

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **024936**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- (45) Дата публикации и выдачи патента
2016.11.30
- (21) Номер заявки
201400370
- (22) Дата подачи заявки
2012.11.08
- (51) Int. Cl. *A61K 39/385* (2006.01)
A61K 38/31 (2006.01)
A61K 9/42 (2006.01)
A61P 15/08 (2006.01)

(54) **ПРЕПАРАТ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ СПЕРМОПРОДУКЦИИ У ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И ПЕТУХОВ И СПОСОБ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ**

- (31) **2012123606**
- (32) **2012.06.07**
- (33) **RU**
- (43) **2014.06.30**
- (86) **PCT/RU2012/000912**
- (87) **WO 2013/184024 2013.12.12**
- (71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЮДИН СЕРГЕЙ МИХАЙЛОВИЧ
(RU)**
- (72) Изобретатель:
**Юдин Сергей Михайлович, Юдин
Владимир Сергеевич, Советкин
Станислав Васильевич, Ескин
Геннадий Владимирович, Лунин
Владимир Глебович (RU)**
- (74) Представитель:
Чикин И.А. (RU)
- (56) RU-C1-2034457
RU-C2-2192281
Технология лекарственных форм, М.,
"Медицина", 1991, том 1, с. 42

- (57) Изобретение относится к ветеринарии. Задача изобретения заключается в использовании химерного соматостатинсодержащего белка для повышения спермопродукции у производителей сельскохозяйственных животных и петухов в виде препарата для инъекций с низкой реактогенностью адьюванта, позволяющего осуществлять инъекции без болезненных ощущений производителям сельскохозяйственных животных и петухам. Препарат для повышения спермопродукции у производителей сельскохозяйственных животных и петухов в виде суспензии химерного белка с водонерастворимой ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8, и соматостатином-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKTFTSC в рафинированном растительном масле с добавлением пчелиного воска. Способ повышения спермопродукции у производителей сельскохозяйственных животных и петухов предусматривает двукратную подкожную инъекцию с интервалом в 14 суток препарата в виде суспензии химерного белка с водонерастворимой ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8, и соматостатином-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKTFTSC в рафинированном растительном масле с добавлением пчелиного воска петухам или сельскохозяйственным животным по достижении физиологической зрелости из расчета 50-200 мкг белка на 1 кг массы тела.
-

024936
B1

024936
B1

Область применения

Изобретение относится к ветеринарии, а конкретно к препарату для повышения спермопродукции у производителей сельскохозяйственных животных и петухов и способу его применения. Изобретение предназначено для повышения репродуктивной способности производителей сельскохозяйственных животных и петухов с целью их более эффективного использования за счет повышения объема эякулята при значительном снижении брака спермы по биологическим показателям (подвижность сперматозоидов, количество живых сперматозоидов и их морфологическая полноценность), что в итоге повышает рентабельность искусственного осеменения животных.

Известный уровень

Современная ветеринарная наука решает проблему повышения репродуктивных способностей производителей сельскохозяйственных животных и птицы, применяя биологически активные препараты - витамины, макроэлементы, растительные препараты, а также используя физиологические методы - дозированный прямой контакт самцов-производителей с половозрелыми самками животных в состоянии охоты.

Химические препараты дорогостоящие и не всегда гарантируют положительный эффект. Из данных литературы известен стимулирующий и адаптогенный эффект экстрактов родиолы розовой. При скормлинии хрякам-производителям в течение 60 дней препарата из высушенных корней родиолы розовой авторы (А.Г. Нарижный, А.Ч. Джамалдинов, Ветеринария, № 10, 2003) обнаружили повышение объема эякулята на 7,9-13,8%, с сохранением на контрольном уровне концентрации сперматозоидов. По окончании подкормки биологические показатели спермы возвращались к первоначальному уровню.

Стимулирующим эффектом на спермопродукцию быков-производителей оказывает препарат на основе инактивированной биомассы галобактерий *Halobacterium halobium*, содержащий аминокислоты, липиды, водо- и жирорастворимые витамины (Г.В. Ескин, Н.А. Комбарова, Р.А. Корнилин, Проблемы биологии продуктивных животных № 4, 2011). При скормлинии быкам-производителям препарата на основе галобактерий ("Баксин-вет") авторы отмечали сокращение количества выбракованных эякулятов, улучшение качества нативного семени, повышение выживаемости криоконсервированной спермы после оттаивания в течение 5 ч вне организма при температуре 37°C. Эффект сохранялся в течение 30 суток после окончания скормливания препарата, в последующем показатели спермопродукции возвращались на уровень предварительного периода.

В исследованиях С. Околышева, Н. Карпова, Р. Корнилина показано стимулирующее влияние препарата "Баксин-вет" на продуктивные характеристики хряков-производителей. Ежедневное применение хрякам-производителям препарата "Баксин-вет" в течение трех недель в дозе 5 и 10 мг на 1 кг живой массы при содержании хряков даже на хозяйственном рационе приводило к увеличению объема эякулята и количества сперматозоидов в сперме (С. Околышев, Н. Карпова, Р. Корнилин. "Влияние препарата "Баксин-вет" на спермопродукцию хряков и многоплодие свиноматок в условиях интенсивного производства свинины", "Свиноводство", № 2, 2009).

