

(19) საქართველოს
ინტელექტუალური
საკუთრების
ეროვნული ცენტრი
საქპატენტო



(11) **GE P 2015 6254 B**
(10) AP 2014 12262 A
(51) Int. Cl. (2006)
A 61 K 36/899
A 61 K 8/97
A 61 P 37/08

(12) **ბამოგონებაზე პატენტის აღწერილობა**

(21) AP 2009 12262 (22) 2009 09 15 (24) 2009 09 15
(31) 0857755 (32) 2008 11 14 (33) FR
(44) 2014 11 25 №22 (45) 2015 03 10 №5
(85) 2011 06 13 (86) PCT/EP 2009/061971, 2009 09 15

(73) პიერ ფაბრ დერმო-კოსმეტიკ (FR)
45, პლას აბელ განს, 92100
ბულონ-ბილანკური (FR)
(72) ანი მანდო (FR);
ბერნარ ფაბრი (FR);
ვალერი ტეისეირ (FR);
ჟან-ფრანსუა ბოე (FR);
ვერონიკ კრებასა-ტრიგურო (FR)
(74) გიორგი მეიფარიანი

(56) 1.Pecquet C., et al., "New allergens in hydrolysates of wheat proteins". Rev Fr Allerg Immunol 2003.

(54) **ჰიპოალერგიული დერმატოლოგიური შეღებნილობა**

(57) გამოგონება ეხება შერევის მიწისზედა ნაწილებიდან ექსტრაქტს, რომელიც შეიცავს ფლავონოიდებს და A და B ავენაკოზიდებს. გარდა ამისა, ეხება ამ ექსტრაქტის გამოყენებას ჰიპოალერგიული დერმატოლოგიური კომპოზიციის დასამზადებლად და ამ კომპოზიციის გამოყენებას ადამიანებში, რომლებიც ალერგიული არიან მარცვლეულის მიმართ.

მუხლები: 3 დამოუკიდებელი
3 დამოკიდებული
ფიგურა: 3

GE P 2015 6254 B

gamogonebaze patentis aRweril oba

წინამდებარე გამოგონება ეხება ალერგიებს მარცვლეულის მიმართ.

მოცემულ გამოგონებაში შედის მარცვლეული, რომელიც შეიცავს Poaceae-ს და ფსევდომარცვლეულს.

ტერმინი “მარცვლეული” ეხება მარცვლოვან კულტურებს, რომლის მწიფე “მარცვალი” (ნაყოფის მარცვლისებრი ტიპი) გამოიყენება საკვებად, უმთავრესად, სასამებლის მაღალი შემცველობის გამო (Paris R.R., Moyse H. Précis de matière médicale. II Pharmacognosie spéciale. Spermaphytes (continued): Angiospermes. Monocotylédones – Dicotylédones. Apétales et Diapétales. 2nd Edition, Paris: Masson, 1981, p16). ტერმინი “მარცვლეული” ასევე დაკავშირებულია სპეციფიკურად ამ მცენარეების თესლთან.

ბოტანიკაში მარცვლეული მიეკუთვნება მინდვრის მცენარეების –*Poaceae* (ან მარცვლოვან მცენარეების) ოჯახს.

აღნიშნული მარცვლოვანი მცენარეები ძირითადად ბალახოვანი ერთლებნიანი მცენარეებია, კვანძებს შორის ღრუ ღეროთი, რომელიც ატარებს ორმწკრივად განლაგებულ ფოთლებს, ხშირად გახლეჩილს და ლიგულა-შემცველი ფურცლებით. ყვავილები განლაგებულია მეორად თავთავებში და უფრო ხშირად კონად არის დაჯგუფებული, რომელსაც “საგველა” ეწოდება. ყვავილი ვიწროვდება მტვრიანებით და ნასკვით: ორი ფოთლოვანი თანაყვავილი ან კილი (ქერცლი) იცავს მეორად თავთავს და ყვავილის ორი ქვედა კილი, რომელთაგან ერთი არის წინა, თხელი, შეხვეული, ხშირად ფხისებური, ამოდის ყვავილთან ერთად. სამი გამოშვებული მტვრიანა დამაგრებულია უკანა მხრიდან და რხევადია. ნასკვს ერთი ნაყოფოვანოვანი (ბუტკო) გააჩნია ორი წვრილი სვეტით, რომელიც მჭიდროდ ეკვრის თესლკვირტს და რომლისგანაც ვითარდება ერთი ნაყოფი. ამ ნაყოფს მარცვალი ეწოდება; მისი უხვი ალბუმინი სასამებლიანია.

ამ ოჯახში შედის დაახლოებით 700 გვარი და 12000 სახეობა.

ბალახთა უმეტესობა საკვებად გამოიყენება (ხორბალი, ქერი, ჭვავი, შვრია, სორგო, ფეტვი, სიმინდი, ბრინჯი და ა.შ.)

მარცვლეულის სახეობები, რომლებიც ტრადიციულად ყველაზე ხშირად მოიხმარება, ჩამოთვლილია ქვემოთ, ცხრილში 1.

ცხრილი 1: Poaceae ოჯახის კუთვნილი მარცვლეულის სახეობები, რომლებიც ძირითადად მოიხმარება

