

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201790120** (13) **A1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2017.07.31**

(22) Дата подачи заявки  
**2015.07.17**

(51) Int. Cl. *A61K 31/21* (2006.01)  
*A61K 36/8994* (2006.01)  
*A61K 9/48* (2006.01)  
*A61K 9/20* (2006.01)  
*A61K 9/14* (2006.01)  
*A61K 9/127* (2006.01)  
*A61K 9/10* (2006.01)  
*A61K 9/08* (2006.01)  
*A61P 35/00* (2006.01)

---

**(54) МАСЛО СЕМЯН КОИКСА, СОДЕРЖАЩЕЕ 16 ГЛИЦЕРИДОВ, И ЕГО  
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ**

---

(31) **201410342420.8**

(32) **2014.07.18**

(33) **CN**

(86) **PCT/CN2015/084298**

(87) **WO 2016/008443 2016.01.21**

(71) Заявитель:  
**ЧЖЭЦЗЯН КАНЛАЙТЭ ГРУП КО.,  
ЛТД. (CN)**

(72) Изобретатель:  
**Ли Дапэн (CN)**

(74) Представитель:  
**Харин А.В., Котов И.О., Буре Н.Н.,  
Стойко Г.В. (RU)**

(57) Масло семян коикса содержит 5 диглицеридных и 11 триглицеридных ингредиентов в следующих мас.%.: диглицерид 1,3-диолеата - 0,40-0,58, диглицерид 1-линолеат-3-олеата - 0,91-1,31, диглицерид 1,2-диолеата - 0,24-0,35, диглицерид 1-олеат-2-линолеата - 0,66-0,95, диглицерид 1,2-дилинолеата - 0,33-0,47, глицерил трилинолеата - 4,87-6,99, глицерил 1-олеат-2,3-дилинолеата - 13,00-18,69, глицерил 1-пальмитин-2,3-дилилолеата - 5,25-7,54, глицерил 1,3-диолеат-2-линолеата - 13,23-19,02, глицерил 1-пальмитин-2-линолеат-3-олеата - 10,26-14,75, глицерил 1,3-дипальмитин-2-линолеата - 2,28-3,28, глицерил триолеата - 14,44-20,76, глицерил 1-пальмитин-2,3-диолеата - 8,06-11,58, глицерил 1-олеат-2-линолеат-3-стеарина - 1,37-1,97, глицерил 1,3-дипальмитин-2-олеата - 1,52-2,19 и 1,2-диолеат-3-стеарина - 1,29-1,86. Масло семян коикса может быть использовано для получения противоопухолевого лекарственного средства.

**A1**

**201790120**

**201790120**

**A1**

## **МАСЛО СЕМЯН КОИКСА, СОДЕРЖАЩЕЕ 16 ГЛИЦЕРИДОВ, И ЕГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ**

### **ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Настоящее изобретение относится к области фармацевтики, в частности, настоящее изобретение относится к маслу семян коикса, его фармацевтическим препаратам, способу их получения и их применению для получения противоопухолевых лекарственных средств.

### **ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ**

Семена коикса представляют собой высушенные спелые семена *Coix lacryma-jobi* L. var *ma-yuen* (Roman.), Stapf, рода растений семейства злаковых. Это мочегонное лекарственное средство, которое использовалось в качестве лекарства и в качестве съедобного растения на протяжении долгого времени. Современные исследования показали, что для семян коикса характерно множество фармакологических эффектов, таких как анальгетический, противовоспалительный, иммуномодулирующий, противоязвенный, гиполипидемический эффект и эффект против ожирения. В последние несколько лет исследователи во всем мире изучали химический состав семян коикса с использованием ТСХ, ВЭЖХ-МС, ГХ и т. д. и обнаружили в нем множество активных ингредиентов, включая коиксенолид, триглицериды, жирные кислоты, лактамы, коикс лактоны, сахараиды, стеролы и тритерпеноиды. Среди них первыми обнаруженными компонентами, обладающими противоопухолевыми активностями и наиболее изученным химическим составом, привлекающими больше всего внимания, являются сложные эфиры. Инъекция Канглайта, в которой активный ингредиент представляет собой масло семян коикса, широко используется в клинических применениях в настоящее время в Китае, однако масло семян коикса, используемое в инъекции Канглайта, содержит сложные компоненты. В дополнение к триглицеридам она также содержит моноглицериды, диглицериды и эфиры жирных кислот и т. д. Это неизбежно будет являться серьезной проблемой с точки зрения контроля качества в практическом производственном процессе и безопасности в клинических применениях.

В настоящем изобретении сырьевой материал порошка семян коикса обрабатывали посредством сверхкритической экстракции диоксидом углерода, базификации, очистке нейтральным оксидом алюминия и очистке каолином и т. д. для получения эффективной части – масла семян коикса. После выделения и

идентификации активных ингредиентов было установлено, что масло семян коикса содержит, главным образом, 11 триглицеридных компонентов и 5 диглицеридных компонентов. Дальнейшее определение его физико-химических констант позволило установить оптимальное кислотное число, йодное число, число омыления, показатель преломления и удельный вес и т. д. Использование масла семян коикса согласно изобретению в лекарственных средствах имеет такие преимущества, как подтвержденный состав ингредиентов, обеспечивающий стабильность качества каждой партии в условиях промышленного производства и отсутствие токсических и побочных эффектов, обусловленных комплексом ингредиентов при прямом приеме масла семян коикса.

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Первый аспект изобретения заключается в обеспечении масла семян коикса, экстрагированного из *Semen Coicis*. Масло семян коикса содержит 5 диглицеридных компонентов и 11 триглицеридных ингредиентов в следующих массовых процентах: 0,40-0,58% 1,3-диолеина, 0,91-1,31% 1-линолеин-3-олеина, 0,24-0,35% 1,2-диолеина, 0,66-0,95% 1-олеин-2-линолеина, 0,33-0,47% 1,2-дилинолеина, 4,87-6,99% трилинолеина, 13,00-18,69% 1-олеин-2,3-дилинолеина, 5,25-7,54% 1-пальмитин-2,3-дилилолеин, 13,23-19,02% 1,3-диолеин-2-линолеина, 10,26-14,75% 1-пальмитин-2-линолеин-3-олеина, 2,28-3,28% 1,3-дипальмитин-2-линолеина, 14,44-20,76% триолеина, 8,06-11,58% 1-пальмитин-2,3-диолеина, 1,37-1,97% 1-олеин-2-линолеин-3-стеарина, 1,52-2,19% 1,3-дипальмитин-2-олеина и 1,29-1,86% 1,2-диолеин-3-стеарина.

Предпочтительно, массовое процентное содержание вышеуказанных 5 диглицеридных компонентов и 11 триглицеридных ингредиентов составляет: 0,45-0,55% 1,3-диолеина, 1,03-1,25% 1-линолеин-3-олеина, 0,27-0,33% 1,2-диолеина, 0,75-0,91% 1-олеин-2-линолеина, 0,37-0,45% 1,2-дилинолеина, 5,47-6,69% трилинолеина, 14,63-17,88% 1-олеин-2,3-дилилолеина, 5,90-7,21% 1-пальмитин-2,3-дилинолеина, 14,88-18,19% 1,3-диолеин-2-линолеина, 11,55-14,11% 1-пальмитин-2-линолеин-3-олеина, 2,57-3,14% 1,3-дипальмитин-2-линолеина, 16,25-19,86% триолеина, 9,07-11,08% 1-пальмитин-2,3-диолеина, 1,54-1,88% 1-олеин-2-линолеин-3-стеарина, 1,71-2,09% 1,3-дипальмитин-2-олеина и 1,45-1,78% 1,2-диолеин-3-стеарина.

Более предпочтительно, массовое процентное содержание вышеуказанных 5 диглицеридных компонентов и 11 триглицеридных ингредиентов составляет: 0,49-0,51% 1,3-диолеина, 1,12-1,1% 1-линолеин-3-олеина, 0,29-0,31%

1,2-диолеина, 0,81-0,85% 1-олеин-2-линолеин, 0,40-0,42% 1,2-дилинолеина, 5,96-6,20% трилинолеина, 15,93-16,58% 1-олеин-2,3-дилилолеина, 6,43-6,69% 1-пальмитин-2,3-дилинолеина, 16,20-16,87% 1,3-диолеин-2-линолеина, 12,57-13,09% 1-пальмитин-2-линолеин-3-олеина, 2,79-2,91% 1,3-дипальмитин-2-линолеина, 17,69-18,42% триолеина, 9,87-10,27% 1-пальмитин-2,3-диолеина, 1,68-1,74% 1-олеин-2-линолеин-3-стеарина, 1,86-1,94% 1,3-дипальмитин-2-олеина и 1,58-1,65% 1,2-диолеин-3-стеарина.

Вышеуказанные содержания относятся к массовому процентному содержанию диглицеридных и триглицеридных соединений в масле семян коикса. 5 диглицеридных компонентов и 11 триглицеридных мономерных соединений с помощью препаративной хроматографии могут быть выделены из масла семян коикса, полученного с помощью следующих стадий, и их содержание может быть измерено путем взвешивания и расчета продуктов. Они также могут быть получены в соответствии с общепринятыми аналитическими методами, известными в области техники.

Масло семян коикса имеет следующие физико-химические константы, относительно жирных масел: удельный вес при 20 °C составляет 0,916-0,920, показатель преломления при 20 °C составляет 1,471-1,474, кислотное число составляет менее 0,2, йодное число составляет 100-106, число омыления составляет 186-195.

Масло семян коикса по изобретению может быть получено способом, включающим следующие стадии:

(1) сверхкритическая экстракция диоксидом углерода:

измельчение семян коикса в порошок с размером частиц 20-100 меш и экстракция порошка с использованием сверхкритической системы экстракции CO<sub>2</sub>, в которой порошок семян коикса помещают в два 600 л экстрактора; подогреватель CO<sub>2</sub>, экстрактор и разделительную колонку нагревают горячей водой, циркулирующей в рубашке, для достижения температуры экстракции и температуры разделения 33-45 °C и 30-45 °C, соответственно; температуру на выходе сепаратора I и сепаратора II поддерживают на уровне 20-50 °C и 15-35 °C, соответственно; жидкий CO<sub>2</sub> подают под давлением при расходе 1-3 т/ч (относительно массы порошка семян коикса) в подогреватель CO<sub>2</sub> через насос высокого давления, превращая его во флюид в сверхкритическом состоянии; в экстракторе масло экстрагируют флюидом CO<sub>2</sub> под давлением 19-23 МПа; затем флюид CO<sub>2</sub> с этим маслом поступает в разделительную колонку, в которой

давление контролируют на уровне 7-10 МПа для отделения этого масла; газообразный  $\text{CO}_2$  из разделительной колонки последовательно поступает в сепаратор I и сепаратор II, в которых давление поддерживают на уровне 5-7 МПа и 4-6 МПа, соответственно; примеси, такие как вода, отделяют и удаляют; посредством конденсатора газообразный  $\text{CO}_2$  превращают в жидкий  $\text{CO}_2$  для повторного использования; непрерывная экстракция в течение 2-3 часов приводит к получению неочищенного масла коикса; а также

(2) процесс очистки:

добавление 65% петролейного эфира (температура кипения 60-90 °С) относительно массы масла в масло семян коикса, полученное сверхкритической экстракцией  $\text{CO}_2$ ; добавление 2% водного раствора  $\text{NaOH}$  в количестве от 36 до 56% относительно массы масла в соответствии с кислотным числом; после перемешивания смеси в течение 10 мин и выдерживания в течение 18-24 ч – удаление нижнего грязного слоя; промывание верхнего слоя очищенной водой и выдерживание в течение 18-24 часов; после удаления нижнего слоя отработанной воды – повторное промывание верхнего слоя; после выдерживания в течение еще 40-50 ч – удаление нижнего слоя отработанной воды; и дезмульгирование верхнего слоя ацетоном в количестве 70-90% относительно массы масла; после выдерживания в течение 2-4 ч – удаление нижнего слоя отработанного ацетона и добавление от 3 до 8% активированного нейтрального оксида алюминия относительно массы неочищенного масла в верхний масляный слой; перемешивание смеси в течение 30 мин, затем фильтрование осадка; нагревание фильтрата и добавление от 2 до 6% активированной смешанного адсорбента относительно массы неочищенного масла; перемешивание смеси в течение 30 мин при 40-50 °С и последующее фильтрование осадка; концентрирование фильтрата при пониженном давлении для удаления растворителя, затем повторное промывание очищенной водой; после выдерживания в течение 1-2 ч – удаление нижнего слоя отработанной воды, нагревание верхнего масляного слоя и его вакуумное концентрирование в атмосфере азота; затем стерилизация масла путем сухого нагревания в вакууме при 160-170 °С в течение 1-2 часов; после охлаждения – фильтрование масла через 0,2 мкм микропористую мембрану; затем отдельная загрузка полученного масла семян коикса в 500 мл стеклянные инфузионные колбы, обработка азотом и герметизация колб.

Предпочтительно, процесс очистки включает следующие стадии: добавление петролейного эфира (температура кипения 60-90 °С) в неочищенное

масло семян коикса, полученное сверхкритической экстракцией CO<sub>2</sub> в количестве 65% относительно массы масла; добавление 2% водного раствора NaOH в количестве от 36 до 56% относительно массы масла в соответствии с кислотным числом; после перемешивания смеси в течение 10 мин и выдерживания в течение 20 ч – удаление нижнего грязного слоя; промывание верхнего слоя очищенной водой и выдерживание в течение 22 часов; после удаления нижнего слоя отработанной воды – повторное промывание верхнего слоя; после выдерживания в течение еще 46 ч – удаление нижнего слоя отработанной воды; деэмульгирование верхнего слоя ацетоном в количестве 70-90% относительно массы неочищенного масла и выдерживание в течение 3 часов; удаление нижнего слоя отработанного ацетона и добавление 5% активированного нейтрального оксида алюминия относительно массы неочищенного масла в верхний масляный слой; перемешивание смеси в течение 30 мин, затем фильтрование осадка; нагревание фильтрата и добавление от 4% смешанного адсорбента активированного каолина и активированного углерода (1:1); перемешивание смеси в течение 30 мин при 40-50 °С и последующее фильтрование осадка; концентрирование фильтрата при пониженном давлении для удаления растворителя, затем повторное промывание очищенной водой; после выдерживания в течение 1 ч – удаление нижнего слоя отработанной воды; нагревание верхнего масляного слоя и его вакуумное концентрирование в атмосфере азота; затем стерилизация концентрированного масла путем сухого нагревания в вакууме при 160-170 °С в течение 2 часов; после охлаждения – фильтрование масла через 0,2 мкм микропористую мембрану; затем отдельная загрузка полученного масла семян коикса в 500 мл стеклянные инфузионные колбы, обработка азотом и герметизация колб.

Масло семян коикса согласно изобретению представляет собой желтоватую прозрачную жидкость с легким запахом и легким вкусом. Оно хорошо растворимо в петролейном эфире или хлороформе, легко растворимо в ацетоне, слабо растворимо в этаноле, но не растворимо в воде.

Масло семян коикса, полученное на основе вышеуказанных способов, было обнаружено согласно способу, приведенному в приложении к «Фармакопее Китайской Народной Республики» (издание 2010 г.), том I. Его физико-химические константы таковы: удельный вес при 20 °С составляет 0,916-0,920, показатель преломления при 20 °С составляет 1,471-1,474, кислотное число составляет менее 0,2, йодное число составляет 100-106, число омыления составляет

186-195. Кислотное число согласно Фармакопее относится к массе гидроксида калия (в миллиграммах), необходимой для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 грамме жиров, жирных масел или других подобных веществ. В качественном исследовании маслопродуктов кислотное число играет важную роль. Что касается масла семян коикса согласно изобретению, кислотное число составляет менее 0,2. Путем оптимизации способа получения, таким как оптимизация параметров сверхкритической экстракции, и способа очистки, такого как подщелачивание, было получено масло семян коикса, обладающее следующими преимуществами: с одной стороны, оно имеет очень низкое содержание примесей свободных жирных кислот, что означает высокое качество продукта; с другой стороны, в нем содержится большое количество активных ингредиентов диглицеридов и триглицеридов высокой степени чистоты и типы диглицеридных и триглицеридных ингредиентов в них являются определяемыми и их содержание является стабильным. Кроме того, другие физико-химические константы, такие как число омыления, йодное число и т. д., измеренные для разных партий образцов, различались в небольшом диапазоне. Это дополнительно подтверждает, что для масла семян коикса согласно изобретению характерно стабильное качеством и более безопасное клиническое применение. Способ получения по настоящему изобретению приводит к получению стабильного продукта с высоким выходом и низкой стоимостью. Он подходит для промышленного производства с точки зрения безопасности и контроля.

Второй аспект изобретения заключается в обеспечении фармацевтического препарата, содержащего масло семян коикса, в частности, он содержит терапевтически эффективное количество масла семян коикса согласно изобретению и один или более чем один фармацевтически приемлемый носитель.

Фармацевтически приемлемые носители могут быть выбраны из фармацевтических общеизвестных разбавителей, эксципиентов, наполнителей, эмульгаторов, связующих веществ, смазывающих веществ, ускорителей абсорбции, поверхностно-активных веществ, разрыхлителей, смазывающих веществ и антиоксидантов, если необходимо, ароматизаторов, подсластителей, консервантов и/или красителей.

