

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202193158** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2022.03.17

(22) Дата подачи заявки
2020.06.08

(51) Int. Cl. *A61K 31/728* (2006.01)
A61K 31/737 (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)

(54) **ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ВЫБОР РАСТИТЕЛЬНОГО ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ РАСТИТЕЛЬНОГО ХОНДРОИТИНСУЛЬФАТА И ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ТАКОГО РАСТИТЕЛЬНОГО ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА С ПОЛУЧЕНИЕМ ИНГРЕДИЕНТОВ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ, ДОБАВКАХ, МЕДИЦИНСКИХ УСТРОЙСТВАХ ИЛИ ЛЕКАРСТВАХ**

(31) **102019000008409**

(32) **2019.06.07**

(33) **IT**

(86) **PCT/IB2020/055362**

(87) **WO 2020/245809 2020.12.10**

(88) **2021.01.14**

(71) Заявитель:
ВИВАТИС ФАРМА ГМБХ (DE)

(72) Изобретатель:

Черана Джорджио Стефано, Бос Петер (DE)

(74) Представитель:

**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатъев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)**

(57) Способ экстракции из растительного исходного материала, такого как гриб, для получения смеси (m), содержащей или, альтернативно, состоящей из по меньшей мере одного гликозаминогликана, выбранного из (a) гиалуроновой кислоты или ее соли (ГК), имеющей среднюю молекулярную массу от 10 до 600 кДа; (b) хондроитина или хондроитинсульфата, или его соли (ХС), имеющего среднюю молекулярную массу от 3 до 50 кДа, и (c) сочетания (a) и (b).

A1

202193158

202193158

A1

Определение и выбор растительного исходного материала для растительного хондроитинсульфата и гиалуроновой кислоты и преобразование такого растительного исходного материала с получением ингредиентов для применения в пищевых продуктах, добавках, медицинских устройствах или лекарствах

Настоящее изобретение относится к смеси, содержащей или, альтернативно, состоящей из по меньшей мере одного гликозаминогликана, полученного из растительного исходного материала, выбранного из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из гиалуроновой кислоты или ее соли (соли гиалуронат-аниона) (сокращенно, вместе или по отдельности, ГК), и/или хондроитина или его соли, такой как хондроитинсульфат или его соль (сокращенно, вместе или по отдельности, ХС), растительного происхождения, имеющего высокую степень чистоты и пониженное содержание загрязняющих веществ и/или побочных продуктов.

Кроме того, настоящее изобретение относится к применению вышеуказанной смеси в качестве добавки, эксципиента или ингредиента при приготовлении фармацевтических продуктов, медицинских устройств, нутрицевтических продуктов, пищевых продуктов для специальных медицинских целей (FSMP), пищевых продуктов или диетических добавок.

Кроме того, настоящее изобретение относится к композиции, содержащей (i) указанную смесь, содержащую или, альтернативно, состоящую из гиалуроновой кислоты или ее соли (соли гиалуронат-аниона) (сокращенно, вместе или отдельно, ГК), и/или хондроитина или его соли, такой как хондроитинсульфат или его соль (сокращенно ХС), растительного происхождения и (ii) возможно технологические добавки и эксципиенты фармацевтического или пищевого качества.

Кроме того, настоящее изобретение относится к указанной композиции, содержащей указанную смесь, для применения в качестве лекарственного средства.

Кроме того, настоящее изобретение относится к указанной композиции, содержащей указанную смесь, для применения в способе профилактического или радикального лечения людей и животных, страдающих специфическими нарушениями, патологиями или заболеваниями, выбранными из артрита, остеоартрита, артроза, боли в суставах, воспаления конечностей и суставов, гастрозофагеального рефлюкса.

Кроме того, настоящее изобретение относится к способу получения указанной смеси и указанной композиции, содержащей указанную смесь, содержащую или, альтернативно, состоящую из гиалуроновой кислоты или ее соли (соли гиалуронат-аниона) (сокращенно,

вместе или по отдельности, ГК) и/или хондроитин или его соль, такую как хондроитинсульфат или его соль (сокращенно ХС) растительного происхождения.

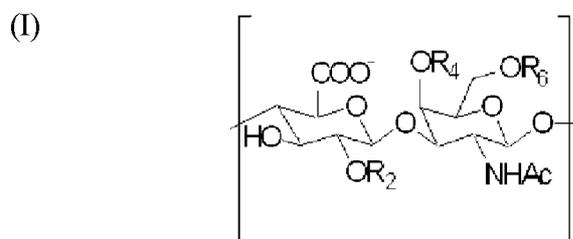
Наконец, настоящее изобретение относится к использованию гриба в качестве растительного исходного материала для получения гиалуроновой кислоты или ее соли и/или хондроитина или его соли, такой как хондроитинсульфат или его соль, растительного происхождения с высокой степенью чистоты и пониженным содержанием загрязняющих веществ и/или побочных продуктов.

Гиалуроновая кислота представляет собой анионный несulfатный гликозаминогликан (GAG), который широко распространен в соединительной, эпителиальной и нервной тканях позвоночных. Гиалуроновая кислота выполняет важные структурные, реологические и физиологические функции.

Петушиные гребешки и пуповина человека содержат очень высокие концентрации гиалуроновой кислоты, соответственно 7500 мг/л и 4100 мг/л. По этой причине в начале 80-х годов Эндре А. Балаш и его сотрудники разработали методику выделения и очистки гиалуроновой кислоты из петушиных гребешков и пуповины человека. С тех пор гиалуроновую кислоту производят из петушиных гребешков в промышленных масштабах.

Хондроитинсульфат представляет собой сульфат GAG, который состоит из цепи чередующихся звеньев сахара, N-ацетилгалактозамина и глюкуроновой кислоты. Цепь хондроитинсульфата может состоять из сотен звеньев сахара, каждое из которых может быть сульфатировано в различных положениях и количествах. Благодаря своей высокой прочности на сжатие хондроитинсульфат является важным структурным компонентом хряща.

Хондроитинсульфат имеет повторяющееся звено (дисахарид) следующей общей формулы (I):



где по меньшей мере один из R_2 , R_4 и R_6 представляет собой сульфитную группу (SO_3^-). В моносulfате хондроитина только одна из групп R_2 , R_4 и R_6 является сульфитной группой. Таким образом, три возможных моносulfатированных хондроитина представляют собой 6-хондроитинсульфат ($R_2=H$; $R_4=H$; $R_6=SO_3^-$), 4-хондроитинсульфат

($R_2=H$; $R_4=SO_3^-$; $R_6=H$) и 2-хондроитин сульфат ($R_2=SO_3^-$; $R_4=H$; $R_6=H$).