ლათინური დასახელება	ადგილობრივი დასახელება
<i>Avena abyssinica</i> Hochst.	
<i>Avena brevis</i> Roth.	
<i>Avena nuda</i> L.	შიშველი შვრია
<i>Avena sativa</i> L.	
<i>Bromus mango</i> E. Desv.	
<i>Coix lacryma-jobi</i> var. <i>ma-yuen</i> (Rom.Caill.) Stapf	
<i>Dendrocalamus strictus</i> (Roxb.) Nees	
<i>Digitaria exilis</i> (Kippist) Stapf	
<i>Digitaria iburua</i> Stapf	
<i>Echinochloa esculenta</i> (A.Braun) H. Scholz	ფეტვი იაპონური, ბურჩხა
<i>Eleusine coracana</i> subsp. <i>coracana</i>	წითელი ფეტვი
<i>Eragrostis tef</i> (Zuccagni) Trotter	ნამიკრეფია
<i>Hordeum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	ქერი ჩვეულებრივი მრავალმწკრივა
<i>Oryza glaberrima</i> Steud.	აფრიკული ბრინჯი
<i>Oryza sativa</i> L.	ბრინჯი
<i>Panicum hirticaule</i> J. Presl	
<i>Panicum miliaceum</i> subsp. <i>miliaceum</i>	ჩვეულებრივი ფეტვი
<i>Panicum sumatrense</i> Roth	
<i>Paspalum scrobiculatum</i> L.	
<i>Pennisetum glaucum</i> (L.) R. Br.	აფრიკული ფეტვი
<i>Phalaris canariensis</i> L.	კანარის ჩიტოფეტვა
<i>Secale cereal</i> subsp. <i>cereale</i>	ჭკავი
<i>Secale strictum</i> subsp. <i>africanum</i> (Stapf) K.Hammer	
<i>Setaria italica</i> subsp. <i>italica</i>	იტალიური ფეტვი, ქერიმა, მოჰარი, უნგრული ფეტვი
<i>Setaria palmifolia</i> (J. Koenig) Stapf	
<i>Setaria pumila</i> subsp. <i>pumila</i>	ძურწა
<i>Sorghum bicolor</i> subsp. <i>bicolor</i>	სორგო
xTriticosecale spp.	ტრიტიკალე
<i>Triticum aestivum</i> subsp. <i>aestivum</i>	ჩვეულებრივი ხორბალი, ხორბალი
<i>Triticum aestivum</i> subsp. <i>spelta</i> (L.) Thell.	სპელტა
<i>Triticum aestivum</i> subsp. <i>sphaerococcum</i> (Percival) Mackey	
<i>Triticum monococcum</i> subsp. <i>monococcum</i>	ზანდური, ცალმარცვალა ხორბალი
<i>Triticum timopheevii</i> subsp. <i>timopheevii</i>	
<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>carthlicum</i> (Nevski) A. Love & D. Love	დიკა
<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>durum</i> (Desf.) Husn.	თავთუხი, მაგარი ხორბალი
<i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>polonicum</i> (L.) Thell.	პოლონური ხორბალი
<i>Triticum zhukovskyi</i> A.M. Menabde & Eritzjan	
<i>Urochloa deflexa</i> (Schumach.) H. Scholz	
<i>Urochloa ramosa</i> (L.) T. Q. Nguyen	
<i>Zizania palustris</i> L.	
<i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> L.	სიმინდი

ზოგი მარცვალი, რომელიც სხვა ბოტანიკურ ოჯახს მიეკუთვნება, ჰგავს მარცვლოვანებს და მათ მოიხსენიებენ როგორც პსევდომარცვლოვანებს. ასეთი სახეობების ნიმუშები, რომლებიც მარცვლოვანების მონათესავეა, მაგრამ არ ეკუთვნის Poaceae ოჯახს, ასევე მოიხმარება საკვებად და ჩართულია საკვებით გამოწვეულ ალერგიებში. ისინი ჩამოთვლილია ქვემოთ, ცხრილში 2:

ცხრილი 2: მარცვლეულის მონათესავე ძირითადი სახეობები, რომლებიც არ ეკუთვნის Poaceae ოჯახს

ლათინური დასახელება	ადგილობრივი დასახელება	ოჯახი
Amaranthus caudatus L.	ლაქაში მარცვლოვანი ჯიჯლაყა კუდა ჯიჯლაყა მელაკუდა	Amaranthaceae
Amaranthus cruentus L.	წითელი ჯიჯლაყა	Amaranthaceae
Amaranthus hypochondriacus L.		Amaranthaceae
Chenopodium album L.	ნაცარქათამა	Chenopodiaceae
Chenopodium berlandieri subsp. nuttalliae (Saff) H.D. Wilson & Heiser		Chenopodiaceae
Chenopodium pallidicaule Aellen		Chenopodiaceae
Chenopodium quinoa subs. quinoa	თათაბო, პერუს ბრინჯი	Chenopodiaceae
Fagopyrum esculentum Moench	ჩვეულებრივი წიწიბურა	Poligonaceae
Fagopyrum tataricum (L.) Gaertn.	თათრული წიწიბურა	Poligonaceae
Helianthus annuus L.	მზესუმზირა	Asteraceae
Sesamum indicum L.	ქუნჯუტი	Pedaliaceae

მარცვლეული და პსევდომარცვლეული შეიცავს მრავალ პროტეინს: სტრუქტურულ პროტეინებს, ბიოლოგიურად მოქმედ პროტეინებს და სარეზერვო პროტეინებს. ოსბორნმა მოახდინა მათი კლასიფიკაცია (1907) ხსნადობის მიხედვით:

- წყალში ხსნადი ალბუმინები
- მარილხსნარებში ხსნადი გლობულინები
- წყლიან ეთანოლში ხსნადი პროლამინები
- ზემოთ დასახელებულ გამხსნელებში უხსნადი გლუტელინები,

ნაწილობრივ ხსნადი შარდოვანასა ან გუანინის ხსნარებში.

მაგალითები:

	ხორბალი	შვრია	ქერი	სიმინდი
ალბუმინები	ლეიკოზინები			
გლობულინები	ედესტინები	ავენალინები		
პროლამინები	გლიადინები	გლიადინები	ჰორდეინები	ზეინსები

გლუტელინები	გლუტენინები	ავენინები	ჰორდენინები	ზეანინები
-------------	-------------	-----------	-------------	-----------

საპირისპიროდ, მიწისზედა (ეთეროვანი) ნაწილების, განსაკუთრებით კი ფოთლების პროტეინები შედგება:

- ქლოროპლასტის (ხშირად ლიპიდებთან და პიგმენტებთან დაკავშირებული პროტეინები) მემბრანული პროტეინებისაგან
- ქლოროპლასტის (სტრომა) ხსნადი პროტეინებისაგან: RuBPCase.

თათაბოს [ქენოა], მზესუმზირას, შვრიის, ქერის და *Zizania palustris*-ის ფოთლები, ხორბლის ახალგაზრდა ყლორტები და ასევე ქუნჯუთის, ბრინჯის, ხორბლის და სიმინდის აღმონაცენი (ჯეჯილი) უკვე გამოიყენება კოსმეტიკაში. მაგალითად, ახალგაზრდა მწვანე ქერის ყლორტები გამოიყენება დაბერების საწინააღმდეგო საშუალებად.

დარგის ადრინდელ მიღწევებში ასევე შედის:

- *Amaranthus*-ის (ჯიჯლაყა) ფოთლების ექსტრაქტის გამოყენება ანთების საწინააღმდეგო სამკურნალო საშუალებად, კერძოდ, დიფუზური ნეიროდერმიტის მკურნალობისათვის (JP patent 2000143524);
- კომპოზიციის, რომელიც შეიცავს შვრიის ნამჯის ექსტრაქტს მათიტელას, წყალნაწყენის, ცოცხმაგარას, თხაწართხალას ექსტრაქტთან ერთად, ადგილობრივად გამოყენება კანის ანთებითი რეაქციების სამკურნალოდ (EP1474159);
- ხორბლის ჯეჯილის ექსტრაქტის შემცველი კოსმეტიკური კომპოზიცია (WO09526183);
- მზესუმზირას ღეროების ექსტრაქტის შემცველი კოსმეტიკური პროდუქტი, რომელსაც გააჩნია კანზე რეგენერაციული ეფექტები (FR2487674).