Фармацевтически приемлемые носители могут быть выбраны из одного или более из группы, состоящей из: маннита, сорбита, метабисульфата натрия, бисульфата натрия, тиосульфата натрия, цистеина гидрохлорида, тиогликолевой

кислоты, метионина, соевого лецитина, витамина С, витамина Е, динатриевой ЭДТА, кальций натриевой ЭДТА, карбоната одновалентного щелочного металла, ацетата, фосфата или его водного раствора, соляной кислоты, уксусной кислоты, серной кислоты, фосфорной кислоты, аминокислоты, хлорида натрия, хлорида калия, лактата натрия, раствора этилпарабена, бензойной кислоты, сорбата калия, хлоргексидин ацетата, ксилита, мальтозы, глюкозы, фруктозы, декстрана, глицина, крахмала, сахарозы, лактозы, маннита, кремневых производных, целлюлозы и ее производных, альгинатов, желатина, поливинилпирролидона, глицерина, Твин 80, агар-агара, карбоната кальция, бикарбоната кальция, поверхностно-активных веществ, полиэтиленгликоля, циклодекстрина, β-циклодекстрина, фосфолипидного материала, каолина, талька и стеарата кальция или стеарата магния.

Фармацевтический препарат согласно изобретению может представлять собой пероральные твердые препараты, пероральные жидкие препараты или инъекции.

Предпочтительно, пероральный твердый препарат выбирают из любого из капсул, таблеток, микропеллюль, гранул и концентрированных пеллюль; пероральный жидкий препарат выбирают из любого из водных или масляных суспензий, растворов, эмульсий, сиропов или эликсиров и сухого продукта, который может быть восстановлен водой или другим (-и) подходящим (-и) носителем (-ями) перед применением; и инъекцию выбирают из любой из наносуспензий, липосом, эмульсий, лиофилизированного порошка для инъекции и водной инъекции.

Более предпочтительно, инъекция содержит следующие компоненты: 50-350 г масла семян коикса согласно изобретению, 10-40 г соевого лецитина для инъекции или соевого лецитина, пригодного для инъекции, 15-50 г глицерина для инъекции или глицерина, пригодного для инъекции, и воду для инъекций добавляемую до 1000 мл.

Инъекция согласно изобретению может быть получена способом, включающим следующие стадии:

добавление соответствующего количества воды для инъекции к рецептурному количеству соевого лецитина для инъекции или соевого лецитина, пригодного для инъекции; диспергирование смеси диспергирующим эмульгатором с высоким усилием сдвига с получением дисперсии без крупных фрагментов или гранул; добавление рецептурного количества глицерина для инъекции или

глицерина, пригодного для инъекции; затем добавление воды для инъекции до указанного количества и перемешивание смеси до получения водной фазы;

взвешивание рецептурного количества масла семян коикса; отдельное нагревание навески масла и водной фазы до 60-70 °С, затем их смешивание и эмульгирование смеси в гомогенизаторе высокого давления, в котором низкое давление составляет 5-12 МПа и высокое давление составляет 25-50 МПа; повторение цикла гомогенизации 3-6 раз до тех пор, пока количество частиц размером менее 2 мкм будет составлять не менее чем 95%, а частицы размером более 5 мкм не будут обнаруживаться; при необходимости, использование NaOH или HCl для доведения pH до 4,8-8,5, предпочтительно 6,8-7,0, наиболее предпочтительно 6,8; и

фильтрация полученной гомогенной эмульсии под давлением в атмосфере азота через микропористый фильтр 3 мкм или менее; наполнение эмульсией, азотирование, стерилизация и охлаждение для получения инъекции.

Капсула согласно изобретению содержит следующие компоненты: 200-800 г масла семян коикса, 0,20-0,60 г антиоксиданта (-ов) и/или эмульгатора (-ов) на 1000 капсул.

Капсула согласно изобретению может быть получена способом, включающим следующие стадии:

получение раствора клея: взвешивание желатина, очищенной воды, глицерина и консерванта в массовом соотношении 1:0,6-1,2:0,3-0,8:0,0001-0,01; последовательное добавление глицерина, очищенной воды и консерванта (выбранного из любого из 10% раствора этилпарабена, бензойной кислоты, сорбата калия и хлоргексидин ацетата) в резервуар для плавления клея; нагревание до 70-90 °С; затем добавление желатина и постоянное перемешивание смеси в вакууме до полного растворения желатина; фильтрация раствора клея и хранение отфильтрованного раствора клея при 56-62 °С перед использованием;

приготовление лекарственной жидкости: добавление рецептурного количества масла семян коикса, антиоксиданта (витамина Е) и/или эмульгатора (Твин 80) в дозатор и постоянное перемешивание смеси до достижения гомогенности; и

прессование капсул: выбор подходящих пресс-форм в зависимости от размера капсулы; прессование капсул при температуре 15-30 °С и относительной влажности менее 35%; сушка прессованных и формованных капсул; после

удаления капсул ненормального размера – промывание капсул нормального размера 95% медицинским этанолом и продолжительная сушка до достижения содержания влаги менее 12%; визуальный контроль и удаление негодных капсул; затем нанесение печати и упаковка с получением капсул.

В фармакодинамических экспериментах показано, что масло семян коикса согласно изобретению и его фармацевтический препарат проявляют различные степени ингибирования в отношении различных линий опухолевых клеток человека. Они могут быть использованы в качестве противоопухолевых лекарственных средств.

Таким образом, другой аспект изобретения заключается в обеспечении применения масла семян коикса согласно изобретению для получения противоопухолевых лекарственных средств.

Опухоли относятся к раку легкого, раку печени, раку поджелудочной железы, раку предстательной железы, раку яичника и раку молочной железы на ранней, средней или поздней стадии.

Следующие экспериментальные данные приведены для иллюстрации противоопухолевых эффектов масла семян коикса согласно изобретению и его фармацевтических препаратов.

### **1. Ингибирование маслом семян коикса и его препаратами 8 линий опухолевых клеток человека в МТТ методе *in vitro***

А. Материалы эксперимента и их подготовка:

(1) линии клеток: PANC-1 (панкреатические раковые клетки человека), SKOV3 (раковые клетки яичника человека), MCF-7 (раковые клетки молочной железы человека), Vcap-37 (раковые клетки молочной железы человека), SMMC-7721 (раковые клетки печени человека), HepG-2 (раковые клетки печени человека), A549 (раковые клетки легкого человека) и H460 (раковые клетки легкого человека), хранящиеся и пассированные в научно-исследовательском фармакологическом центре Шанхайского института фармацевтической промышленности;

(2) полная DMEM среда (среда Игла в модификации Дульбекко), поставляемая с 10% сывороткой новорожденного теленка (GIBCO BRL), 1% пенициллина (100 ед/мл) плюс стрептомицина (100 мкг/мл);

(3) 0,25% раствор трипсина, приобретенный у Invitrogen Corp. и хранящийся при -20 °C;

(4) фосфатный буфер (PBS): 8 г NaCl, 0,2 г KCl, 1,15 г Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> и 0,2 г KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, растворенные в 1 л дважды дистиллированной воды и стерилизованные в автоклаве при 121 °C в течение 20 мин и затем хранящиеся при 4 °C;

(5) раствор МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромид) (AMRESCO): 5 мг/мл в PBS;

(6) раствор для растворения кристаллов формазана: 10 г SDS (додецилсульфат натрия), 5 мл изобутанола и 0,1 мл концентрированной соляной кислоты, растворенные в 100 мл деионизированной дважды дистиллированной воды.

#### Б. Экспериментальный метод

Эффекты ингибирования образцов в отношении вышеуказанных линий клеток определяли с помощью метода МТТ. Конкретные процедуры были следующими:

1) Культура клеток: (а) Хранящиеся клетки вынимали из жидкого азота, быстро размораживали на водяной бане при 37 °C и в стерильных условиях переносили в 6 мл клеточной среды в 10 мл центрифужную пробирку, которую центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 мин. Супернатант удаляли, затем осажденные клетки ресуспендировали в 5-6 мл клеточных сред путем пипетирования и переносили в колбу в инкубаторе при 37 °C для клеточной культуры; (б) на следующие сутки колбу вынимали из инкубатора и отработанную среду удаляли, затем клетки инкубировали в 5-6 мл свежей среды в инкубаторе при 37 °C; (в) на третьи сутки колбу вынимали из инкубатора и отработанную среду удаляли, затем в колбу добавляли 2-3 мл PBS (pH 7,4) при взбалтывании для очистки, и отработанный PBS удаляли. Такую стадию клеточной очистки повторяли еще раз. В колбу добавляли 3-5 капель 0,25% раствора трипсина при взбалтывании, тем самым хорошо их распределяя. Колбу закрывали и помещали в инкубатор при 37 °C на приблизительно 3 мин и под микроскопом наблюдали отделение клеток от стенок колбы. Добавляли 2 мл клеточной среды и клетки полностью отделяли от стенок колбы пипетированием, затем клеточную суспензию переносили в 2 отдельные чистые колбы, каждая из которых содержала 5-6 мл среды. Клеточную суспензию распределяли с помощью пипетирования, затем колбу помещали в инкубатор при 37 °C. (г) Стадию (в) повторяли каждый следующий день. В ходе всего процесса культивирования прилипающим клеткам не позволяли расти слишком густо, и суспензионные клетки всегда поддерживали в логарифмической стадии роста.

(2) Приготовление образца и контроля: надлежащее количество образца масла семян коикса (масло семян слез Иова) растворяли в ДМСО с получением раствора концентрации 10 мг/мл. Этот раствор разбавляли в градиентном разбавлении PBS для получения набора растворов образцов в концентрациях 10 мг/мл, 5000 мкг/мл, 2500 мкг/мл, 1250 мкг/мл, 625 мкг/мл и 312,5 мкг/мл, соответственно.

(3) Каждый разбавленный раствор образца добавляли в дублированные лунки 96-луночного плоскодонного микропланшета (10 мкл/лунку). Соответствующим образом разбавленные растворы ДМСО в качестве контролей добавляли в лунки микропланшета.

(4) Клетки в логарифмической стадии роста трипсинизировали и промывали, затем ресуспендировали в среде, содержащей 10% телячью сыворотку. Количество живых клеток подсчитывали методом исключения красителя трипанового синего и суспензии клеток доводили до плотности  $2 \times 10^5$  клеток/мл.

(5) Клеточный 96-луночный плоскодонный микропланшет помещали в инкубатор при 37 °С и клетки инкубировали в условиях 5% CO<sub>2</sub> в течение 48 часов.

(6) 20 мкл 5 мг/мл раствора МТТ добавляли в каждую лунку и клетки непрерывно инкубировали в инкубаторе в течение 3-4 часов.

(7) В каждую лунку добавляли 100 мкл раствора для растворения кристаллов и клетки непрерывно инкубировали в инкубаторе в течение ночи для растворения образующихся кристаллов формазана в достаточной степени. Затем значение оптической плотности измеряли при 570 нм для каждой лунки.

(8) На основании значений оптической плотности были рассчитаны степени ингибирования роста клеток для групп образцов различных концентраций. Формула расчета была следующей:

$(1 - \text{средняя оптическая плотность экспериментальных лунок} / \text{средняя оптическая плотность контрольных лунок}) \times 100\%$

#### В. Результаты экспериментов

Таблица 1. Степени ингибирования образцов различных концентраций в отношении роста клеток 8 линий клеток (%)

Линия клеток	Концентрация образца					
	1000 мкг/мл	500 мкг/мл	250 мкг/мл	125 мкг/мл	62,5 мкг/мл	31,25 мкг/мл

PANC-1	75,94	51,21	27,59	2,98	0,24	0,01
SKOV3	98,20	91,35	54,57	28,55	1,66	/
MCF-7	86,78	50,14	49,79	40,44	31,22	23,98
Всар-37	65,42	38,78	26,17	1,11	0,87	0,34
SMMC-7721	98,52	96,88	84,11	35,51	27,88	13,63
НepG-2	66,85	43,90	31,42	4,06	2,27	0,85
A549	97,22	67,81	43,67	24,63	17,65	10,37
H460	74,38	42,48	25,19	15,52	7,69	0,88

Таблица 2. Значения IC<sub>50</sub> образцов для 8 линий клеток *in vitro* (мкг/мл)

Линия клеток \ Образец	Масло семян коикса	Положительный контроль (таксол)
PANC-1	495,4	0,44
SKOV3	253,04	0,22
MCF-7	195,73	0,34
Всар-37	669,1	0,28
SMMC-7721	104,76	0,12
НepG-2	590,9	0,45
A549	192,63	0,49
H460	497,1	0,49

#### Г. Заключение

Масло семян коикса согласно изобретению в различных концентрациях обладает ингибирующим эффектом различной степени в отношении 8 линий опухолевых клеток человека.

Дальнейшие эксперименты подтвердили, что масло семян коикса согласно изобретению и его препараты также могут достигать желаемых эффектов, описанных выше в экспериментальных примерах.

Следующие примеры дополнительно иллюстрируют изобретение, но не являются ограничением изобретения.

#### **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНЫХ ВОПЛОЩЕНИЙ**

Пример 1. Получение масла семян коикса

Сверхкритическая экстракция диоксидом углерода: семена коикса измельчали в порошок с размером частиц 20 меш и экстрагировали с использованием двух 600 л экстракторов для сверхкритической экстракции CO<sub>2</sub>.

Порошок семян коикса помещали в экстрактор. Подогреватель CO<sub>2</sub>, экстрактор и разделительную колонку нагревали с помощью горячей воды, циркулирующей в рубашке, так чтобы температура экстракции и температура разделения составляли 40 °С и 45 °С, соответственно, и температуры на выходе из сепаратора I и сепаратора II поддерживались на отметке 50 °С и 35 °С, соответственно. Жидкий CO<sub>2</sub> подавали под давлением в подогреватель CO<sub>2</sub> с помощью насоса высокого давления при расходе 2 т/ч, превращая его во флюид в сверхкритическом состоянии. В экстракторе масло экстрагировали флюидом CO<sub>2</sub> под давлением 20 МПа. Затем флюид CO<sub>2</sub> с этим маслом подавали на разделительную колонку и давление разделительной колонки поддерживали на уровне 7 МПа для отделения масла. Газообразный CO<sub>2</sub> из разделительной колонки последовательно поступал в сепаратор I и сепаратор II, давление в которых поддерживалось на уровне 7 МПа и 6 МПа, соответственно. Отделенные примеси, такие как вода, удаляли. Посредством конденсатора газообразный CO<sub>2</sub> переводили в жидкое состояние для повторного использования. Непрерывная экстракция в течение 2,5 ч приводила к образованию неочищенного масла семян коикса.

Очистка: К неочищенному маслу семян коикса, полученному сверхкритической экстракцией CO<sub>2</sub>, добавляли 65% петролейного эфира (60 °С) относительно массы масла. 45% водного раствора NaOH (2%) относительно массы масла добавляли в соответствии с кислотным числом. После перемешивания в течение 10 мин и выдерживания в течение 20 ч, нижний грязный слой удаляли. Верхний слой промывали очищенной водой и выдерживали 22 ч. После удаления нижнего слоя отработанной воды верхний слой повторно промывали. После выдерживания в течение еще 46 ч нижний слой отработанной воды удаляли и верхний слой дезмульгировали путем добавления 80% ацетона относительно массы масла. После выдерживания в течение 3 ч нижний слой отработанного ацетона удаляли. К верхнему масляному слою добавляли 5% активированного нейтрального оксида алюминия относительно массы неочищенного масла, перемешивали 30 мин и фильтровали. Фильтрат нагревали, добавляли 4% активированных смешанного адсорбента каолина и углерода (1:1) относительно массы неочищенного масла, перемешивали 30 мин при 45 °С и затем фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении для удаления растворителя, и повторно промывали очищенной водой. После выдерживания в течение 1 ч нижний слой отработанной воды удаляли. Верхний

масляный слой концентрировали в атмосфере азота путем сухого нагревания в вакууме и затем подвергали стерилизации посредством сухого высушивания в вакууме при 165 °С в течение 1,5 ч. После охлаждения масло фильтровали через 0,2 мкм микропористую мембрану и отдельно загружали в 500 мл стеклянные инфузионные колбы в атмосфере азота и затем колбы герметизировали. Таким образом получали масло семян коикса с выходом 4,5%. Были определены следующие физико-химические константы: удельный вес при 20 °С – 0,915; показатель преломления при 20 °С – 1,471; кислотное число – 0,18; йодное число – 102; число омыления – 190.

#### Пример 2. Получение масла семян коикса.

Сверхкритическая экстракция диоксидом углерода: семена коикса измельчали в порошок с размером частиц 60 меш и экстрагировали с использованием двух 600 л экстракторов для сверхкритической экстракции CO<sub>2</sub>. Порошок семян коикса помещали в экстрактор. Подогреватель CO<sub>2</sub>, экстрактор и разделительную колонку нагревали с помощью горячей воды, циркулирующей в рубашке, так, чтобы температура экстракции и температура разделения составляли 40 °С и 40 °С, соответственно, и температуры на выходе из сепаратора I и сепаратора II поддерживались на уровне 20 °С и 15 °С, соответственно. Жидкий CO<sub>2</sub> подавали под давлением в подогреватель CO<sub>2</sub> с помощью насоса высокого давления с расходом 1 т/ч, превращая его во флюид в сверхкритическом состоянии. В экстракторе масло экстрагировали флюидом CO<sub>2</sub> под давлением 22 МПа. Затем флюид CO<sub>2</sub> с этим маслом подавали на разделительную колонку и давление разделительной колонки поддерживали на уровне 8 МПа для отделения масла. Газообразный CO<sub>2</sub> из разделительной колонки последовательно поступал в сепаратор I и сепаратор II, давление в которых поддерживалось на уровне 6 МПа и 5 МПа, соответственно. Отделенные примеси, такие как вода, удаляли. Посредством конденсатора газообразный CO<sub>2</sub> переводили в жидкое состояние для повторного использования. Непрерывная экстракция в течение 2 ч приводила к образованию неочищенного масла семян коикса.