В основном, хондроитинсульфат получают из экстрактов хрящей животных, главным образом, из тканей крупного рогатого скота и свиней (например, трахеи, ушей и носа), но также можно использовать и другие источники, такие как хрящи акулы, рыбы и птицы.

Несмотря на многочисленные и бесспорные, с точки зрения эффективности, медицинские применения гиалуроновой кислоты и хондроитинсульфата у млекопитающих, в частности, у человека, способы получения путем экстракции из животных предшественников сегодня сталкиваются с растущими заботами и опасениями, в том числе этического, религиозного и нравственного характера. Основные заботы и опасения возникают в связи с использованием продуктов, полученных из животных или животного происхождения, для получения гиалуроновой кислоты или ее соли и/или хондроитина или его соли, такой как хондроитинсульфат, особенно когда эти соединения или соли предназначены для пищевых, биомедицинских или фармацевтических применений. Кроме того, хондроитинсульфат и гиалуроновая кислота, экстрагированные из животных источников, имеют высокую молекулярную массу, тогда как было бы преимуществом иметь хондроитинсульфат и/или гиалуроновую кислоту с низкой молекулярной массой, поскольку они обладают лучшими свойствами трансдермального проникновения.

Из предшествующего уровня техники известен хондроитинсульфат неживотного происхождения, полученный внедрением сульфатной группы в несульфатированный хондроитин, полученный с помощью процессов бактериальной ферментации.

Следовательно, в области фармацевтических продуктов, медицинских устройств, нутрицевтиков, продуктов питания для специальных медицинских целей (FSMP), диетических добавок или пищевых продуктов операторы рынка крайне нуждаются и требуют наличия гиалуроновой кислоты или ее соли и/или хондроитина или его соли, такой как сульфат хондроитина, которые получают способом, альтернативным существующим, и которые могут использоваться всеми категориями потребителей, включая веганов, вегетарианцев, страдающих аллергией людей, и всех, кому по религиозным или идеологическим причинам доступ к продуктам или лекарствам, содержащим гиалуроновую кислоту или ее соль и/или хондроитин или ее соль, в настоящее время закрыт. Кроме того, ощущается потребность в производстве хондроитинсульфата и/или гиалуроновой кислоты неживотного происхождения способами, которые являются экономически выгодными по сравнению с тем, что известно в данной области, и простыми в применении.

После долгих и интенсивных исследований и разработок заявителем были

разработаны методика и способ получения, способные обеспечить адекватный ответ на существующие ограничения, недостатки и проблемы.

Таким образом, объектом настоящего изобретения является смесь, содержащая или, альтернативно, состоящая из по меньшей мере одного гликозаминогликана, полученного из растительного исходного материала, выбранного из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из гиалуроновой кислоты или ее соли (соли гиалуронат-аниона) (сокращенно, вместе или по отдельности, ГК), и/или хондроитина или его соли, такой как хондроитинсульфат или его соль (сокращенно, вместе или по отдельности, ХС), и их сочетаний, растительного происхождения, имеющих характеристики, определенные в прилагаемой формуле изобретения.

Кроме того, объектом настоящего изобретения является применение вышеуказанной смеси в качестве добавки, эксципиента или ингредиента при приготовлении фармацевтических продуктов, медицинских устройств, нутрицевтических продуктов, пищевых продуктов для специальных медицинских целей (FSMP), пищевых продуктов или диетических добавок, причем указанное применение имеет характеристики, определенные в прилагаемой формуле изобретения.

Другим объектом настоящего изобретения является композиция, содержащая (i) указанную смесь, содержащую или, альтернативно, состоящую из гиалуроновой кислоты или ее соли (соли гиалуронат-аниона) (сокращенно, вместе или по отдельности, ГК), и/или хондроитина или его соли, такой как хондроитинсульфат (сокращенно ХС) растительного происхождения, и (ii) возможно технологические добавки и вспомогательные вещества фармацевтического или пищевого качества, имеющую характеристики, определенные в прилагаемой формуле изобретения.

Другим объектом настоящего изобретения является смесь и по меньшей мере одна технологическая добавка или эксципиент, или композиция для применения в качестве лекарственного средства (первое медицинское применение), имеющая характеристики, определенные в прилагаемой формуле изобретения.

Другим объектом настоящего изобретения является смесь или композиция, содержащая указанную смесь, для применения в способе профилактического или радикального лечения людей и животных, страдающих конкретными нарушениями или патологиями или заболеваниями, выбранными из артрита, остеоартрита, артроза, боли в суставах, воспаления конечностей и суставов, гастроэзофагеального рефлюкса (второе медицинское применение), причем указанное применение имеет характеристики, определенные в прилагаемой формуле изобретения.

Кроме того, другим объектом настоящего изобретения является способ получения указанной смеси или указанной композиции, содержащей указанную смесь, содержащую или, альтернативно, состоящую из гиалуроновой кислоты или ее соли (соли гиалуронат-аниона) (сокращенно, вместе или по отдельности, ГК), и/или хондроитина или его соли, такой как хондроитинсульфат (сокращенно ХС) растительного происхождения, имеющий характеристики, определенные в прилагаемой формуле изобретения.

Наконец, объектом настоящего изобретения является применение гриба в качестве растительного исходного материала для получения гиалуроновой кислоты или ее соли и/или хондроитина или его соли, такой как хондроитинсульфат или его соль, с высокой степенью чистоты и сниженным содержанием загрязняющих веществ и/или побочных продуктов, имеющие характеристики, определенные в прилагаемой формуле изобретения.

Ниже описаны предпочтительные воплощения настоящего изобретения со ссылкой на прилагаемые чертежи, где:

- на фиг. 1-4 показаны блок-схемы способа по настоящему изобретению в соответствии с различными воплощениями (первое воплощение, P1);

- на фиг. 5 и 6 показаны блок-схемы способа по настоящему изобретению согласно второму воплощению (P2);

- на фиг. 7 и 8 показаны блок-схемы способа по настоящему изобретению согласно третьему воплощению (P3);

- на фиг. 9 и 10 показаны два спектра ВЭЖХ определения ненасыщенных дисахаридов в образце, содержащем ГК, и в образце, содержащем ХС, соответственно.