ცნობილია, რომ მარცვლეულის ფქვილი, განსაკუთრებით კი ხორბლის ფქვილი, შესუნთქვისას არის პურის მცხობელების ასთმისა და ალერგიული რინიტების გამომწვევი. ყველაზე უფრო ძლიერი IgE რეაქცია აღინიშნება ალბუმინებზე და გლობულინებზე, რომლების პროტეინები ხსნადია ნეიტრალურ ხსნარებში. თუმცა, ზოგიერთმა გამოკვლევამ აჩვენა ასევე რეაქციულობა ეთანოლში და მუავე გარემოში (გლუტენინები და გლიადინები) ხსნადი პროტეინების მიმართაც. უკანასკნელ ხანს, იმუნობლოტურმა გამოკვლევებმა აჩვენა, რომ ხორბლისა და ქერის ფქვილის ნეიტრალურ ფრაქციებში მთავარი ალერგენები განლაგებულია დაბალი მოლეკულური წონის დიაპაზონში (20 kDa-

კილოდალტონის ირგვლივ) მცხობელების ალერგიით დაავადებული პაციენტების შრატში.

საკვებად მიღებისას მარცვლეული ზოგჯერ პასუხისმგებელია მუცლის ღრუს დაავადებებსა და ჰერპესულ დერმატიტზე. რამოდენიმე გამოკვლევამ აჩვენა, რომ უმეტესად ჩართული ანტიგენი უნდა იყოს ეთანოლ-ხსნადი პროტეინების გლიადინ ფრაქციები.

მიუხედავად იმისა, რომ მარცვლეულს მნიშვნელოვანი ადგილი უჭირავს ადამიანის საკვებში, ეჭვი აქვთ, რომ იგი იწვევს დიფუზური ნეიროდერმიტის მდგომარეობის გაუარესებას, განსაკუთრებით ბავშვებში. მსგავსად ამისა, იმუნოლოგიურმა კვლევამ (ძირითადად, SPT ტესტები – Skin Prick Test – და RAST – Radioallergosorbent Test) შესაძლო გახდა ხორბალში, შვრიებში, ჭვავში, ქერში, ბრინჯში, ფეტვში და სიმინდში შემავალი პროტეინების იდენტიფიცირება და აჩვენა ჯვარედინი-რეაქციები ხორბალს და ქერს ან ჭვავს შორის (Varjonen E, Vainio E, Kalimo K, Juntunen-Backman K, Savolainen J, Skin-prick-ტესტი და RAST რეაქციები მარცვლეულის მიმართ ბავშვებში დიფუზური დერმატიტით. IgE-ბმის კომპონენტების დახასიათება ხორბალსა და შვრიაში იმუნობლოტინგის მეთოდის საშუალებით. Clin Exp Allergy 1995, 25:1100-1107) (Palosuo K., Alenius H, Varjonen E, Kalkkinen N, Reunala T. ჭვავის γ -70 და γ -35 სეკალინები და ქერის γ -3 პორდინი ჯვარედინ-რეაქციაში შედის ω -5 გლიადინთან, მთავარ ალერგენტთან ხორბალზე-დამოკიდებულ, საცდელად-ინდუცირებულ ანაფილაქსიაში. Clin Exp Allergy, 2001, 31:466-473). როგორც ჩანს, მარცვლეულის მიღებისას, დიფუზური ნეიროდერმიტის გამომწვევი უნდა იყოს ყველაზე ნაკლებად ხსნადი პროტეინები (გლიადინები და გლუტენინები). მრავალმა წინასწარმა გამოკვლევამ აჩვენა, რომ დიფუზური ნეიროდერმიტით დაავადებულ ბავშვებში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს საკვების მიმართ ჰიპერსენსიტიურობა და რომ საკვებიდან ალერგენების ამოღება იძლევა კლინიკურად გაუმჯობესებას.

კონტაქტური ალერგიის რამოდენიმე მაგალითია დასახელებული მარცვლეულის (ძირითადად ხორბლის პროტეინები, ჰიდროლიზირებული ან არაჰიდროლიზირებული, ასევე ქუნჯუთი) ექსტრაქტებზე დაფუძნებული კოსმეტიკის მიმართ მგრძობიარე ინდივიდებში. ხორბლის პროტეინების ჰიდროლიზმა, რომელიც შეიძლება რომ ყოფილიყო ალერგიული პრობლემების შემარბილებელი, პირიქით, გაცილებით მეტი მასენსიბილიზირებელი შედეგი აჩვენა. ჰიდროლიზით ინდუცირებულმა სტრუქტურულმა ცვლილებებმა ანტიგენის ახალი ადგილები აღმოაჩინა (Pecquet

C, Laurière M, New allergens in hydrolysates of wheat proteins.. Rev Fr Allerg Immunol Clin 2003, 43:21-23).

მიჩნეულია, რომ ალერგიული პიროვნებები, განსაკუთრებით ბავშვები, უნდა მოერიდონ მარცვლეულის პროტეინების მიღებას როგორც პერორალურად, ისე ადგილობრივი გზით.

ამიტომ, არსებობს საჭიროება და დიდი მოთხოვნილება კოსმეტიკაზე მარცვლეულის მარცვალზე მგრძნობიარე ან ალერგიული პიროვნებებისათვის.

მოულოდნელად, გამოგონების ავტორებმა აჩვენეს, რომ უპირატესად თავთავის გამოსვლამდე მოგროვებული მარცვლეულის ან პსევდომარცვლეულის მიწისზედა ნაწილების ექსტრაქტის შემცველი კოსმეტიკური კომპოზიცია არ იძლევა ჯვარედინ-რეაქციას იმ პროტეინებთან, რომლებიც პასუხისმგებელია მარცვლეულის თესლის მიმართ ალერგიებზე.

ამიტომ მოცემული გამოგონების მიზანია მარცვლეულის და/ან პსევდომარცვლეულის მიწისზედა ნაწილების, გარდა მარცვალისა, ექსტრაქტით უზრუნველყოფა იმ ადამიანებში გამოსაყენებლად, რომლებიც ალერგიულები არიან მარცვლეულის მარცვალის პროტეინების მიმართ.

ტერმინით “მარცვლეულის და/ან პსევდომარცვლეულის მიწისზედა ნაწილები” აქ აღინიშნება მიწის ზემოთ განლაგებული ნებისმიერი ნაწილი, მარცვალის გამოკლებით.

