



(51) МПК

A23K 1/00 (2006.01)*A23K 1/16* (2006.01)*A23K 1/18* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2004127946/13, 20.02.2003

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
20.02.2003(30) Конвенционный приоритет:
20.02.2002 GB 0203991.5

(43) Дата публикации заявки: 20.04.2005

(45) Опубликовано: 20.04.2008 Бюл. № 11

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: US 4711897 A, 08.12.1987. JP 61115021
A, 02.06.1986. WO 0248110 A, 20.06.2002.(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу:
20.09.2004(86) Заявка РСТ:
EP 03/01733 (20.02.2003)(87) Публикация РСТ:
WO 03/070020 (28.08.2003)

Адрес для переписки:
129010, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", пат.пов. Е.Е.Назиной, рег. № 517

(72) Автор(ы):

ЧИ Фрэнсис (CN),
ЛУ Тянь Шуй (CN),
ВЭНЬ Цинь Тан (CN)

(73) Патентообладатель(и):

УОЛКОМ АНИМАЛ САЙЕНС (И.П.З.) ЛИМИТЕД
(CN)

(54) КОРМ ДЛЯ РЫБЫ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ

(57) Реферат:

Изобретение относится к кормлению рыбы.
Предложено применение композиции, содержащей
цистеамин или его солеподобные соединения и 1-
80% мас.% носителя, стабилизирующего
цистеамин для укрепления здоровья указанной
рыбы. Композиция для кормления рыбы,

содержащая цистеамин. Корм для рыбы,
включающий указанную композицию. Способ
выращивания рыбы, включающий ее кормление
кормом, содержащим цистеаминсодержащую
композицию. Изобретение позволяет усилить рост
рыбы и снизить ее смертность при разведении. 6 н.
и 28 з.п. ф-лы, 1 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.
A23K 1/00 (2006.01)
A23K 1/16 (2006.01)
A23K 1/18 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2004127946/13, 20.02.2003**
(24) Effective date for property rights: **20.02.2003**
(30) Priority:
20.02.2002 GB 0203991.5
(43) Application published: **20.04.2005**
(45) Date of publication: **20.04.2008 Bull. 11**
(85) Commencement of national phase: **20.09.2004**
(86) PCT application:
EP 03/01733 (20.02.2003)
(87) PCT publication:
WO 03/070020 (28.08.2003)
Mail address:
**129010, Moskva, ul. B.Spasskaja, 25, str.3,
OOO "Juridicheskaja firma Gorodisskij i
Partnery", pat.pov. E.E.Nazinoj, reg. № 517**

(72) Inventor(s):
**Chi Frehnsis (CN),
LU Tjan' Shuj (CN),
VEhN' Tsin' Tan (CN)**
(73) Proprietor(s):
UOLKOM ANIMAL SAJENS (I.P.Z.) LIMITED (CN)

(54) **FEED FOR FISH AND METHOD FOR USING THE SAME**

(57) Abstract:
FIELD: fish feeding.
SUBSTANCE: composition contains cysteamine or its salt-like compounds and 1-80 wt% of carrier stabilizing said cysteamine for improving health of fish. Fish feeding composition contains cysteamine; fish feed contains said composition.

Method for fish growing involves feeding fish with feed containing cysteamine-containing composition.
EFFECT: enhanced fish growth promoting effect and reduced death rate in fish rearing.
34 cl, 1 tbl

RU 2 322 079 C 2

RU 2 322 079 C 2

Область техники

Настоящее изобретение относится к применению цистеамина, его солеподобных соединений и/или цистеаминсодержащей композиции для выращивания водных животных, в частности позвоночных водных животных, и более конкретно рыбы в рыбоводных хозяйствах. Настоящее изобретение относится также к способам выращивания рыбы, корму для рыбы и способу получения такого корма.

Предпосылки изобретения

Давно известно, что гормоны роста играют важную роль в регулировании роста животных. Например, введение гормонов роста животным мясной породы увеличивает массу тела, включая мышечную массу. Однако применение гормонов роста для увеличения производства мяса сопровождается рядом недостатков. Во-первых, гормоны роста, вырабатываемые в организме разных животных, редко бывают гомогенными, и разные животные реагируют только на определенные типы специфических гормонов роста. Так как приемлемые экзогенные гормоны роста обычно выделяют из гипофиза, трудно и экономически невыгодно получать достаточное количество приемлемых экзогенных гормонов роста для широкомасштабного применения. Хотя экзогенные гормоны роста в настоящее время можно получить методами рекомбинантных ДНК, экзогенные гормоны роста, полученные таким методом, все еще являются достаточно дорогими. Во-вторых, экзогенные гормоны роста обычно вводят домашним животным в виде прямой инъекции, что неизбежно требует больших затрат и создает сложности на крупной ферме, например на ферме по разведению крупного рогатого скота. Введение экзогенных гормонов роста рыбе, разводимой в рыбоводных хозяйствах, вызывает еще большие трудности, так как практически невозможно производить регуляторный отлов и мониторинг каждой отдельной рыбы и инъецировать ей приемлемый гормон роста. В-третьих, довольно трудно контролировать дозу, необходимую для достижения требуемого действия, так как передозировка экзогенных гормонов роста, по-видимому, вредна для животных. В-четвертых, остаточные количества указанных экзогенных гормонов роста могут попасть в мясные продукты и затем в организм человека при употреблении указанных продуктов. Необходимы дальнейшие исследования в данной области, хотя некоторые ученые уверены в том, что экзогенные гормоны роста вызывают отрицательные побочные эффекты при попадании в организм человека.

С учетом быстрого роста населения постоянно увеличивается потребность во многих видах пищевых продуктов, включая морепродукты и, в частности, рыбу. Результаты исследований, недавно проведенных Организацией Объединенных Наций, показывают, что существующий запас морепродуктов необходимо увеличить в семь раз для удовлетворения потребностей в морепродуктах населения во всем мире. Принимая во внимание быстрое сокращение мировых рыбных запасов, вызываемое главным образом бесконтрольным отловом рыбы и сокращением мест обитания рыбы, ясно, что указанную потребность можно удовлетворить только разведением рыбы в рыбоводных хозяйствах. Однако выращивание многих видов рыбы в рыбоводных хозяйствах осложняется несколькими факторами. Указанные факторы включают трудности, связанные с селекцией и созданием приемлемой племенной породы, увеличением скорости роста и эффективности превращения корма в процессе выращивания рыбы, контролем затрат на кормление, управлением циклом изменений репродуктивной системы и профилактикой заболеваний.