Следует отметить, что в контексте настоящего описания выражение «ГК» используют для обозначения гиалуроновой кислоты или ее соли, или гиалуроната, или их сочетаний. Выражение «ХС», с другой стороны, используют для обозначения хондроитина, соли хондроитина, предпочтительно хондроитинсульфата или его соли, или их смесей.

Следует отметить, что в этом описании термины «растительный исходный материал» и «исходный материал растительного происхождения» являются синонимами и поэтому их используют взаимозаменяемым образом.

Подробное описание изобретения

Предметом настоящего изобретения является смесь (m), содержащая или, альтернативно, состоящая по меньшей мере из одного гликозаминогликана, полученного из исходного материала растительного происхождения. Указанный материал растительного происхождения выбран из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из одного

или нескольких природных грибов.

Указанный гликозаминогликан выбран из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из:

(а) гиалуроновой кислоты или ее соли, гиалуронат-аниона (сокращенно, ГК);

(b) хондроитина или его соли, такой как хондроитинсульфат (сокращенно ХС) или его соли;

(с) сочетания (а) и (b).

Растительным исходным материалом является гриб. Гриб представляет собой гриб, который растет и встречается в природе, например, его можно найти и собрать в лесу, но его также можно культивировать в теплице.

Гриб принадлежит к подцарству Дикария (*Dikarya*), предпочтительно к отделу Базидиомикота (*Basidiomycota*).

Дикария (*Dikarya*) представляет собой подцарство грибов, которое включает отделы Аскомикота (*Ascomycota*) и Базидиомикота (*Basidiomycota*). Базидиомикота (Basidiomycota R.T. Moore, 1980) является одним из крупнейших типов, образующих царство грибов.

Согласно одному воплощению растительный исходный материал представляет собой гриб вида Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*) или указанный растительный исходный материал включает или, альтернативно, состоит из гриба вида Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*).

Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*) (Berk. 1856) (также известная как снежный гриб или дрожалка фукусовидная) представляет собой гриб, происходящий из тропических и субтропических регионов, где он растет на мертвых бревнах лиственных пород, а также культивируется для удовлетворения чрезвычайно высокого спроса, особенно в Японии и Китае, в кулинарии и народной медицине. Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*) дает белые студенистые плодовые тела (базидиокарпы), похожие на пальмовые листья.

Применение тремеллы фукусовидной в настоящем изобретении имеет особенное преимущество, учитывая то, что методика экстракции из этого растительного исходного материала, разработанная здесь (первое воплощение (P1), второе воплощение (P2) и третье воплощение (P3)), позволяет производить и ГК, и ХС полностью растительного происхождения (и с низкой молекулярной массой). Гликозаминогликаны ГК и/или ХС, содержащиеся в смеси (m) и полученные способом по настоящему изобретению, имеют отличительные признаки, которые делают их особенно эффективными, прежде всего благодаря их уменьшенной молекулярной массе по сравнению с ГК и/или ХС, получаемым

из хрящей животных согласно предшествующему уровню техники. Низкая молекулярная масса обеспечивает гликозаминогликаны ГК и/или ХС с улучшенными свойствами чрескожного проникновения.

Более конкретно, гиалуроновая кислота или ее соль (гиалуронат), полученные способом по настоящему изобретению (Р1 и/или Р2), имеют среднемассовую молекулярную массу от 10 кДа до 600 кДа, предпочтительно от 100 кДа до 500 кДа, еще более предпочтительно составляющую от 200 кДа до 400 кДа или от 100 кДа до 300 кДа, например, среднемассовую молекулярную массу примерно 50 кДа, 150 кДа или 250 кДа, или 300 кДа, или 350 кДа, или 450 кДа, или 550 кДа. Предпочтительно, указанная ГК имеет процентное содержание хондроитина (предпочтительно несulfатированного хондроитина) от 0,01% до 5%, предпочтительно от 0,1% до 3%, еще более предпочтительно от 0,5% до 2%, например, 1 % или 2% по отношению к общей массе указанной ГК, экстрагированной из грибов.

Согласно преимущественному аспекту настоящего изобретения, ГК, имеющая среднемассовую молекулярную массу, попадающую в такие диапазоны, имеет высокую способность чрескожного проникновения из-за ограниченного размера молекулы.

Хондроитин или его соль, такая как хондроитин или его соль (ХС), полученные способом по настоящему изобретению (Р1 и/или Р3), имеют среднемассовую молекулярную массу от 1 кДа до 50 кДа или от более 5 кДа до менее 50 кДа, предпочтительно от 3 кДа до 40 кДа, еще более предпочтительно от 5 кДа или более 5 кДа до 25 кДа или от более 5 кДа до 10 кДа, например, среднемассовую молекулярную массу примерно 4 кДа, или 6 кДа, или 8 кДа, или 10 кДа, или 12 кДа, или 14 кДа, или 16 кДа, или 18 кДа, или 22 кДа, или 24 кДа.

В соответствии с другим преимущественным аспектом настоящего изобретения, ХС со среднемассовой молекулярной массой, находящейся в указанных в этом документе диапазонах, также оказывается эффективным в снижении повреждения костей от остеоартрита коленного и тазобедренного суставов.

ХС, содержащийся в смеси (m) по настоящему изобретению, включает хондроитинсульфат, имеющий среднемассовую молекулярную массу от 1 кДа ($1000,00 \text{ Да} = 1 \times 10^3$) до 50 кДа, предпочтительно от 3 кДа до 40 кДа, еще более предпочтительно от 5 кДа до 25 кДа, например, среднемассовую молекулярную массу примерно 4 кДа, или 6 кДа, или 8 кДа, или 10 кДа, или 12 кДа, или 14 кДа, или 16 кДа, или 18 кДа, или 22 кДа, или 24 кДа.

Предпочтительно указанный ХС имеет плотность заряда от 0,70 до 0,99 или от 0,70

до 1,50, предпочтительно от 0,75 до 0,98 или от 0,75 до 1,20, еще более предпочтительно от 0,80 до 0,97, например, 0,85, 0,87, 0,90, 0,92, 0,94 или 0,96.

Более предпочтительно, указанный ХС (полученный в способе Р1 и/или Р3) имеет массовое процентное содержание хондроитин-6-сульфата от 50% до 99,5%, предпочтительно от 50% до 95%, более предпочтительно от 75% до 88%, еще более предпочтительно от 78% до 86%, например, примерно 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 98% по отношению к общей массе указанного ХС (или по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате; % определяют, например, с помощью ВЭЖХ).