უპირატესად, “მარცვლეულის და/ან პსევდომარცვლეულის მიწისზედა ნაწილები” შეიცავს ფოთლებს და/ან ღეროებს და/ან მეორად თავთავებს და/ან ყვავილებს, მარცვალი გამორიცხულია.

უკეთესია, რომ გამოგონებით მოცემული ექსტრაქტი იყოს მარცვლეულის და/ან პსევდომარცვლეულის თავთავის გამოსვლამდე მოგროვებული მიწისზედა ნაწილ(ებ)ის ექსტრაქტი.

მოცემული გამოგონების მიხედვით, ფრაზა “თავთავის გამოსვლამდე მოგროვებული მარცვლეულისა და/ან პსევდომარცვლეულის მიწისზედა ნაწილები” აღნიშნავს მარცვლეულისა და/ან პსევდომარცვლეულის აღმოცენების შემდეგ მოგროვებულ ნაწილებს (დაახლოებით 2 კვირიდან 2 თვემდე აღმოცენების შემდეგ), ღეროს დაგრძელების ეტაპზე, თავთავის გამოსვლამდე.

ტერმინი “ღეროს დაგრძელება” გამოგონების მიხედვით აღნიშნავს ზრდის ფაზას, რომელიც შეესაბამება ღეროს დაგრძელებას და ფორმირების სტადიაში მყოფი თავთავის გამოსვლას, ყვავილობამდე.

უპირატესად, გამოგონებით მოცემული ექსტრაქტი მიღებულია ხორბლის, ბრინჯის, ქერის ან შვრიების მიწისზედა ნაწილ(ებ)იდან.

შვრიების მიწისზედა ნაწილ(ებ)ის ექსტრაქტი, გამოგონების მიხედვით, რომელიც უპირატესად გამოიყენება მარცვლეულის მარცვალის პროტეინების მიმართ ალერგიულ ადამიანებში, შეიცავს 2-დან 15% ფლავონოიდებს და 0.2-დან 2%-მდე A და B ავენაკოზიდებს, უპირატესად 5-დან 10%-მდე იზოვიტექსინ-2"-O-არაბინოპირანოზიდის და იზოორიენტინ-2"-O-არაბინოპირანოზიდის ფლავონოიდებს და/ან ექსტრაქტში პროტეინების შემცველობა არის 1 ppm-ზე ნაკლები, უპირატესია 0.5 ppm და კიდევ უფრო უკეთესია 0.3 ppm პროტეინების შემცველობა.

შვრიის მიწისზედა ნაწილ(ებ)ის გამოყენებული ექსტრაქტი განსხვავდება იმით, რომ შეიცავს საინტერესო ფლავონოიდებს და საპონინებს. ისინი გაანალიზებული იყო მაღალი წნევის თხევადი ქრომატოგრაფიის საშუალებით, ორი სხვადასხვა მეთოდიდან ნებისმიერის გამოყენებით, რომელიც შესაფერისია ნაერთების თითოეული ტიპისათვის.

ამ სხვადასხვა მოლეკულების რაოდენობა იცვლებოდა ექსტრაქციის პირობების მიხედვით. მთავარი ფლავონოიდებია იზოვიტექსინ-2"-O-არაბინოპირანოზიდი და იზოორიენტინ-2"-O-არაბინოპირანოზიდი. მთავარი საპონინებია A და B ავენაკოზიდები. ესენი არის ბისდესმოსიდური სტეროიდული საპონინები.

უპირატესად, გამოგონებით მოცემული ექსტრაქტი არის ხორბლის, ბრინჯის ან შვრიის თავთავის გამოსვლამდე მოგროვებული მიწისზედა ნაწილ(ებ)ის ექსტრაქტი და უფრო უპირატესია თავთავის გამოსვლამდე მოგროვებული შვრიის მიწისზედა ნაწილ(ებ)ის ექსტრაქტი.

უპირატესად, გამოგონებით მოცემული ექსტრაქტი არის ორგანულ გამხსნელში მიღებული ექსტრაქტი.

გამოგონებით მოცემული ექსტრაქტის დამზადება შესაძლებელია მარცვლეულის ან პსევდომარცვლეულის მიწისზედა ნაწილ(ებ)ის (აღმოცენებიდან დაახლოებით 2 კვირიდან 2 თვის შემდეგ, ღეროს დაგრძელების ეტაპის განმავლობაში, თავთავის გამოსვლამდე მოგროვებულის) გაშრობისა და დაფქვის შემდეგ ექსტრაჰირებით ორგანულ გამხსნელში. კერძოდ, გამოყენებულია ორგანული გამხსნელი, რომელიც არჩეულია კეტონების, რთული ეთერების, C1-დან C4-მდე სპირტების და ნებისმიერი შერევადი პროპორციით მათი ნარეგების შემცველი ჯგუფიდან. უპირატესად გამოყენებულია ორგანული

გამსხნელი, არჩეული აცეტონის, მეთილეთილ კეტონის, მეთილიზობუტილ კეტონის, ეთილაცეტატის, C1-დან C4-მდე სპირტების და ნებისმიერი შერევადი პროპორციით მათი ნარეგების შემცველი ჯგუფიდან.

ექსტრაქცია სრულდება მორევის ან სტატიკურ პირობებში.

ექსტრაქცია სრულდება რეფლუქსის ქვეშ ან ოთახის ტემპერატურაზე.

უპირატესად, ექსტრაქცია სრულდება მცენარე/გამსხნელი პროპორციისას დიაპაზონში 1:7-დან 1:20-მდე, უფრო უპირატესად 1:8-დან 1:12 მდე.

უპირატესად, ექსტრაქცია სრულდება 30 წუთიდან 48 საათამდე დროის განმავლობაში, საუკეთესოა 60-დან 120 წუთამდე დროის შუალედი.

ექსტრაქციის გამეორება შესაძლებელია 2-დან 3 ჯერამდე.

ექსტრაქციის ეტაპის შემდეგ მიღებული გამონახადი გამოცალკევდება ექსტრაქტისაგან ცენტრიფუგირების ან ფილტრაციის საშუალებით და შესაძლებელია ხსნარის მეტნაკლებად კონცენტრირება მშრალი მასალის მიღებამდე.

გაუფერულების მიზნით დამუშავების განხორციელება შესაძლებელია ან კონცენტრირების, პრეციპიტაციისა და ფილტრაციის საშუალებით დილიპიდაციით ან კონცენტრირებული ან არაკონცენტრირებული ექსტრაქტის ხსნარის შერევით შთანთქმელ სუბსტრატთან, როგორცაა აქტივირებული ნახშირი ან შთანთქმელი ფისი.

