



(51) МПК
A61K 36/28 (2006.01)
A61K 36/71 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 36/28 (2018.08); A61K 36/71 (2018.08); A61P 37/00 (2018.08)

(21)(22) Заявка: 2018130129, 20.08.2018

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
20.08.2018

Дата регистрации:
08.02.2019

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 20.08.2018

(45) Опубликовано: 08.02.2019 Бюл. № 4

Адрес для переписки:

308015, Белгородская обл., г. Белгород, ул.
Победа, 85, НИУ "БелГУ", Цириковой Н.Д

(72) Автор(ы):

Покровский Михаил Владимирович (RU),
 Ефремова Марина Павловна (RU),
 Корокин Михаил Викторович (RU),
 Пересыпкина Анна Александровна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное автономное
 образовательное учреждение высшего
 образования "Белгородский государственный
 национальный исследовательский
 университет" (НИУ "БелГУ") (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: RU 2524658 C1, 27.07.2014. RU
 2180586 C1, 20.03.2002. RU 2228190 C1,
 10.05.2004.

(54) Способ иммунокоррекции с использованием экстрактов жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, в частности к экспериментальной фармакологии, и предназначено для иммунокоррекции. Способ иммунокоррекции с использованием экстрактов жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной, включающий воспроизведение иммунодефицита у лабораторных крыс путем введения циклофосфана однократно в дозе 200 мг/кг массы тела крысы на первые сутки эксперимента с последующей его коррекцией на вторые сутки эксперимента, отличающийся тем, что коррекцию

иммунодефицита проводят смесью экстрактов жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной в объемном соотношении 1:1, которую вводят лабораторной крысе внутривентрикулярно, через зонд, в дозе 4,6 мл/кг/сут ежедневно в течение 14 дней. Вышеописанный способ иммунокоррекции с сочетанием компонентов смеси обеспечивает синергетический эффект и эффективно корректирует экспериментальный иммунодефицит. 1 табл., 1 пр.

RU 2 679 402 C1

RU 2 679 402 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 36/28 (2006.01)
A61K 36/71 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 36/28 (2018.08); A61K 36/71 (2018.08); A61P 37/00 (2018.08)(21)(22) Application: **2018130129, 20.08.2018**(24) Effective date for property rights:
20.08.2018Registration date:
08.02.2019

Priority:

(22) Date of filing: **20.08.2018**(45) Date of publication: **08.02.2019** Bull. № 4

Mail address:

**308015, Belgorodskaya obl., g. Belgorod, ul.
Pobeda, 85, NIU "BelGU", Tsurikovoj N.D**

(72) Inventor(s):

**Pokrovskij Mikhail Vladimirovich (RU),
Efremova Marina Pavlovna (RU),
Korokin Mikhail Viktorovich (RU),
Peresypkina Anna Aleksandrovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Belgorodskij gosudarstvennyj
natsionalnyj issledovatel'skij universitet" (NIU
"BelGU") (RU)**(54) **METHOD OF IMMUNOCORRECTION USING EXTRACTS OF FATTY OILS FROM SEEDS OF NIGELLA DAMASCENA AND ECHINACEA PURPUREA**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, in particular to experimental pharmacology, and is intended for immunocorrection. Method of immunocorrection using extracts of fatty oils from seeds of *Nigella damascena* and *Echinacea purpurea*, including reproducing immune deficiency in laboratory rats by administering cyclophosphamide once in a dose of 200 mg/kg per the rat body weight on the first day of the experiment with the subsequent correction on the second day of the experiment, is characterized in that

the correction of immune deficiency is carried out with a mixture of extracts of fatty oils from seeds of seeds of *Nigella damascena* and *Echinacea purpurea* at a volume ratio of 1:1, which is intragastrically administered to the laboratory rat, through a probe, in a dose of 4.6 ml/kg/day daily for 14 days.

EFFECT: described method of immunocorrection with a combination of components of the mixture provides a synergetic effect and effective correction of experimental immune deficiency.

1 cl, 1 tbl, 1 ex

RU 2 679 402 C1

RU 2 679 402 C1

Изобретение относится к медицине, в частности к экспериментальной фармакологии.