Одним известным методом быстрого увеличения массы тела рыбы при разведении в рыбоводных хозяйствах является введение рыбе экзогенных гормонов роста. Однако, как указывалось выше, ввести экзогенные гормоны роста рыбе очень трудно, если вообще возможно.

Альтернативой вышеуказанному методу является создание требуемого маточного стада рыбы путем кроссбридинга для усиления благоприятных признаков у рыбы. Однако такие признаки обычно довольно медленно проявляются и являются непредсказуемыми. Несмотря на кроссбридинг геном рыбы часто не содержит требуемых генов, опосредующих

предполагаемый эффект.

Другой альтернативой традиционным методам селекции и скрещивания является применение современных методов генной инженерии для получения трансгенной рыбы с высокой скоростью роста. В частности, трансгенную рыбу можно получить методами

5 молекулярной биологии путем идентификации, выделения и создания генов, ответственных за требуемые признаки, с последующим введением указанных генов племенной породе. При помощи вышеуказанных современных методов новые признаки, которые ранее отсутствовали в геноме рыбы, можно перенести из неродственного вида, что позволяет создать новые и более приемлемые фенотипы. Однако методы генной инженерии, направленные на создание трансгенной рыбы, характеризуются рядом недостатков. Во-первых, существует широко распространенное мнение об отрицательном воздействии потребления генетически модифицированных (GM) продуктов. Широкомасштабное производство трансгенной рыбы для потребления человеком неизбежно будет связано с юридическими и социальными осложнениями. Во-вторых, создание генетически

10 модифицированной племенной породы для каждого вида рыбы, потребляемой в настоящее время человеком, является экономически невыгодным. В-третьих, если трансгенная рыба, которая, предположительно, будет выращиваться в неволе, случайно попадет в дикую природу и быстро вырастет благодаря улучшенной общей адаптивности к условиям окружающей среды, она вытеснит своих немодифицированных сородичей. Это не только нарушит экосистему непредсказуемым образом, но и засорит геном родственного вида в природе. Такое вытеснение естественных пород и засорение генома можно уже наблюдать на примере лосося. Трансгенный лосось часто по крайней мере в два раза больше размером и весом натурального лосося и способен гораздо лучше выживать. Кроссбридинг трансгенных и натуральных лососей уже засорил геном лососей в дикой природе.

25 Цистеамин является компонентом кофермента А и действует в качестве физиологического регулятора. Цистеамин был использован в качестве добавки к корму для стимуляции роста млекопитающих животных мясной породы. В патенте США №4711897 описаны способы кормления животных и кормовые композиции, содержащие цистеамин. Однако известно, что цистеамин является неустойчивым соединением, довольно

30 чувствительным к нормальной комнатной температуре. Например, цистеамин легко окисляется под воздействием воздуха или при повышенной температуре. Цистеамин является очень гидроскопичным соединением. Кроме того, цистеамин не съедобен при непосредственном введении в рот. Прямое потребление цистеамина вызывает нежелательные побочные эффекты в желудке. По вышеуказанным причинам применение цистеамина в течение длительного времени было ограничено прямым инъектированием цистеаминсодержащего раствора животным мясной породы.

Поэтому по-прежнему существует потребность в композиции и/или способе усиления роста и/или укрепления здоровья рыбы, в частности, увеличения массы тела и/или сокращения смертности рыбы при разведении в рыбоводных хозяйствах. Указанный способ

40 предпочтительно должен быть безопасным и недорогим, а также безвредным для окружающей среды.

Таким образом, целью настоящего изобретения является решение вышеуказанных проблем или по крайней мере предложение приемлемой альтернативы.

Краткое изложение существа изобретения

45 Первым объектом настоящего изобретения является применение цистеаминсодержащей композиции, включающей по существу 1-80 мас.% носителя, для кормления рыбы с целью усиления роста и/или укрепления здоровья указанной рыбы. В частности, указанное применение может быть направлено на увеличение массы тела рыбы. Целью такого применения может быть также сокращение смертности рыбы

50 вследствие болезней или плохих условиях содержания.

Цистеаминсодержащую композицию можно предпочтительно скармливать рыбе в составе конечного корма. Однако цистеаминсодержащую композицию можно также давать рыбе другим приемлемым способом независимо от корма.

Указанная композиция может содержать по существу 1-95 мас.% цистеамина химической формулы $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-SH}$ или его солеподобных соединений.

Эта композиция может содержать по существу 30 мас.% цистеамина или его солеподобных соединений. Носитель, который также является стабилизатором и может представлять собой композицию обволакивающих веществ для соединения включения, можно выбрать из группы, включающей циклодекстрин или его производные. Указанная композиция может содержать 10 мас.% носителя.

Эта композиция может содержать один или несколько ингредиентов, выбираемых из группы, включающей наполнитель, дезинтегратор и вещество для нанесения покрытия на указанную композицию. Вещество покрытия может находиться в твердом состоянии при комнатной температуре. Вещество покрытия может быть энтеросолюбильным и растворимым только в кишечнике рыбы. Покрытие может образовывать многослойную структуру в композиции. Указанное покрытие может оставаться нерастворимым при pH 1,5-3,5.

Конечный корм может содержать кормовой концентрат и/или кормовую добавку. Конечный корм может содержать приемлемый основной корм, выбираемый из группы, включающей семена капусты, семена хлопчатника, сою, рыбную муку, пшеничные отруби, кормовую пшеничную муку, минералы, витамины и связующие вещества. Конечный корм может содержать по существу 30-150 частей на миллион цистеамина. Конечный корм может содержать по существу 100-500 частей на миллион вышеуказанной композиции. Конечный корм в сухом состоянии может содержать по существу 33-165 частей на миллион цистеамина. Конечный корм в сухом состоянии может содержать по существу 110-550 частей на миллион вышеуказанной композиции.