Помимо хондроитин-6-сульфата, указанный ХС предпочтительно содержит несульфатированный хондроитин.

Предпочтительно несульфатированный хондроитин имеет массовое процентное содержание от 0,1% до 25%, предпочтительно от 0,5% до 20% или от 5% до 20%, более предпочтительно от 7% до 15%, еще более предпочтительно от 8 % до 13%, например, примерно 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5%, 5,5%, 6%, 8%, 9%, 10%, 11% или 12% по отношению к общей массе указанного ХС (или по отношению к общей массе дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате; % определяют, например, с помощью ВЭЖХ).

Помимо хондроитин-6-сульфата и несульфатированного хондроитина, указанный ХС предпочтительно содержит хондроитин-2,6-дисульфат.

Предпочтительно, хондроитин-2,6-дисульфат имеет массовое процентное содержание от 0,1% до 10%, предпочтительно от 0,2% до 8%, еще более предпочтительно от 0,3% до 5%, например, примерно 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, 4% или 4,5% по отношению к общей массе указанного ХС (или по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате; % определяют, например, с помощью ВЭЖХ).

Помимо хондроитин-6-сульфата, несульфатированного хондроитина и хондроитин-2,6-дисульфата, указанный ХС предпочтительно содержит хондроитин-4-сульфат (или по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате; % определяют, например, с помощью ВЭЖХ).

Предпочтительно хондроитин-4-сульфат имеет массовое процентное содержание от 0,01% до 5%, предпочтительно от 0,05% до 3%, еще более предпочтительно от 0,1% до 1,5%, например, примерно 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,1%, 0,15%, 0,2%, 0,25%, 0,3%, 0,35%, 0,4%, 0,45%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9% или 1% по отношению к общей массе указанных

ХС (или по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате; % определяют, например, с помощью ВЭЖХ).

Помимо хондроитин-6-сульфата, несульфатированного хондроитина, хондроитин-2,6-сульфата и хондроитин-4-сульфата, указанный ХС предпочтительно содержит хондроитин-4,6-дисульфат.

Предпочтительно хондроитин-4,6-дисульфат имеет массовое процентное содержание от 0,01% до 5%, предпочтительно от 0,05% до 3%, еще более предпочтительно от 0,1% до 1,5%, например, примерно 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,1%, 0,15%, 0,2%, 0,25%, 0,3%, 0,35%, 0,4%, 0,45%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9% или 1% по отношению к общей массе указанного ХС (или по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате; % определяют, например, с помощью ВЭЖХ).

Помимо хондроитин-6-сульфата, несульфатированного хондроитина и хондроитин-2,6-сульфата, хондроитин-4-сульфата и хондроитин-4,6-дисульфата, указанный ХС предпочтительно содержит хондроитин-2,4-дисульфат (или по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате; % определяют, например, с помощью ВЭЖХ).

Предпочтительно, хондроитин-2,4-дисульфат имеет массовое процентное содержание от 0,01% до 5%, предпочтительно от 0,05% до 3%, еще более предпочтительно от 0,1% до 1,5%, например, примерно 0,02%, 0,03%, 0,04%, %, 0,1%, 0,15%, 0,2%, 0,25%, 0,3%, 0,35%, 0,4%, 0,45%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9% или 1,0% по отношению к общей массе указанного ХС (или по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате; % определяют, например, с помощью ВЭЖХ).

Помимо хондроитин-6-сульфата, несульфатированного хондроитина, хондроитин-2,6-сульфата, хондроитин-4-сульфата, хондроитин-4,6-дисульфата и хондроитин-2,4-дисульфата, указанный ХС предпочтительно содержит гиалуроновую кислоту или гиалуронат (предпочтительно несульфатированный). Предпочтительно указанная ГК присутствует в массовом процентном содержании от 0,01% до 5%, предпочтительно от 0,05% до 3%, еще более предпочтительно от 0,1% до 1,5%, например, 0,8% или 1,0%, по отношению к общей массе ХС.

Согласно одному воплощению, ХС, содержащийся в смеси (m) и полученный способом по настоящему изобретению (P1 и/или P3), включает:

- хондроитин-6-сульфат с массовым процентным содержанием от 50% до 99,5%, предпочтительно от 50% до 95±0,5%, более предпочтительно от 75% до 88%, еще более предпочтительно от 78% до 86%;

- несультфатированный хондроитин с массовым процентным содержанием от 0,1% до 25%, предпочтительно от 0,5% до 20%, более предпочтительно от 7% до 15%, еще более предпочтительно от 8% до 13%;

- хондроитин-2,6-дисульфат с массовым процентным содержанием от 0,1% до 10%, предпочтительно от 0,2% до 8%, еще более предпочтительно от 0,3% до 5% и, кроме того,

- хондроитин-4-сульфат с массовым процентным содержанием от 0,01% до 5%, предпочтительно от 0,05% до 3%, еще более предпочтительно от 0,1% до 1,5%,

- хондроитин-4,6-дисульфат с массовым процентным содержанием от 0,01% до 5%, предпочтительно от 0,05% до 3%, еще более предпочтительно от 0,1% до 1,5%, и

- хондроитин-2,4-дисульфат с массовым процентным содержанием от 0,01% до 5%, предпочтительно от 0,05% до 3%, еще более предпочтительно от 0,1% до 1,5%.

Например, ХС, содержащийся в смеси (m) и полученный способом по настоящему изобретению, имеет состав ХС.1, ХС.2, ХС.3, ХС.4, ХС.5 или состав ХС.6, согласно приведенной ниже таблице 1 (значения выражены в виде массовых процентов каждого компонента по отношению к общей массе указанного ХС.n при n = 1-6).