По известным литературным источникам – семена чернушки дамасской *Nigella damascena* L. содержат 40-44 % жирного масла, в состав которого входит тимохинон [Маширова, С. Ю. Фармакогностическое изучение семян чернушки дамасской (*Nigella damascena* L.), выращенной в условиях Ставропольского края: диссертация ... кандидата фармацевтических наук: 14.04.02 / Маширова С. Ю.; ГОУВПО "Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия". - Санкт-Петербург, 2013.- 177 с.: ил.], обладающий иммуномодулирующей активностью. Иммуномодулирующее действие тимохинона опосредовано повышением Т-хелперной активности, а также снижением выработки цитокинов: ФНО- α ; ИЛ-6; ИЛ-4; ИЛ-10 и повышением образования ИЛ-3 [Gholamnezhad Z, Boskabady MH, Hosseini M. Effect of *Nigella sativa* on immune response in treadmill exercised rat. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2014; 14:437].

Биологически активные вещества эхинацеи пурпурной *Echinacea purpurea* (L.) Moench. применяют в качестве источников эффективных лекарственных средств с иммуностимулирующей активностью (RU 2524658, публ. 27.07.2014).

Растительные масла – продукты, извлекаемые из растительного сырья и состоящие из триглицеридов жирных кислот и сопутствующих им веществ (фосфолипиды, свободные жирные кислоты, воски, стеролы и др.). Масляные экстракты или экстракты жирных масел – это растительное масло, в котором содержатся только полезные вещества, изъятые из растительного сырья [Нечипасова Д.И., Зацепина Е.Е., Ивашев М.Н. УНИФИКАЦИЯ ПОНЯТИЙ «ЖИРНОЕ МАСЛО», «ЭКСТРАКТ ЖИРНОГО МАСЛА» И СИНОНИМИЧНЫХ ИМ ПО СМЫСЛУ ТЕРМИНОВ // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – № 10-3. – С. 473-474], в чем заключается их преимущество.

Известен способ коррекции экспериментального иммунодефицита на примере циклофосфановой модели (Морозова Е.Н. Изменения морфометрических параметров лимфатических узелков пейеровых бляшек тонкой кишки после коррекции иммунодефицитного состояния имунофаном в эксперименте // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – Т.10, № 4. – 2011 - С. 19-22), который характеризуется тем, что эксперименты проводили на 36 половозрелых белых крысах-самцах. Крысы были разделены на 2 группы по 18 особей. Животным первой группы вводили циклофосфан однократно в дозе 200 мг/кг (1-е сутки), затем имунофан по схеме (2-е, 4-е, 6-е, 8-е и 10-е сутки) в дозе 0,7 мкг/кг. Второй группой служили интактные крысы. Животных выводили из эксперимента на 7-е, 30-е и 90-е сутки после завершения введения имунофана. Тонкую кишку фиксировали в 10% растворе формалина, затем подвергали стандартной гистологической проводке. Срезы толщиной 5-6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. При помощи автоматизированного морфометрического комплекса измеряли высоту и ширину лимфатических узелков, их герминативных центров и межузелковых зон.

Основным недостатком способа является то, в эксперименте не проводили сравнение морфометрических параметров лимфатических узелков пейеровых бляшек тонкой кишки в группе с коррекцией иммунодефицита имунофаном с показателями в группе животных с иммунодефицитом (группой контроля), вследствие чего не получено достоверных различий морфометрических параметров в группе с патологией и группе с коррекцией патологии, что не подтверждает эффективность применения имунофана на модели циклофосфанового иммунодефицита в эксперименте.

Наиболее близким к заявленному решению является способ иммунокоррекции апи-

фитокомпозицией (RU 2524658, публ. 27.07.2014), включающий воспроизведение иммунодефицита у лабораторных животных путем введения циклофосфана однократно в дозе 200 мг/кг массы тела лабораторного животного (1-е сутки эксперимента) с последующей ее коррекцией, причем, коррекцию иммунодефицита проводят апи-
5 фитокомпозицией в виде водной суспензии меда, пыльцы, прополиса, экстракта эхинацеи пурпурной в соотношении 10:1:1:2, которую вводят лабораторному животному внутрижелудочно (через зонд), в дозе 200 мг/кг ежедневно в течение 10 дней на вторые сутки эксперимента.