Вторым объектом настоящего изобретения является способ выращивания рыбы, который включает стадии смешивания цистеаминсодержащей композиции (описанной выше) с приемлемым основным кормом (также описанным выше) и кормления рыбы конечным кормом, полученным в результате смешивания.

Вышеуказанную композицию можно непосредственно смешивать с основным кормом. Альтернативно смешивание может включать стадии получения премикса, содержащего цистеаминсодержащую композицию, и последующего смешивания премикса с основным кормом с образованием конечного корма. Премикс можно получить, смешивая указанную композицию с приемлемым кормом. Использование премикса в качестве промежуточной смеси облегчает смешивание, благодаря чему композиция может быть более равномерно распределена в конечном корме. Премикс может содержать 1-25 мас.% композиции по изобретению. Предпочтительно премикс может содержать 10-20 мас.% композиции.

Третьим объектом настоящего изобретения является способ выращивания рыбы, который включает стадию ежедневного кормления рыбы цистеамином, его солеподобными соединениями или вышеописанной цистеаминсодержащей композицией предпочтительно в составе корма. Рыбе, находящейся на стадии развития со средней массой тела, равной или меньше 500 г, можно давать корм, содержащий 30-60 частей на миллион цистеамина или его солеподобных соединений либо 100-200 частей на миллион цистеаминсодержащей композиции. Рыбе, находящейся на стадии развития со средней массой тела более 500 г, можно давать корм, содержащий 60-150 частей на миллион цистеамина или его солеподобных соединений либо 200-500 частей на миллион цистеаминсодержащей композиции.

Четвертым объектом настоящего изобретения является корм для рыбы, включающий цистеаминсодержащую композицию. Указанную композицию можно использовать в качестве кормовой добавки. Композиция может содержать по существу 1-95 мас.% цистеамина химической формулы $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-SH}$ или его солеподобных соединений. Эта композиция может содержать 1-80 мас.% носителя. Носитель может быть выбран из группы, включающей циклодекстрин или его производные.

Пятым объектом настоящего изобретения является способ получения вышеописанного корма для рыбы, который включает стадию смешивания цистеаминсодержащей

композиции с основным кормом.

Подробное описание настоящего изобретения

В основе настоящего изобретения лежит открытие, согласно которому цистеамин, его солеподобные соединения и/или цистеаминсодержащая композиция при скармливании
5 водным животным, таким как рыба, увеличивает массу тела указанных животных. До того как было сделано данное открытие, отсутствовали достаточные свидетельства того, что цистеамин может оказывать воздействие на рыбу.

Установлено, что подобно млекопитающим секреция гормонов роста у рыбы является пульсирующей. Обнаружено, что структура соматостатина (SS) у рыбы аналогична
10 млекопитающим в том отношении, что соматостатин также ингибирует у рыбы высвобождение гормонов роста. Известно, что гормоны роста регулируют обмен веществ и усвоение корма, вызывают рост и увеличение массы тела рыбы. Результаты выполненных исследований также показали, что гормоны роста стимулируют синтез белка и усиливают положительный азотный баланс в организме рыбы.

Рецепторы гормонов роста (GHR) у рыбы широко распределены в разных тканях, таких
15 как печень, головной мозг, гонады, бронхиолы, кишечник и почки. В гонадах гормоны роста и рецепторы гормонов роста модулируют уровень стероида, стимулируя развитие спермы и икры. В бронхиолах, кишечнике и почках гормоны роста и рецепторы гормонов роста регулируют осмотическое давление в теле рыбы. Считается, что увеличение
20 гормонов роста в кишечнике может влиять на усвоение корма и увеличивать концентрацию аминокислот в кровотоке, что повышает эффективность превращения корма. Кроме того, установлено, что концентрация рецепторов гормонов роста в других тканях рыбы составляет примерно 3-6% от подобного количества в печени. Однако связывающая активность гормонов роста и рецепторов гормонов роста в печени такая же, как и в
25 других тканях.

Как показано, гормоны роста у рыбы стимулируют рост и регулируют осмотическое давление, причем действие указанных гормонов опосредовано инсулиновым фактором
30 роста (IGF-1). В настоящем изобретении механизм воздействия цистеамина и/или цистеаминсодержащей композиции направлен на уменьшение соматостатина у рыбы в результате чего может быть увеличена концентрация гормонов роста, что должно способствовать росту рыбы. Следует отметить, что гормоны роста продуцируются в организме рыбы и не являются экзогенными гормонами роста.

Считается, что цистеамин, обладающий физиологической активностью, действует в качестве стимулятора роста. Природный цистеамин входит в состав кофермента А
35 (известного также как CoA-SH или CoA), который обладает свойствами пантотеновой кислоты. В ходе обмена веществ кофермент А является носителем дигидросульфурила или вариантов гидросульфурила, связанным с гидросульфурилом кофермента А. Эксперименты, выполненные на других теплокровных позвоночных животных, таких как свиньи, крупный рогатый скот, домашняя птица, козы и кролики, показали, что цистеамин
40 может уменьшать выработку соматостатина. В процессе работы над настоящим изобретением совершенно неожиданно было обнаружено, что цистеамин может аналогичным образом уменьшать выработку соматостатина у рыбы. Ранее считалось, что цистеамин эффективно уменьшает выработку соматостатина только у млекопитающих и птицы. Сокращение соматостатина увеличивает уровень гормонов роста в крови рыбы, что
45 в свою очередь повышает уровень разных других стимуляторов роста, включая инсулиноподобный фактор роста I (IGF-I) и инсулин. Считается, что гормоны роста непосредственно стимулируют физиологическое развитие разных тканей.

При увеличении разных стимуляторов роста, соответственно, повышается интенсивность обмена веществ у рыбы. Понятно, что у рыбы, соответственно, повышается
50 общая скорость синтеза белка и, таким образом, быстрее увеличивается масса тела.