Очистка: К неочищенному маслу семян коикса, полученному сверхкритической экстракцией CO<sub>2</sub>, добавляли 65% петролейного эфира (90 °С) относительно массы масла. 56% водного раствора NaOH (2%) относительно массы масла добавляли в соответствии с кислотным числом. После перемешивания в течение 10 мин и выдерживания в течение 22 ч нижний грязный

слой удаляли. Верхний слой промывали очищенной водой и выдерживали 20 ч. После удаления нижнего слоя отработанной воды верхний слой подвергали повторному промыванию. После выдерживания в течение еще 48 ч нижний слой отработанной воды удаляли и верхний слой дезмульгировали путем добавления 90% ацетона относительно массы масла. После выдерживания в течение 2 ч нижний слой отработанного ацетона удаляли. К верхнему масляному слою добавляли 8% активированного нейтрального оксида алюминия относительно массы неочищенного масла, перемешивали 30 мин и фильтровали. Фильтрат нагревали, добавляли 6% активированного смешанного адсорбента относительно массы неочищенного масла, перемешивали 30 мин при 42 °С и затем фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении для удаления растворителя и повторно промывали очищенной водой. После выдерживания в течение 2 ч нижний слой отработанной воды удаляли. Верхний масляный слой концентрировали в вакууме в атмосфере азота путем нагревания в вакууме и затем стерилизовали путем сухого нагревания в вакууме при 170 °С в течение 1,5 ч. После охлаждения масло фильтровали через 0,2 мкм микропористую мембрану и отдельно загружали в 500 мл стеклянные инфузионные колбы в атмосфере азота и затем колбы герметизировали. Таким образом получали масло семян коикса с выходом 4,9%. Были определены следующие физико-химические константы: удельный вес при 20 °С – 0,920; показатель преломления при 20 °С – 1,473; кислотное число – 0,19; йодное число – 104; число омыления – 186.

### Пример 3. Получение масла семян коикса

Сверхкритическая экстракция диоксидом углерода: семена коикса измельчали в порошок с размером частиц 100 меш и экстрагировали с использованием двух 600 л экстракторов для сверхкритической экстракции CO<sub>2</sub>. Порошок семян коикса помещали в экстрактор. Подогреватель CO<sub>2</sub>, экстрактор и разделительную колонку нагревали с помощью горячей воды, циркулирующей в рубашке, так, чтобы температура экстракции и температура разделения составляли 33 °С и 39 °С, соответственно, и температуры на выходе из сепаратора I и сепаратора II поддерживались на уровне 30 °С и 20 °С, соответственно. Жидкий CO<sub>2</sub> подавали под давлением в подогреватель CO<sub>2</sub> с помощью насоса высокого давления с расходом 3 т/ч, превращая его в флюид в сверхкритическом состоянии. В экстракторе масло экстрагировали флюидом CO<sub>2</sub> под давлением 19 МПа. Затем флюид CO<sub>2</sub> с этим маслом подавали на

разделительную колонку и давление разделительной колонки поддерживали на уровне 9 МПа для отделения масла. Газообразный  $\text{CO}_2$  из разделительной колонки последовательно поступал в сепаратор I и сепаратор II, давление в которых поддерживалось на уровне 5 МПа и 4 МПа, соответственно. Отделенные примеси, такие как вода, удаляли. Посредством конденсатора газообразный  $\text{CO}_2$  переводили в жидкое состояние для повторного использования. Непрерывная экстракция в течение 3 ч приводила к образованию неочищенного масла семян коикса.

Очистка: К неочищенному маслу семян коикса, полученному сверхкритической экстракцией  $\text{CO}_2$ , добавляли 65% петролейного эфира (80 °C) относительно массы масла. 36% водного раствора NaOH (2%) относительно массы масла добавляли в соответствии с кислотным числом. После перемешивания в течение 10 мин и выдерживания в течение 18 ч нижний грязный слой удаляли. Верхний слой промывали очищенной водой и выдерживали 18 ч. После удаления нижнего слоя отработанной воды верхний слой подвергали повторному промыванию. После выдерживания в течение еще 42 ч, нижний слой отработанной воды удаляли и верхний слой деэмульгировали путем добавления 75% ацетона относительно массы масла. После выдерживания в течение 2 ч нижний слой отработанного ацетона удаляли. К верхнему масляному слою добавляли 3% активированного нейтрального оксида алюминия относительно массы неочищенного масла, перемешивали 30 мин и фильтровали. Фильтрат нагревали, добавляли 2% активированного смешанного адсорбента (из того же источника) относительно массы неочищенного масла, перемешивали 30 мин при 47 °C и затем фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении для удаления растворителя и повторно промывали очищенной водой. После выдерживания в течение 1 ч нижний слой отработанной воды удаляли. Верхний масляный слой концентрировали в атмосфере азота путем нагревания под вакуумом и затем стерилизовали путем сухого нагревания под вакуумом при 160 °C в течение 2 ч. После охлаждения масло фильтровали через 0,2 мкм микропористую мембрану и отдельно загружали в 500 мл стеклянные инфузионные флаконы в атмосфере азота и затем флаконы герметизировали. Таким образом получали масло семян коикса с выходом 4,7%. Были определены следующие физико-химические константы: удельный вес при 20 °C – 0,918; показатель преломления при 20 °C – 1,474; кислотное число – 0,15; йодное число – 100; число омыления – 194.

#### Пример 4. Получение масла семян коикса.

Сверхкритическая экстракция диоксидом углерода: семена коикса измельчали в порошок с размером частиц 30 меш и экстрагировали с использованием двух 600 л экстракторов для сверхкритической экстракции CO<sub>2</sub>. Порошок семян коикса помещали в экстрактор. Подогреватель CO<sub>2</sub>, экстрактор и разделительную колонку нагревали с помощью горячей воды, циркулирующей в рубашке, так, чтобы температура экстракции и температура разделения составляли 35 °С и 42 °С, соответственно, и температуры на выходе из сепаратора I и сепаратора II поддерживались на уровне 40 °С и 30 °С, соответственно. Жидкий CO<sub>2</sub> подавали под давлением в подогреватель CO<sub>2</sub> с помощью насоса высокого давления с расходом 1,5 т/ч, превращая его во флюид в сверхкритическом состоянии. В экстракторе масло экстрагировали флюидом CO<sub>2</sub> под давлением 21 МПа. Затем флюид CO<sub>2</sub> с этим маслом подавали на разделительную колонку и давление разделительной колонки поддерживали на уровне 10 МПа для отделения масла. Газообразный CO<sub>2</sub> из разделительной колонки последовательно поступал в сепаратор I и сепаратор II, давление в которых поддерживалось на уровне 7 МПа и 5 МПа, соответственно. Отделенные примеси, такие как вода, удаляли. Посредством конденсатора газообразный CO<sub>2</sub> переводили в жидкое состояние для повторного использования. Непрерывная экстракция в течение 2 ч приводила к образованию неочищенного масла семян коикса.

Очистка: К неочищенному маслу семян коикса, полученному сверхкритической экстракцией CO<sub>2</sub>, добавляли 65% петролейного эфира (70 °С) относительно массы масла. 50% водного раствора NaOH (2%) относительно массы масла добавляли в соответствии с кислотным числом. После перемешивания в течение 10 мин и выдерживания в течение 19 ч нижний грязный слой удаляли. Верхний слой промывали очищенной водой и выдерживали 21 ч. После удаления нижнего слоя отработанной воды верхний слой подвергали повторному промыванию. После выдерживания в течение еще 50 ч нижний слой отработанной воды удаляли и верхний слой деэмульгировали путем добавления 85% ацетона относительно массы масла. После выдерживания в течение 4 ч нижний слой отработанного ацетона удаляли. К верхнему масляному слою добавляли 6% активированного нейтрального оксида алюминия относительно массы неочищенного масла, перемешивали 30 мин и фильтровали. Фильтрат нагревали, добавляли 5% активированного смешанного адсорбента (из того же

источника) относительно массы неочищенного масла, перемешивали 30 мин при 50 °С и затем фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении для удаления растворителя и повторно промывали очищенной водой. После выдерживания в течение 1 ч нижний слой отработанной воды удаляли. Верхний масляный слой концентрировали в атмосфере азота путем нагревания в вакууме и затем стерилизовали путем сухого нагревания под вакуумом при 162 °С в течение 2 ч. После охлаждения масло фильтровали через 0,2 мкм микропористую мембрану и отдельно загружали в 500 мл стеклянные инфузионные флаконы в атмосфере азота, и затем флаконы герметизировали. Таким образом получали масло семян коикса с выходом 4,0%. Были определены следующие физико-химические константы: удельный вес при 20 °С – 0,920; показатель преломления при 20 °С – 1,471; кислотное число – 0,16; йодное число – 105; число омыления – 192.

#### Пример 5. Получение масла семян коикса.

Сверхкритическая экстракция диоксидом углерода: семена коикса измельчали в порошок с размером частиц 40 меш и экстрагировали с использованием двух 600 л экстракторов для сверхкритической экстракции CO<sub>2</sub>. Порошок семян коикса помещали в экстрактор. Подогреватель CO<sub>2</sub>, экстрактор и разделительную колонку нагревали с помощью горячей воды, циркулирующей в рубашке, так, чтобы температура экстракции и температура разделения составляли 42 °С и 45 °С, соответственно и температуры на выходе из сепаратора I и сепаратора II поддерживались на уровне 35 °С и 25 °С, соответственно. Жидкий CO<sub>2</sub> подавали под давлением в подогреватель CO<sub>2</sub> с помощью насоса высокого давления с расходом 2 т/ч, превращая его во флюид в сверхкритическом состоянии. В экстракторе масло экстрагировали флюидом CO<sub>2</sub> под давлением 23 МПа. Затем флюид CO<sub>2</sub> с этим маслом подавали на разделительную колонку и давление разделительной колонки поддерживали на уровне 8 МПа для отделения масла. Газообразный CO<sub>2</sub> из разделительной колонки последовательно поступал в сепаратор I и сепаратор II, давление в которых поддерживалось на уровне 6 МПа и 4 МПа, соответственно. Отделенные примеси, такие как вода, удаляли. Посредством конденсатора газообразный CO<sub>2</sub> переводили в жидкое состояние для повторного использования. Непрерывная экстракция в течение 2,5 ч приводила к образованию неочищенного масла семян коикса.

Очистка: К неочищенному маслу семян коикса, полученному сверхкритической экстракцией CO<sub>2</sub>, добавляли 65% петролейного эфира (80 °С) относительно массы масла. 40% водного раствора NaOH (2%) относительно массы масла добавляли в соответствии с кислотным числом. После перемешивания в течение 10 мин и выдерживания в течение 24 ч нижний грязный слой удаляли. Верхний слой промывали очищенной водой и выдерживали 24 ч. После удаления нижнего слоя отработанной воды верхний слой подвергали повторному промыванию. После выдерживания в течение еще 44 ч нижний слой отработанной воды удаляли и верхний слой дезмульгировали путем добавления 70% ацетона относительно массы масла. После выдерживания в течение 3 ч нижний слой отработанного ацетона удаляли. К верхнему масляному слою добавляли 4% активированного нейтрального оксида алюминия относительно массы неочищенного масла, перемешивали 30 мин и фильтровали. Фильтрат нагревали, добавляли 3% активированного смешанного адсорбента (из того же источника) относительно массы неочищенного масла, перемешивали 30 мин при 50 °С и затем фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении для удаления растворителя и повторно промывали очищенной водой. После выдерживания в течение 1,5 ч нижний слой отработанной воды удаляли. Верхний масляный слой концентрировали в атмосфере азота путем нагревания в вакууме и затем стерилизовали путем сухого нагревания под вакуумом при 162 °С в течение 1,5 ч. После охлаждения масло фильтровали через 0,2 мкм микропористую мембрану и отдельно загружали в 500 мл стеклянные инфузионные флаконы в атмосфере азота, и затем флаконы герметизировали. Таким образом получали масло семян коикса с выходом 4,3%. Были определены следующие физико-химические константы: удельный вес при 20 °С – 0,916; показатель преломления при 20 °С – 1,473; кислотное число – 0,14; йодное число – 101; число омыления – 192.

#### Пример 6

8000 мг масла семян коикса растворяли в 10 мл н-гексана с использованием ультразвукового способа растворения и готовили в виде раствора масла семян коикса в ацетоне (50 мг/мл). Этот раствор разделяли на устройстве для препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии СНЕЕТАН-НР100 (колонка: Venusil XBP silica, 20 × 250 мм, 10 мкм, подвижная фаза: н-гексан/ацетон 94:6 (об./об.); объем вводимой пробы 15 мл; расход: 18 мл/мин; испарительный детектор светорассеяния: температура дрейфовой трубки

45 °С, расход газа-носителя 2,0 л/мин). Пиковую фракцию при времени выхода пика 15,8 мин собирали и концентрировали под вакуумом при 30 °С. Концентрированную фракцию переносили в 10 мл пробирку для образцов и продували азотом при температуре окружающей среды с получением бесцветного масла 1,3-диолеина.

Q-TOF/MS (квадрупольная время-пролетная масс-спектрометрия): пики квазимолекулярных ионов  $[M+Na]^+$   $m/z$  643,5277 (рассчитано 643,5272,  $C_{39}H_{72}O_5Na$ ),  $\Omega$  (степень ненасыщенности) составляла 4.

Данные  $^1H$ -ЯМР и  $^{13}C$ -ЯМР приведены в Таблице 3.

Таблица 3. Данные  $^1H$ -ЯМР и  $^{13}C$ -ЯМР ( $CDCl_3$ )

Положение	$^1H$ -ЯМР	$^{13}C$ -ЯМР
C-1', 1"		174,0
C-2', 2"	2,33 (4H, t, $J = 5,0$ Гц)	34,3
C-3', 3"		25,0
C-4', 4"		29,3
C-5', 5"		29,3
C-6', 6"		29,3
C-7', 7"		29,8
C-8', 8"		27,3
C-9', 9"	5,34 (2H, m)	129,9
C-10', 10"	5,34 (2H, m)	130,2
C-11', 11"		27,3
C-12', 12"		29,9
C-13', 13"		29,5
C-14', 14"		29,7
C-15', 15"		29,5
C-16', 16"		32,1
C-17', 17"		22,8
C-18', 18"	0,87 (6H, t, $J = 5$ Гц)	14,3
C-1	4,19 (2H, dd, $J = 11,6, 4,8$ Гц) 4,13 (2H, dd, $J = 11,6, 5,7$ Гц)	65,2
C-2	4,08 (1H, m)	68,6
C-3	4,19 (2H, dd, $J = 11,6, 4,8$ Гц)	65,2

	4,13 (2H, dd, $J = 11,6, 5,7$ Гц)	
--	-----------------------------------	--

## Пример 7

8000 мг масла семян коикса растворяли в 10 мл н-гексана с использованием ультразвукового способа растворения и готовили в виде раствора масла семян коикса в ацетоне (50 мг/мл). Этот раствор разделяли на устройстве для препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии СНЕЕТАН-HP100 (колонка: Venusil ХВР silica, 20 × 250 мм, 10 мкм, подвижная фаза: н-гексан/ацетон 94:6 (об./об.); объем вводимой пробы 15 мл; расход: 18 мл/мин; испарительный детектор светорассеяния: температура дрейфовой трубки 45 °С, расход газа-носителя 2,0 л/мин). Пиковую фракцию при времени выхода пика 17 мин собирали и концентрировали под вакуумом при 30 °С. Концентрированную фракцию переносили в 10 мл пробирку для образцов и продували азотом при температуре окружающей среды с получением бесцветного масла 1-линолеин-3-олеина.

Q-TOF/MS: пики квазимолекулярных ионов  $[M+Na]^+$  m/z 641,5121 (рассчитано 641,5115,  $C_{39}H_{70}O_5Na$ ),  $\Omega$  составляла 5.

Данные  $^1H$ -ЯМР и  $^{13}C$ -ЯМР приведены в Таблице 4.