სუბსტრატის დამატება შესაძლებელია გაშრობის ეტაპზე მშრალი ნივთიერების მიმართ წონითი შეფარდებით 1-დან 75%-მდე დიაპაზონში. სუბსტრატი შეიძლება რომ იყოს შაქარი, როგორცაა მალტოდექსტრინი, ლაქტოზა, სილიციუმის ორჟანგი ან ნებისმიერი სხვა, კოსმეტოლოგიურად მისაღები სუბსტრატი.

უპირატესად, ეს ექსტრაქტი მიიღება ექსტრაქციის საშუალებით აცეტონში ან აცეტონ/წყალში 20%-მდე წყალით. აცეტონის ან აცეტონ/წყალი 20%-მდე წყალით ექსტრაქტი შეიცავს საინტერესო მოლეკულებს, ფლავონოიდებს და საპონინებს და ძლიერ გადარიბებულია პროტეინებით. ფაქტიურად, European Pharmacopoeia-ში აღწერილი მეთოდებით პროტეინების განსაზღვრა ამ ექსტრაქტში შეუძლებელია, ხოლო ელექტროფორეზული მიგრაცია SDS-Page გელზე აცეტონიდან პრეციპიტაციისა და Coomassie blue-თი ან ვერცხლის ნიტრატით შეღებვის შემდეგ არ აჩვენებს პროტეინის არსებობის მაჩვენებელ ზოლს. იმავე ელექტროფორეზზე საკონტროლო შემოწმებამ აჩვენა, რომ პროტეინის არსებობის დეტექტირების ზღვარი დაახლოებით არის 1

ნანოგრამი (ng), და ამრიგად, ამ ექსტრაქტში პროტეინის შემცველობა 1ppm-ზე დაბალია (გელზე დადებული ექსტრაქტის რაოდენობის საფუძველზე). უპირატესად, პროტეინის აღნიშნული შემცველობა 0.5 ppm-ზე ნაკლებია და უფრო უკეთესია პროტეინის 0.3 ppm-ზე ნაკლები შემცველობა.

მოცემული გამოგონების სხვა მიზანია მარცვლეულის და/ან პსევდომარცვლეულის მიწისზედა ნაწილ(ებ)ის, გარდა მარცვალისა, ექსტრაქტის გამოყენება ადამიანებში, რომლებიც ალერგიულები არიან მარცვლეულის მარცვალის პროტეინების მიმართ.

მოცემული გამოგონების კიდევ სხვა მიზანია მარცვლეულის და/ან პსევდომარცვლეულის მიწისზედა ნაწილ(ებ)ის, გარდა მარცვალისა, ექსტრაქტის გამოყენება ჰიპოალერგენული დერმატოლოგიური კომპოზიციის დამზადებისათვის, ე.ი. ალერგიული რეაქციების რისკების მინიმუმამდე დაყვანა და/ან პრევენცია მარცვლეულის მარცვალის პროტეინების მიმართ ალერგიულ ადამიანებში.

მოცემული გამოგონების კიდევ სხვა მიზანია მარცვლეულის და/ან პსევდომარცვლეულის მიწისზედა ნაწილ(ებ)ის, გარდა მარცვალისა, ექსტრაქტის შემცველი კოსმეტიკური ჰიპოალერგენული კომპოზიციის გამოყენება მარცვლეულის მარცვალის პროტეინის მიმართ ალერგიულ ადამიანებში.

გამოგონებით მოცემული დერმატოლოგიური ან კოსმეტიკური საშუალება შეიძლება შეიცავდეს დამატებებს და სამკურნალო საშუალების ფორმის დამზადებისათვის დამხმარე საშუალებებს, როგორცაა მამულსირებელი აგენტები, შემსქელებლები, მაჟელირებელი აგენტები, წყლის შთანმთქმელები, განმერცობი აგენტები, მასტაბილიზირებლები, საღებავები, სუნამოები და კონსერვანტები.

დერმატოლოგიური ან კოსმეტიკური კომპოზიცია, გამოყენებული გამოგონების მიხედვით, დამატებით შეიცავს ჩვეულებრივ, დერმატოლოგიურად თავსებად შემესხებებს.

იგი შეიძლება დამზადებულ იქნეს წყალი-ზეთში (W/O) ემულსიის ან ზეთი-წყალში (O/W) ან მრავალფერადი ემულსიის სახით, როგორცაა, მაგალითად წყალი-ზეთში-წყალში (W/O/W) ემულსია ან ზეთი-წყალში-ზეთში (O/W/O) ემულსია, ან ალტერნატიულად, წყალ-დისპერსიის ან ზეთი-დისპერსიის, გელის ან აეროზოლის სახით.

დერმატოლოგიურად თავსებადი შემკვებები შეიძლება იყოს დარგის სპეციალისტებისათვის ცნობილი ნებისმიერი შემკვებები, რომლის საშუალებითაც მიიღება ადგილობრივად მოსახმარი კომპოზიცია მაღამოს, ღოსიონის, გელის, ამქაფებელი გელის, საცხის, ემულსიის, მიკროემულსიის, სპრეის, შამპუნის და ა.შ. სახით.

უპირატესად, გამოყენებული დერმატოლოგიური ან კოსმეტიკური კომპოზიცია, გამოგონების მიხედვით, შეიცავს 0.1-დან 10%-მდე მარცვლეულის ან პსევდომარცვლეულის მიწისზედა ნაწილ(ებ)ის, გარდა მარცვალისა, ექსტრაქტს წონის მიხედვით, კომპოზიციის სრული წონის საფუძველზე. უპირატესად, აღნიშნული კომპოზიცია შეიცავს მარცვლეულის მიწისზედა ნაწილ(ებ)ის გამოგონებით მოცემულ ექსტრაქტს 0.1-დან 5%-მდე რაოდენობით წონის მიხედვით კომპოზიციის სრული წონის საფუძველზე.

ფიგურები

ფიგურა 1: მარცვლებიდან და შვრიის ახალგაზრდა ელორტებიდან მთლიანად პროტეინების პროფილების შედარება ელექტროფორეზული SDS-Page (12.5% პოლიაკრილამიდის გელი) შედეგების საშუალებით Coomassie blue-თი.

ფიგურა 2: Western Blot, ენზიმის შედეგა ანტი-მიწისზედა ნაწილის პროტეინის პოლიკლონური ანტისხეულებით.

ფიგურა 3: Western Blot, ენზიმის შედეგა ანტი-მარცვალის პროტეინის პოლიკლონური ანტისხეულებით.

მომდევნო მაგალითები მხოლოდ საილუსტრაციოა და არა გამოგონების შემზღვეველი.