В работе З.П. Комовой "Повышение воспроизводительной функции хряков с использованием биологически активных веществ" (диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук, ВНИИЖ, Дубровицы, 2001 г.) показано, что подкормка хряков-производителей биологически активными препаратами "СГОЛ" и "Стимульгин" оказывает положительное влияние на проявление рефлексов совокупления и эрекции у производителей, повышает объем эякулята и содержание спермиев в эякуляте.

В исследованиях С.А. Холева установлено положительное влияние селеносодержащего препарата "Деполен" для коррекции воспроизводительной функции быков-производителей ("Применение селеносодержащего препарата "Деполен" для коррекции воспроизводительной функции быков-производителей", Воронеж, 2000).

В исследованиях, представленных в международной заявке WO 03/064619 (WO 03/064619 A2, МПК А61К 38/00, 2006), повышение сперматогенеза обеспечивается за счет активации фактора VEGF, индуцирующего увеличение васкуляризации ткани половых желез.

Иной метод увеличения спермопродукции производителей сельскохозяйственных животных и птицы основан на повышении концентрации в организме эндогенного соматотропина за счет индукции синтеза аутосоматостатиновых антител. Это приводит к снижению концентрации эндогенного соматостатина и повышению содержания соматотропина, что, в свою очередь, оказывает стимулирующее влияние на рост и пролиферацию клеток половых желез животных.

Соматостатин - биологически активный тетрадекапептид, вырабатываемый в гипоталамусе и желудочно-кишечном тракте животных. Впервые биологическая активность вещества, впоследствии определенная как соматостатиновая, была обнаружена в 1968 году Крюликом. В последующем, из гипоталамуса животных было выделено вещество, представляющее собой низкомолекулярный пептид, обладающий способностью регулировать концентрацию гормона роста в организме животных.

Соматостатин-14 оказывает сильное ингибирующее действие на ряд гормонов (соматотропин, тиреотропный гормон (ТТГ), инсулин, глюкагон, гастрин, пепсин), инициирует угнетение секреции желудочных ферментов, поджелудочной железы, тонкого отдела кишечника, замедление моторики желудочно-кишечного тракта и эвакуации его содержимого.

Изучение аминокислотного состава соматостатина у различных представителей животного царства показало достаточную степень гомологии пептидов, синтезируемых живыми организмами, находящимися на различных ступенях эволюционного развития. Аминокислотная последовательность соматостатина-14 идентична у живых организмов - от рыб до млекопитающих.

Широкий спектр физиологического действия соматостатина-14 и отсутствие, в отличие от гормона роста, видовой специфичности для млекопитающих явились основанием для изучения возможности его использования с целью оптимизации выращивания и откорма, повышения молочной продуктивности животных.

В США, Канаде, Великобритании более тридцати лет назад были выполнены отдельные работы по активной иммунизации животных (крупный рогатый скот, овцы, свиньи) против соматостатина-14 (Spenser et al.). Авторы исследований отмечают, что по динамике увеличения массы тела в одинаковых условиях содержания иммунизированные животные превосходили контрольных особей на 20-30%, при этом в крови обнаруживалось повышенное содержание эндогенного соматотропного гормона. В процессе исследований было обнаружено сокращение сроков откорма, повышение надоев молока и, как следствие этого, снижение непродуцируемых расходов на единицу получаемой животноводческой продукции. В дальнейшем были проведены эксперименты с разными видами животных. Изучали влияние пассивной и активной иммунизации на уровень гормонов, динамику увеличения массы тела животных и другие параметры. Введение антисоматостатиновой сыворотки крысам приводило к повышению концентрации эндогенного гормона роста, пассивная антисоматостатиновая иммунизация овец обуславливала увеличение времени нахождения пищи в желудочно-кишечном тракте, повышение активности желудочных ферментов. Активная иммунизация животных белками, полученными в результате химического связывания синтетического соматостатина с белками-носителями, приводила к повышению уровней концентрации гормона роста, инсулинового ростового фактора, гастринина и других функционально связанных с соматостатином биологически активных соединений. Результатом активной антисоматостатиновой иммунизации являлось увеличение массы тела животных на 8-17%.

Метод соматостатиновой иммунокоррекции лишен многих недостатков, возникающих при использовании анаболических гормонов или рекомбинантного соматотропина. Механизм действия основан на временном связывании эндогенного соматостатина-14 специфическими антителами и возрастании концентрации эндогенного соматотропного гормона в физиологических пределах. Однако широкое применение метода активной иммунизации животных против эндогенного соматостатина-14 длительное время было невозможно, вследствие его высокой стоимости, поскольку основным путем получения пептида являлся химический синтез, что экономически не позволяло реализовать данный подход на практике. Поскольку небольшие размеры соматостатина-14 не позволяют его прямой микробный синтез с помощью технологии рекомбинантной ДНК, описано несколько способов его синтеза в форме химерных белков с последующим выделением целевого продукта, не давших удовлетворительных результатов. Основным недостатком упомянутых методов является крайне низкая иммуногенность полученных препаратов в отношении соматостатина, обусловленная его маскированием в молекуле химерного белка, вследствие чего данные методы получения химерных белков не нашли широкого практического использования (Itakura R. et al., 1977, Expression in E.coli of a chemically synthesized gene of hormone somatostatin, Science, 1986, 1056-1063; Шишкина А.А. и др. Синтез фрагмента генов соматостатина. Химия природных соединений, 1988, № 6, с. 614-615).