Таблица 1

ХС, содержащийся в смеси (m)	ХС.1	ХС.2	ХС.3	ХС.4	ХС.5	ХС.6
несульфатированный хондроитин	10,6	11,5	10,8	8,9	2,9	1,7
хондроитин-6-сульфат	85,3	79,7	84,7	87,9	92,6	95,7
хондроитин-4-сульфат	0,0	0,2	0,4	0,6	0,1	0,4
хондроитин-2,6-дисульфат	4,1	0,5	2,4	1,9	3,4	0,5
хондроитин-4,6-дисульфат	0,0	0,9	0,8	0,3	0,4	0,9
хондроитин-2,4-дисульфат	0,0	1,0	0,9	0,4	0,6	0,8
Плотность заряда	0,94	0,85	0,95	0,92	0,94	0,96

Объектом настоящего изобретения является композиция, содержащая: (i) вышеуказанную смесь (m), содержащую или, альтернативно, состоящую из (a) ГК, имеющей среднemasсовую молекулярную массу от 10 кДа до 600 кДа (предпочтительно от 100 кДа до 500 кДа, еще более предпочтительно от 200 кДа до 400 кДа, или от 100 кДа до 300 кДа, например, примерно 150 кДа, или 250 кДа, или 300 кДа, или 350 кДа, или 450 кДа, или 550 кДа), и/или (b) ХС, имеющего среднemasсовую молекулярную массу от 1 до 50 кДа или от более 5 кДа до менее 50 кДа (предпочтительно от 3 до 40 кДа, еще более предпочтительно от 5 или более 5 кДа до 25 кДа, например, примерно 4 кДа, или 6 кДа, или 8 кДа, или 10 кДа, или 12 кДа, или 14 кДа, или 16 кДа, или 18 кДа, или 22 кДа, или 24 кДа), и (ii) возможно технологические добавки и вспомогательные вещества фармацевтического

или пищевого качества.

Такая композиция может представлять собой фармацевтическую композицию, композицию медицинского устройства (EU) 2017/745, композицию с нутрицевтической функцией, композицию специального пищевого продукта для медицинских целей (SFMP), композицию диетической добавки или композицию пищевого продукта, или композицию нового продукта питания (EU) 2015/2283.

Такую композицию можно использовать в качестве лекарственного средства или в качестве композиции для применения при профилактическом и/или радикальном лечении артрита, остеоартрита, артроза, боли в суставах, воспаления конечностей и суставов, гастроэзофагеального рефлюкса.

Объектом настоящего изобретения являются методика и способ получения гиалуроновой кислоты или гиалуроната (ГК) (способ P1 и/или P2) и/или хондроитинсульфата, или хондроитина, или его соли (ХС) (способ P1 и/или P3), указанный способ включает по меньшей мере одну стадию экстракции гиалуроновой кислоты или гиалуроната и/или хондроитинсульфата или хондроитина из исходного материала растительного происхождения, например исходного материала растительного происхождения, содержащего или, альтернативно, состоящего из, по меньшей мере, одного природного гриба, принадлежащего подцарству Дикария (*Dikarya*), предпочтительно отделу Базидиомикота (*Basidiomycota*), более предпочтительно виду Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*).

Способы по настоящему изобретению (первое воплощение (P1), второе воплощение (P2) и третье воплощение (P3)) не включают стадии ферментации и/или расщепления бактериями, как, например, бактериальные ферментации, описанные в патентных документах WO 2012/152872 A1 и EP 2852437 B1, для получения хондроитина или хондроитинсульфата.

Примеры различных воплощений этого способа представлены на блок-схемах на фиг. 1-8.

Согласно первому воплощению (P1), способ по настоящему изобретению включает следующие стадии:

(i) определение одного или более природных грибов в качестве растительного исходного материала для гликозаминогликана; например, один или более природных грибов в сухой или сушеной форме, предпочтительно содержащих или, альтернативно, состоящих из по меньшей мере одного гриба, принадлежащего подцарству Дикария (*Dikarya*), предпочтительно отделу Базидиомикота (*Basidiomycota*), более предпочтительно

виду Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*);

(ii) необязательно проведение дробления или измельчения растительного исходного материала;

(iii) экстракцию указанного гликозаминогликана (ГК или ХС) из растительного исходного материала, полученного на стадии (i) или на стадии (ii), с использованием экстрагирующего растворителя, предпочтительно водного растворителя, еще более предпочтительно воды (например, дистиллированной или дважды дистиллированной воды) с получением водного экстракта указанного гликозаминогликана;

(iv) добавление растворителя, предпочтительно этанола, в водный экстракт, полученный на стадии (iii), с получением жидкого продукта;

(v) проведение центрифугирования и/или фильтрации жидкого продукта, полученного на стадии (iv), с получением жидкой фазы и твердого остатка;

(vi) проведение обработки жидкой фазы, полученной в результате центрифугирования и/или фильтрации на стадии (v), посредством следующей стадии (vi.a) и/или обработки твердого остатка, полученного в результате центрифугирования и/или фильтрации на стадии (v), посредством следующих стадий (vi.b), (vi.c), (vi.d) и (vi.e):

(vi.a) сушка, предпочтительно концентрирование и сушка, жидкой фазы, полученной на стадии (v), для получения гиалуроновой кислоты или ее соли, имеющих среднемассовую молекулярную массу от 10 кДа до 600 кДа;

и/или

(vi.b) выделение и очистка твердого остатка, полученного на стадии (v), для получения хондроитина или его соли (ХС), имеющих среднемассовую молекулярную массу от 1 кДа до 50 кДа;

(vi.c) обработка хондроитина или его соли (ХС), полученных на стадии (vi.b), источником серной кислоты, предпочтительно выбранным из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из серной кислоты, комплекса триоксида серы с пиридином, комплекса триоксида серы с диметилформамидом и их смесей, с получением подкисленного продукта;

(vi.d) нейтрализация подкисленного продукта, полученного на стадии (vi.c), с использованием основного агента с получением нейтрализованного продукта;

(vi.e) концентрирование и сушка нейтрализованного продукта, полученного на стадии (vi.d), с получением хондроитинсульфата или его соли, имеющих среднемассовую молекулярную массу от 1 кДа до 50 кДа.

Растительный исходный материал, подвергнутый экстракции на стадии (iii), может

быть неповрежденным (т.е. цельным, например, целым грибом), или он может быть раздроблен (на кусочки или хлопья) или измельчен (в гранулы, порошок или крупинки) на стадии (ii).

Блок-схемы на фиг. 1 и фиг. 2 показывают воплощения способа, являющегося объектом настоящего изобретения, в соответствии с первым воплощением (P1), в котором природный гриб или грибы, определенные на стадии (i), подвергают экстракции на стадии (iii) или стадии (iii.a) и (iii.b) с получением водного экстракта.