Недостатком данного решения является то, что мед и прополис являются продуктами,
10 применение которых вызывает аллергические реакции – от зуда в слизистой оболочке полости рта до серьезных системных симптомов и анафилактического шока (Bauer L, Kohlich A, Hirschwehr R et al. Food allergy to honey: pollen or bee products? Characterization of allergenic proteins in honey by means of immunoblotting. J Allergy Clin Immunol. 1996 Jan; 97(1 Pt 1):65-73; Hashimoto T, Tori M, Asakawa Y, Wollenweber E. Synthesis of two allergenic
15 constituents of propolis and poplar bud excretion. Z Naturforsch C. 1988 May-Jun;43(5-6):470-2).

Задачей предлагаемого изобретения является создание эффективного способа иммунокоррекции с использованием экстрактов жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной, обеспечивающих синергетический эффект и
20 исключая недостаток прототипа.

Техническим результатом предлагаемого изобретения является эффективный способ иммунокоррекции с использованием экстрактов жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной, обеспечивающих синергетический эффект, подтверждаемый результатами морфометрических исследований параметров
25 лимфатических узелков пейеровых бляшек тонкой кишки лабораторных крыс на модели циклофосфанового иммунодефицита в эксперименте и исключая недостаток прототипа.

Поставленная задача достигается тем, что предложен способ иммунокоррекции с использованием экстрактов жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи
30 пурпурной, включающий воспроизведение иммунодефицита у лабораторных крыс путем введения циклофосфана однократно в дозе 200 мг/кг массы тела крысы на первые сутки эксперимента с последующей его коррекцией на вторые сутки, причем коррекцию иммунодефицита проводят смесью экстрактов жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной в объемном соотношении 1:1, которую вводят
35 лабораторной крысе внутрижелудочно, через зонд, в дозе 4,6 мл/кг/сут ежедневно в течение 14 дней.

Сочетание компонентов смеси обеспечивает синергетический эффект, эффективно корректирует экспериментальный иммунодефицит и исключает недостаток прототипа.

Основным преимуществом предлагаемого способа является то, что введение смеси
40 экстрактов жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной в объемном соотношении 1:1 приводит к выраженной коррекции экспериментального иммунодефицита. Помимо этого, в эксперименте проводили сравнение морфометрических параметров лимфатических узелков пейеровых бляшек тонкой кишки в группе с коррекцией иммунодефицита смесью экстрактов жирных масел из
45 семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной с показателями группы животных с иммунодефицитом (группой контроля), вследствие чего выявлены достоверные отличия в сравнении с моделью циклофосфанового иммунодефицита.

СПОСОБ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ СЛЕДУЮЩИМ ОБРАЗОМ

Опыты проводят на 50 белых крысах-самцах половозрелого возраста массой 200-250 г. Крысы были разделены на 5 групп по 10 особей в каждой: 1 группа – интактные крысы,

2 группа – крысы с моделью иммунодефицита (контроль),

5 3 группа – крысы с коррекцией иммунодефицита экстрактом жирного масла из семян чернушки дамасской,

4 группа – крысы с коррекцией иммунодефицита экстрактом жирного масла из эхинацеи пурпурной,

10 5 группа – крысы с коррекцией иммунодефицита смесью экстрактов жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной.

Животным 2 группы вводили циклофосфан однократно в дозе 200 мг/кг массы тела на 1-е сутки эксперимента. В 3 группе проводится коррекция иммунодефицита внутрижелудочным введением, через зонд, экстракта жирного масла из семян чернушки дамасской ежедневно, начиная со второго дня эксперимента, в дозе 2,3 мл/кг массы
15 тела крысы в течение 14 дней. В 4 группе проводится коррекция иммунодефицита внутрижелудочным введением, через зонд, экстракта жирного масла из эхинацеи пурпурной ежедневно, начиная со второго дня эксперимента, в дозе 2,3 мл/кг массы тела крысы в течение 14 дней. В 5 группе проводится коррекция экспериментального иммунодефицита путем внутрижелудочного введения, через зонд, смеси экстрактов
20 жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной в объемном соотношении 1:1, которую вводят лабораторной крысе в дозе 4,6 мл/кг, начиная со второго дня эксперимента в течение 14 дней.