Известен способ конструирования химерных соматостатинсодержащих белков с применением аминокислотного спейсера, содержащего аргинин и пролин, обуславливающего локализацию соматостатина на поверхности белка-носителя и, тем самым, высокую иммуногенность препарата (RU 2031121 С1, МПК С12N 15/12, 1995). Конструкция состоит из водонерастворимого белка-носителя (фрагмента бактериальной хлорамфениколацетилтрансферазы без 10 С-концевых аминокислот), тетрамерного спейсера и С-концевого соматостатина-14. Молекулярный вес химерного белка составляет 28 кДа. Данный химерный белок экспрессируется штаммом кишечной палочки В-6519, трансформированным плазмидой рС(Sp)4 S. Штамм депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) под номером В-6519. Химерный белок с экспонированным соматостатином представляет собой водонерастворимую ферментативно неактивную хлорамфениколацетилтрансферазу без 10 С-концевых аминокислотных остатков, к которой через спейсерную последовательность присоединена аминокислотная последовательность соматостатина-14. Метод антисоматостатиновой иммунизации животных с использованием указанного химерного соматостатинсодержащего белка используется в промышленном животноводстве (RU 2034457 С1, МПК А01К 67/02, 1995).

Известно, когда для приготовления готовой лекарственной формы препарата для повышения продуктивности сельскохозяйственных животных, содержащего эффективное количество химерного белка с водонерастворимой ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8 и последовательностью соматостатина-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKFTFTSC использовали в качестве адьюванта неполный адьювант Фрейнда (RU 2034457 С1, МПК А01К 67/02, 1995). Однако высокая реактогенность адьюванта, наличие болезненных ощущений у животных при его введении привели к необхо-

димости поиска других адъювантных систем.

Известно использование препарата, содержащего эффективное количество химерного белка с водонерастворимой ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8 и последовательностью соматостатина-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKTFTSC в липосомальной форме (RU 2337708 С1, МПК А61К 39/385, 2006) в данном случае неприемлемо вследствие незначительной концентрации действующего вещества в удельном объеме ($<1 \cdot 10^{-3}$ г/мл). Для животного массой тела более 500 кг потребовалось бы введение около двадцати миллилитров препарата, что является на практике весьма проблематичным обстоятельством.

Сущность изобретения

Задача изобретения заключается в использовании химерного соматостатинсодержащего белка для повышения спермопродукции у производителей сельскохозяйственных животных и петухов в виде препарата для инъекций с низкой реактогенностью адъюванта, позволяющего осуществлять инъекции без болезненных ощущений производителям сельскохозяйственных животных и петухам.

Решение этой задачи обеспечивает препарат для повышения спермопродукции у производителей сельскохозяйственных животных и петухов в виде суспензии химерного белка с водонерастворимой ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8, и соматостатином-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKTFTSC в рафинированном растительном масле с добавлением пчелиного воска.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения препарат содержит химерный белок с водонерастворимой ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1,2,4,8 и соматостатином-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKTFTSC из расчета 250-1000 мг указанного химерного белка на 100 мл рафинированного растительного масла, включающего 0,9-1,1 мас.% пчелиного воска.

Использование в качестве адъюванта для такого рода препарата растительного масла, полностью метаболизирующегося в организме животного, позволяет в значительной степени снизить уровень реактогенности адъюванта и создает необходимые условия для постепенного поступления действующего вещества в организм животного ("депо" препарата). Могут использоваться подсолнечное, хлопковое и арахисовое масла. Механизм действия препарата основан на временном блокировании активности эндогенного соматостатина сельскохозяйственных животных и петухов, повышении концентрации соматотропного гормона и усилении активности сперматогенеза. Наличие пчелиного воска в конечной прописи препарата обосновано необходимостью достижения равномерности распределения химерного белка в объеме масла, снижения скорости седиментации химерного белка, что особенно важно при проведении инъекций животным с помощью шприцев-автоматов.

Способ повышения спермопродукции у производителей сельскохозяйственных животных и петухов предусматривает двукратную подкожную инъекцию с интервалом в 14 суток препарата в виде суспензии химерного белка с водонерастворимой ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8, и соматостатином-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKTFTSC в рафинированном растительном масле с добавлением пчелиного воска петухам или сельскохозяйственным животным по достижении физиологической зрелости из расчета 50-200 мкг белка на 1 кг живой массы тела.

В предпочтительном варианте осуществления используют препарат в виде суспензии химерного белка с водонерастворимой ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8, и соматостатином-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKTFTSC в количестве из расчета 250-1000мг указанного химерного белка на 100 мл рафинированного растительного масла, включающего 0,9-1,1 мас.% пчелиного воска.

Осуществление изобретения и эффективность препарата

Возможность осуществления изобретения поясняется примером получения препарата для повышения сперматогенеза у производителей сельскохозяйственных животных и петухов.

Полученный и очищенный от примесей препарат белка растворяют в буфере 0,2 М трис-НСl рН 8,0, содержащем 6 М гуанидинхлорид и 2 М МЭДТА. Добавляют 50-кратный молярный избыток р-меркаптоэтанола в расчете на количество S-S групп химерного белка и раствор быстро разбавляют 10-кратным объемом буфера без гуанидинхлорида. Образовавшийся преципитат гибридного белка отделяют центрифугированием в течение 15 мин при 12000 g и температуре 4°C и лиофильно высушивают для последующего хранения или приготовления масляной суспензии.