Таблица 4. Данные  $^1H$ -ЯМР и  $^{13}C$ -ЯМР ( $CDCl_3$ )

Положение	$^1H$ -ЯМР	$^{13}C$ -ЯМР	Положение	$^1H$ -ЯМР	$^{13}C$ -ЯМР
C-1'		174,8	C-1''		174,8
C-2'	2,35 (4H, t, $J = 7,6$ Гц)	35,1	C-2''	2,35 (4H, t, $J = 7,6$ Гц)	35,1
C-3'		25,9	C-3''		25,9
C-4'		30,1	C-4''		30,1
C-5'		30,1	C-5''		30,1
C-6'		30,1	C-6''		30,1
C-7'		30,7	C-7''		30,7
C-8'		28,2	C-8''		28,2
C-9'	5,39 (1H, m)	131,0	C-9''	5,39 (1H, m)	130,7
C-10'	5,39 (1H, m)	129,1	C-10''	5,39 (1H, m)	131,0
C-11'	2,80 (2H, t, $J = 6,6$ Гц)	26,6	C-11''		28,2

C-12'	5,39 (1H, m)	128,9	C-12"		30,8
C-13'	5,39 (1H, m)	131,2	C-13"		30,3
C-14'		28,2	C-14'		30,6
C-15'		30,5	C-15"		30,3
C-16'		32,5	C-16"		32,9
C-17'		23,6	C-17"		23,7
C-18'	0,91 (3H, t, $J = 5,0$ Гц)	15,0	C-18"	0,92 (3H, t, $J = 5,0$ Гц)	15,1
C-1	4,21 (2H, dd, $J = 11,5,$ 4,3 Гц) 4,16 (2H, dd, $J = 11,5,$ 5,7 Гц)	66,0			
C-2	4,11 (1H, m)	69,4			
C-3	4,21 (2H, dd, $J = 11,5,$ 4,3 Гц) 4,16 (2H, dd, $J = 11,5,$ 5,7 Гц)	66,0			

#### Пример 8

8000 мг масла семян коикса растворяли в 10 мл н-гексана с использованием ультразвукового способа растворения и готовили в виде раствора масла семян коикса в ацетоне (50 мг/мл). Этот раствор разделяли на устройстве для препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии СНЕЕТАН-HP100 (колонка: Venusil XBP silica, 20 × 250 мм, 10 мкм, подвижная фаза: н-гексан/ацетон 94:6 (об./об.); объем вводимой пробы 15 мл; расход: 18 мл/мин; испарительный детектор светорассеяния: температура дрейфовой трубки 45 °С, расход газа-носителя 2,0 л/мин). Пиковую фракцию при времени выхода пика 23 мин собирали и концентрировали под вакуумом при 30 °С. Концентрированную фракцию переносили в 10 мл пробирку для образцов и продували азотом при температуре окружающей среды с получением бесцветного масла 1,2-диолеина.

Q-TOF/MS: пики квазимолекулярных ионов  $[M+Na]^+$   $m/z$  643,5277 (рассчитано 643,5272,  $C_{39}H_{72}O_5Na$ ),  $\Omega$  составляла 4.

Данные  $^1H$ -ЯМР и  $^{13}C$ -ЯМР приведены в Таблице 5.

Таблица 5. Данные  $^1\text{H}$ -ЯМР и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ )

Положение	$^1\text{H}$ -ЯМР	$^{13}\text{C}$ -ЯМР
C-1'		173,9
C-1''		173,5
C-2'	2,33 (4H, t, $J = 5,0$ Гц)	34,2
C-2''		34,4
C-3'		25,0
C-3''		25,1
C-4', 4''		29,3
C-5', 5''		29,3
C-6', 6''		29,3
C-7', 7''		29,8
C-8', 8''		27,3
C-9', 9''	5,35 (2H, m)	129,8
C-10', 10''	5,35 (2H, m)	130,2
C-11', 11''		27,3
C-12', 12''		29,9
C-13', 13''		29,5
C-14', 14''		29,7
C-15', 15''		29,5
C-16', 16''		32,1
C-17', 17''		22,7
C-18', 18''	0,88 (6H, t, $J = 5$ Гц)	14,3
C-1	4,32 (2H, dd, $J = 12,0, 4,6$ Гц)	62,1
	4,24 (2H, dd, $J = 12,0, 5,6$ Гц)	
C-2	5,08 (1H, m)	72,3
C-3	3,73 (2H, d, $J = 3,2$ Гц)	61,8

## Пример 9

8000 мг масла семян коикса растворяли в 10 мл н-гексана с использованием ультразвукового способа растворения и готовили в виде раствора масла семян коикса в ацетоне (50 мг/мл). Этот раствор разделяли на устройстве для препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии СНЕЕТАН-НР100 (колонка: Venusil ХВР silica, 20 × 250 мм, 10 мкм, подвижная

фаза: н-гексан/ацетон 94:6 (об./об.); объем вводимой пробы 15 мл; расход: 18 мл/мин; испарительный детектор светорассеяния: температура дрейфовой трубки 45 °С, расход газа-носителя 2,0 л/мин). Пиковую фракцию при времени выхода пика 24,5 мин собирали и концентрировали под вакуумом при 30 °С. Концентрированную фракцию переносили в 10 мл пробирку для образцов и продували азотом при температуре окружающей среды с получением бесцветного масла 1-олеин-2-линолеина.

Q-TOF/MS: пики квазимолекулярных ионов  $[M+Na]^+$   $m/z$  641,5121 (рассчитано 641,5115,  $C_{39}H_{70}O_5Na$ ),  $\Omega$  составляла 5.

Данные  $^1H$ -ЯМР и  $^{13}C$ -ЯМР приведены в Таблице 6.

Таблица 6. Данные  $^1H$ -ЯМР и  $^{13}C$ -ЯМР ( $CDCl_3$ )

Положение	$^1H$ -ЯМР	$^{13}C$ -ЯМР	Положение	$^1H$ -ЯМР	$^{13}C$ -ЯМР
C-1'		173,9	C-1''		173,5
C-2'	2,33 (2H, t, $J = 5,0$ Гц)	34,2	C-2''	2,33 (2H, t, $J = 5,0$ Гц)	34,4
C-3'		25,0	C-3''		25,1
C-4'		29,3	C-4''		29,3
C-5'		29,3	C-5''		29,5
C-6'		29,3	C-6''		29,3
C-7'		29,8	C-7''		29,9
C-8'		27,3	C-8''		27,4
C-9'	5,37 (1H, m)	129,8	C-9''	5,37 (1H, m)	130,2
C-10'	5,37 (1H, m)	130,2	C-10''	5,37 (1H, m)	128,2
C-11'		25,8	C-11''	2,77 (2H, t, $J = 6,5$ Гц)	25,8
C-12'		29,9	C-12''	5,37 (1H, m)	128,0
C-13'		29,5	C-13''	5,37 (1H, m)	130,4
C-14'		27,4	C-14''		27,4
C-15'		29,5	C-15''		29,8
C-16'		32,1	C-16''		31,7
C-17'		22,8	C-17''		22,7
C-18'	0,89 (3H, t, $J = 6,8$ Гц)	14,3	C-18''	0,88 (3H, t, $J = 6,8$ Гц)	14,2

C-1	4,32 (1H, dd, $J = 11,9$ , 4,5 Гц) 4,23 (1H, dd, $J = 11,9$ , 5,6 Гц)	62,1			
C-2	5,08 (1H, m)	72,3			
C-3	3,73 (2H, d, $J = 3,2$ Гц)	61,8			

### Пример 10

8000 мг масла семян коикса растворяли в 10 мл н-гексана с использованием ультразвукового способа растворения и готовили в виде раствора масла семян коикса в ацетоне (50 мг/мл). Этот раствор разделяли на устройстве для препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии СНЕЕТАН-НР100 (колонка: Venusil ХВР silica, 20 × 250 мм, 10 мкм, подвижная фаза: н-гексан/ацетон 94:6 (об./об.); объем вводимой пробы 15 мл; расход: 18 мл/мин; испарительный детектор светорассеяния: температура дрейфовой трубки 45 °С, расход газа-носителя 2,0 л/мин). Пиковую фракцию при времени выхода пика 27 мин собирали и концентрировали под вакуумом при 30 °С. Концентрированную фракцию переносили в 10 мл пробирку для образцов и продували азотом при температуре окружающей среды с получением бесцветного масла 1,2-дилилолеина.

Q-TOF/MS: пики квазимолекулярных ионов  $[M+Na]^+$   $m/z$  639,4964 (рассчитано 639,4959,  $C_{39}H_{68}O_5Na$ ),  $\Omega$  составляла 6.

Данные  $^1H$ -ЯМР и  $^{13}C$ -ЯМР приведены в Таблице 7.

Таблица 7. Данные  $^1H$ -ЯМР и  $^{13}C$ -ЯМР ( $CDCl_3$ )

Положен ие	$^1H$ -ЯМР	$^{13}C$ - ЯМР	Положе ние	$^1H$ -ЯМР	$^{13}C$ - ЯМР
C-1'		173,9	C-1''		173,5
C-2'	2,32 (4H, t, $J = 5,0$ Гц)	34,2	C-2''	2,35 (2H, t, $J = 5,0$ Гц)	34,4
C-3'		25,0	C-3''		25,1
C-4'		29,3	C-4''		29,3
C-5'		29,5	C-5''		29,5
C-6'		29,3	C-6''		29,3
C-7'		29,9	C-7''		29,9

C-8'		27,4	C-8''		27,4
C-9'	5,37 (1H, m)	130,2	C-9''	5,37 (1H, m)	130,2
C-10'	5,37 (1H, m)	128,2	C-10''	5,37 (1H, m)	128,2
C-11'	2,77 (4H, t, $J = 6,5$ Гц)	25,8	C-11''	2,77 (2H, t, $J = 6,5$ Гц)	25,8
C-12'	5,37 (1H, m)	128,0	C-12''	5,37 (1H, m)	128,0
C-13'	5,37 (1H, m)	130,4	C-13''	5,37 (1H, m)	130,4
C-14'		27,4	C-14''		27,4
C-15'		29,8	C-15''		29,8
C-16'		31,7	C-16''		31,7
C-17'		22,7	C-17''		22,7
C-18'	0,89 (3H, t, $J = 6,8$ Гц)	14,2	C-18''	0,89 (3H, t, $J = 6,8$ Гц)	14,2
C-1	4,32 (1H, dd, $J =$ 11,9, 4,6 Гц) 4,24 (1H, dd, $J =$ 12,0, 5,6 Гц)	62,1			
C-2	5,08 (1H, m)	72,3			
C-3	3,73 (2H, d, $J = 3,2$ Гц)	61,8			

#### Пример 11. Выделение и определение триолеина.

Выделение проводили на устройстве для препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии P3000A (колонка: Superstar Venetnach™ C18, 20 мм × 150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: ацетонитрил, подвижная фаза В: ацетонитрил/тетрагидрофуран (1:1)). Раствор масла семян коикса (50 мг/мл) был получен с подвижной фазой В и объем вводимой пробы для каждого отделения составлял 1,5 мл. Условия градиента были следующими: подвижная фаза В: 0-27 мин: 50-60%, 27-35 мин: 90%, 35-45 мин: 100%; и расход: 18 мл/мин. УФ-детектирование проводили при 208 нм. Пиковые фракции при времени выхода пика 12,6-14,2 мин собирали и концентрировали с помощью роторного испарителя в вакууме в атмосфере азота. Остатки переносили хлороформом в 10 мл флакон и сушили в вакуумной печи при 35 °С в течение 6 часов. После заполнения азотом высушенные образцы замораживали в холодильнике с получением триолеина.

HR-EI-MS (масс-спектрометрия высокого разрешения с ионизацией электронным ударом):  $m/z$  составляло 878,7344 (рассчитано 878,7363,  $C_{57}H_{98}O_6$ ), степень ненасыщенности составляла 9.

ИК (пленка KBr): 1746, 1170, 1098; 2928, 2856, 724; 3008, 1655  $cm^{-1}$  (слабое).

Данные  $^1H$ -ЯМР показаны в Таблице 8.

Данные  $^{13}C$ -ЯМР показаны в Таблице 9.

Таблица 8. Спектральные данные  $^1H$ -ЯМР ( $CDCl_3$ ) соединений Примеров 6-13.

No.	C-H	H	1-H	3-H	4-H	5-H	6-H	7-H	8-H	9-H	10-H	11-H	12-H	13-H	14-H	15-H	16-H	17-H	18-H
A LLL	$\alpha$	4.30																	
	$\beta$	5.27	2.32	1.61		1.32			2.05	5.36		2.77	5.36		2.05		1.32		0.89
	$\alpha'$	4.15																	
B OLL	$\alpha$	4.29																	
	$\beta$	5.27	2.32	1.61		1.33			2.04	5.37		2.77	5.37		2.04		1.33		0.88
	$\alpha'$	4.14										2.04			1.33				
C PLL	$\alpha$	4.30																	
	$\beta$	5.27	2.31	1.61		1.31			2.05	5.36		2.77	5.36		2.05		1.31		0.88
	$\alpha'$	4.15							1.31					1.31			0.88		
D OLO	$\alpha$	4.30																	
	$\beta$	5.27	2.32	1.61		1.32			2.05	5.36		2.05			1.32		1.32		0.89
	$\alpha'$	4.15										2.77	5.36		2.05				
E PLO	$\alpha$	4.15																	
	$\beta$	5.27	2.31	1.61		1.28			2.04	5.35		2.04	5.35	1.28			1.28	1.28	0.88
	$\alpha'$	4.30							1.28								0.88		
F PLP	$\alpha$	4.15																	
	$\beta$	5.27	2.31	1.61		1.28			1.28	5.36		2.77	5.36		2.05		1.28		0.88
	$\alpha'$	4.30										1.28					0.88		
G OOO	$\alpha$	4.15																	
	$\beta$	5.27	2.31	1.61		1.28			2.00	5.34		2.00		1.28					0.88
	$\alpha'$	4.30																	
H POO	$\alpha$	4.15																	
	$\beta$	5.27	2.31	1.61		1.28			2.04	5.34		2.04		1.27					0.88
	$\alpha'$	4.30								1.27							0.88		

A: триинолеин, B: 1-олеин-2,3-дилинолеин, C: 1-пальмитин-2,3-дилинолеин, D: 1,3-диолеин-2-линолеин, E: 1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин, F: 1,3-дипальмитин-2-линолеин, G: триолеин, H: 1-пальмитин-2,3-диолеин.

Таблица 9. Спектральные данные  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ) соединений Примеров 6-13.

No. Abb.	GL-C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14	C-15	C-16	C-17	C-18
A	$\alpha$	62.12	173.28	34.05	24.86					130.01	128.08	25.64	127.91	130.22	27.21	29.05-29.62	31.53	22.58	14.07
	$\beta$	68.91	172.87	34.21	24.90	29.05-29.62			27.21	129.98	128.09		127.90						
B	$\alpha$	62.12	173.28	34.04	24.86				27.22	130.03	128.08	25.65	127.91	130.24	27.24	29.07-29.79	31.55	22.60	14.10
	$\beta$	68.89	172.87	34.21	24.90	29.07-29.79			27.19	130.00	128.10		127.90						
OIL	$\alpha'$		173.29						129.73	130.03	27.22			29.07-29.79			31.93	22.71	14.14
	$\alpha$	62.12	173.30	34.04	24.89				130.02	128.08		25.64	127.909	130.236		29.06-29.72	31.54	22.59	14.09
C	$\beta$	68.90	172.88	34.20	24.85	29.06-29.72			27.21	129.99	128.09		127.898	130.236					
	$\alpha'$		173.34	34.07	24.88				29.06-29.72								31.95	22.71	14.14
D	$\alpha$	62.12	173.29	34.05	24.86				27.20	129.73	130.03	27.24		29.07-29.79			31.93	22.71	14.14
	$\beta$	68.89	172.87	34.21	24.90	29.07-29.79			27.22	130.00	128.10	25.65	127.90	130.24	27.24	29.07-29.79	31.55	22.60	14.10
E	$\alpha$	62.11	173.28	34.04	24.85				27.18	129.71	130.01	27.21		29.06-29.78			31.92	22.69	14.12
	$\beta$	68.91	172.86	34.20	24.87	29.06-29.78			27.21	129.98	128.09	25.64	127.90	130.22	27.23	29.06-29.78	31.54	22.58	14.07
PLO	$\alpha'$		173.32	34.06	24.88				29.06-29.78						31.94	22.71	14.12		
	$\alpha$	62.09	173.32	34.05	24.86					29.05-29.70					31.93	22.69	14.12		
PLP	$\beta$	68.89	172.86	34.19	24.88	29.05-29.70			27.20	129.97	128.08	25.63	127.89	130.22	27.20	29.05-29.70	31.53	22.58	14.07
	$\alpha$	62.12	173.29	34.04	24.86				27.19	129.72	130.02	27.24			29.07-29.78		31.92	22.70	14.12
OOO	$\beta$	68.90	172.87	34.21	24.90	29.07-29.78			129.69	130.03									
	$\alpha$	62.12	173.31	34.04	24.88				129.72	130.02									
H	$\beta$	68.90	172.90	34.21	24.86	29.06-29.78			27.19	129.69	130.03	27.24		29.06-29.78			31.92	22.70	14.12
	$\alpha'$		173.35	34.06	24.90				29.06-29.78						31.94	22.70	14.12		

A: триолеин, B: 1-олеин-2,3-диолеин, C: 1-пальмитин-2,3-диолеин, D: 1,3-диолеин-2-линолеин, E: 1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин, F: 1,3-дипальмитин-2-линолеин, G: триолеин, H: 1-пальмитин-2,3-диолеин.

Пример 12. Выделение и определение 1-олеин-2,3-дилинолеина.