Блок-схемы на фиг. 3 и фиг. 4 показывают воплощения способа, являющегося объектом настоящего изобретения, согласно первому воплощению (P1) (способ, выполняемый согласно методикам и устройствам, известным специалистам в данной области техники), в котором природный гриб или грибы, определенные на стадии (i), дробят или измельчают на стадии (ii). Затем природный гриб или грибы, дробленые или измельченные на стадии (ii), подвергают экстракции на стадии (iii) или стадиях (iii.a) и (iii.b) с получением водного экстракта.

В случае, когда растительный исходный материал дробят или измельчают (в соответствии с методикой и устройством, известными специалистам в данной области техники) на стадии (ii), среднее распределение по размеру частиц указанного исходного растительного материала предпочтительно составляет от 500 до 2500 мкм, более предпочтительно от 800 до 1800 мкм, еще более предпочтительно от 900 до 1200 мкм.

Согласно одному воплощению растительный исходный материал, поставляемый на стадию (iii) (со стадии (i) или (ii)), представляет собой растительный материал, дробленный на кусочки или хлопья, или измельченный в гранулы или крупинки.

Растительный исходный материал, поставляемый на стадию (iii) (со стадии (i) или (ii)), предпочтительно является сухим или сушеным, т.е. представляет собой растительный исходный материал, содержащий массовое количество воды от примерно 2% до 20%, предпочтительно от 5% до 15%, еще более предпочтительно от 8% до 10% по отношению к общей массе растительного исходного материала.

На стадии (iii) экстрагирующий растворитель выбирают из водного растворителя и воды.

Водный растворитель (или водный раствор) предпочтительно представляет собой водно-спиртовую смесь, в которой спирт (например, этанол) присутствует в массовом процентном содержании от 0,1% до 50%, более предпочтительно от 0,5% до 25%, еще более предпочтительно от 1% до 15% по отношению к общей массе экстрагирующего растворителя, например, в массовых процентах 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5%, 5%

7,5%, 10%, 20%.

Вода предпочтительно представляет собой дистиллированную или дважды дистиллированную воду.

На стадии (iii) растительный исходный материал загружают непрерывно или порциями в контейнер или устройство для экстракции, например, снабженные механическими средствами перемешивания, средствами нагрева, средствами фильтрации, а также средствами регулирования температуры и давления.

На стадии (iii) растительный исходный материал затем экстрагируют в указанном контейнере или устройстве для экстракции с помощью экстрагирующего растворителя, так что гиалуроновая кислота или ее соль переходит в раствор в жидкой фазе внутри водного экстракта, а хондроитин остается в твердом остатке.

Экстракцию на стадии (iii) проводят с использованием отношения [масса растительного исходного материала]: [объем экстрагирующего растворителя] от 1:1: до 1:90, предпочтительно от 1:10 до 1:90, более предпочтительно от 1:20 до 1:75, еще более предпочтительно от 1:40 до 1:60, например 1:3, 1:5, 1:15, 1:25, 1:45, 1:50 или 1:55. Экстракцию на стадии (iii) проводят в течение периода времени, составляющего от 1 минуты до 12 часов, предпочтительно от 10 минут до 9 часов, еще более предпочтительно от 15 минут до 4 часов, например, примерно в течение 30 минут, 45 минут, 60 минут, 90 минут, 120 минут, 150 минут или 180 минут.

Стадию (iii) предпочтительно проводят при атмосферном давлении ($P = 0,1$ МПа (1 атм.) при 20-25°C) и при температуре экстрагирующего растворителя от 10°C до 90°C, предпочтительно от 20°C до 60°C, еще более предпочтительно от 35°C до 55°C, например, примерно 25°C, 30°C, 40°C, 44°C, 48°C или 50°C.

Предпочтительно значение pH экстрагирующего растворителя на стадии (iii) составляет от 3 до 10, предпочтительно от 3,5 до 9, более предпочтительно от 4 до 8, еще более предпочтительно от 5 до 7, например, при значении pH примерно 4,5; 5,5; 6; 6,5; 7,5; 8,5 или 9,5.

При экстракции на стадии (iii) предпочтительно используют протеолитический фермент для разложения поверхностных пектинов материала растительного происхождения и, таким образом, увеличения выхода способа. Предпочтительно протеолитический фермент содержит или, альтернативно, состоит из бромелайна или экстракта бромелайна.

Бромелайн представляет собой ферментный экстракт плодов и/или стеблей ананаса, содержащий протеолитические ферменты и другие вещества в меньших количествах.

Для увеличения выхода экстракции стадию (iii) предпочтительно проводят в две стадии, как описано ниже:

(iii.a) первая экстракция из растительного исходного материала первым объемом экстрагирующего растворителя при температуре от 10°C до 90°C, предпочтительно от 20°C до 60°C, еще более предпочтительно от 35°C до 55°C, в течение периода времени, составляющего от 1 минуты или 30 минут до 12 часов, предпочтительно от 10 минут до 9 часов, еще более предпочтительно от 15 минут до 4 часов, с получением первого водного экстракта, и

(iii.b) вторая экстракция из растительного исходного материала (или из твердого остатка указанной первой стадии (iii.a) экстракции) вторым объемом экстрагирующего растворителя при температуре от 80°C до 120°C, предпочтительно от 90°C до 110°C, предпочтительно от 95°C до 105°C, еще более предпочтительно от 98°C до 102°C, предпочтительно под давлением или при пониженном давлении, в течение периода времени, составляющего от 10 минут до 6 часов или от 30 минут до 8 часов, предпочтительно от 20 минут до 4 часов, еще более предпочтительно от 40 минут до 2 часов, например, в течение периода времени примерно 30 минут, 60 минут или 90 минут, с получением второго водного экстракта. Предпочтительно при первой экстракции (iii.a) используют первый объем экстрагирующего растворителя, который в 25-75 раз превышает массу растительного исходного материала, предпочтительно в 35-65 раз, еще более предпочтительно в 45-55 раз, например, примерно в 30 или 50 раз.

Предпочтительно при второй экстракции (iii.b) используют второй объем экстрагирующего растворителя, который в 10-150 раз, предпочтительно в 75-125 раз превышает массу растительного исходного материала, более предпочтительно в 85-115 раз, еще более предпочтительно в 95-105 раз, например, примерно в 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 раз.

В соответствии с указанным первым воплощением способа получения ГК и/или ХС (P1), первый водный экстракт, полученный на стадии (iii.a), и второй водный экстракт, полученный на стадии (iii.b), затем объединяют, и туда добавляют растворитель согласно стадии (iv).