Были выполнены разные эксперименты, показывающие, что скармливание рыбе корма, содержащего цистеаминсодержащую композицию, усиливает рост и стимулирует увеличение массы тела у рыбы, и один такой эксперимент подробно описан ниже.

Эксперимент

Базовая информация

Данный эксперимент был выполнен для демонстрации воздействия, оказываемого на рыбу при скармливании цистеаминсодержащей композиции, которая более подробно описана ниже. В данном эксперименте была использована рыба вида, известного как *Megalobrama amblycephala*. Были созданы две испытываемые группы и две контрольные группы рыбы. Каждая группа включала 40-41 рыбу. Все группы содержали в разных резервуарах, заполненных водой. Емкость каждого резервуара примерно 0,26 м³. Резервуары были оборудованы автоматической системой регулирования температуры, при помощи которой температуру воды поддерживали около 25-26°C. Указанные резервуары были также оборудованы системой циркуляции воды, которая обеспечивала подачу свежей речной воды через определенные периоды времени.

Вещества

А. Цистеаминсодержащая композиция

Цистеаминсодержащая композиция, использованная в данном эксперименте, включала 30 мас.% цистеамина, 20 мас.% обволакивающих веществ для соединения включения и веществ покрытия, 26 мас.% наполнителей, 23,9 мас.% дезинтеграторов и связующих веществ и 0,1 мас.% ароматизирующих и пахучих веществ. Конкретные требования, предъявляемые к приемлемой цистеаминсодержащей композиции, рассмотрены далее в описании изобретения.

В. Премикс

Премикс является промежуточной смесью, включающей цистеаминсодержащую композицию. Премикс облегчает последующее смешивание с основным кормом. Ингредиенты для получения премикса могут быть выбраны из группы, включающей приемлемые пищевые вещества, такие как аминокислоты, соли, фосфор и кукурузная мука. Премикс включает 10-20 мас.% цистеаминсодержащей композиции, хотя указанную композицию можно также использовать в более широких пределах от 1 до 25 мас.%.

С. Основной корм

Основной корм, использованный в данном эксперименте, включает примерно 20 мас.% семян капусты, 15 мас.% семян хлопчатника, 15 мас.% сои, 15 мас.% рыбной муки, 10 мас.% пшеничных отрубей, 19 мас.% кормовой пшеничной муки, 5 мас.% минеральных веществ, 0,5 мас.% связующего вещества и 0,5 мас.% витаминов. Однако можно использовать другие приемлемые ингредиенты.

D. Конечный корм

Конечный корм включает основной корм, смешанный, например, с цистеаминсодержащей композицией и премиксом. В данном эксперименте одинаковый конечный корм типов А1 и А2 использовали для кормления двух испытываемых групп (группы I и II) рыбы. Конечный корм типов А1 и А2 получали, смешивая приемлемые количества премикса, включающего цистеаминсодержащее соединение, и основного корма. В частности, полученный конечный корм типов А1 и А2 включал по существу 200 частей на миллион цистеаминсодержащей композиции или 60 частей на миллион цистеамина. Однако используемый на практике конечный корм может включать 100-200 частей на миллион цистеаминсодержащей композиции или 30-60 частей на миллион цистеамина. Предназначенный для практического применения конечный корм, включающий указанные концентрации цистеаминсодержащей композиции и/или цистеамина, особенно подходит для рыбы с массой тела, равной или меньше 500 г. Для кормления рыбы с массой тела более 500 г предпочтительно используют конечный корм, включающий 200-500 частей на миллион цистеаминсодержащей композиции или 60-150 частей на миллион цистеамина. Можно также добавить незначительное количество кормового концентрата и/или кормовой добавки для усиления и сбалансирования питательной ценности конечного корма.

Если на практике премикс не получали, цистеаминсодержащая композиция может быть смешана непосредственно с основным кормом.

Две контрольные группы (группы I и II) получали такой же конечный корм типов В1 и

В2, в который не добавляли цистеаминсодержащую композицию.

Единственным отличием конечного корма типов А1 и А2 от типов В1 и В2 является то, что корм первых типов включал требуемое количество цистеаминсодержащей композиции.

Методика выполнения эксперимента

5 Данный эксперимент выполняли в период с 5 октября 2001 г. по 17 ноября 2001 г.

Массу тела рыбы в каждой из четырех групп измеряли до и после эксперимента.

Регистрировали количество рыбы, умершей во время эксперимента. Кроме того, регистрировали количество корма, поглощенного рыбой в четырех группах.

Результаты и выводы

10 В таблице 1 представлены результаты данного эксперимента.

Таблица 1 Четыре группы рыбы до и после эксперимента				
Тип корма	A1	A2	B1	B2
Группа рыбы	Группа I (испытуемая)	Группа II (испытуемая)	Группа I (контрольная)	Группа II (контрольная)
До эксперимента				
Дата	5 октября 2001 г.	5 октября 2001 г.	5 октября 2001 г.	5 октября 2001 г.
Количество рыбы	41	40	40	41
Общая масса (г)	289,7	183,2	207,6	223,1
Средняя масса одной рыбы (г)	7,06	4,58	5,19	5,44
После эксперимента				
Дата	17 ноября 2001 г.	17 ноября 2001 г.	17 ноября 2001 г.	17 ноября 2001 г.
Количество рыбы	41	40	39	41
Общая масса (г)	558,9	403,0	419,9	381,5
Средняя масса одной рыбы (г)	13,6	10,10	10,77	9,3
Потребление корма	630,2	582,3	594,6	595,0
Увеличение общей массы (г)	269,2	219,8	212,3	222,4
Эффективность превращения корма	2,34	2,65	2,80	2,68
Количество мертвой рыбы	0	0	3 (по 7,5 г каждая)	3
Выживаемость (%)	100	100	92,5	92,7

Так как во время эксперимента в контрольной группе I умерли три рыбы, взамен двух умерших рыб были добавлены две запасные рыбы с такой же массой тела. В контрольной группе II во время эксперимента умерли три рыбы, и вместо трех умерших рыб были добавлены три запасные рыбы с такой же массой тела.