Животных выводили из эксперимента на 15-е сутки. Тонкую кишку фиксировали в 10% растворе формалина, затем подвергали стандартной гистологической проводке.
25 Срезы толщиной 5-6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. При помощи автоматизированного морфометрического комплекса (световой микроскоп Olympus CX 41, цифровая фотокамера, персональный компьютер с набором прикладных программ) измеряли высоту и ширину лимфатических узелков, их герминативных центров.

30 Достоверность наблюдавшихся при действии изучаемых фармакологических агентов изменений параметров определяли разностным методом с нахождением средних значений сдвигов (M), средней ошибки ($\pm m$) и вероятности возможной ошибки (p). Различия оценивали как достоверные при $p < 0,05$. Статистические расчеты проводились с использованием программы Microsoft Excel 2003.

35 ПРИМЕР КОНКРЕТНОГО ВЫПОЛНЕНИЯ

В иммунном аппарате тонкой кишки выделяют В-зависимую (лимфатические узлы (ЛУ) с герминативным центром) зону. Изменение их морфометрических параметров может отражать функциональные особенности периферического иммунного аппарата. При недостаточности гуморального и клеточного иммунитета периферические
40 лимфоузлы уменьшаются или отсутствуют.

Результаты морфометрического исследования в экспериментальных группах приведены в таблице 1.

Таблица 1

Морфометрические параметры лимфатических узелков пейеровых бляшек тонкой кишки крыс на 15 сутки эксперимента ($M \pm m$), мкм

Параметры	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5
Высота ЛУ	950,4±35,1	721,8±46,3*	891,0±51,2 ^y	848,0±49,3* ^y	950,9±38,9 ^y
Ширина ЛУ	1077,2±64,3	826,2±52,0*	984,0±61,5 ^y	921,3±54,5*	1067,7±66,8 ^y
Высота ГЦ	624,1±40,2	503,5±26,1*	604,6±28,1 ^y	577,2±21,9* ^y	621,5±42,2 ^y
Ширина ГЦ	737,0±47,1	561,2±37,9*	691,1±39,2 ^y	600,1±34,8*	740,2±50,1 ^y

Примечание: ^y - $p < 0,05$ в сравнении с группой контрольных животных, * - $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных.

Показатели высоты ЛУ у крыс с моделированием иммунодефицита уменьшались к 15-м суткам эксперимента на 24% по сравнению со средним значением в группе интактных животных ($p < 0,05$). В группе с коррекцией иммунодефицита экстрактом жирного масла из семян чернушки дамасской данный показатель значимо не отличается от среднего значения группы интактных животных. В группе с коррекцией патологии экстрактом жирного масла из эхинацеи пурпурной данный показатель ниже на 5%, чем в группе 3. В группе 5 наблюдается наиболее близкое к норме значение высоты ЛУ, что указывает на усиление фармакологических эффектов при совместном применении экстрактов жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной.

Ширина ЛУ у крыс с моделированием иммунодефицита значимо уменьшались к 15-м суткам эксперимента на 23% по сравнению со средним значением в группе интактных животных ($p < 0,05$). Наиболее эффективная коррекция данного параметра наблюдается в группе 5, что также указывает на усиление иммуностимулирующих эффектов при совместном применении экстрактов жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной.

Исходя из средних значений высоты и ширины ГЦ в экспериментальных группах, можно сделать вывод, что лучшая коррекция наблюдается при совместном применении экстрактов жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной, и значения данных показателей достоверно не отличаются от нормы.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о выраженной иммунокоррекции в условиях модели циклофосфанового иммунодефицита у крыс предлагаемой смесью экстрактов жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной. Сочетание компонентов композиции обеспечивает синергетический эффект и эффективно корректирует экспериментальный иммунодефицит.

(57) Формула изобретения

Способ иммунокоррекции с использованием экстрактов жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной, включающий воспроизведение иммунодефицита у лабораторных крыс путем введения циклофосфана однократно в дозе 200 мг/кг массы тела крысы на первые сутки эксперимента с последующей его коррекцией на вторые сутки эксперимента, отличающийся тем, что коррекцию иммунодефицита проводят смесью экстрактов жирных масел из семян чернушки дамасской и эхинацеи пурпурной в объемном соотношении 1:1, которую вводят лабораторной крысе внутривентрикулярно, через зонд, в дозе 4,6 мл/кг/сут ежедневно в течение 14 дней.