მაგალითი 1: თავთავის გამოსვლამდე მოგროვებული შვრიის მიწისზედა ნაწილის ექსტრაქტის დამზადება აცეტონით ექსტრაქციების საშუალებით

თავთავის გამოსვლამდე მოგროვებული შვრიის გამშრალი მიწისზედა ნაწილების 400 კგ დაფქვილ იქნა და შემდეგ მოთავსებულ იქნა რეაქტორში 10 მოცულობის ტოლი აცეტონ/წყალის ნარევით, მორევისა და ოთახის ტემპერატურის პირობებში ერთი საათის განმავლობაში.

მყარი ნივთიერების/სითხის განცალკევების შედეგად შესაძლებელია პირველი ექსტრაქციის წვენის მიღება. გამონახადის მეორეჯერ ექსტრაქცია მოხდა ისევ 10 მოცულობა აცეტონ/წყალის ნარევით, ერთი საათის განმავლობაში, მორევისა და ოთახის ტემპერატურის პირობებში. მყარი ნივთიერების/სითხის განცალკევების შედეგად შესაძლებელი გახდა მეორე

ექსტრაქციის წვენი მიღება, რომელიც მოგროვებულ იქნა პირველთან ერთად. მიღებული ხსნარი კონცენტრირებულ იქნა წყალზე 1.33 მოცულობა/კგ და შემდეგ გაფილტრულ იქნა. ამრიგად მიღებული ექსტრაქტი გაშრობილ იქნა მიკროტალღების საშუალებით, მალტოდექსტრინის მატარებლის დამატების შემდეგ (qsp 25% ბუნებრივი ექსტრაქტი).

ამრიგად, მიღებულ იქნა ბაცი ყავისფერი ფხვნილის 36 კგ ფლავონოიდების 6% შემცველობით (იზოვიტექსინ-2"-O-არაბინოპირანოზიდი და იზოორიენტინ-2"-O-არაბინოპირანოზიდი) და 0.6% ავენაკოზიდ B-ს შემცველობით, ხოლო ამგვარად მიღებულ ექსტრაქტში პროტეინის შემცველობა 0.3 ppm-ზე ნაკლებია.

მაგალითი 2: მარცვლეულის მარცვალის ექსტრაქტისა და თავთავის გამოსვლამდე მოგროვებული იგივე მარცვლეულის მიწისზედა ნაწილების ექსტრაქტის ბიოქიმიური და იმუნოლოგიური ანალიზი

მარცვლეულის მარცვალის ექსტრაქტებსა და მიწისზედა ნაწილების ექსტრაქტებს შორის კროს-ოვერის არარსებობა ნაჩვენებია იყო ბიოქიმიური (ექსტრაქცია და პროტეინების განსაზღვრა) და იმუნოენზიმური (პროტეინის არსებობის სპეციფიკური დეტექტირება ანტისხეულების წარმოქმნის საშუალებით) მეთოდების გამოყენებით.

მარცვლეულის მარცვალის პროტეინების ექსტრაქტი შეიძლება დამზადდეს შემდეგნაირად:

ხდება მარცვლების დაფქვა და ექსტრაქცირება ნატრიუმის ჰიდროქსიდით, pH8. ფილტრაციის შემდეგ ხდება ფილტრატის პრეციპიტაცია ქლორწყალბადმუავის დამატების საშუალებით pH 5.4-მდე. ცენტრიფუგირების შემდეგ პრეციპიტატს იღებენ, ათავსებენ წყალხსნარში და ახდენენ დიალიზს წყალისგან დიალიზის რეზერვუარში, რომელსაც გააჩნია შეწყვეტის ზღურბლი 6-8 კილოდალტონი, 4°C-ზე დამის განმავლობაში.

მიწისზედა ნაწილების ექსტრაქტის დამზადება შემდეგნაირად არის შესაძლებელი:

ნედლი მასალიდან:

•ექსტრაქცია Tris.HCl-ის ბუფერში გახსნის საშუალებით, ფილტრაციით, რომელსაც მოჰყვება ორი პრეციპიტაცია აცეტონიდან, მარილების მოცილების მიზნით.

ან:

- ექსტრაქცია აღმდგენ Laemmli ბუფერში გახსნის საშუალებით, pH 7.5, რომელიც შეიცავს შარდოვანას და თიოშარდოვანას, ფილტრაცია, რომელსაც მოჰყვება ორი პრეციპიტაცია აცეტონიდან, მარილების მოცილების მიზნით.

მშრალი მასალიდან:

ექსტრაქცია 27 საათის განმავლობაში Laemmli ბუფერში გახსნის საშუალებით, pH 7.5, რომელიც შეიცავს შარდოვანას და თიოშარდოვანას, ფილტრაცია, რომელსაც მოჰყვება ორი პრეციპიტაცია აცეტონიდან, მარილების მოცილების მიზნით.

ბიოქიმიური და იმუნოლოგიური გამოკვლევა

ბიოქიმიური ტექნიკა

I. ელექტროფორეზი

პრინციპი: ტექნიკა პროტეინების სპეციფიკური კვლევისათვის არის SDS-Page ელექტროფორეზი: SDS თანაობისას უარყოფითად დამუხტული პროტეინები მიგრირებს პოლიაკრილამიდის გელში კათოდისაკენ მხოლოდ მათ მასაზე დამოკიდებულებით და პროტეინების დეტექტირება ხდება Coomassie blue-ით ან ვერცხლის ნიტრატით შეფერილი ლაქებით.

დადებითი კონტროლი, რომელიც გამოყენებული იყო თავთავის გამოსვლამდე მოგროვებული შვრიის მიწისზედა ნაწილების ექსტრაქტის სრული პროტეინებისა თუ მარცვლების სრულიად პროტეინების მიმართ, დამზადებული იყო ზემოაღწერილის მიხედვით.

II. საილუსტრაციო შედეგი – ფიგურა 1

მთლიანად მარცვლების პროტეინებისა და თავთავის გამოსვლამდე მოგროვებული შვრიის მიწისზედა ნაწილების პროტეინების პროფილების შედარება SDS-Page ელექტროფორეზის (12.5% პოლიაკრილამიდის გელი) საშუალებით, შედეგა – Coomassie blue-ით.

ელექტროფორეზით მიღებული პროტეინების პროფილი, რომელიც ნაჩვენებია ფიგურაზე 1, მიუთითებს ორივე ტესტირებულ ექსტრაქტში პროტეინების შედგენილობის მნიშვნელოვან განსხვავებულობაზე, განსაკუთრებით ეს ეხება მთავარ პროტეინებს. მაგრამ ერთადერთი გზა იმაში დასარწმუნებლად, რომ არსებობს ხარისხობრივი განსხვავება პროტეინების ამ ორ ჯგუფს შორის, არის იმუნოლოგიური მეთოდის გამოყენება, ანტიგენ-ანტისხეულის სპეციფიკური ამოცნობით.