Как показано в таблице 1, общая масса тела рыбы в двух испытуемых группах (группы I и II) до и после эксперимента была соответственно равна 472,9 г [=289,7+183,2] и 961,9 г [558,9+403,0]. Таким образом, прибавка общей массы тела составила 489,0 г, что соответствовало примерно 103% увеличения общей массы тела. Общая масса тела рыбы в двух контрольных группах (группы I и II) до и после эксперимента была соответственно равна 430,7 г [207,6+223,1] и 801,4 г [419,9+381,5]. Таким образом, прибавка общей массы тела составила 370,7 г, что соответствовало примерно 86% увеличения общей массы тела.

Средняя масса тела рыбы в двух испытуемых группах (группы I и II) до и после эксперимента была соответственно равна 5,84 г и 11,88 г. Таким образом, прибавка средней массы тела составила 6,03 г, что также соответствовало примерно 103% увеличения средней массы тела. Средняя масса тела рыбы в двух контрольных группах (группы I и II) до и после эксперимента была соответственно равна 5,32 г и 10,02 г. Таким образом, прибавка средней массы тела составила 4,70 г, что соответствовало примерно 88% увеличения средней массы тела. В этом эксперименте было продемонстрировано, что рыба в испытуемых группах росла быстрее по крайней мере на 15% с точки зрения увеличения массы тела.

Таким образом, можно сделать вывод, что рыба, которой давали корм, включающий цистеаминсодержащую композицию, способна расти гораздо быстрее.

Кроме того, было установлено, что две испытуемые группы рыбы характеризуются эффективностью превращения корма, равной 2,34 и 2,65. Две контрольные группы рыбы характеризуются эффективностью превращения корма, равной 2,80 и 2,68. Относительно

низкая эффективность превращения корма позволяет предположить, что на единицу массы тела необходимо меньшее количество корма. Очевидно, что рыба в испытываемых группах гораздо эффективнее превращает корм в массу тела.

5 Таким образом, можно сделать вывод, что рыба, которой давали корм, включающий цистеаминсодержащую композицию, может более эффективно усваивать корм и превращать его в массу тела, и что цистеаминсодержащая композиция по настоящему изобретению может усиливать рост и, в частности, увеличивать массу тела.

10 Следует отметить, что условия содержания в резервуарах с водой были аналогичны условиям, создаваемым в промышленных рыбоводных хозяйствах. Тем не менее условия содержания рыбы были относительно тесными по сравнению с дикой природой. Поэтому нет ничего удивительного в том, что некоторые рыбы в рыбоводных хозяйствах умирают в таких условиях содержания вследствие болезней или перенаселенности. Однако ни одна рыба не умерла в двух испытываемых группах во время эксперимента по сравнению с гибелью шести рыб в двух контрольных группах. Результаты эксперимента совершенно

15 очевидно свидетельствуют о том, что рыба, которой скармливали цистеаминсодержащую композицию, является более здоровой и, в частности, характеризуется более высокой выживаемостью (или более низкой смертностью). Это имеет важное значение, так как повышение выживаемости означает увеличение выхода продукции, что соответствует более высокой производственной эффективности.

20 Хотя цистеаминсодержащая композиция, использованная в вышеуказанном эксперименте, включала описанные выше ингредиенты, аналогичных результатов можно достичь при получении цистеаминсодержащей композиции в соответствии с нижеследующими требованиями. Двумя основными ингредиентами в этой композиции являются 1-95 мас.% цистеамина (или его солей, например, гидрохлорида цистеамина, или

25 фармацевтически приемлемых кислотно-аддитивных солей) и 1-80 мас.% носителя, который представляет собой композицию обволакивающих веществ для соединения включения. Цистеамин имеет химическую формулу $\text{HSC}_2\text{H}_4\text{NH}_2$. Термин "цистеамин" далее означает цистеамин и/или его солеподобные соединения.

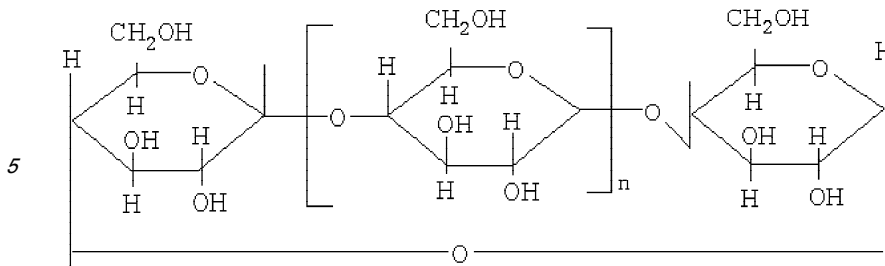
30 Цистеамин и его солеподобные соединения всесторонне описаны в химической литературе. Общая химическая формула соли цистеамина имеет вид $\text{C}_2\text{H}_7\text{NS}\cdot\text{X}$, где X может означать HCl , H_3PO_4 , битартрат, салицилат и т.д. Использованный цистеамин предпочтительно является фармацевтически приемлемым эталоном, в котором содержание углерода, водорода, азота и серы примерно равно 31,14 мас.%, 9,15 мас.%, 18,16 мас.% и 41,56 мас.%.

35 Хотя приемлемое количество цистеамина в цистеаминсодержащей композиции составляет 1-95 мас.%, можно предпочтительно использовать 1-75 мас.% и более предпочтительно 1-40 мас.% цистеамина. Цистеамин является одним из основных активных ингредиентов цистеаминсодержащей композиции. Однако установлено, что, если содержание цистеамина в цистеаминсодержащей композиции превышает 95 мас.%,

40 возникают трудности при смешивании данной композиции с основным кормом.