На стадии (iv) растворитель, предпочтительно этанол, добавляют в водный экстракт, полученный на стадии (iii), или в первый водный экстракт, полученный на стадии (iii.a), и во второй водный экстракт, полученный на стадии (iii.b), с получением жидкого продукта.

На стадии (v) жидкий продукт, полученный на стадии (iv), и растительный исходный материал, присутствующий (например, в виде надосадочной жидкости или в виде осадка) в

таком продукте, центрифугируют, и/или их пропускают через средства фильтрации (первая фильтрация), которые удерживают твердую часть (твердый остаток) и пропускают жидкую фазу.

На стадии (vi) после стадии (v) жидкую фазу, полученную центрифугированием и/или фильтрацией, обрабатывают посредством стадии (vi.a) и/или твердый остаток обрабатывают посредством стадий (vi.b), (vi.c), (vi.d) и (vi.e).

На предпочтительной стадии (vi.a) жидкую фазу, полученную на стадии (v), сушат, необязательно концентрируют и сушат, с получением гиалуроновой кислоты или ее соли, имеющей среднемассовую молекулярную массу от 10 кДа до 600 кДа.

Жидкая фаза, подлежащая сушке, предпочтительно подлежащая концентрированию и сушке на стадии (vi.a), предпочтительно должна быть свободна от осадков, когда ей дают охладиться до 20-25°C. Следовательно, в присутствии осадков жидкую фазу, полученную на стадии (v), дополнительно центрифугируют и/или фильтруют перед стадией (vi.a).

Концентрирование центрифугированной и/или отфильтрованной жидкой фазы предпочтительно проводят при температуре от 60°C до 90°C, более предпочтительно от 65°C до 85°C, еще более предпочтительно от 70 до 80°C, например, при 70°C, 75°C или 80°C. Помимо температуры, продолжительность стадии концентрирования также зависит от желаемого количества веществ, растворенных в жидкой фазе.

Концентрирование центрифугированной и/или отфильтрованной жидкой фазы предпочтительно обеспечивает увеличение количества растворенных веществ (включая ГК) в жидкой фазе до от 1 г до 35 г на 100 мл жидкой фазы, предпочтительно от 5 г до 25 г, еще более предпочтительно от 8 г до 18 г.

Предпочтительно жидкая фаза, полученная на стадии (vi.a) концентрирования, имеет отношение относительной плотности (определяемое как [плотность центрифугированной и/или отфильтрованной жидкой фазы]:[плотность жидкой фазы в конце концентрирования]) от 1,01 до 1,20, предпочтительно от 1,02 до 1,15, еще более предпочтительно от 1,05 до 1,08.

Предпочтительно концентрирование жидкой фазы проводят при пониженном давлении (ниже 0,1 МПа (1 атм.) при 25°C), более предпочтительно при давлении от -1,5 мПа до -0,1 мПа, еще более предпочтительно от -1,0 мПа до -0,5 мПа, например, до -0,8 мПа.

Предпочтительно ГК, полученная на стадии (vi.a), имеет чистоту (мас. % по отношению к общей массе ГК) от 90% до 100%, предпочтительно от 95% до 99,5%, еще более предпочтительно от 97% до 99% (% определяют, например, с помощью ВЭЖХ).

На предпочтительных стадиях (vi.b), (vi.c), (vi.d) и (vi.e) твердый остаток, полученный в результате центрифугирования и/или фильтрации на стадии (v), обрабатывают с получением хондроитинсульфата или его соли, имеющих среднемассовую молекулярную массу от 1 кДа до 50 кДа.

На предпочтительной стадии (vi.b) твердый остаток, полученный центрифугированием и/или фильтрацией на стадии (v), выделяют и очищают с получением хондроитина или его соли (ХС), имеющих среднемассовую молекулярную массу от 1 кДа до 50 кДа.

На предпочтительной стадии (vi.c) (стадия сульфирования (или сульфатирования)), предполагаемой как реакционная стадия, обеспечивающая возможность введения сульфатной группы в димер хондроитина) после стадии (vi.b), твердый остаток обрабатывают источником серной кислоты (предпочтительно выбранным из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из серной кислоты, комплекса триоксида серы с пиридином, комплекса триоксида серы с диметилформамидом и их смесей) с получением подкисленного продукта (при этом указанную стадию сульфирования осуществляют согласно методике и устройству, известным специалисту в данной области техники).

Количество источника серной кислоты, используемого на стадии (vi.c), является таким, чтобы получить массовое процентное содержание хондроитин-6-сульфата, составляющее от 51% до 99%, или примерно $95 \pm 0,5\%$ (предпочтительно от 78% до 85%, или 86%) по отношению к общему содержанию дисахаридов ХС в твердом остатке на стадии (vi.b).

Предпочтительно на стадии (vi.c) используют от 1 мл до 50 мл комплекса триоксида серы с диметилформамидом (SO_3DMF), предпочтительно от 2 мл до 40 мл, еще более предпочтительно от 4 мл до 30 мл, на каждые 100 г хондроитина или его соли (ХС), полученных на стадии (vi.b), например, 5 мл, 10 мл, 15 мл, 18 мл, 22 мл или 25 мл комплекса триоксида серы с диметилформамидом на каждые 100 г хондроитина или его соли (ХС), полученных на стадии (vi.b). Более предпочтительно, комплекс триоксида серы с диметилформамидом добавляют к хондроитину или его соли (ХС), полученным на стадии (vi.b), в несколько стадий, например, путем добавления от 2 мл до 8 мл, затем добавления от 8 мл до 12 мл, и наконец, добавления еще от 8 до 12 мл комплекса триоксида серы с диметилформамидом.

Обработку стадии (vi.c) проводят в течение периода времени от 1 минуты до 4 часов, предпочтительно от 10 минут до 2 часов, еще более предпочтительно от 20 минут до 1 часа, при температуре от 20°C до 80°C , предпочтительно от 30°C до 70°C , еще более

предпочтительно от 40°C до 60°C. На стадии (vi.d) продукт, полученный на стадии (vi.c), нейтрализуют основным агентом.

Следовательно, на стадии (vi.d) источник серной кислоты, все еще свободной в подкисленном продукте на стадии (vi.c) (т.е. источник серной кислоты, не связанной с хондроитином в виде хондроитинсульфата в подкисленном продукте), удаляют нейтрализацией основным агентом с получением нейтрализованного продукта.