Выделение проводили на устройстве для препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии P3000A (колонка: Superstar Venetnach™ C18, 20 мм × 150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: ацетонитрил, подвижная фаза В: ацетонитрил/тетрагидрофуран (1:1)). Раствор масла семян коикса (50 мг/мл) был получен с подвижной фазой В и объем вводимой пробы для каждого отделения составлял 1,5 мл. Условия градиента были следующими: подвижная фаза В: 0-27 мин: 50-60%, 27-35 мин: 90%, 35-45 мин: 100%; и расход: 18 мл/мин. УФ-детектирование проводили при 208 нм. Пиковые фракции при времени выхода пика 15,4-17,3 мин собирали и концентрировали с помощью роторного испарителя в вакууме в атмосфере азота. Остатки переносили хлороформом в 10 мл флакон и сушили в вакуумной печи при 35 °С в течение 6 часов. После заполнения азотом высушенные образцы замораживали в холодильнике с получением 1-олеин-2,3-дилинолеина.

HR-EI-MS: m/z составляло 880,7518 (рассчитано 854,7363, C<sub>55</sub>H<sub>98</sub>O<sub>6</sub>), степень ненасыщенности составляла 7.

ИК (пленка KBr): 1747, 1164, 1098; 2925, 2854, 723; 3008, 1655 см<sup>-1</sup> (слабое).

Данные <sup>1</sup>H-ЯМР показаны в Таблице 8.

Данные <sup>13</sup>C-ЯМР показаны в Таблице 9.

Пример 13. Выделение и определение 1-пальмитин-2,3-дилинолеина.

Предварительное выделение проводили на устройстве для препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) P3000A (колонка: Superstar Venetnach™ C18, 20 мм × 150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: ацетонитрил, подвижная фаза В: ацетонитрил/тетрагидрофуран (1:1)). Раствор масла семян коикса (50 мг/мл) был получен с подвижной фазой В и объем вводимой пробы для каждого отделения составлял 1,5 мл. Условия градиента были следующими: подвижная фаза В: 0-27 мин: 50-60%, 27-35 мин: 90%, 35-45 мин: 100%; и расход: 18 мл/мин. УФ-детектирование проводили при 208 нм. Пиковые фракции при времени выхода пика 17,4-18,1 мин собирали и концентрировали с помощью роторного испарителя в вакууме в атмосфере азота с получением неочищенного продукта.

Вторичную очистку осуществляли на колонке Superstar Venetnach™ C18 (10 мм × 250 мм, 5 мкм) с подвижной фазой А: ацетонитрил и подвижной фазой В: ацетонитрил/тетрагидрофуран (1:1). Раствор полученного ранее неочищенного

продукта (20 мг/мл) получали с подвижной фазой В и объем вводимой пробы для каждого отделения составлял 1,5 мл. Условия градиента были следующими: подвижная фаза В: 0-23 мин: 50-60%, 32-43 мин: 60-90%, 43-60 мин: 100%; и расход: 3 мл/мин. УФ-детектирование проводили при 208 нм. Пиковые фракции при времени выхода пика 31,2-34,7 мин собирали и концентрировали с помощью роторного испарителя в вакууме в атмосфере азота. Остатки переносили хлороформом в 10 мл флакон и сушили в вакуумной печи при 35 °С в течение 6 часов. После заполнения азотом высушенные образцы замораживали в холодильнике с получением 1-пальмитин-2,3-дидолинолеина.

HR-EI-MS:  $m/z$  составляло 854,7370 (рассчитано 854,7363,  $C_{55}H_{98}O_6$ ), степень ненасыщенности составляла 7.

ИК (пленка KBr): 1746, 1165, 1095; 2926, 2854, 722; 3009, 1648  $cm^{-1}$  (слабое).

Данные  $^1H$ -ЯМР показаны в Таблице 8.

Данные  $^{13}C$ -ЯМР показаны в Таблице 9.

Пример 14. Выделение и определение 1,3-диолеин-2-линолеина.

Выделение проводили на устройстве для препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии P3000A (колонка: Superstar Venetnach<sup>TM</sup> C18, 20 мм × 150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: ацетонитрил, подвижная фаза В: ацетонитрил/тетрагидрофуран (1:1)). Раствор масла семян коикса (50 мг/мл) был получен с подвижной фазой В и объем вводимой пробы для каждого отделения составлял 1,5 мл. Условия градиента были следующими: подвижная фаза В: 0-27 мин: 50-60%, 27-35 мин: 90%, 35-45 мин: 100%; и расход: 18 мл/мин. УФ-детектирование проводили при 208 нм. Пиковые фракции при времени выхода пика 18,4-20,2 мин собирали и концентрировали с помощью роторного испарителя в вакууме в атмосфере азота. Остатки переносили хлороформом в 10 мл флакон и сушили в вакуумной печи при 35 °С в течение 6 часов. После заполнения азотом высушенные образцы замораживали в холодильнике с получением 1,3-диолеин-2-линолеина.

HR-EI-MS:  $m/z$  составляло 882,7678 (рассчитано 882,7672,  $C_{57}H_{102}O_6$ ), степень ненасыщенности составляла 7.

ИК (пленка KBr): 1747, 1163, 1097; 2925, 2855, 723; 3007, 1655  $cm^{-1}$  (слабое).

Данные  $^1H$ -ЯМР показаны в Таблице 8.

Данные  $^{13}C$ -ЯМР показаны в Таблице 9.

Пример 15. Выделение и определение 1-пальмитин-2-линолеин-3-олеина.

Выделение проводили на устройстве для препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии P3000A (колонка: Superstar Venetnach™ C18, 20 мм × 150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: ацетонитрил, подвижная фаза В: ацетонитрил/тетрагидрофуран (1:1)). Раствор масла семян коикса (50 мг/мл) был получен с подвижной фазой В и объем вводимой пробы для каждого отделения составлял 1,5 мл. Условия градиента были следующими: подвижная фаза В: 0-27 мин: 50-60%, 27-35 мин: 90%, 35-45 мин: 100%; и расход: 18 мл/мин. УФ-детектирование проводили при 208 нм. Пиковые фракции при времени выхода пика 20,3-21,4 мин собирали и концентрировали с помощью роторного испарителя в вакууме в атмосфере азота. Остатки переносили хлороформом в 10 мл флакон и сушили в вакуумной печи при 35 °С в течение 6 часов. После заполнения азотом высушенные образцы замораживали в холодильнике с получением 1-пальмитин-2-линолеин-3-олеина.

HR-EI-MS: m/z составляло 856,7519 (рассчитано 856,7513, C<sub>55</sub>H<sub>100</sub>O<sub>6</sub>), степень ненасыщенности составляла 6.

ИК (пленка KBr): 1747, 1164, 1098; 2925, 2854, 723; 3008, 1655 см<sup>-1</sup> (слабое).

Данные <sup>1</sup>H-ЯМР показаны в Таблице 8.

Данные <sup>13</sup>C-ЯМР показаны в Таблице 9.

Пример 16. Выделение и определение 1,3-дипальмитин-2-линолеина.

Выделение проводили на устройстве для препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии P3000A (колонка: Superstar Venetnach™ C18, 20 мм × 150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: ацетонитрил, подвижная фаза В: ацетонитрил/тетрагидрофуран (1:1)). Раствор масла семян коикса (50 мг/мл) был получен с подвижной фазой В и объем вводимой пробы для каждого отделения составлял 1,5 мл. Условия градиента были следующими: подвижная фаза В: 0-27 мин: 50-60%, 27-35 мин: 90%, 35-45 мин: 100%; и расход: 18 мл/мин. УФ-детектирование проводили при 208 нм. Пиковые фракции при времени выхода пика 25,7-26,2 мин собирали и концентрировали с помощью роторного испарителя в вакууме в атмосфере азота. Остатки переносили хлороформом в 10 мл флакон и сушили в вакуумной печи при 35 °С в течение 6 часов. После заполнения азотом высушенные образцы замораживали в холодильнике с получением 1,3-дипальмитин-2-линолеина.

HR-EI-MS: m/z составляло 830,7371 (рассчитано 830,7363, C<sub>53</sub>H<sub>98</sub>O<sub>6</sub>), степень ненасыщенности составляла 5.

ИК (пленка KBr): 1747, 1164, 1098; 2925, 2854, 723; 3008, 1655 см<sup>-1</sup> (слабое).

Данные  $^1\text{H}$ -ЯМР показаны в Таблице 8.

Данные  $^{13}\text{C}$ -ЯМР показаны в Таблице 9.

Пример 17. Выделение и определение триолеина.

Выделение проводили на устройстве для препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии P3000A (колонка: Superstar Venetnach<sup>TM</sup> C18, 20 мм × 150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: ацетонитрил, подвижная фаза В: ацетонитрил/тетрагидрофуран (1:1)). Раствор масла семян коикса (50 мг/мл) был получен с подвижной фазой В и объем вводимой пробы для каждого отделения составлял 1,5 мл. Условия градиента были следующими: подвижная фаза В: 0-27 мин: 50-60%, 27-35 мин: 90%, 35-45 мин: 100%; и расход: 18 мл/мин. УФ-детектирование проводили при 208 нм. Пиковые фракции при времени выхода пика 26,6-27,7 мин собирали и концентрировали с помощью роторного испарителя в вакууме в атмосфере азота. Остатки переносили хлороформом в 10 мл флакон и сушили в вакуумной печи при 35 °С в течение 6 часов. После заполнения азотом высушенные образцы замораживали в холодильнике с получением триолеина.

HR-EI-MS: m/z составляло 884,7851 (рассчитано 884,7833,  $\text{C}_{57}\text{H}_{104}\text{O}_6$ ), степень ненасыщенности составляла 6.

ИК (пленка KBr): 1749, 1165, 1095; 2925, 2854, 723; 3004, 1654  $\text{cm}^{-1}$  (слабое).

Данные  $^1\text{H}$ -ЯМР показаны в Таблице 8.

Данные  $^{13}\text{C}$ -ЯМР показаны в Таблице 9.

Пример 18. Выделение и определение 1-пальмитин-2,3-диолеина.

Предварительное выделение проводили на устройстве для препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии P3000A (колонка: Superstar Venetnach<sup>TM</sup> C18, 20 мм × 150 мм, 5 мкм; подвижная фаза А: ацетонитрил, подвижная фаза В: ацетонитрил/тетрагидрофуран (1:1)). Раствор масла семян коикса (50 мг/мл) был получен с подвижной фазой В и объем вводимой пробы для каждого отделения составлял 1,5 мл. Условия градиента были следующими: подвижная фаза В: 0-27 мин: 50-60%, 27-35 мин: 90%, 35-45 мин: 100%; и расход: 18 мл/мин. УФ-детектирование проводили при 208 нм. Пиковые фракции при времени выхода пика 28,2-29,3 мин собирали и концентрировали с помощью роторного испарителя в вакууме в атмосфере азота с получением неочищенного продукта.

Вторичную очистку осуществляли на колонке Superstar Venetnach<sup>TM</sup> C<sub>18</sub> (10 мм × 250 мм, 5 мкм) с подвижной фазой А: ацетонитрил и подвижной фазой В:

ацетонитрил/тетрагидрофуран (1:1). Раствор полученного выше неочищенного продукта (20 мг/мл) получали с подвижной фазой В и объем вводимой пробы для каждого отделения составлял 1,5 мл. Условия градиента были следующими: подвижная фаза В: 0-23 мин: 50-60%, 32-43 мин: 60-90%, 43-60 мин: 100%; и расход: 3 мл/мин. УФ-детектирование проводили при 208 нм. Пиковые фракции при времени выхода пика 32,9-35,1 мин собирали и концентрировали с помощью роторного испарителя в вакууме в атмосфере азота. Остатки переносили хлороформом в 10 мл флакон и сушили в вакуумной печи при 35 °С в течение 6 часов. После заполнения азотом высушенные образцы замораживали в холодильнике с получением 1-пальмитин-2,3-диолеина.

HR-EI-MS:  $m/z$  составляло 858,7672 (рассчитано 858,7676,  $C_{55}H_{102}O_6$ ), степень ненасыщенности составляла 5.

ИК (пленка KBr): 1747, 1166, 1095; 2926, 2854, 722; 3003, 1654  $cm^{-1}$  (слабое).

Данные  $^1H$ -ЯМР показаны в Таблице 8.

Данные  $^{13}C$ -ЯМР показаны в Таблице 9.

Пример 19: Получение 1,3-дипальмитина-2-олеина.

Раствор масла семян коикса, полученный в тетрагидрофуране (750 мг/мл), предварительно разделяли на устройстве для препаративной ВЭЖХ СНЕЕТАН-НР100 (колонка: Venusil XBP C18 (2), 50×250 мм, 5 мкм, 100 Å; подвижная фаза: ацетонитрил/тетрагидрофуран – 78:22 (об./об.); объем вводимой пробы составлял 2 мл; расход – 80 мл/мин; УФ-детекция длины волны – 205 нм / 280 нм). Пиковые фракции при времени выхода пика 29-38 мин собирали и концентрировали в вакууме в атмосфере азота в роторном испарителе с получением неочищенного продукта.

Вторичную очистку проводили на колонке Venusil XBP C18(L) (30×150 мм, 5 мкм, 150 Å) с ацетонитрилом:дихлорметаном (65/35) в качестве подвижной фазы при расходе 32 мл/мин. Раствор полученного ранее неочищенного продукта (10 мг/мл) получали в дихлорметане и объем вводимой пробы для каждого отделения составлял 2 мл. УФ-детектирование проводили при 205 нм / 280 нм. Пиковую фракцию при времени выхода пика 15 мин собирали и концентрировали в вакууме в атмосфере азота в роторном испарителе. Остатки переносили хлороформом в 10 мл пробирку и высушивали в вакуумной печи при 35°С в течение 6 ч. После заполнения азотом высушенный образец 1,3-дипальмитина-2-олеина замораживали в холодильнике.

HR-EI-MS:  $m/z$  составляло 832,7542 (рассчитано 832,7566,  $C_{53}H_{100}O_6$ ), степень ненасыщенности составляла 4.

IR (пленка KBr): 1747, 1166, 1095; 2925, 2854, 722; 3003, 1654  $cm^{-1}$  (слабое).

Данные  $^1H$ -ЯМР ( $CDCl_3$ ) показаны в Таблице 10.

Таблица 10. Спектральные данные  $^1H$ -ЯМР соединения Примера 19

Положение	Химический сдвиг	Количество H, пик и константа взаимодействия
H-C=C	5,34	2H, m
CH-OCO	5,26	1H, m
-CH <sub>2</sub> -OCO	4,29	2H, dd, 12,0,4,4
-CH <sub>2</sub> -OCO	4,14	2H, d, 12,0,6,0
-CH <sub>2</sub> COO	2,31	2H, t, 7,6
-CH <sub>2</sub> COO	2,31	4H, t, 7,6
-CH <sub>2</sub> -CH=	2,00	4H, m
-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COO	1,60	6H, m
-CH <sub>2</sub>	1,27	68H, m
-CH <sub>3</sub>	0,87	9H, t, 6,8

Данные  $^{13}C$ -ЯМР ( $CDCl_3$ ) показаны в Таблице 11.

Таблица 11. Спектральные данные  $^{13}C$ -ЯМР соединения Примера 19

Положение	Химический сдвиг	Положение	Химический сдвиг
C1 1	173,282	C10 1	29,750~29,040
2	172,839	2	129,999
3	173,282	3	29,750~29,040
C2 1	34,026	C11 1	29,750~29,040
2	34,179	2	27,205
3	34,026	3	29,750~29,040
C3 1	24,848	C12 1	29,750~29,040
2	24,848	2	29,750~29,040
3	24,848	3	29,750~29,040
C4 1	29,750~29,040	C13 1	29,750~29,040
2	29,750~29,040	2	29,750~29,040
3	29,750~29,040	3	29,750~29,040
C5 1	29,750~29,040	C14 1	31,895

2	29,750~29,040	2	29,750~29,040
3	29,750~29,040	3	31,895
C6 1	29,750~29,040	C15 1	22,672
2	29,750~29,040	2	29,750~29,040
3	29,750~29,040	3	22,672
C7 1	29,750~29,040	C16 1	14,099
2	29,750~29,040	2	31,895
3	29,750~29,040	3	14,099
C8 1	29,750~29,040	C17 2	22,672
2	27,159	C18 2	14,099
3	29,750~29,040	CHO	68,852
C9 1	29,750~29,040	CH2O	62,076
2	129,687		
3	29,750~29,040		

Пример 20. Получение 1,2-диолеин-3-стеарина.

Раствор масла семян коикса, полученный в тетрагидрофуране (750 мг/мл), предварительно разделяли на устройстве для препаративной ВЭЖХ СНЕЕТАН-НР100 (колонка: Venusil ХВР C18 (2), 50×250 мм, 5 мкм, 100 Å; подвижная фаза: ацетонитрил/тетрагидрофуран – 78:22 (об./об.); объем вводимой пробы составлял 2 мл (1,5 г); расход – 80 мл/мин; УФ-детекция длины волны – 205 нм / 280 нм). Пиковые фракции при времени выхода пика 29-38 мин собирали и концентрировали в вакууме в атмосфере азота в роторном испарителе с получением неочищенного продукта.