Носитель или композиция обволакивающих веществ для соединения включения, предназначенная для стабилизации цистеамина, представляет собой главным образом циклодекстрин и/или его производные, которые выбирают из группы, включающей метил-β-циклодекстрин (M-β-CD), гидропропил-β-циклодекстрин (HP-β-CD),

45 гидроэтил-β-циклодекстрин (HE-β-CD), полициклодекстрин, этил-β-циклодекстрин (E-β-CD) и циклодекстрин с разветвленной цепью. Циклодекстрин имеет общую химическую формулу $(\text{C}_6\text{O}_5\text{H}_9)_n \cdot (\text{C}_6\text{O}_5\text{H}_9)_2$ и нижеследующую структурную формулу.



где α -CD $n=4$; β -CD $n=5$; γ -CD $n=6$.

(Циклодекстрин является циклическим олигомером альфа-D-глюко-пиранозы).

Следует отметить, что предпочтительно использована форма β -CD циклодекстрина, так как внутренний диаметр его молекулы равен примерно 6-8Å, что делает ее особенно пригодной для использования в качестве обволакивающего вещества для соединения включения при получении цистеаминсодержащей композиции методом включения. Термин "циклодекстрин" далее означает циклодекстрин и/или его производные. Можно использовать любые производные циклодекстрина, которые обладают способностью стабилизировать и защищать цистеамин от разрушения. Например, можно использовать любой циклодекстрин или его производные из вышеуказанных групп. Хотя приемлемое содержание носителя в цистеаминсодержащей композиции составляет 1-80 мас.%, можно также предпочтительно использовать 1-60 мас.% и более предпочтительно 10-40 мас.% носителя. Фактическое количество используемого носителя зависит от фактического количества цистеамина, использованного при получении цистеаминсодержащей композиции.

Цистеаминсодержащая композиция может также содержать 1-90 мас.% наполнителей, хотя в композиции можно предпочтительно использовать 1-60 мас.% и более предпочтительно 1-40 мас.% наполнителей. Фактическое содержание наполнителей зависит от фактического количества использованного цистеамина и обволакивающих веществ для соединения включения.

Наполнители могут быть выбраны из группы, включающей порошкообразную целлюлозу, крахмал и сульфат кальция (например, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Следует отметить, что, если содержание наполнителей в цистеаминсодержащей композиции будет превышать 90 мас.%, количество основных активных ингредиентов должно быть уменьшено, в результате чего цистеаминсодержащая композиция может стать неэффективной.

Цистеаминсодержащая композиция может также включать 5-50 мас.% дезинтеграторов и связующих веществ, хотя можно также предпочтительно использовать 10-40 мас.% и более предпочтительно 15-35 мас.% указанных веществ. Фактическое содержание дезинтеграторов зависит от фактического количества цистеамина, носителя и других используемых ингредиентов.

Связующие вещества и дезинтеграторы могут быть выбраны из группы, включающей гидропропиловый крахмал, микробный альгинат, микрокристаллическую целлюлозу и крахмал. Установлено, что, если содержание дезинтеграторов и связующих веществ в композиции составляет менее 5 мас.%, гранулы полученной композиции не будут иметь требуемой твердости. Кроме того, приготовление композиции будет очень затруднено. Однако, если содержание дезинтеграторов и связующих веществ составляет более 50 мас.%, полученная композиция будет излишне твердой, особенно в том случае, когда содержание связующих веществ составляет большую часть смеси дезинтеграторов и связующих веществ. В результате этого будет затруднено всасывание композиции в кишечнике рыбы.

Цистеаминсодержащая композиция может также включать 0,05-0,3 мас.% ароматических и пахучих веществ, которые могут представлять собой ароматическую эссенцию.

Цистеаминсодержащая композиция может также включать 1-20 мас.% веществ покрытия, хотя приемлемый диапазон предпочтительно составляет 1-15 мас.% и более предпочтительно 2-10 мас.%. Фактическое содержание веществ покрытия зависит от

фактического содержания цистеамина, носителя и других ингредиентов. Вещества покрытия находятся в твердом состоянии при нормальной комнатной температуре и предпочтительно являются энтеросолюбильными, в результате чего они растворяются в щелочной среде, например, в кишечнике. Вещества покрытия могут быть выбраны из

5 группы, включающей ацетат-фталат целлюлозы, ацетат-фталат крахмала, фталат метилцеллюлозы, производные глюкозы или фруктозы из фталевой кислоты, акриловые и метакриловые сополимеры, полиметилвиниловый эфир, частично этерифицированные сополимеры малеинового ангидрида, шеллак и форможелатин. Вещества покрытия могут не растворяться в кислотных условиях с pH 1,5-3,5. Установлено, что, если содержание

10 веществ покрытия составляет менее 1 мас.%, гранулы композиции не могут быть полностью покрыты указанными веществами покрытия, которые образуют защитный слой. Таким образом цистеаминсодержащая композиция может быть разрушена до всасывания кишечником в кровоток животных, в данном случае рыбы, разводимой в рыбоводных хозяйствах. С другой стороны, если содержание веществ покрытия превышает 15 мас.%,

15 активные ингредиенты композиции не могут эффективно высвободиться из композиции. В результате этого не будет достигнута предполагаемая регуляция роста и здоровья рыбы. В любом случае установлено, что корм, содержащий 100-500 частей на миллион композиции по изобретению (или 30-75 частей на миллион цистеамина) оказывает эффективное действие при использовании для кормления рыбы, разводимой в

20 рыбоводных хозяйствах, для усиления роста и/или укрепления здоровья рыбы и, в частности, для увеличения массы тела рыбы.

Цистеаминсодержащая композиция, предназначенная для применения в соответствии с настоящим изобретением, представляет собой мелкие гранулы с предпочтительным диаметром около 0,28-0,90 мм. Указанные гранулы получают методом

25 микрокапсулирования. Указанный метод включает использование макромолекулярного вещества, обладающего свойством включения. Одним веществом, которое можно использовать для достижения указанной цели, является описанный выше носитель (который в основном включает циклодекстрин). Носитель представляет собой макромолекулярное вещество, которое служит в качестве молекулярной капсулы,

30 обволакивающей молекулы цистеамина, благодаря чему цистеамин в композиции защищен и изолирован от воздействия света, тепла, воздуха и влаги окружающей среды. Таким образом сохраняется устойчивость цистеамина. Носитель, используемый при осуществлении метода микрокапсулирования, предпочтительно является циклическим соединением полисахарида, имеющим 6-12 молекул глюкозы, которое получают,

35 осуществляя взаимодействие циклодекстрин-гликозидтрансферазы с крахмалом в присутствии *Bacillus*. Разные исследования с выполнением испытаний на острую, подострую и хроническую токсичность показали, что это макромолекулярное вещество является нетоксичным.