Для приготовления готовой формы препарата используют рафинированное растительное масло и пчелиный воск. В растительное масло добавляют пчелиный воск из расчета 0,9%. Масло нагревают до температуры 45-50°C, перемешивая, достигают полного растворения воска. Затем масло с воском охлаждают до температуры 35-37°C и добавляют навеску сухого белка из расчета 250 мг на 100 мл адъюванта. Суспензию гомогенизируют в течение 1-2 мин и передают на разливочное оборудование. Готовую эмульсию препарата расфасовывают в тару (флаконы стеклянные и шприцы одноразовые). При иной

концентрации компонентов препарат приготавливается аналогично. Предпочтительными являются следующие содержания компонентов на 100 мл рафинированного растительного масла: 250 мг химерного белка - 0,9 мас.% пчелиного воска; 500 мг химерного белка - 1,0 мас.% пчелиного воска; 1000 мг химерного белка - 1,1 мас.% пчелиного воска.

Эффективность применения препарата для повышения сперматогенеза у производителей сельскохозяйственных животных и петухов, находящихся в стадии физиологической зрелости, иллюстрируется следующими примерами.

В условиях промышленного свиноводческого комплекса хрякам-производителям крупной белой породы и породы дюрок был введен препарата двукратно с интервалом 14 суток из расчета 50-200 мкг рекомбинантного белка на 1 кг живой массы тела.

У хряков-производителей до и после применения препарата установленным порядком осуществляли взятие спермы и определяли объем эякулята, концентрацию сперматозоидов в эякуляте и количество сперматозоидов. Показатели спермопродукции хряков при применении препарата в дозе 50 мкг на 1 кг живой массы тела приведены в табл. 1.

Таблица 1

Показатели качества спермы	До обработки	До обработки, %	Через 30 дней после второй обработки	В % к исходному	Через 60 дней после второй обработки	В % к исходному	Через 90 дней после второй обработки	В % к исходному
	Хряки крупной белой породы							
Объем эякулята, мл	212,2±7,8	100	262,3±19,1	123,6	266,0±19,3	125,4	249,7±15,1	117,7
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	285,2±14,7	100	319,8±18,3	112,1	325,5±19,2	114,1	313,3±18,4	109,9
Количество полученных сперматозоидов от одного животного	16,2±1,1	100	22,4±1,9	138,3	23,1±1,7	142,6	20,9±1,6	129,0
Хряки породы дюрок								
Объем эякулята, мл	172,0±14,9	100	205,1±10,3	119,2	217,3±12,5	126,3	226,5±11,8	131,7
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	292,0±14,7	100	310,5±16,8	106,3	321,2±17,7	110,0	279,8±15,6	95,6
Количество полученных сперматозоидов от одного животного	13,4±1,1	100	17,0±1,4	126,9	18,6±1,2	138,8	16,9±0,9	126,1

Препарат оказал положительное влияние на спермопродукцию хряков.

После первой инъекции препарата животным крупной белой породы объем эякулята хряков увеличился на 5,8-13,8%, через 30-60 дней после второй инъекции объем эякулята вырос на 23,6-25,4%, так же повысилась концентрация сперматозоидов в эякуляте на 12,1-14,1%, что повлияло на увеличение количества полученных сперматозоидов на 38,3-42,6%. Близкие показатели спермопродукции были обнаружены при применении препарата и у хряков породы дюрок.

Показатели спермопродукции хряков при применении препарата в дозе 100 мкг на 1 кг живой массы тела приведены в табл. 2.

Таблица 2

Показатели качества спермы	Хряки крупной белой породы							
	До обработки	До обработки, %	Через 30 дней после второй обработки	В % к исходному	Через 60 дней после второй обработки	В % к исходному	Через 90 дней после второй обработки	В % к исходному
Объём эякулята, мл	218,1±6,3	100	259,4±18,2	118,9	254,3±20,1	116,6	247,3±14,2	113,4
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	279,4±15,2	100	313,4±19,5	112,2	318,1±18,4	113,8	305,3±14,2	109,3
Количество полученных сперматозоидов от одного животного	15,8±1,1	100	21,3±1,7	134,8	21,9±1,5	138,6	19,9±1,5	125,9
Хряки породы дюрок								
Объём эякулята, мл	178,1±13,8	100	202,3±8,5	113,6	215,2±14,3	120,8	221,5±13,9	124,4
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	289,0±13,5	100	308,8±14,7	106,9	322,1±18,5	111,5	292,1±14,1	101,0
Количество полученных сперматозоидов от одного животного	13,1±0,9	100	16,7±1,2	127,4	17,7±1,5	135,1	15,7±1,8	119,8

Препарат в дозе 100 мкг на 1 кг живой массы тела также оказал положительное влияние на спермопродукцию хряков. Через 30-60 дней после второй инъекции препарата объём эякулята хряков увеличился на 18,9-16,6%, так же повысилась концентрация сперматозоидов в эякуляте на 12,2-13,8%, что повлияло на увеличение количества полученных сперматозоидов на 34,8-38,6%. Близкие показатели спермопродукции при применении препарата были обнаружены и у хряков породы дюрок.

Показатели спермопродукции хряков при применении препарата в дозе 200 мкг на 1 кг живой массы тела приведены в табл. 3.

Препарат в дозе 200 мкг на 1 кг живой массы тела также оказал положительное влияние на спермопродукцию хряков. Через 30-60 дней после второй инъекции препарата объём эякулята хряков увеличился на 16,5-15,9%, так же повысилась концентрация сперматозоидов в эякуляте на 11,1-12,9%, что повлияло на увеличение количества полученных сперматозоидов на 29,1-37,1%. Близкие показатели спермопродукции при применении препарата были обнаружены и у хряков породы дюрок.