იმუნოქიმიური მეთოდები

ეს მეთოდები მოითხოვს პირველ რიგში ანტისხეულების მიღებას, რომლებიც მიმართული იქნება მთლიანად პროტეინების წინააღმდეგ მიწისზედა ნაწილებში თუ მარცვლებში. ამ მიზნით, ერთი და იგივე სახეობის მიწისზედა ნაწილებისა და მარცვლების ექსტრაქტები მიაღებინეს ბოცვერებს. შემდეგ, ცხოველების შრატისგან დამზადებულ იქნა პოლიკლონური ანტისხეულები.

მიზანი მდგომარეობს იმის დემონსტრირებაში, რომ თავთავის გამოსვლამდე შვრიის პროტეინები და მარცვლების პროტეინები განსხვავებულია და რომ არ არსებობს ჯვარედინი-რეაქცია მარცვლების პროტეინებსა და მიწისზედა ნაწილების პროტეინებს შორის.

- ანტისხეულები, მიმართული თავთავის გამოსვლამდე შვრიის მიწისზედა ნაწილების პროტეინების წინააღმდეგ, მარცვლების პროტეინებთან შედარებით
- ანტისხეულები, მიმართული მარცვლების პროტეინების წინააღმდეგ, თავთავის გამოსვლამდე შვრიის მიწისზედა ნაწილების პროტეინებთან შედარებით

ELISA და Western Blot ტექნიკის გამოყენებით.

I. პირდაპირი ELISA

ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay – იმუნოფერმენტული მყარფაზიანი ანალიზი) წარმოადგენს იმუნოქიმიურ მეთოდს ხსნარში ანტიგენის მყოფობის დეტექტირებისათვის. პრინციპი მდგომარეობს სატესტო ხსნარში მყოფი პროტეინების იმობილიზაციაში ფოსოიან ფირფიტაზე, ხოლო შემდეგ ანტი-პროტეინ პოლიკლონურ ანტისხეულებთან კონტაქტში მოყვანაში. გარეცხვის შემდეგ, ენზიმთან ბმული მეორე, ანტი-ბოცვერი IgG ანტისხეული აღმოაჩენს ღრმულში ანტიგენის არსებობას მარტივი კალორიმეტრული რეაქციის მეშვეობით.

II. Western Blot

პრინციპი: Western Blot მეთოდი შედგება SDS-Page ელექტროფორეზისაგან პროტეინების ნარევისა, რომელსაც მოჰყვება შეღებვა სპეციფიკური ანტიგენ-ანტისხეულის ურთიერთქმედების საშუალებით. აღმოჩენილი იქნება მხოლოდ პოლიკლონური ანტისხეულების მიერ ამოცნობილი პროტეინები: შემდეგ, ხდება პირველადი ანტისხეულების ამოცნობა მეორადი ანტისხეულებით (აქ ანტი-ბოცვერი IgG ანტისხეული), რომლებიც დაკავშირებულია ენზიმთან, როგორცაა, მაგალითად, ტუტე ფოსფატაზა.

საილუსტრაციო შედეგი – ფიგურები 2 და 3

მარცვლების პროტეინებსა და თავთავის გამოსვლამდე შვრიის მიწისზედა ნაწილების პროტეინების წინააღმდეგ მიმართულ ანტისხეულებს შორის კროს-ოვერი (ფიგურა 2) და თავთავის გამოსვლამდე შვრიის მიწისზედა ნაწილების პროტეინებსა და მარცვლების პროტეინების წინააღმდეგ მიმართულ ანტისხეულებს შორის კროს-ოვერი (ფიგურა 3).

Western Blot მეთოდი ადასტურებს ELISA-ს საშუალებით მიღებულ პირველ შედეგებს, ე.ი. რომ თავთავის გამოსვლამდე შვრიის მიწისზედა ნაწილების პროტეინები განსხვავდება მარცვლების პროტეინებისაგან და ასევე იმასაც, რომ მათ შორის არ არსებობს კროს-ოვერი.

მარცვლების პროტეინების წინააღმდეგ დიეტის საშუალებით იმუნიზირებული პაციენტები აღარ ირეაგირებენ მიწისზედა ნაწილების (მარცვლების გამოკლებით) ექსტრაქტზე იმ შემთხვევაშიც კი, თუ იგი შეიცავს პროტეინებს.

გამოგონების ფორმულა:

1. ექსტრაქტი შვრიის მიწისზედა ნაწილ(ებ)იდან, მოგროვებული თავთავის გამოსვლამდე, იმ ადამიანების მიერ გამოყენებისათვის, რომლებიც ალერგიულები არიან მარცვლეულის მარცვლების პროტეინების მიმართ.

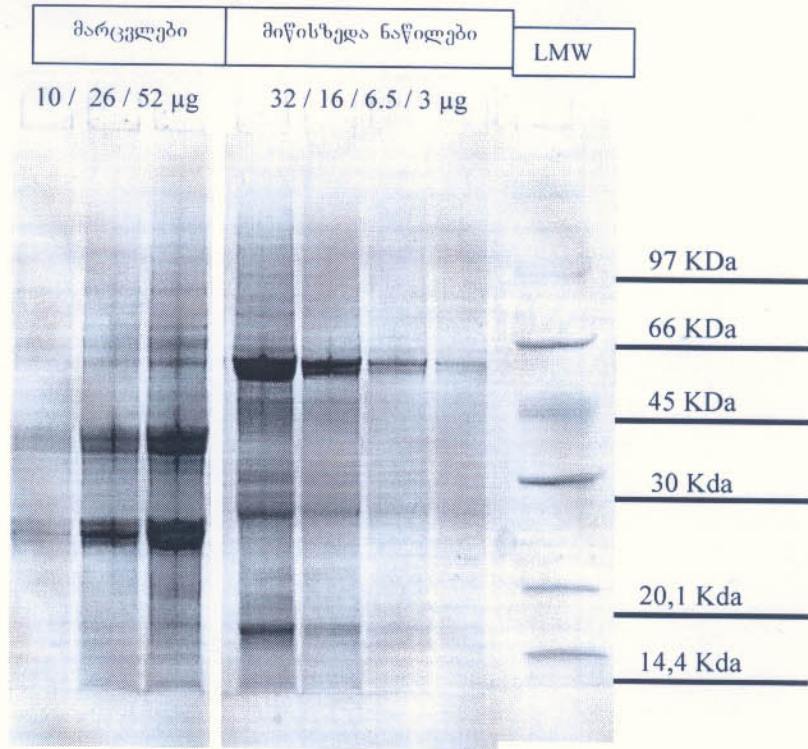
2. ექსტრაქტი, მ.1 მიხედვით, რომელიც შეიცავს 2-დან 15%-მდე ფლავონოიდებს და 0.2-დან 2%-მდე A და B ავენაკოზიდებს.