После завершения процесса микрокапсулирования каждая гранула может быть покрыта

40 по крайней мере одним и предпочтительно несколькими слоями вышеописанных веществ покрытия. Ниже дано более подробное описание одного варианта осуществления способа получения цистеаминсодержащей композиции по настоящему изобретению.

В реактор с рубашкой, облицованный политетрафторэтиленом и оснащенный мешалкой с политетрафторэтиленовым покрытием, вводят 4080 г 75 мас.% раствора гидрохлорида

45 цистеамина в этаноле главным образом в атмосфере азота. Используемый цистеамин предпочтительно имеет чистоту, равную 98% или выше, температуру плавления, равную 66-70°C, и сгораемый остаток, равный 0,05% или меньше. Затем в реактор добавляют 1200 г β-циклодекстрина также в атмосфере газообразного азота. (Количество β-циклодекстрина соответствует требованиям, предъявляемым к кормовой добавке. В частности, чистота в

50 сухом состоянии составляет более 98%; потеря массы в результате сушки составляет менее 10,0%; сгораемый остаток равен менее 0,2%; содержание тяжелых металлов составляет менее 10 частей на миллион; содержание мышьяка составляет менее 2 частей на миллион.)

Смесь нагревают в течение 3 часов при 40°C. Затем нагрев прекращают и продолжают перемешивать смесь еще в течение двух часов, после чего полученные продукты подвергают вакуумной сушке при температуре 40-50°C, измельчают и просеивают через сетчатый фильтр (например, с размером ячеек 40 меш). Все части оборудования, которые могут соприкоснуться с ингредиентами данной композиции, должны быть предпочтительно изготовлены из нержавеющей стали. В смеситель бункерного типа в сухих условиях добавляют 4200 г (в пересчете на сухое вещество) цистеамина, который предварительно был подвергнут обработке в соответствии с вышеописанным методом включения, 2600 г наполнителей, 1200 г дезинтеграторов и 1700 г связующих веществ. Указанные ингредиенты тщательно перемешивают, при этом может быть добавлено приемлемое количество безводного этанола, который смешивают с остальной смесью. Полученная смесь представляет собой мягкое вещество средней твердости, из которого в ладонях можно скатать шарик. Шарик, сформированный из смеси, можно разрушить легким прикосновением.

Затем смесь гранулируют в грануляторе в атмосфере азота, образовавшиеся мелкие гранулы сразу же вводят в сушилку с псевдооживленным слоем и сушат при температуре 40-50°C под вакуумом. Затем получают вещество для энтеросолюбильного покрытия следующего состава: 8,0 г ацетат-фталата целлюлозы, 2,4 мл терефталата полиэтиленгликоля, 33,0 мл этилацетата и 33,6 мл изопропилацетата. На полученные выше гранулы в атмосфере азота наносят однородное покрытие из вышеописанного энтеросолюбильного вещества в виде по крайней мере одного слоя предпочтительно в виде нескольких слоев. Другими словами, вещества покрытия образуют многослойную структуру на каждой полученной грануле композиции. Энтеросолюбительные вещества растворяются только в щелочной среде. Это предотвращает преждевременное высвобождение цистеамина из композиции в желудке животного. Цистеамин может оказывать вредное влияние на слизистую оболочку желудка животных. Полученные гранулы цистеаминсодержащей композиции затем окончательно сушат в вакуумной сушилке при температуре 40-50°C. Затем удаляют все растворители.

Образовавшиеся гранулы охлаждают до комнатной температуры, микрокапсулы смешивают с приемлемым количеством ароматизирующих и пахучих веществ при помощи консольного двухспирального смесителя. Цистеаминсодержащая композиция представляет собой микрокапсулу, внутри которой находится гидрохлорид цистеамина и циклодекстрин и которая снаружи покрыта энтеросолюбильными веществами покрытия. Полученная композиция имеет форму мелких гранул (или микрочастиц) с гладкой поверхностью и хорошими характеристиками текучести и легко смешивается с разными кормами для животных. Диаметр каждой гранулы композиции предпочтительно равен 0,28-0,90 мм. Данная композиция также характеризуется великолепной устойчивостью. Установлено, что композиция, упакованная в герметично закрытые пластиковые мешки, сохраняет свои свойства при хранении в течение одного года в прохладном, темном и сухом помещении. Поэтому данная композиция удовлетворяет требованиям, предъявляемым к кормовой добавке.

Композиция, имеющая вышеописанную структуру, обладает рядом функциональных преимуществ по сравнению с самим цистеамином. Во-первых, активность цистеамина, содержащегося в композиции, сохраняется после ее получения. Это имеет важное значение, так как такую кормовую добавку, как композиция по настоящему изобретению, можно хранить в течение относительно длительного периода времени до использования. Во-вторых, композиция не вызывает каких-либо видимых побочных эффектов у рыбы, которой скармливают указанную добавку. В-третьих, активность композиции сохраняется не только во время хранения, но вплоть до попадания в кишечник рыбы, что имеет более важное значение. В-четвертых, композицию можно легко применять в широком масштабе в крупных рыбководных хозяйствах с хорошим соотношением затраты - эффективность, так как указанную композицию можно легко смешивать с любым приемлемым основным кормом. При этом не требуется выполнять никаких дополнительных действий или

инъектировать композицию.

Все приведенные выше ссылки, публикация международной заявки на патент №WO 02/48110 (заявка №PCT/EP01/14628), публикация заявки на патент PRC №1358499 (заявка №00132107.2) и неопубликованная заявка на патент Соединенного Королевства №0203991.5 вместе с приведенными в ней ссылками полностью включены в настоящее описание изобретения в качестве ссылки. Следует отметить, что возможны многие варианты, модификации и другие варианты осуществления изобретения, поэтому все такие варианты, модификации и варианты осуществления изобретения входят в объем настоящего изобретения.