Таблица 3

Показатели качества спермы	Хряки крупной белой породы							
	До обработки	До обработки, %	Через 30 дней после второй обработки	В % к исходному	Через 60 дней после второй обработки	В % к исходному	Через 90 дней после второй обработки	В % к исходному
Объём эякулята, мл	209,1±6,3	100	243,6±17,4	116,5	242,3±19,1	115,9	230,0±13,2	109,9
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	282,4±18,4	100	313,8±16,5	111,1	318,8±17,6	112,9	298,8±11,1	105,8
Количество полученных сперматозоидов от одного животного	15,1±1,4	100	19,5±1,3	129,1	20,7±1,8	137,1	18,7±1,6	123,8
Хряки породы дюрок								
Объём эякулята, мл	178,1±13,8	100	202,3±8,5	113,6	215,2±14,3	120,8	221,5±13,9	124,4
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	289,0±13,5	100	308,8±14,7	106,9	322,1±18,5	111,5	292,1±14,1	101,0
Количество полученных сперматозоидов от одного животного	13,1±0,9	100	16,7±1,2	127,4	17,7±1,5	135,1	15,7±1,8	119,8

Изучение влияния препарата на спермопродукцию быков производителей проводили в организациях по искусственному осеменению сельскохозяйственных животных. Масляную суспензию препарата животным вводили подкожно в дозе 50-200 мкг белка на 1 кг массы тела двукратно с интервалом 14 суток между инъекциями.

У быков-производителей до и после применения препарата установленным порядком осуществляли взятие спермы и определяли объём эякулята, концентрацию сперматозоидов в эякуляте, количество полученных сперматозоидов и процент брака спермы по биологическим показателям качества спермы (количество сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением, выживаемость).

Показатели спермопродукции быков-производителей при применении препарата в дозах 50, 100 и 200 мкг на 1 кг живой массы тела приведены в табл. 4-6.

Результаты экспериментов свидетельствуют о стимуляции спермопродукции у быков-производителей в результате применения препарата.

Так, объём эякулята, взятый у быков голштинской породы через 90 суток после первой инъекции препарата в дозе 50 мкг на 1 кг живой массы тела (табл. 4), увеличился на 28,7%, у производителей айрширской породы этот показатель возрос на 22,2%.

В течение контролируемого периода улучшились качественные показатели взятой спермы (активность сперматозоидов, их выживаемость через 5 ч).

Итогом применения препарата на быках-производителях в дозе 50 мкг на 1 кг живой массы тела является увеличение количества полученных сперматозоидов на 23,4-34,7% и снижение процента брака спермы по биологическим показателям.

Анализ показателей спермопродукции быков-производителей после применения препарата в дозе 100 мкг на 1 кг живой массы тела (табл. 5) свидетельствует о положительном влиянии препарата на контролируемые показатели. Так, объём эякулята, взятый у быков голштинской породы через 90 суток после первой инъекции препарата в дозе 100 мкг на 1 кг живой массы тела, увеличился на 27,8%, у производителей айрширской породы этот показатель возрос на 20,7%.

Таблица 4

Показатели качества спермы	До введения препарата (исходные)	После введения препарата, через...		
		30 суток	60 суток	90 суток
Голштинская порода				
Средний объем эякулята, мл	3,90 ±0,15	4,23±0,10	4,37±0,12	5,02±0,11
Подвижность сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением, баллы	7,02±0,02	7,0±0,02	7,0±0,02	7,0±0,02
Концентрация сперматозоидов, млрд/мл	1,23±0,09	1,20±0,06	1,18±0,05	1,18±0,05
Активность сперматозоидов, баллы	3,31±0,25	3,82±0,18	3,90±0,16	3,95±0,16
Подвижность сперматозоидов, через 5 часов после инкубации при 37°C, баллы	1,46±0,23	1,52±0,22	1,59±0,20	1,59±0,20
Брак спермы по биологическим показателям, %	51,2±5,6	39,7±4,9	35,7±2,2	35,8±2,1
Количество полученных спермодоз от одного животного	726±35	959±26	978±15	978±15
Айрширская порода				
Средний объем эякулята, мл	4,19±0,17	4,61±0,14	4,88±0,12	5,12±0,13
Подвижность сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением, баллы	7,01±0,03	7,0±0,02	7,0±0,02	7,05±0,04
Концентрация сперматозоидов, млрд/мл	1,40±0,10	1,36±0,07	1,32±0,09	1,29±0,06
Активность сперматозоидов, баллы	3,77±0,32	3,47±0,28	3,89±0,21	4,19±0,23
Подвижность сперматозоидов через 5 часов после инкубации при 37°C, баллы	0,80±0,18	1,12±0,19	1,12±0,22	1,11±0,17
Брак спермы по биологическим показателям, %	28,6±8,5	31,0±6,2	26,5±5,3	24,5±5,0
Количество полученных спермодоз от одного животного	1416±42	1520±37	1675±28	1747±28

В течение контролируемого периода улучшились качественные показатели взятой спермы (активность сперматозоидов, их выживаемость через 5 ч).

Итогом применения на быках-производителях препарата в дозе 100 мкг на 1 кг живой массы тела является увеличение количества полученных спермодоз на 22,1-34,5% и снижение процента брака спермы по биологическим показателям.