Вторичную очистку проводили на колонке Venusil ХВР C18(L) (30×150 мм, 5 мкм, 150 Å) с ацетонитрилом:дихлорметаном (65/35) в качестве подвижной фазы при расходе 32 мл/мин. Раствор полученного ранее неочищенного продукта (10 мг/мл) получали в дихлорметане и объем вводимой пробы для каждого разделения составлял 2 мл. УФ-детектирование проводили при 205 нм / 280 нм. Пиковую фракцию при времени выхода пика 17 мин собирали и концентрировали в вакууме в атмосфере азота в роторном испарителе. Остатки переносили хлороформом в 10 мл пробирку и высушивали в вакуумной печи при 35°C в течение 6 ч. После заполнения азотом высушенный образец 1,2-диолеина-3-стеарина замораживали в холодильнике.

HR-EI-MS: m/z составляло 886,8011 (рассчитано 886,7991, C<sub>57</sub>H<sub>106</sub>O<sub>6</sub>), степень ненасыщенности составляла 5.

IR (пленка KBr): 1747, 1166, 1095; 2926, 2856, 722; 3003, 1654 см<sup>-1</sup> (слабое).

Данные <sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) показаны в Таблице 12.

Таблица 12. Спектральные данные <sup>1</sup>H-ЯМР соединения Примера 20

Положение	Химический сдвиг	Количество H, пик и константа взаимодействия
H-C=C	5,35	4H, m
β-CH-OCO	5,26	1H, m
α-CH <sub>2</sub> -OCO	4,29	2H, dd, 11,6, 4,0
α-CH <sub>2</sub> -OCO	4,14	2H, d, 12,0, 6,0
-CH <sub>2</sub> COO	2,31	2H, t, 7,6
-CH <sub>2</sub> COO	2,31	4H, t, 7,6
-CH <sub>2</sub> -CH=	2,01	8H, m
-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COO	1,60	6H, m
-CH <sub>2</sub>	1,27	74H, m
-CH <sub>3</sub>	0,87	9H, t, 6,8

Данные <sup>13</sup>C-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) показаны в Таблице 13.

Таблица 13. Спектральные данные <sup>13</sup>C-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) соединения Примера

20

Position	Chemical shift	Position	Chemical shift
C1 1	173,258	C10 1	129,999
2	172,839	2	129,999
3	173,282	3	29,00~30,00
C2 1	34,028	C11 1	27,206
2	34,179	2	27,206
3	34,028	3	29,00~30,00
C3 1	24,848	C12 1	29,00~30,00
2	24,848	2	29,00~30,00
3	24,848	3	29,00~30,00
C4 1	30,00~29,00	C13 1	29,00~30,00
2	30,00~29,00	2	29,00~30,00
3	30,00~29,00	3	29,00~30,00
C5 1	30,00~29,00	C14 1	29,00~30,00

2	30,00~29,00	2	29,00~30,00
3	30,00~29,00	3	31,895
C6 1	30,00~29,00	C15 1	29,00~30,00
2	30,00~29,00	2	29,00~30,00
3	30,00~29,00	3	22,672
C7 1	30,00~29,00	C16 1	31,895
2	30,00~29,00	2	31,895
3	30,00~29,00	3	31,895
C8 1	27,159	C17 1	22,672
2	27,159	2	22,672
3	29,00~30,00	3	22,672
C9 1	129,687	C18 1	14,099
2	129,669	2	14,099
3	29,00~30,00	3	14,099
		$\beta$ -CHO-	68,852
		$\alpha$ -CH <sub>2</sub> O-	62,076

Пример 21: Получение 1-олеин-2-линолеин-3-стеарина.

Раствор масла семян коикса, полученный в тетрагидрофуране (750 мг/мл), предварительно разделяли на устройстве для препаративной ВЭЖХ СНЕЕТАН-HP100 (колонка: Venusil XBP C18 (2), 50×250 мм, 5 мкм, 100 Å; подвижная фаза: ацетонитрил/тетрагидрофуран – 78:22 (об./об.); расход – 80 мл/мин; объем вводимой пробы составлял 2 мл (1,5 г); УФ-детекция длины волны – 205 нм / 280 нм). Пиковые фракции при времени выхода пика 29-38 мин собирали и концентрировали в вакууме в атмосфере азота в роторном испарителе с получением неочищенного продукта.

Вторичную очистку проводили на колонке Venusil XBP C18(L) (30×150 мм, 5 мкм, 150 Å) с ацетонитрилом:дихлорметаном (65/35) в качестве подвижной фазы при расходе 32 мл/мин. Раствор полученного ранее неочищенного продукта (10 мг/мл) получали в дихлорметане и объем вводимой пробы для каждого разделения составлял 2 мл. УФ-детектирование проводили при 205 нм / 280 нм. Пиковую фракцию в период времени удержания 19 мин собирали и концентрировали в вакууме в атмосфере азота в роторном испарителе. Остатки переносили хлороформом в 10 мл пробирку и высушивали в вакуумной печи при

35°C в течение 6 ч. После заполнения азотом высушенный образец 1-олеина-2-линолеин-3-стеарина замораживали в холодильнике.

HR-EI-MS: m/z составляло 884,7832 (рассчитано 884,7848, C<sub>57</sub>H<sub>104</sub>O<sub>6</sub>), степень ненасыщенности составляла 6.

IR (пленка KBr): 1747, 1164, 1098; 2925, 2855, 723; 3008, 1655 см<sup>-1</sup> (слабое).

Данные <sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) показаны в Таблице 14.

Таблица 14. Спектральные данные <sup>1</sup>H-ЯМР соединения Примера 21

Положение	Химический сдвиг	Количество H, пик и константа взаимодействия
H-C=C	5,35	6H, m
CH-OCO	5,26	1H, m
-CH <sub>2</sub> -OCO	4,29	2H, dd, 11,4, 4,2
-CH <sub>2</sub> -OCO	4,14	2H, d, 12,0, 6,0
-CH <sub>2</sub> COO	2,32	2H, m
-CH <sub>2</sub> COO	2,30	4H, m
-CH <sub>2</sub> -CH=	2,03	8H, m
-CH=CH-CH <sub>2</sub> - CH=CH-	2,77	2H, t, 6,6
-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COO	1,61	6H, m
-CH <sub>2</sub>	1,38~1,26	64H, m
-CH <sub>3</sub>	0,88	9H, t, 6,6

Данные <sup>13</sup>C-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) показаны в Таблице 15.

Таблица 15. Спектральные данные <sup>13</sup>C-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>) соединения Примера 21.

Положение	Химический сдвиг	Положение	Химический сдвиг
C1 1	173,25	C10 1	129,97
2	172,83	2	128,08
3	173,25	3	29,04~29,76
C2 1	34,03	C11 1	27,19
2	34,18	2	25,62
3	34,04	3	29,04~29,76
C3 1	24,86	C12 1	29,04~29,76
2 <sup>b</sup>	24,86	2	127,88
3	24,86	3	29,04~29,76
C4 1	29,04~29,76	C13 1	29,04~29,76
2 <sup>b</sup>	29,04~29,76	2	130,22

3	29,04~29,76	3	29,04~29,76
C5 1	29,04~29,76	C14 1	31,89
2 <sup>b</sup>	29,04~29,76	2	29,04~29,76
3	29,04~29,76	3	31,89
C6 1	29,04~29,76	C15 1	22,67
2 <sup>b</sup>	29,04~29,76	2 <sup>b</sup>	22,56
3	29,04~29,76	3	22,67
C7 1	29,04~29,76	C16 1	31,91
2 <sup>b</sup>	29,04~29,76	2	31,52
3	29,04~29,76	3	31,89
C8 1	29,04~29,76	C17 1	22,67
2	27,19	2	22,56
3	29,04~29,76	3	22,67
C9 1	129,70	C18 1	14,09
2	130,01	2	14,05
3	29,04~29,76	3	14,09
		CH-O	68,89
		2CH <sub>2</sub> -O	62,08

Пример 22: Получение инъекции с маслом семян коикса согласно изобретению.

Композиция:

Масло семян коикса	100 г
Соевый лецитин для инъекции	10 г
Глицерин для инъекции	15 г
Воду для инъекции добавляли до	1000 мл

где масло семян коикса содержит следующие ингредиенты:

1,3-диолеин	0,50%
1-линолеин-3-олеин	1,31%
1,2-диолеин	0,30%
1-олеин-2-линолеин	0,95%
1,2-дилинолеин	0,41%
трилинолеин	6,10%
1-олеин-2,3-дилинолеин	16,18%
1-пальмитин-2,3-дилинолеин	6,56%
1,3-диолеин-2-линолеин	16,69%
1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин	12,96%

1,3-дипальмитин-2-линолеин	2,88%
триолеин	18,30%
1-пальмитин-2,3-диолеин	10,18%
1-олеин-2-линолеин-3-стеарин	1,72%
1,3-дипальмитин-2-олеин	1,88%
1,2-диолеин-3-стеарин	1,60%

Способ:

К рецептурному количеству соевого лецитина для инъекции добавляли соответствующее количество воды для инъекции. Смесь диспергировали с помощью диспергирующего эмульгатора с высоким усилием сдвига в дисперсию, не содержащую крупных фрагментов или гранул. Добавляли рецептурное количество глицерина для инъекции. Затем добавляли воду для инъекции до указанного количества и смесь перемешивали с получением водной фазы.

Рецептурное количество масла семян коикса взвешивали. Навеску масла и водную фазу, полученную ранее, отдельно нагревали до 60 °С, затем смешивали и эмульгировали в гомогенизаторе высокого давления, в котором низкое давление составляло 6 МПа и высокое давление составляло 30 МПа. Гомогенизацию повторяли 4 раза до тех пор, пока количество частиц размером менее 2 мкм становилось не менее чем 95%, а частицы размером более 5 мкм не определялись. При необходимости для доведения pH до 8,5 использовали NaOH или HCl.

Полученную гомогенную эмульсию фильтровали под давлением в атмосфере азота через микропористый фильтр с размером пор 3 мкм или менее, затем заполняли в атмосфере азота и затем стерилизовали и охлаждали с получением инъекции.

Пример 23: Получение инъекции с маслом семян коикса согласно изобретению.

Композиция:

Масло семян коикса	300 г
Соевый лецитин, пригодный для инъекции	40 г
Глицерин, пригодный для инъекции	50 г
Воду для инъекции добавляли до	1000 мл
где масло семян коикса содержит следующие ингредиенты:	
1,3-диолеин	0,40%

1-линолеин-3-олеин	1,05%
1,2-диолеин	0,24%
1-олеин-2-линолеин	0,76%
1,2-дилинолеин	0,33%
трилинолеин	4,87%
1-олеин-2,3-дилинолеин	17,88%
1-пальмитин-2,3-дилинолеин	5,25%
1,3-диолеин-2-линолеин	15,13%
1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин	10,26%
1,3-дипальмитин-2-линолеин	3,05%
триолеин	20,46%
1-пальмитин-2,3-диолеин	11,50%
1-олеин-2-линолеин-3-стеарин	1,95%
1,3-дипальмитин-2-олеин	2,16%
1,2-диолеин-3-стеарин	1,84%

Способ:

К рецептурному количеству соевого лецитина для инъекции добавляли соответствующее количество воды для инъекции. Смесь диспергировали с помощью диспергирующего эмульгатора с высоким усилием сдвига в дисперсию, не содержащую крупных фрагментов или гранул. Добавляли рецептурное количество глицерина для инъекции. Затем добавляли воду для инъекции до указанного количества и смесь перемешивали с получением водной фазы.

Рецептурное количество масла семян коикса взвешивали. Навеску масла и водную фазу, полученную ранее, отдельно нагревали до 70 °С, затем смешивали и эмульгировали в гомогенизаторе высокого давления, в котором низкое давление составляло 12 МПа и высокое давление составляло 45 МПа. Гомогенизацию повторяли 3 раза до тех пор, пока количество частиц размером менее 2 мкм становилось не менее чем 95%, а частицы размером более 5 мкм не определялись. При необходимости для доведения pH до 7,1 использовали NaOH или HCl.

Полученную гомогенную эмульсию фильтровали под давлением в атмосфере азота через микропористый фильтр с размером пор 3 мкм или менее, затем заполняли в атмосфере азота и затем стерилизовали и охлаждали с получением инъекции.

Пример 24: Получение инъекции с маслом семян коикса согласно изобретению.

Композиция:

Масло семян коикса	200 г
Соевый лецитин для инъекции	25 г
Глицерин, пригодный для инъекции	30 г
Воду для инъекции добавляли до	1000 мл

где масло семян коикса содержит следующие ингредиенты:

1,3-диолеин	0,45%
1-линолеин-3-олеин	1,18%
1,2-диолеин	0,27%
1-олеин-2-линолеин	0,86%
1,2-дилинолеин	0,37%
трилинолеин	5,47%
1-олеин-2,3-дилинолеин	18,69%
1-пальмитин-2,3-дилинолеин	6,01%
1,3-диолеин-2-линолеин	18,19%
1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин	14,11%
1,3-дипальмитин-2-линолеин	2,60%
триолеин	16,25%
1-пальмитин-2,3-диолеин	9,11%
1-олеин-2-линолеин-3-стеарин	1,88%
1,3-дипальмитин-2-олеин	2,09%
1,2-диолеин-3-стеарин	1,76%

Способ:

К рецептурному количеству соевого лецитина для инъекции добавляли соответствующее количество воды для инъекции. Смесь диспергировали с помощью диспергирующего эмульгатора с высоким усилием сдвига в дисперсию, не содержащую крупных фрагментов или гранул. Добавляли рецептурное количество глицерина для инъекции. Затем добавляли воду для инъекции до указанного количества и смесь перемешивали с получением водной фазы.

Рецептурное количество масла семян коикса взвешивали. Навеску масла и водную фазу, полученную ранее, нагревали отдельно до 65 °С, затем смешивали и эмульгировали в гомогенизаторе высокого давления, в котором низкое давление составляло 10 МПа и высокое давление составляло 30 МПа. Гомогенизацию

повторяли 5 раз до тех пор, пока количество частиц размером менее 2 мкм становилось не менее чем 95%, а частицы размером более 5 мкм не определялись. При необходимости для доведения рН до 4,8 использовали NaOH или HCl.

Полученную гомогенную эмульсию фильтровали под давлением в атмосфере азота через микропористый фильтр с размером пор 3 мкм или менее, затем заполняли в атмосфере азота и затем стерилизовали и охлаждали с получением инъекции.

Пример 25: Получение инъекции с маслом семян коикса согласно изобретению.

Композиция:

Масло семян коикса	150 г
Соевый лецитин, пригодный для инъекции	35 г
Глицерин, пригодный для инъекции	30 г
Воду для инъекции добавляли до	1000 мл

где масло семян коикса содержит следующие ингредиенты:

1,3-диолеин	0,49%
1-линолеин-3-олеин	1,28%
1,2-диолеин	0,29%
1-олеин-2-линолеин	0,93%
1,2-дилинолеин	0,40%
трилинолеин	5,96%
1-олеин-2,3-дилинолеин	16,58%
1-пальмитин-2,3-дилинолеин	6,43%
1,3-диолеин-2-линолеин	16,20%
1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин	12,57%
1,3-дипальмитин-2-линолеин	2,79%
триолеин	17,69%
1-пальмитин-2,3-диолеин	9,87%
1-олеин-2-линолеин-3-стеарин	1,75%
1,3-дипальмитин-2-олеин	1,92%
1,2-диолеин-3-стеарин	1,66%

Способ:

К рецептурному количеству соевого лецитина для инъекции, добавляли соответствующее количество воды для инъекции. Смесь диспергировали с помощью диспергирующего эмульгатора с высоким усилием сдвига в дисперсию, не содержащую крупных фрагментов или гранул. Добавляли рецептурное количество глицерина для инъекции. Затем добавляли воду для инъекции до указанного количества и смесь перемешивали с получением водной фазы.

Рецептурное количество масла семян коикса взвешивали. Навеску масла и водную фазу, полученную ранее, нагревали отдельно до 68 °С, затем смешивали и эмульгировали в гомогенизаторе высокого давления, в котором низкое давление составляло 7 МПа и высокое давление составляло 35 МПа. Гомогенизацию повторяли 3 раза до тех пор, пока количество частиц размером менее 2 мкм становилось не менее чем 95%, а частицы размером более 5 мкм не определялись. При необходимости для доведения рН до 6,8 использовали NaOH или HCl.

Полученную гомогенную эмульсию фильтровали под давлением в атмосфере азота через микропористый фильтр с размером пор 3 мкм или менее, затем заполняли в атмосфере азота и затем стерилизовали и охлаждали с получением инъекции.

Пример 26. Получение капсулы с маслом семян коикса согласно изобретению.

Композиция:

Масло семян коикса	200 г
Витамин Е	0,20 г
для получения	1000 капсул

где масло семян коикса содержит следующие ингредиенты:

1,3-диолеин	0,51%
1-линолеин-3-олеин	1,34%
1,2-диолеин	0,31%
1-олеин-2-линолеин	0,97%
1,2-дилинолеин	0,42%
трилинолеин	6,20%
1-олеин-2,3-дилинолеин	15,93%
1-пальмитин-2,3-дилинолеин	6,69%
1,3-диолеин-2-линолеин	16,87%

1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин	13,09%
1,3-дипальмитин-2-линолеин	2,91%
триолеин	18,42%
1-пальмитин-2,3-диолеин	10,27%
1-олеин-2-линолеин-3-стеарин	1,67%
1,3-дипальмитин-2-олеин	1,86%
1,2-диолеин-3-стеарин	1,56%

Способ:

Композиция клея: желатин, очищенную воду, глицерин, 10% раствор этилпарабена взвешивали в массовом соотношении 1:1,2:0,8:0,01. Глицерин, очищенную воду и 10% раствор этилпарабена последовательно добавляли в резервуар для плавления клея и нагревали до 70 °С. Затем добавляли желатин и постоянно перемешивали в вакууме до его полного растворения. Клей фильтровали и хранили при 60 °С перед использованием.