10

Формула изобретения

1. Применение композиции, включающей активный ингредиент цистеамин химической формулы $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-SH}$ и/или его солеподобные соединения и 1-80 мас. % носителя, представляющего собой стабилизирующий цистеамин компонент, в качестве корма, предназначенного для кормления рыбы с целью усиления роста и/или укрепления здоровья указанной рыбы.

15

2. Применение по п.1, где корм предназначен для увеличения массы тела указанной рыбы.

3. Применение по п.1, где корм предназначен для уменьшения смертности рыбы, разводимой в рыбоводных хозяйствах, вследствие болезней или плохих условий содержания.

20

4. Применение по п.1, согласно которому указанный корм скармливают рыбе в составе конечного корма.

5. Применение по п.1, согласно которому указанная композиция содержит, по существу, 1-95 мас. % цистеамина химической формулы $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-SH}$ или его солеподобных соединений.

25

6. Применение по п.1, согласно которому указанный носитель выбирают из группы, включающей циклодекстрин или его производные.

7. Применение по п.5, согласно которому указанная композиция содержит, по существу, 30 мас. % цистеамина или его солеподобных соединений.

30

8. Применение по п.6, согласно которому указанная композиция содержит 20 мас. % указанного носителя.

9. Применение по п.1, согласно которому указанная композиция дополнительно содержит один или несколько ингредиентов, выбираемых из группы, включающей наполнитель, дезинтегратор и связующее вещество.

35

10. Применение по п.1, согласно которому указанная композиция дополнительно содержит вещество покрытия.

11. Применение по п.10, согласно которому указанное вещество покрытия находится в твердом состоянии при комнатной температуре.

40

12. Применение по п.10, согласно которому указанное вещество покрытия является энтеросольюбильным и растворяется в кишечнике указанной рыбы.

13. Применение по п.10, согласно которому указанное вещество покрытия образует многослойную структуру в указанной композиции.

14. Применение по п.10, согласно которому указанное вещество покрытия не растворяется при pH 1,5-3,5.

45

15. Применение по п.4, согласно которому указанный конечный корм дополнительно содержит кормовой концентрат и/или кормовую добавку.

16. Применение по п.4, согласно которому указанный конечный корм содержит приемлемый основной корм, выбираемый из группы, включающей семена капусты, семена хлопчатника, сою, рыбную муку, пшеничные отруби, кормовую пшеничную муку, минералы, витамины и связующие вещества.

50

17. Применение по п.4, согласно которому указанный конечный корм содержит композицию в количестве, обеспечивающем содержание цистеамина, по существу, 30-150

частей на миллион.

18. Применение по п.17, согласно которому указанный конечный корм содержит композицию в количестве, обеспечивающем содержание цистеамина, по существу, 60 частей на миллион.

5 19. Применение по п.4, согласно которому указанный конечный корм содержит, по существу, 100-500 частей на миллион указанной композиции.

20. Применение по п.19, согласно которому указанный конечный корм содержит, по существу, 200 частей на миллион указанной композиции.

10 21. Применение по п.4, согласно которому указанный конечный корм содержит композицию в количестве, обеспечивающем содержание цистеамина в составе конечного корма в сухом состоянии, по существу, 33-165 частей на миллион.

22. Применение по п.4, согласно которому указанный конечный корм в сухом состоянии содержит, по существу, 110-550 частей на миллион указанной композиции.

23. Способ выращивания с уменьшением смертности рыбы, включающий

15 (а) смешивание цистеаминсодержащей композиции с основным кормом, приемлемым для указанной рыбы, и

(б) скармливание указанной рыбе конечного корма, полученного в результате смешивания на стадии (а),

20 причем указанная композиция включает активный ингредиент цистеамин химической формы $\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-SH}$ и/или его солеподобные соединения и 1-80 мас.% носителя, представляющего собой стабилизирующий цистеамин компонент.

24. Способ по п.23, в котором указанное смешивание на стадии (а) включает непосредственное смешивание указанной композиции с указанным основным кормом.

25 25. Способ по п.23, в котором указанное смешивание на стадии (а) включает первоначальное получение премикса, содержащего указанную цистеаминсодержащую композицию, и последующее смешивание указанного премикса с указанным основным кормом с получением указанного конечного корма.

26. Способ по п.25, в котором указанный премикс получают, смешивая указанную композицию с приемлемым пищевым веществом, выбираемым из группы, включающей

30 аминокислоты, соли, фосфор и кукурузную муку.

27. Способ по п.25, в котором указанный премикс содержит 1-25 мас.% указанной композиции.

28. Способ по п.27, в котором указанный премикс содержит 10-20 мас.% указанной композиции.

35 29. Способ выращивания рыбы, включающий стадию скармливания указанной рыбе композиции, описанной в любом из пп.1-22, предпочтительно в составе корма.

30. Способ по п.29, в котором указанной рыбе, находящейся на стадии развития со средней массой тела, равной или меньше 500 г, дают корм, содержащий 100-200 частей на миллион указанной цистеаминсодержащей композиции.

40 31. Способ по п.29, в котором указанной рыбе, находящейся на стадии развития со средней массой тела более 500 г, дают корм, содержащий 200-500 частей на миллион указанной цистеаминсодержащей композиции.

32. Корм для рыбы, предназначенный для кормления рыбы с целью усиления роста и/или укрепления здоровья указанной рыбы, включающий композицию,

45 охарактеризованную в пп.1-22.

33. Способ получения корма для рыбы по п.32, включающий стадию смешивания композиции по пп.1-22 с основным кормом.

34. Композиция для кормления рыбы с целью усиления роста и/или укрепления здоровья указанной рыбы, включающая активный ингредиент цистеамин и 1-80 мас.% носителя,

50 представляющего собой обволакивающее вещество, образующее соединение включения.