Анализ показателей спермопродукции быков-производителей после применения препарата в дозе 200 мкг на 1 кг живой массы тела (табл. 6) свидетельствует о положительном влиянии препарата на контролируемые показатели. Так, объем эякулята, взятый у быков голштинской породы через 90 суток после первой инъекции препарата в дозе 200 мкг на 1 кг живой массы тела, увеличился на 24,5%, у производителей айрширской породы этот показатель возрос на 19,6%.

Таблица 5

Показатели качества спермы	До введения препарата (исходные)	После введения препарата, через...		
		30 суток	60 суток	90 суток
Голштинская порода				
Средний объем эякулята, мл	3,85 ±0,12	4,18±0,13	4,22±0,15	4,92±0,10
Подвижность сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением, баллы	7,02±0,02	7,0±0,02	7,0±0,02	7,0±0,02
Концентрация сперматозоидов, млрд/мл	1,22±0,08	1,18±0,04	1,16±0,05	1,17±0,03
Активность сперматозоидов, баллы	3,36±0,25	3,82±0,18	3,88±0,14	3,93±0,18
Подвижность сперматозоидов, через 5 часов после инкубации при 37°C, баллы	1,42±0,23	1,48±0,24	1,54±0,21	1,56±0,18
Брак спермы по биологическим показателям, %	49,3±4,9	38,7±4,6	34,7±2,1	34,8±2,5
Кол-во полученных спермодоз от одного животного	722±32	941±28	968±15	971±15
Айрширская порода				
Средний объем эякулята, мл	4,16±0,15	4,55±0,14	4,78±0,11	5,02±0,15
Подвижность сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением, баллы	7,02±0,02	7,0±0,02	7,0±0,02	7,06±0,05
Концентрация сперматозоидов, млрд/мл	1,38±0,11	1,33±0,08	1,30±0,10	1,30±0,07
Активность сперматозоидов, баллы	3,76±0,31	3,44±0,25	3,82±0,20	4,11±0,25
Подвижность сперматозоидов через 5 часов после инкубации при 37°C, баллы	0,81±0,17	1,10±0,15	1,11±0,23	1,10±0,15
Брак спермы по биологическим показателям, %	29,8±6,5	31,5±5,2	27,5±4,2	25,5±5,2
Кол-во полученных спермодоз от одного животного	1408±38	1505±32	1637±24	1719±21

В течение контролируемого периода улучшились качественные показатели взятой спермы (активность сперматозоидов, их выживаемость через 5 ч).

Итогом применения на быках-производителях препарата в дозе 200 мкг на 1 кг живой массы тела является увеличение количества полученных спермодоз на 20,5-34,6% и снижение процента брака спермы по биологическим показателям.

Таблица 6

Показатели качества спермы	До введения препарата (исходные)	После введения препарата, через...		
		30 суток	60 суток	90 суток
Голштинская порода				
Средний объем эякулята, мл	3,92 ±0,11	4,19±0,12	4,20±0,15	4,88±0,11
Подвижность сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением, баллы	7,02±0,02	7,0±0,02	7,0±0,02	7,0±0,02
Концентрация сперматозоидов, млрд/мл	1,21±0,07	1,16±0,03	1,14±0,04	1,16±0,03
Активность сперматозоидов, баллы	3,34±0,23	3,81±0,19	3,885±0,14	3,90±0,18
Подвижность сперматозоидов, через 5 часов после инкубации при 37°C, баллы	1,43±0,22	1,49±0,22	1,53±0,20	1,52±0,16
Брак спермы по биологическим показателям, %	45,3±4,2	36,7±4,4	33,7±2,1	35,8±2,5
Кол-во полученных спермодоз от одного животного	719±31	938±26	962±14	968±15
Айрширская порода				
Средний объем эякулята, мл	4,17±0,15	4,58±0,12	4,77±0,11	4,99±0,14
Подвижность сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением, баллы	7,01±0,02	7,0±0,02	7,0±0,02	7,04±0,03
Концентрация сперматозоидов, млрд/мл	1,34±0,10	1,31±0,07	1,30±0,12	1,32±0,06
Активность сперматозоидов, баллы	3,66±0,28	3,54±0,23	3,80±0,17	4,08±0,22
Подвижность сперматозоидов через 5 часов после инкубации при 37°C, баллы	0,84±0,16	1,09±0,13	1,12±0,19	1,12±0,15
Брак спермы по биологическим показателям, %	28,7±6,5	30,5±4,6	26,9±4,3	25,8±4,2
Кол-во полученных спермодоз от одного животного	1395±33	1487±28	1617±18	1682±20

Аналогичные эксперименты были проведены на баранах вятской (нолинской) породы.

Масляную суспензию препарата животным вводили подкожно в дозе 50-200 мкг белка на 1 кг массы тела двукратно с интервалом 14 суток между инъекциями (табл. 7-9).

У баранов-производителей до и после применения препарата установленным порядком осуществляли взятие спермы и определяли объем эякулята, концентрацию сперматозоидов в эякуляте и количество полученных спермодоз.

Показатели спермопродукции баранов-производителей при применении препарата в дозе 50 мкг на 1 кг живой массы показаны в табл. 7.