3. ექსტრაქტი, მ.1 ან მ.2 მიხედვით, ხასიათდება იმით, რომ შეიცავს იზოვიტექსინ-2"-O-არაბინოპირანოზიდისა და იზოორიენტინ-2"-O-არაბინოპირანოზიდის ფლავონოიდებს 5-დან 10%-მდე დონით.

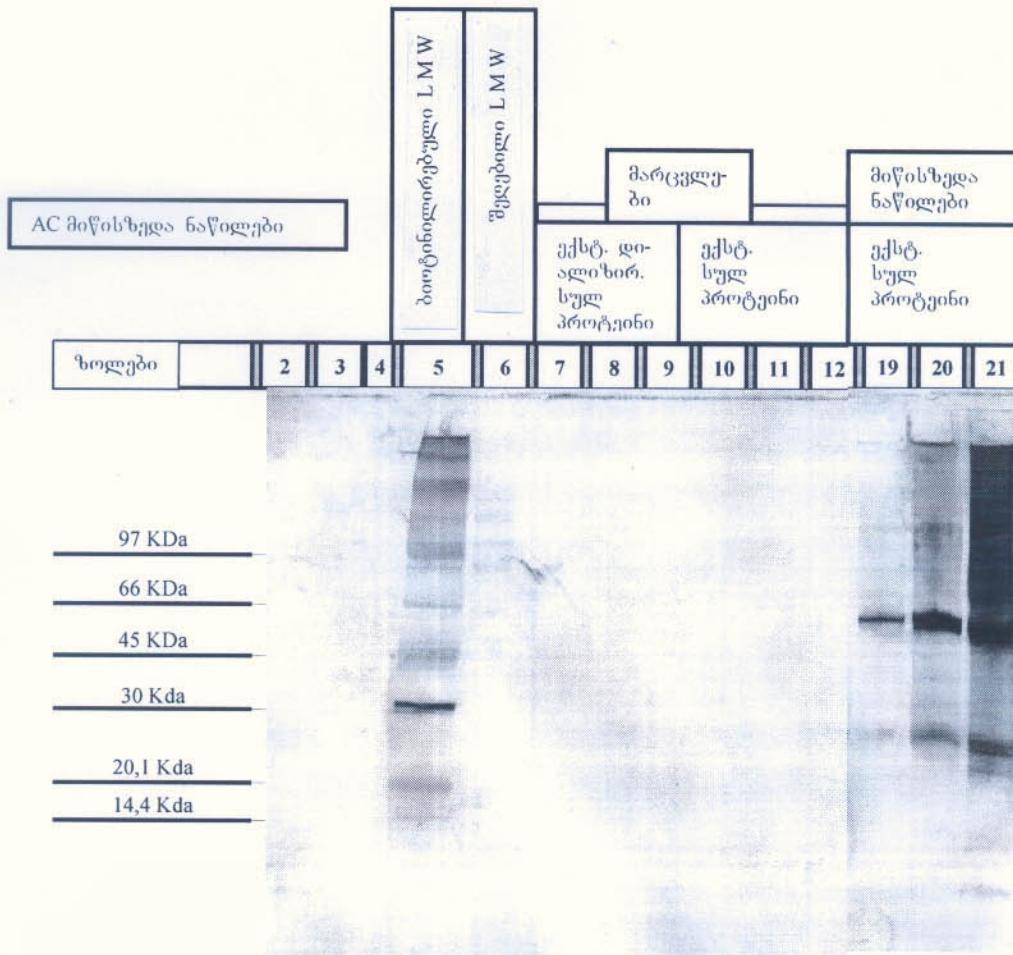
4. ექსტრაქტი, ნებისმიერი მ.მ.1-3 მიხედვით, რომელიც შეიცავს 1 ppm-ზე ნაკლებ პროტეინებს.

5. შვრიის მიწისზედა ნაწილ(ებ)ის, მოგროვებულის თავთავის გამოსვლამდე, ექსტრაქტის გამოყენება ჰიპოალერგენული დერმატოლოგიური კომპოზიციის დასამზადებლად.

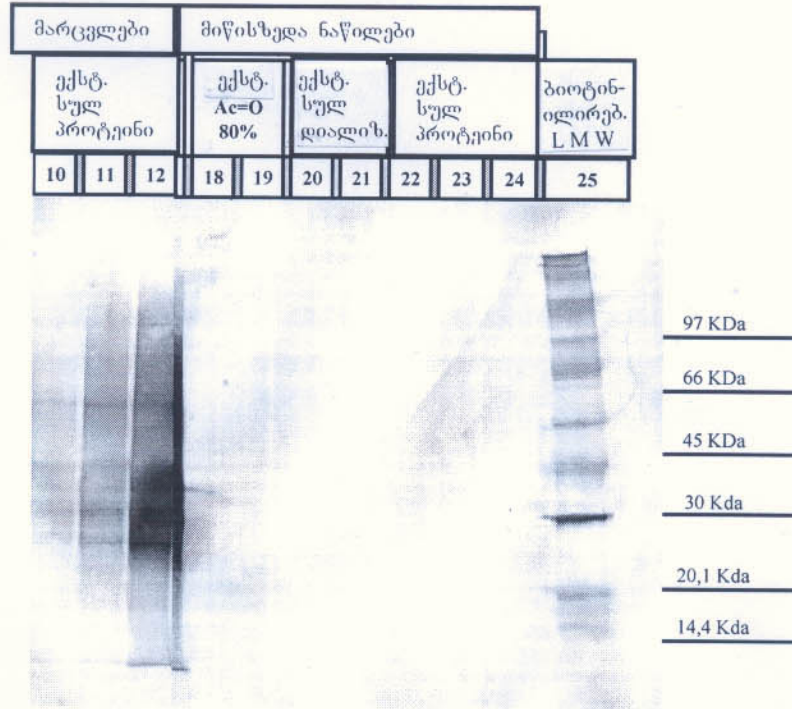
6. ჰიპოალერგენული დერმატოლოგიური კომპოზიციის, მ.5 მიხედვით, რომელიც შეიცავს თავთავის გამოსვლამდე მოგროვებული შვრიის მიწისზედა ნაწილ(ებ)ის ექსტრაქტს, კოსმეტიკური დანიშნულებით გამოყენება იმ ადამიანების მიერ, რომლებიც ალერგიულები არიან მარცვლეულის მარცვლების პროტეინების მიმართ.



ფიგ. 1



ფიგ. 2



ფიგ. 3