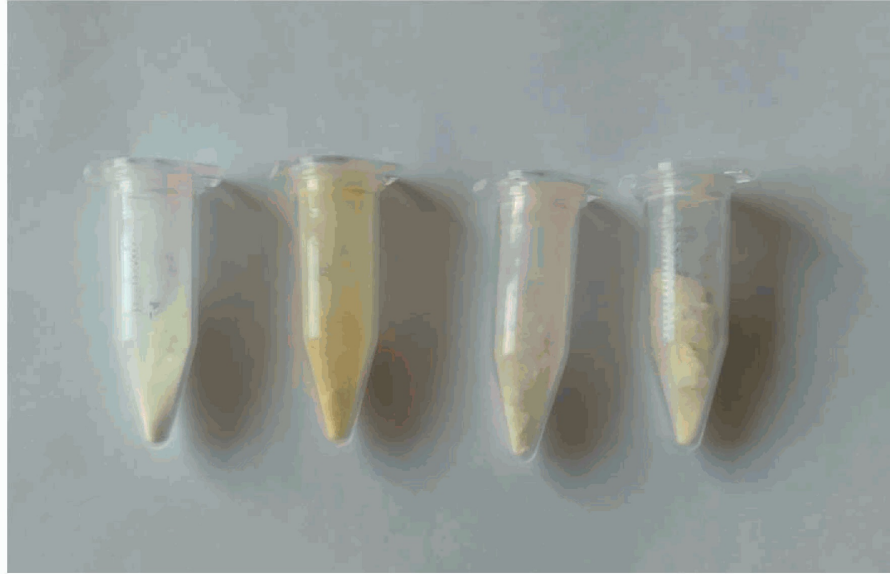


Фиг. 1

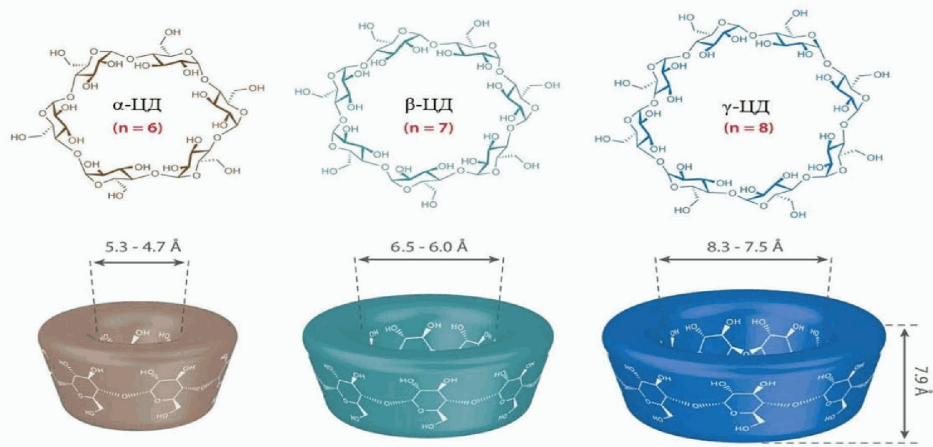


Фиг. 2

2



Фиг. 3



Фиг. 4

Таблица 1

Группа	Состояние рыбы	Тип кормления
контрольная	не повреждена	Основной рацион (ОР)
1-опытная	повреждена и получает лечение	ОР + комплекс хитозан-β-циклодекстрин с 23 % левофлоксацина
2-опытная	не повреждена, профилактика	ОР + комплекс хитозан-β-циклодекстрин – эвгенол с 15 % левофлоксацина
3-опытная	повреждена, лечение не получает	Основной рацион (ОР)

Таблица 2

Группа	Состояние рыбы	Тип кормления
контрольная	не повреждена	Основной рацион (ОР)
1-опытная	повреждена и получает лечение	ОР + комплекс силикагель-хитозан β-циклодекстрин с 16 % левофлоксацина
2-опытная	не повреждена, профилактика	ОР + комплекс силикагель-β-циклодекстрин с 5 % левофлоксацина
3-опытная	повреждена, лечение не получает	Основной рацион (ОР)

Таблица 3

Показатель	Группа			
	контроль	1-опытная	2-опытная	3-опытная
Затраты комбикорма на 1 кг прироста, кг	1,11	2,15	1,08	2,36
Затраты обменной энергии на 1 кг прироста, МДж	25,49	49,46	24,73	54,31
Затраты сырого протеина на 1 кг прироста, г	509,87	989,23	494,62	1086,21

Таблица 4

Показатель	Группа			
	контроль	1-опытная	2-опытная	3-опытная
Затраты комбикорма на 1 кг прироста, кг	0,71	0,77	0,70	6,56
Затраты обменной энергии на 1 кг прироста, МДж	12,70	13,94	12,65	118,01
Затраты сырого протеина на 1 кг прироста, г	30,34	33,31	30,23	281,92

Таблица 5

Группа	Сутки		
	1	6	11
	Общее микробное число, КОЕ/г		
1 – опытная	$3,0 \cdot 10^5 \pm 1,5$	$1,0 \cdot 10^4 \pm 0,6$ ■	$1,0 \cdot 10^2 \pm 0,7$ *●■
3 – опытная	$4,0 \cdot 10^5 \pm 0,4$	$1,7 \cdot 10^5 \pm 0,7$	$1,0 \cdot 10^6 \pm 0,2$ *●

Примечание: $p \leq 0,05$: * относительно значения 1 суток в своей же группе; ● относительно значения 6 суток в своей же группе (для 11 суток); ■ относительно значения в 3 опытной группе (без лечения) в эти же сутки.

Таблица 6

Показатель	Группы по 1 этапу		Группы по 2 этапу	
	1- опытная	2 -опытная	1- опытная	2- опытная
Масса всей рыбы в конце опыта, г	1233,0	1380,0	5428,6	5585,0
Стоимость 1 кг корма, руб.	170	170	198	198
Стоимость 1 г комплекса хитозан-β-циклодекстрин, руб.	98,4	98,4	-	-
Стоимость 1 г комплекса силикагель-хитозан β-циклодекстрин, руб.	-	-	86,1	86,1
Затраты корма, г	285,8	301,1	1075,6	1086,1
Затраты комплекса хитозан-β-циклодекстрин, мг	110	82	-	-
Затраты комплекса силикагель-хитозан β-циклодекстрин, мг	-	-	150	326
Затраты, руб.:				
корм	48,59	51,19	213,0	215,0
комплекс хитозан-β циклодекстрин	10,82	8,07	-	-
комплекс силикагель-хитозан β-циклодекстрин	-	-	12,92	28,07
оплата труда	850	850	850	850
вода	20	20	20	20
электроэнергия	111	111	111	111
рыбопосадочный материал	1200	1200	1200	1200
прочие	120	120	120	120
Итого затрат	2360,41	2360,26	2526,92	2544,07
Затраты на 1 кг живой массы рыб, руб.	1914,36	1710,33	465,48	455,52