Таблица 7

Показатели качества спермы	До введения препарата (исходные)	После введения препарата, через		
		30 суток	60 суток	90 суток
Средний объем эякулята, мл	2,05±0,03	2,22±0,02	2,31 ±0,03	2,42±0,04
Средняя подвижность сперматозоидов, баллы	8,0±0,01	8,0±0,01	8,0±0,01	8,0±0,01
Концентрация сперматозоидов, млрд/мл	2,2±0,05	2,17±0,04	2,15±0,02	2,16±0,06
Выживаемость сперматозоидов, часы	259±6,0	282±10,0	293±8,0	305±6,0
Брак спермы по биологическим показателям, %	28,6±8,5	24,5±6,8	22,6±5,5	20,9±5,2
Кол-во полученных спермодоз от одного животного	32±3,0	36±2,8	38±3,2	41±2,1

Результаты представленных в табл. 7 экспериментов свидетельствуют о стимуляции спермопродукции у баранов-производителей в результате применения препарата. Так, объем эякулята, взятый у баранов через 90 суток после первой инъекции, увеличился на 18,0%. В течение контролируемого периода улучшились качественные показатели взятой спермы (подвижность, выживаемость сперматозоидов). Итогом применения препарата на баранах-производителях является увеличение количества полученных спермодоз от одного животного на 28,1% и снижение процента брака спермы по биологическим показателям.

В табл. 8 приведены показатели спермопродукции баранов-производителей при применении препарата в дозе 100 мкг на 1 кг живой массы тела.

Таблица 8

Показатели качества спермы	До введения препарата (исходные)	После введения препарата, через		
		30 суток	60 суток	90 суток
Средний объем эякулята, мл	2,10 ±0,04	2,24±0,05	2,29 ±0,02	2,38±0,04
Средняя подвижность сперматозоидов, баллы	8,0±0,01	8,0±0,01	8,0±0,01	8,0±0,01
Концентрация сперматозоидов, млрд/мл	2,2 ±0,06	2,15±0,05	2,13±0,06	2,15±0,04
Выживаемость сперматозоидов, часы	256±5,0	278±10,0	289±6,0	292±4,0
Брак спермы по биологическим показателям, %	27,7±6,5	24,8±5,2	22,4±4,8	20,4±6,2
Кол-во полученных спермодоз от одного животного	30±2,0	34±2,2	36±2,8	38±3,1

Результаты представленных в табл. 8 экспериментов свидетельствуют о стимуляции спермопродукции у баранов-производителей в результате применения препарата в дозе 100 мкг на 1 кг живой массы тела. Так, объем эякулята, взятый у баранов через 90 суток после первой инъекции, увеличился на 13,3%. В течение контролируемого периода улучшились качественные показатели взятой спермы (подвижность, выживаемость сперматозоидов). Итогом применения препарата на баранах-производителях является увеличение через 90 дней после первой инъекции препарата количества полученных спермодоз от одного животного на 26,6% и снижение процента брака спермы по биологическим показателям.

В табл. 9 приведены показатели спермопродукции баранов-производителей при применении препарата в дозе 200 мкг на 1 кг живой массы тела.

Таблица 9

Показатели качества спермы	До введения препарата (исходные)	После введения препарата, через		
		30 суток	60 суток	90 суток
Средний объем эякулята, мл	2,07 ±0,02	2,18±0,06	2,23 ±0,04	2,32±0,03
Средняя подвижность сперматозоидов, баллы	8,0±0,01	8,0±0,01	8,0±0,01	8,0±0,01
Концентрация сперматозоидов, млрд/мл	2,20±0,04	2,12±0,03	2,17±0,05	2,17±0,03
Выживаемость сперматозоидов, часы	260±5,0	274±9,0	285±8,0	289±7,0
Брак спермы по биологическим показателям, %	28,8±6,5	25,1±5,2	23,2±4,8	22,4±3,2
Кол-во полученных спермодоз от одного животного	31±2,0	34±2,2	37±3,2	39±4,1

Результаты представленных в табл. 9 экспериментов свидетельствуют о стимуляции спермопродукции у баранов-производителей в результате применения препарата в дозе 100 мкг на 1 кг живой массы тела. Так, объем эякулята, взятый у баранов через 90 суток после первой инъекции, увеличился на 12,1%. В течение контролируемого периода улучшились качественные показатели взятой спермы (подвижность, выживаемость сперматозоидов). Итогом применения препарата на баранах-производителях является увеличение через 90 дней после первой инъекции препарата количества полученных спермодоз от одного животного на 25,8% и снижение процента брака спермы по биологическим показателям.

Изучение влияния препарата на продуктивные качества петухов-производителей (двухлинейный гибрид плимутрок и корниш) проводили на птицеводческих предприятиях.

Суспензию препарата птице вводили подкожно в дозе 50-200 мкг белка на 1 кг массы тела двукратно с интервалом 14 суток между инъекциями.

У петухов-производителей до и после применения препарата установленным порядком осуществляли взятие образцов спермы и определяли объем эякулята, концентрацию сперматозоидов в эякуляте и количество полученных спермодоз.

Показатели спермопродукции у петухов при применении препарата в дозе 50 мкг на 1 кг живой массы тела приведены в табл. 10.