Композиция лекарственной жидкости: рецептурное количество масла семян коикса и витамина Е добавляли в резервуар для ингредиентов и непрерывно перемешивали до полного смешивания.

Прессование капсул: подходящие пресс-формы подбирали в зависимости от размера капсулы. Капсулы прессовали при температуре 18 °С и относительной влажности менее чем 35%, затем формовали и сушили. После удаления капсул ненормального размера капсулы нормального размера промывали 95% медицинским этанолом и непрерывно сушили до достижения содержания влаги менее чем 12%. Непригодные капсулы удаляли в результате визуального контроля и на конечные продукты наносили печать и упаковывали.

Пример 27. Получение капсулы с маслом семян коикса согласно изобретению.

Композиция:

Масло семян коикса	800 г
Твин 80	0,60 г
для получения	1000 капсул

где масло семян коикса содержит следующие ингредиенты:

1,3-диолеин	0,55%
1-линолеин-3-олеин	1,44%
1,2-диолеин	0,33%
1-олеин-2-линолеин	1,05%

1,2-дилинолеин	0,45%
трилинолеин	6,69%
1-олеин-2,3-дилинолеин	14,75%
1-пальмитин-2,3-дилинолеин	7,21%
1,3-диолеин-2-линолеин	14,92%
1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин	11,55%
1,3-дипальмитин-2-линолеин	3,14%
триолеин	19,86%
1-пальмитин-2,3-диолеин	11,08%
1-олеин-2-линолеин-3-стеарин	1,50%
1,3-дипальмитин-2-олеин	1,70%
1,2-диолеин-3-стеарин	1,43%

Способ:

Композиция клея: желатин, очищенную воду, глицерин, бензойную кислоту взвешивали в массовом соотношении 1:1,2:0,8:0,01. Глицерин, очищенную воду и бензойную кислоту последовательно добавляли в резервуар для плавления клея и нагревали до 90 °С. Затем добавляли желатин и постоянно перемешивали в вакууме до его полного растворения. Клей фильтровали и хранили при 56 °С перед использованием.

Композиция лекарственной жидкости: рецептурное количество масла семян коикса и Твин 80 добавляли в резервуар для ингредиентов и непрерывно перемешивали до полного смешивания.

Прессование капсул: подходящие пресс-формы подбирали в зависимости от размера капсулы. Капсулы прессовали при температуре 26 °С и относительной влажности менее чем 35%, затем формовали и сушили. После удаления капсул ненормального размера капсулы нормального размера промывали 95% медицинским этанолом и непрерывно сушили до достижения содержания влаги менее чем 12%. Непригодные капсулы удаляли в результате визуального контроля и на конечные продукты наносили печать и упаковывали.

Пример 28. Получение капсулы с маслом семян коикса согласно изобретению.

Композиция:

Масло семян коикса	500 г
Витамин Е	0,40 г
для получения	1000 капсул

где масло семян коикса содержит следующие ингредиенты:

1,3-диолеин	0,58%
1-линолеин-3-олеин	1,14%
1,2-диолеин	0,35%
1-олеин-2-линолеин	0,83%
1,2-дилинолеин	0,47%
трилинолеин	6,99%
1-олеин-2,3-дилинолеин	13,00%
1-пальмитин-2,3-дилинолеин	7,54%
1,3-диолеин-2-линолеин	19,02%
1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин	14,75%
1,3-дипальмитин-2-линолеин	3,28%
триолеин	15,96%
1-пальмитин-2,3-диолеин	9,70%
1-олеин-2-линолеин-3-стеарин	1,38%
1,3-дипальмитин-2-олеин	1,52%
1,2-диолеин-3-стеарин	1,29%

Способ:

Композиция клея: желатин, очищенную воду, глицерин сорбат калия взвешивали в массовом соотношении 1:0,9:0,6:0,005. Глицерин, очищенную воду и сорбат калия последовательно добавляли в резервуар для плавления клея и нагревали до 80 °С. Затем желатин добавляли и постоянно перемешивали в вакууме до полного растворения желатина. Клей фильтровали и хранили при 62 °С перед использованием.

Композиция лекарственной жидкости: рецептурное количество масла семян коикса и витамина Е добавляли в резервуар для ингредиентов и постоянно перемешивали до полного смешивания.

Прессование капсул: подходящие пресс-формы подбирали в зависимости от размера капсулы. Капсулы прессовали при температуре 28 °С и относительной влажности менее чем 35%, затем формовали и сушили. После удаления капсул ненормального размера капсулы нормального размера промывали 95% медицинским этанолом и непрерывно сушили до достижения содержания влаги менее чем 12%. непригодные капсулы удаляли в результате визуального контроля и на конечные продукты наносили печать и упаковывали.

Пример 29. Получение капсулы с маслом семян коикса согласно изобретению.

Композиция:

Масло семян коикса	600 г
Твин 80	0,30 г
для получения	1000 капсул

где масло семян коикса содержит следующие ингредиенты:

1,3-диолеин	0,45%
1-линолеин-3-олеин	1,26%
1,2-диолеин	0,27%
1-олеин-2-линолеин	0,88%
1,2-дилинолеин	0,36%
трилинолеин	6,15%
1-олеин-2,3-дилинолеин	18,01%
1-пальмитин-2,3-дилинолеин	6,66%
1,3-диолеин-2-линолеин	16,77%
1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин	12,89%
1,3-дипальмитин-2-линолеин	2,88%
триолеин	18,30%
1-пальмитин-2,3-диолеин	8,69%
1-олеин-2-линолеин-3-стеарин	1,81%
1,3-дипальмитин-2-олеин	2,08%
1,2-диолеин-3-стеарин	1,81%

Способ:

Композиция клея: желатин, очищенную воду, глицерин и хлоргексидина ацетат взвешивали в массовом соотношении 1:1,0:0,5:0,008. Глицерин, очищенную воду и хлоргексидина ацетат последовательно добавляли в резервуар для плавления клея и нагревали до 85 °С. Затем желатин добавляли и постоянно перемешивали в вакууме до полного растворения желатина. Клей фильтровали и хранили при 56 °С перед использованием.

Композиция лекарственной жидкости: рецептурное количество масла семян коикса и Твин 80 добавляли в резервуар для ингредиентов и постоянно перемешивали до полного смешивания.

Прессование капсул: подходящие пресс-формы подбирали в зависимости от размера капсулы. Капсулы прессовали при температуре 30 °С и относительной

влажности менее чем 35%, затем формовали и сушили. После удаления капсул ненормального размера капсулы нормального размера промывали 95% медицинским этанолом и непрерывно сушили до достижения содержания влаги менее чем 12%. Непригодные капсулы удаляли в результате визуального контроля и на конечные продукты наносили печать и упаковывали.

Пример 30: Получение инъекции с маслом семян коикса согласно изобретению.

Композиция:

Масло семян коикса	100 г
Соевый лецитин для инъекции	10 г
Глицерин, пригодный для инъекции	15 г
Воду для инъекции добавляли до	1000 мл

где масло семян коикса содержит следующие ингредиенты:

1,3-диолеин	0,42%
1-линолеин-3-олеин	1,25%
1,2-диолеин	0,25%
1-олеин-2-линолеин	0,81%
1,2-дилинолеин	0,35%
трилинолеин	6,85%
1-олеин-2,3-дилинолеин	18,24%
1-пальмитин-2,3-дилинолеин	5,74%
1,3-диолеин-2-линолеин	15,01%
1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин	10,95%
1,3-дипальмитин-2-линолеин	2,88%
триолеин	20,75%
1-пальмитин-2,3-диолеин	10,18%
1-олеин-2-линолеин-3-стеарин	1,92%
1,3-дипальмитин-2-олеин	2,11%
1,2-диолеин-3-стеарин	1,84%

Способ:

К рецептурному количеству соевого лецитина для инъекции добавляли соответствующее количество воды для инъекции. Смесь диспергировали с помощью диспергирующего эмульгатора с высоким усилием сдвига в дисперсию, не содержащую крупных фрагментов или гранул. Добавляли рецептурное

количество глицерина для инъекции. Затем добавляли воду для инъекции до указанного количества и смесь перемешивали с получением водной фазы.

Рецептурное количество масла семян коикса взвешивали. Навеску масла и водную фазу, полученную ранее, нагревали отдельно до 60 °С, затем смешивали и эмульгировали в гомогенизаторе высокого давления, в котором низкое давление составляло 7 МПа и высокое давление составляло 26 МПа. Гомогенизацию повторяли 5 раз до тех пор, пока количество частиц размером менее 2 мкм становилось не менее чем 95%, а частицы размером более 5 мкм не определялись. При необходимости для доведения рН до 6,8 использовали NaOH или HCl.

Полученную гомогенную эмульсию фильтровали под давлением в атмосфере азота через микропористый фильтр с размером пор 3 мкм или менее, затем заполняли в атмосфере азота и затем стерилизовали и охлаждали с получением инъекции.

Пример 31: Получение инъекции с маслом семян коикса согласно изобретению.

Композиция:

Масло семян коикса	300 г
Соевый лецитин, пригодный для инъекции	40 г
Глицерин, пригодный для инъекции	50 г
Воду для инъекции добавляли до	1000 мл

где масло семян коикса содержит следующие ингредиенты:

1,3-диолеин	0,46%
1-линолеин-3-олеин	1,20%
1,2-диолеин	0,28%
1-олеин-2-линолеин	0,90%
1,2-дилинолеин	0,38%
трилинолеин	5,71%
1-олеин-2,3-дилинолеин	15,11%
1-пальмитин-2,3-дилинолеин	6,02%
1,3-диолеин-2-линолеин	16,30%
1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин	14,20%
1,3-дипальмитин-2-линолеин	3,20%
триолеин	19,91%

1-пальмитин-2,3-диолеин	9,22%
1-олеин-2-линолеин-3-стеарин	1,78%
1,3-дипальмитин-2-олеин	2,01%
1,2-диолеин-3-стеарин	1,70%

Способ:

К рецептурному количеству соевого лецитина, пригодного для инъекции, добавляли соответствующее количество воды для инъекции. Смесь диспергировали с помощью диспергирующего эмульгатора с высоким усилием сдвига в дисперсию, не содержащую крупных фрагментов или гранул. Добавляли рецептурное количество глицерина, пригодного для инъекции. Затем добавляли воду для инъекции до указанного количества и смесь перемешивали с получением водной фазы.

Рецептурное количество масла семян коикса взвешивали. Навеску масла и водную фазу, полученную ранее, нагревали отдельно до 70 °С, затем смешивали и эмульгировали в гомогенизаторе высокого давления, в котором низкое давление составляло 11 МПа и высокое давление составляло 48 МПа. Гомогенизацию повторяли 6 раз до тех пор, пока количество частиц размером менее 2 мкм становилось не менее чем 95%, а частицы размером более 5 мкм не определялись. При необходимости для доведения рН до 7,5 использовали NaOH или HCl.

Полученную гомогенную эмульсию фильтровали под давлением в атмосфере азота через микропористый фильтр с размером пор 3 мкм или менее, затем заполняли в атмосфере азота и затем стерилизовали и охлаждали с получением инъекции.

Пример 32: Получение инъекции с маслом семян коикса согласно изобретению.

Композиция:

Масло семян коикса	200 г
Соевый лецитин для инъекции	25 г
Глицерин, пригодный для инъекции	30 г
Воду для инъекции добавляли до	1000 мл

где масло семян коикса содержит следующие ингредиенты:

1,3-диолеин	0,50%
1-линолеин-3-олеин	1,31%
1,2-диолеин	0,30%

1-олеин-2-линолеин	0,95%
1,2-дилинолеин	0,41%
трилинолеин	6,18%
1-олеин-2,3-дилинолеин	17,26%
1-пальмитин-2,3-дилинолеин	6,51%
1,3-диолеин-2-линолеин	15,45%
1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин	12,83%
1,3-дипальмитин-2-линолеин	2,81%
триолеин	19,33%
1-пальмитин-2,3-диолеин	9,95%
1-олеин-2-линолеин-3-стеарин	1,71%
1,3-дипальмитин-2-олеин	1,97%
1,2-диолеин-3-стеарин	1,69%

#### Способ:

К рецептурному количеству соевого лецитина для инъекции добавляли соответствующее количество воды для инъекции. Смесь диспергировали с помощью диспергирующего эмульгатора с высоким усилием сдвига в дисперсию, не содержащую крупных фрагментов или гранул. Добавляли рецептурное количество глицерина, пригодного для инъекции. Затем добавляли воду для инъекции до указанного количества и смесь перемешивали с получением водной фазы.

Рецептурное количество масла семян коикса взвешивали. Навеску масла и водную фазу, полученную ранее, нагревали отдельно до 65 °С, затем смешивали и эмульгировали в гомогенизаторе высокого давления, в котором низкое давление составляло 8 МПа и высокое давление составляло 40 МПа. Гомогенизацию повторяли 4 раза до тех пор, пока количество частиц размером менее 2 мкм становилось не менее чем 95%, а частицы размером более 5 мкм не определялись. При необходимости для доведения рН до 6,5 использовали NaOH или HCl.

Полученную гомогенную эмульсию фильтровали под давлением в атмосфере азота через микропористый фильтр с размером пор 3 мкм или менее, затем заполняли в атмосфере азота и затем стерилизовали и охлаждали с получением инъекции.

Пример 33. Получение капсулы с маслом семян коикса по изобретению.

Композиция:

Масло семян коикса	200 г
Витамин Е	0,20 г
для получения	1000 капсул

где масло семян коикса содержит следующие ингредиенты:

1,3-диолеин	0,52%
1-линолеин-3-олеин	1,40%
1,2-диолеин	0,32%
1-олеин-2-линолеин	1,01%
1,2-дилинолеин	0,43%
трилинолеин	6,51%
1-олеин-2,3-дилинолеин	14,09%
1-пальмитин-2,3-дилинолеин	6,84%
1,3-диолеин-2-линолеин	17,65%
1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин	13,56%
1,3-дипальмитин-2-линолеин	3,07%
триолеин	18,10%
1-пальмитин-2,3-диолеин	10,80%
1-олеин-2-линолеин-3-стеарин	1,59%
1,3-дипальмитин-2-олеин	1,73%
1,2-диолеин-3-стеарин	1,49%

Способ:

Композиция клея: желатин, очищенную воду, глицерин и 10% раствор этилпарабена взвешивали в массовом соотношении 1:1,2:0,8:0,01. Глицерин, очищенную воду и 10% раствор этилпарабена последовательно добавляли в резервуар для плавления клея и нагревали до 70 °С. Затем желатин добавляли и постоянно перемешивали в вакууме до полного растворения желатина. Клей фильтровали и хранили при 59 °С перед использованием.

Композиция лекарственной жидкости: рецептурное количество масла семян коикса и витамина Е добавляли в резервуар для ингредиентов и постоянно перемешивали до полного смешивания.

Прессование капсул: подходящие пресс-формы подбирали в зависимости от размера капсулы. Капсулы прессовали при температуре 16 °С и относительной влажности менее чем 35%, затем формовали и сушили. После удаления капсул ненормального размера капсулы нормального размера промывали 95% медицинским этанолом и непрерывно сушили до достижения содержания влаги

менее чем 12%. непригодные капсулы удаляли в результате визуального контроля и на конечные продукты наносили печать и упаковывали.

Пример 34. Получение капсулы с маслом семян коикса по изобретению.

Композиция:

Масло семян коикса	800 г
Твин 80	0,60 г
для получения	1000 капсул

где масло семян коикса содержит следующие ингредиенты:

1,3-диолеин	0,56%
1-линолеин-3-олеин	1,11%
1,2-диолеин	0,34%
1-олеин-2-линолеин	0,91%
1,2-дилинолеин	0,46%
трилинолеин	6,71%
1-олеин-2,3-дилинолеин	16,31%
1-пальмитин-2,3-дилинолеин	7,25%
1,3-диолеин-2-линолеин	18,50%
1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин	11,90%
1,3-дипальмитин-2-линолеин	2,63%
триолеин	17,14%
1-пальмитин-2,3-диолеин	11,21%
1-олеин-2-линолеин-3-стеарин	1,42%
1,3-дипальмитин-2-олеин	1,60%
1,2-диолеин-3-стеарин	1,31%

Способ:

Композиция клея: желатин, очищенную воду, глицерин и бензойную кислоту взвешивали в массовом соотношении 1:1,2:0,8:0,01. Глицерин, очищенную воду и бензойную кислоту последовательно добавляли в резервуар для плавления клея и нагревали до 90 °С. Затем желатин добавляли и постоянно перемешивали в вакууме до полного растворения желатина. Клей фильтровали и хранили при 60°С перед использованием.

Композиция лекарственной жидкости: рецептурное количество масла семян коикса и Твин 80 добавляли в резервуар для ингредиентов и постоянно перемешивали до полного смешивания.