Таблица 10

Показатели качества спермы	До введения препарата (исходные)	После введения препарата, через		
		30 суток	60 суток	90 суток
Средний объем эякулята, мл	0,52±0,02	0,57±0,03	0,68±0,05	0,74±0,02
Средняя подвижность, баллы	7,03±0,02	7,02±0,02	7,03±0,03	7,02±0,04
Концентрация сперматозоидов, млрд/мл	2,1±0,05	1,98±0,03	2,01±0,03	1,99±0,04
Выживаемость сперматозоидов, часы	132±8,5	142±6,3	148±3,2	144±3,2
Брак спермы по биологическим показателям, %	15,6±3,5	13,4±2,7	12,5±2,3	11,7±3,2
Кол-во полученных спермодоз	12,0±2,3	13,0±2,7	15,0±2,5	17,0±2,8
Оплодотворяющая способность спермы, %	92	92	93	92

Результаты экспериментов свидетельствуют о стимуляции спермопродукции у петухов-производителей в результате применения препарата. Так, объем эякулята, взятый у петухов через 90 су-

ток после первой инъекции, увеличился на 42,3%. В течение контролируемого периода улучшились качественные показатели взятой спермы (выживаемость сперматозоидов). Итогом применения препарата на петухах-производителях является увеличение количества полученных спермодоз на 41,6% и снижение процента брака спермы по биологическим показателям.

Показатели спермопродукции у петухов при применении препарата в дозе 100 мкг на 1 кг живой массы тела приведены в табл. 11.

Таблица 11

Показатели качества спермы	До введения препарата (исходные)	После введения препарата, через		
		30 суток	60 суток	90 суток
Средний объем эякулята, мл	0,49 ±0,03	0,54±0,02	0,65±0,06	0,71±0,03
Средняя подвижность, баллы	7,03±0,02	7,01±0,01	7,02±0,04	7,02±0,06
Концентрация сперматозоидов, млрд/мл	2,11±0,04	1,95±0,04	2,01±0,06	1,98±0,03
Выживаемость сперматозоидов, часы	135±6,5	140±7,3	144±2,2	143±4,2
Брак спермы по биологическим показателям, %	16,7±3,0	14,2±1,7	13,5±1,9	12,2±3,3
Кол-во полученных спермодоз	12,0±3,2	12,0±2,7	14,0±3,2	16,0±2,9
Оплодотворяющая способность спермы, %	92	93	92	93

Результаты экспериментов свидетельствуют о стимуляции спермопродукции у петухов-производителей в результате применения препарата. Так, объем эякулята, взятый у петухов через 90 суток после первой инъекции, увеличился на 44,9%. В течение контролируемого периода улучшились качественные показатели взятой спермы (выживаемость сперматозоидов). Итогом применения препарата на петухах-производителях является увеличение количества полученных спермодоз на 33,3% и снижение процента брака спермы по биологическим показателям.

Показатели спермопродукции у петухов при применении препарата в дозе 200 мкг на 1 кг живой массы тела приведены в табл. 12.

Таблица 12

Показатели качества спермы	До введения препарата (исходные)	После введения препарата, через		
		30 суток	60 суток	90 суток
Средний объем эякулята, мл	0,51 ±0,02	0,55±0,03	0,64±0,05	0,69±0,04
Средняя подвижность, баллы	7,03±0,02	7,01±0,01	7,01±0,03	7,01±0,05
Концентрация сперматозоидов, млрд/мл	2,12±0,03	1,96±0,05	2,02±0,03	2,01±0,04
Выживаемость сперматозоидов, часы	137±5,5	141±7,1	145±3,2	144±5,2
Брак спермы по биологическим показателям, %	18,3±4,2	15,7±2,9	14,1±2,7	13,9±4,2
Кол-во полученных сперматозоидов	12,0±3,2	11,0±2,7	13,0±3,2	15,0±2,7
Оплодотворяющая способность спермы, %	92	93	92	93

Результаты экспериментов свидетельствуют о стимуляции спермопродукции у петухов-производителей в результате применения препарата. Так, объем эякулята, взятый у петухов через 90 суток после первой инъекции, увеличился на 35,3%. В течение контролируемого периода улучшились качественные показатели взятой спермы (выживаемость сперматозоидов). Итогом применения препарата на петухах-производителях является увеличение количества полученных сперматозоидов на 25,0% и снижение процента брака спермы по биологическим показателям.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Препарат для повышения спермопродукции у производителей сельскохозяйственных животных и петухов в виде суспензии химерного белка с водонерастворимой ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8, и соматостатином-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKFTFTSC в рафинированном растительном масле с добавлением пчелиного воска.

2. Препарат по п.1, отличающийся тем, что он содержит химерный белок с водонерастворимой ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8, и соматостатином-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKFTFTSC из расчета 250-1000 мг указанного химерного белка на 100 мл рафинированного растительного масла, включающего 0,9-1,1 мас.% пчелиного воска.

3. Способ повышения спермопродукции у производителей сельскохозяйственных животных и петухов, включающий двукратную подкожную инъекцию с интервалом в 14 суток препарата в виде суспензии химерного белка с водонерастворимой ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8, и соматостатином-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKFTFTSC в рафинированном растительном масле с добавлением пчелиного воска петухам или сельскохозяйственным животным по достижении физиологической зрелости из расчета 50-200 мкг белка на 1 кг живой массы тела.

4. Способ по п.3, отличающийся тем, что используют препарат в виде суспензии химерного белка с водонерастворимой ферментативно неактивной хлорамфениколацетилтрансферазой без 10 С-терминальных аминокислот, аминокислотным спейсером (Sp)_n, где n=1, 2, 4, 8, и соматостатином-14 с последовательностью аминокислот AGCFWKFTFTSC в количестве из расчета 250-1000 мг указанного химерного белка на 100 мл рафинированного растительного масла, включающего 0,9-1,1 мас.% пчелиного воска.