Прессование капсул: подходящие пресс-формы подбирали в зависимости от размера капсулы. Капсулы прессовали при температуре 26 °С и относительной влажности менее чем 35%, затем формовали и сушили. После удаления капсул ненормального размера капсулы нормального размера промывали 95% медицинским этанолом и непрерывно сушили до достижения содержания влаги менее чем 12%. Непригодные капсулы удаляли в результате визуального контроля и на конечные продукты наносили печать и упаковывали.

Пример 35. Получение капсулы с маслом семян коикса согласно изобретению.

Композиция:

Масло семян коикса	500 г
Витамин Е	0,40 г
для получения	1000 капсул

где масло семян коикса содержит следующие ингредиенты:

1,3-диолеин	0,57%
1-линолеин-3-олеин	1,21%
1,2-диолеин	0,34%
1-олеин-2-линолеин	0,86%
1,2-дилинолеин	0,46%
трилинолеин	5,13%
1-олеин-2,3-дилинолеин	16,03%
1-пальмитин-2,3-дилинолеин	7,25%
1,3-диолеин-2-линолеин	18,61%
1-пальмитин-2-линолеин-3-олеин	12,03%
1,3-дипальмитин-2-линолеин	3,01%
триолеин	18,60%
1-пальмитин-2,3-диолеин	11,21%
1-олеин-2-линолеин-3-стеарин	1,39%
1,3-дипальмитин-2-олеин	1,53%
1,2-диолеин-3-стеарин	1,30%

Способ:

Композиция клея: желатин, очищенную воду, глицерин и сорбат калия взвешивали в массовом соотношении 1:0,9:0,6:0,005. Глицерин, очищенную воду и сорбат калия последовательно добавляли в резервуар для плавления клея и нагревали до 80 °С. Затем желатин добавляли и постоянное перемешивали в

вакууме до полного растворения желатина. Клей фильтровали и хранили при 62°C перед использованием.

Композиция лекарственной жидкости: рецептурное количество масла семян коикса и витамина Е добавляли в резервуар для ингредиентов и постоянно перемешивали до полного смешивания.

Прессование капсул: подходящие пресс-формы подбирали в зависимости от размера капсулы. Капсула прессовали при температуре 20 °C и относительной влажности менее чем 35%, затем формовали и сушили. После удаления капсул ненормального размера капсулы нормального размера промывали 95% медицинским этанолом и непрерывно сушили до достижения содержания влаги менее чем 12%. непригодные капсулы удаляли в результате визуального контроля и на конечные продукты наносили печать и упаковывали.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Масло семян коикса, содержащее 5 диглицеридных и 11 триглицеридных ингредиентов в следующих массовых процентах: 0,40-0,58% 1,3-диолеина, 0,91-1,31% 1-линолеин-3-олеина, 0,24-0,35% 1,2-диолеина, 0,66-0,95% 1-олеин-2-линолеина, 0,33-0,47% 1,2-дилинолеина, 4,87-6,99% трилинолеина, 13,00-18,69% 1-олеин-2,3-дилинолеина, 5,25-7,54% 1-пальмитин-2,3-дилилолеин, 13,23-19,02% 1,3-диолеин-2-линолеина, 10,26-14,75% 1-пальмитин-2-линолеин-3-олеина, 2,28-3,28% 1,3-дипальмитин-2-линолеина, 14,44-20,76% триолеина, 8,06-11,58% 1-пальмитин-2,3-диолеина, 1,37-1,97% 1-олеин-2-линолеин-3-стеарина, 1,52-2,19% 1,3-дипальмитин-2-олеина и 1,29-1,86% 1,2-диолеин-3-стеарина.

2. Масло семян коикса по п. 1, имеющее следующие физико-химические константы, основанные на обнаружении жирного масла: удельный вес при 20 °C составляет 0,916-0,920, показатель преломления при 20 °C составляет 1,471-1,474, кислотное число составляет менее 0,2, йодное число составляет 100-106, число омыления составляет 186-195,

где массовое процентное содержание указанных дигрицеридных и триглицеридных ингредиентов составляет: 0,45-0,55% 1,3-диолеина, 1,03-1,25% 1-линолеин-3-олеина, 0,27-0,33% 1,2-диолеина, 0,75-0,91% 1-олеин-2-линолеина, 0,37-0,45% 1,2-дилинолеина, 5,47-6,69% трилинолеина, 14,63-17,8 8% 1-олеин-2,3-дилилолеина, 5,90-7,21% 1-пальмитин-2,3-дилинолеина, 14,88-18,19% 1,3-диолеин-2-линолеина, 11,55-14,11% 1-пальмитин-2-линолеин-3-олеина, 2,57-3,14% 1,3-дипальмитин-2-линолеина, 16,25-19,86% триолеина, 9,07-11,08% 1-пальмитин-2,3-диолеина, 1,54-1,88% 1-олеин-2-линеолеин-3-стеарина, 1,71-2,09% 1,3-дипальмитин-2-олеина и 1,45-1,78% 1,2-диолеин-3-стеарина,

предпочтительно массовое процентное содержание указанных дигрицеридных и триглицеридных ингредиентов составляет: 0,49-0,51% 1,3-диолеина, 1,12-1,16% 1-линолеин-3-олеина, 0,29-0,31% 1,2-диолеина, 0,81-0,85% 1-олеин-2-линолеин, 0,40-0,42% 1,2-дилинолеина, 5,96-6,20% трилинолеина, 15,93-16,58% 1-олеин-2,3-дилилолеина, 6,43-6,69% 1-пальмитин-2,3-дилинолеина, 16,20-16,87% 1,3-диолеин-2-линолеина, 12,57-13,09% 1-пальмитин-2-линолеин-3-олеина, 2,79-2,91% 1,3-дипальмитин-2-линолеина, 17,69-18,42% триолеина, 9,87-10,27% 1-пальмитин-2,3-диолеина, 1,68-1,74% 1-олеин-2-линеолеин-3-стеарина, 1,86-1,94% 1,3-дипальмитин-2-олеина и 1,58-1,65% 1,2-диолеин-3-стеарина.

3. Способ получения масла семян коикса по п. 1, включающий следующие стадии:

1) сверхкритическая экстракция диоксидом углерода:

измельчение семян коикса в порошок с размером частиц 20-100 меш и экстракция порошка с использованием сверхкритической системы экстракции  $\text{CO}_2$ , в которой порошок семян коикса помещают в два 600 л экстрактора; подогреватель  $\text{CO}_2$ , экстрактор и разделительную колонку нагревают горячей водой, циркулирующей в рубашке, для достижения температуры экстракции и температуры разделения 33-45 °С и 30-45 °С, соответственно; температуру на выходе сепаратора I и сепаратора II поддерживают на уровне 20-50 °С и 15-35 °С, соответственно; жидкий  $\text{CO}_2$  подают под давлением при расходе 1-3 т/ч в подогреватель  $\text{CO}_2$  через насос высокого давления, превращая его в флюид в сверхкритическом состоянии; в экстракторе масло экстрагируют флюидом  $\text{CO}_2$  под давлением 19-23 МПа; затем флюид  $\text{CO}_2$  с этим маслом поступает в разделительную колонку, в которой давление контролируют на уровне 7-10 МПа для отделения этого масла; газообразный  $\text{CO}_2$  из разделительной колонки последовательно поступает в сепаратор I и сепаратор II, в которых давление поддерживают на уровне 5-7 МПа и 4-6 МПа, соответственно; примеси, такие как вода, отделяют и удаляют; посредством конденсатора газообразный  $\text{CO}_2$  превращают в жидкий  $\text{CO}_2$  для повторного использования; непрерывная экстракция в течение 2-3 часов приводит к получению неочищенного масла коикса; и

(2) процесс очистки:

добавление петролейного эфира (температура кипения 60-90 °С) в неочищенное масло семян коикса, полученное сверхкритической экстракцией  $\text{CO}_2$  в количестве 65% относительно массы масла; добавление 2% водного раствора NaOH в количестве от 36 до 56% относительно массы масла в соответствии с кислотным числом; после перемешивания смеси в течение 10 мин и выдерживания в течение 18-24 ч – удаление нижнего грязного слоя; промывание верхнего слоя очищенной водой и выдерживание в течение 18-24 часов; повторное промывание верхнего слоя после удаления нижнего слоя отработанной воды; удаление нижнего слоя отработанной воды после выдерживания в течение еще 40-50 ч; и деэмульгирование верхнего слоя ацетоном в количестве 70-90% относительно массы масла; после выдерживания в течение 2-4 ч – удаление нижнего слоя отработанного ацетона и добавление от 3 до 8% активированного

нейтрального оксида алюминия относительно массы неочищенного масла в верхний масляный слой; перемешивание смеси в течение 30 мин, затем фильтрование осадка; нагревание фильтрата и добавление от 2 до 6% активированного смешанного адсорбента относительно массы неочищенного масла; перемешивание смеси в течение 30 мин при 40-50 °С и последующее фильтрование осадка; концентрирование фильтрата при пониженном давлении для удаления растворителя, затем повторное промывание очищенной водой; после выдерживания в течение 1-2 ч – удаление нижнего слоя отработанной воды, нагревание верхнего масляного слоя и его концентрирование в вакууме в атмосфере азота; затем стерилизация масла путем стерилизации сухим теплом в вакууме при 160-170 °С в течение 1-2 часов; фильтрование масла через 0,2 мкм микропористую мембрану после охлаждения; затем отдельная загрузка полученного масла семян коикса в 500 мл стеклянные инфузионные колбы, обработка азотом и герметизация колб;

предпочтительно, добавление петролейного эфира (температура кипения 60-90 °С) в масло семян коикса, полученное сверхкритической экстракцией CO<sub>2</sub> в количестве 65% относительно массы масла; добавление 2% водного раствора NaOH в количестве от 36 до 56% относительно массы масла в соответствии с кислотным числом; после перемешивания смеси в течение 10 мин и выдерживания в течение 20 ч – удаление нижнего грязного слоя; промывание верхнего слоя очищенной водой и выдерживание в течение 22 часов; повторное промывание верхнего слоя после удаления нижнего слоя отработанной воды; удаление нижнего слоя отработанной воды после выдерживания в течение еще 46 ч; деэмульгирование верхнего слоя ацетоном в количестве 70-90% относительно массы неочищенного масла и выдерживание в течение 3 часов; удаление нижнего слоя отработанного ацетона и добавление 5% активированного нейтрального оксида алюминия относительно массы неочищенного масла в верхний масляный слой; перемешивание смеси в течение 30 мин, затем фильтрование осадка; нагревание фильтрата и добавление от 4% смешанного адсорбента активированного каолина и активированного углерода (1:1) относительно массы неочищенного масла; перемешивание смеси в течение 30 мин при 40-50 °С и последующее фильтрование осадка; концентрирование фильтрата при пониженном давлении для удаления растворителя, затем повторное промывание очищенной водой; после выдерживания в течение 1 ч – удаление нижнего слоя отработанной воды; нагревание верхнего масляного слоя

и его концентрирование в атмосфере азота; затем стерилизация масла путем сухого нагревания в вакууме при 160-170 °С в течение 2 часов; после охлаждения – фильтрование масла через 0,2 мкм микропористую мембрану; затем отдельная загрузка полученного масла семян коикса в 500 мл стеклянные инфузионные колбы, обработка азотом и герметизация колб.

**4.** Фармацевтический препарат, содержащий терапевтически эффективное количество масла семян коикса по пп. 1-3 и один или более чем один фармацевтически приемлемый носитель, выбранный из фармацевтических общеизвестных разбавителей, эксципиентов, наполнителей, эмульгаторов, связующих веществ, смазывающих веществ, ускорителей абсорбции, поверхностно-активных веществ, разрыхлителей, смазывающих веществ и антиоксидантов, если необходимо, ароматизаторов, подсластителей, консервантов и/или красителей;

где указанный фармацевтически приемлемый носитель выбирают из одного или более из группы, состоящей из: маннита, сорбита, метабисульфата натрия, бисульфата натрия, тиосульфата натрия, цистеина гидрохлорида, тиогликолевой кислоты, метионина, соевого лецитина, витамина С, витамина Е, динатриевой ЭДТА, кальций натриевой ЭДТА, карбоната одновалентного щелочного металла, ацетата, фосфат или его водного раствора, соляной кислоты, уксусной кислоты, серной кислоты, фосфорной кислоты, аминокислоты, хлорида натрия, хлорида калия, лактата натрия, раствора этилпарабена, бензойной кислоты, сорбата калия, хлоргексидин ацетата, ксилита, мальтозы, глюкозы, фруктозы, декстрана, глицина, крахмала, сахарозы, лактозы, маннита, кремневых производных, целлюлозы и ее производных, альгинатов, желатина, поливинилпирролидона, глицерина, Твин 80, агар-агара, карбоната кальция, бикарбоната кальция, поверхностно-активных веществ, полиэтиленгликоля, циклодекстрина,  $\beta$ -циклодекстрина, фосфолипидного материала, каолина, талька и стеарата кальция или стеарата магния.

**5.** Фармацевтический препарат по п. 4, где указанный фармацевтический препарат представляет собой пероральный твердый препарат, выбранный из любого из капсул, таблеток, микропеллюль, гранул и концентрированных пеллюль; пероральный жидкий препарат, выбранный из любого из водных или масляных суспензий, растворов, эмульсий, сиропов или эликсиров, и сухого продукта, который может быть восстановлен водой или другим подходящим носителем перед применением; или инъекцию, выбранную из любой из наносуспензий,

липосом, эмульсий, лиофилизированного порошка для инъекции и водной инъекции.

**6.** Фармацевтический препарат по п. 5, где указанная инъекция содержит следующие компоненты:

Масло семян коикса	50-350 г
Соевый лецитин для инъекции или соевый лецитин, пригодный для инъекции	10-40 г
Глицерин для инъекции или глицерин, пригодный для инъекции	15-50 г
Воду для инъекции добавляют до	1000 мл.

**7.** Способ получения фармацевтического препарата по п. 6, включающий следующие стадии:

добавление соответствующего количества воды для инъекции к рецептурному количеству соевого лецитина для инъекции или соевого лецитина, пригодного для инъекции; диспергирование смеси диспергирующим эмульгатором с высоким усилием сдвига с получением дисперсии без крупных фрагментов или гранул; добавление рецептурного количества глицерина для инъекции или глицерина, пригодного для инъекции; затем добавление воды для инъекции до указанного количества и перемешивание смеси до получения водной фазы;

взвешивание рецептурного количества масла семян коикса; отдельное нагревание навески масла и водной фазы до 60-70 °С, затем их смешивание и эмульгирование смеси в гомогенизаторе высокого давления, в котором низкое давление составляет 5-12 МПа и высокое давление составляет 25-50 МПа; повторение цикла гомогенизации 3-6 раз до тех пор, пока количество частиц размером менее 2 мкм будет составлять не менее чем 95%, а частицы размером более 5 мкм не будут обнаруживаться; при необходимости, использование NaOH или HCl для доведения pH до 4,8-8,5, предпочтительно 6,8-7,0, наиболее предпочтительно 6,8; и

фильтрация полученной гомогенной эмульсии под давлением в атмосфере азота через микропористый фильтр 3 мкм или менее; обработка азотом, стерилизация и охлаждение для получения инъекции.

**8.** Фармацевтический препарат по п. 5, где указанная капсула содержит следующие компоненты:

Масло семян коикса	200-800 г
Антиоксидант (-ы) и/или эмульгатор (-ы) для получения	0,20-0,60 г 1000 капсул.

**9.** Способ получения фармацевтического препарата по п. 8, включающий следующие стадии:

получение раствора клея: взвешивание желатина, очищенной воды, глицерина и консерванта в массовом соотношении 1:0,6-1,2:0,3-0,8:0,0001-0,01; последовательное добавление глицерина, очищенной воды и консерванта (выбранного из любого из 10% раствора этилпарабена, бензойной кислоты, сорбата калия и хлоргексидин ацетата) в резервуар для плавления клея; нагревание до 70-90 °С; затем добавление желатина и постоянное перемешивание смеси в вакууме до полного растворения желатина; фильтрация раствора клея и хранение отфильтрованного раствора клея при 56-62 °С перед использованием;

приготовление лекарственной жидкости: добавление рецептурного количества масла семян коикса, антиоксиданта (-ов) и/или эмульгатора (-ов) в дозатор и постоянное перемешивание смеси до достижения гомогенности; и прессование капсул: выбор подходящих пресс-форм в зависимости от размера капсулы; и

прессование капсул при температуре 15-30 °С и относительной влажности менее 35%; сушка прессованных и формованных капсул; после удаления капсул ненормального размера – промывание капсул нормального размера 95% медицинским этанолом и продолжительная сушка до достижения содержания влаги менее 12%; визуальный контроль и удаление негодных капсул; затем нанесение печати и упаковка с получением капсул;

где указанный консервант выбирают из любого из 10% раствора этилпарабена, бензойной кислоты, сорбата калия и хлоргексидина ацетата;

причем указанный антиоксидант представляет собой витамин Е; и

указанный эмульгатор представляет собой Твин 80.

**10.** Применение масла семян коикса по п. 1 для получения противоопухолевых лекарственных средств, применяемых для лечения опухолей, выбранных из группы, состоящей из рака легкого, рака печени, рака поджелудочной железы, рака предстательной железы, рака яичника, рака молочной железы, на ранней, средней или поздней стадии.