В настоящем описании выражение «нейтрализованный» или «нейтрализация» используют для обозначения значения pH от 6 до 8, предпочтительно от 6,4 до 7,6, еще более предпочтительно от 6,6 до 7,4, например, значения pH $7,0 \pm 0,2$.

Основной агент, используемый на стадии (vi.d), предпочтительно является неорганическим основным агентом.

Основной агент предпочтительно выбирают из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из аммиака, гидроксида натрия, гидроксида калия и их смесей.

Предпочтительно гидроксид натрия, используемый на стадии (vi.d), находится в концентрации 1 М, 2 М или 4 М.

На предпочтительной стадии (vi.e) после стадии (vi.d) нейтрализованный продукт, полученный на стадии (vi.d), концентрируют и сушат с получением хондроитинсульфата, имеющего среднemasсовую молекулярную массу от 1 кДа до 50 кДа.

Концентрирование на стадии (vi.e) обеспечивает отношение относительной плотности (определяемое как [плотность нейтрализованного продукта, полученного на стадии (vi.d)]:[плотность концентрированного продукта, полученного на стадии (vi.e)]) от 1,0 до 1,30, предпочтительно от 1,01 до 1,20, еще более предпочтительно от 1,05 до 1,15.

Предпочтительно концентрирование на стадии (vi.e) проводят с помощью диализа и/или концентрирования в вакууме.

Более предпочтительно диализ проводят с помощью диализного мешка, чтобы удалить небольшие примеси, которые могут присутствовать.

Стадию концентрирования (vi.e) предпочтительно заканчивают, когда содержание твердого вещества в концентрированном продукте, полученном на стадии (vi.e), составляет от 10 г до 60 г на 100 мл, предпочтительно от 20 г до 50 г на 100 мл, еще более предпочтительно от 35 г до 45 г на 100 мл, например, 40 г/100 мл.

Сушку на стадии (vi.e) проводят после концентрирования на стадии (vi.e) предпочтительно с помощью вакуумной печи.

Объектом настоящего изобретения является применение растительного исходного материала, предпочтительно гриба, более предпочтительно из подцарства Дикария

(*Dikarya*), еще более предпочтительно из отдела Базидиомикота (*Basidiomycota*), еще более предпочтительно из вида Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*), для получения гиалуроновой кислоты или ее соли (ГК), соли гиалуронат-аниона и/или хондроитина или его соли, такой как хондроитинсульфат или его соль (ХС).

Воплощения смеси, применения указанной смеси, композиции, содержащей указанную смесь в качестве добавки, или эксципиента, или ингредиента (или неактивного ингредиента), применения композиции в качестве лекарственного средства, применения композиции при лечении конкретных расстройств или заболеваний или патологий, способа получения указанной смеси или указанной композиции, содержащей указанную смесь, применения указанной композиции в качестве добавки, или эксципиента, или ингредиента, и указанного выше растительного исходного материала могут быть подвергнуты специалистом в данной области заменам или модификациям в отношении описанных характеристик в соответствии с дополнительными обстоятельствами. Эти воплощения также следует рассматривать как включенные в объем защиты, определенный в нижеследующей формуле изобретения.

Кроме того, следует отметить, что любое воплощение может быть реализовано независимо от других описанных воплощений.

Воплощения настоящего изобретения (FRn) описаны ниже.

FR1. Смесь (М), содержащая или, альтернативно, состоящая из гликозаминогликана, полученного из растительного исходного материала; указанный гликозаминогликан выбран из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из:

(а) гиалуроновой кислоты или ее соли, гиалуронат-аниона (ГК), имеющих среднемассовую молекулярную массу от 10 кДа до 600 кДа;

(b) хондроитина или его соли (ХС), такой как хондроитинсульфат, имеющих среднемассовую молекулярную массу от 1 кДа до 50 кДа;

(с) сочетания (а) и (b).

FR2. Смесь (М) согласно предшествующему FR, в которой:

(а) гиалуроновая кислота или ее соль (ГК) имеет среднемассовую молекулярную массу от 100 кДа до 500 кДа, предпочтительно от 200 кДа до 400 кДа, и/или

(b) хондроитин или его соль (ХС) имеет среднемассовую молекулярную массу от 1 кДа до 50 кДа, предпочтительно от 3 кДа до 40 кДа, еще более предпочтительно от 5 кДа до 25 кДа.

FR3. Смесь (М) согласно любому из предшествующих FR, где указанный материал

растительного исходного материала представляет собой гриб, предпочтительно из подцарства Дикария (*Dikarya*), еще более предпочтительно из отдела Базидиомикота (*Basidiomycota*).

FR4. Смесь (M) согласно предшествующему FR, где гриб принадлежит к виду Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*).

FR5. Применение смеси (M) в соответствии с любым из предшествующих FR в качестве добавки, эксципиента или ингредиента при приготовлении фармацевтических продуктов, медицинских устройств, нутрицевтиков, пищевых продуктов для специальных медицинских целей (SFMP), диетических добавок или пищевых продуктов.

FR6. Композиция, содержащая: (i) смесь согласно любому из FR 1-4, и (ii) технологические добавки или вспомогательные вещества фармацевтического или пищевого качества.

FR7. Композиция согласно предшествующему FR для применения в качестве лекарственного средства.

FR8. Композиция согласно FR6 для применения в профилактическом или радикальном лечении людей или животных, страдающих конкретными нарушениями или заболеваниями, выбранными из артрита, остеоартрита, артроза, боли в суставах, воспалений конечностей и суставов или гастроэзофагеального рефлюкса и/или для применения в качестве добавки, эксципиента или ингредиента при приготовлении фармацевтических продуктов, продуктов для медицинских устройств, нутрицевтиков, продуктов питания специального медицинского назначения (FSMP), пищевых продуктов или пищевых добавок.

FR9. Способ получения гиалуроновой кислоты или гиалуроната (ГК), и/или хондроитинсульфата или хондроитина (ХС), включающий по меньшей мере одну стадию экстракции гиалуроновой кислоты или гиалуроната, и/или хондроитинсульфата или хондроитина из исходного материала растительного происхождения.

FR10. Способ согласно предшествующему FR, включающий следующие стадии:

- (i) определение одного или более природных грибов в качестве растительного исходного материала для гликозаминогликана;
- (ii) необязательно дробление или измельчение растительного исходного материала;
- (iii) экстракцию указанного гликозаминогликана из растительного исходного материала, полученного на стадии (i) или на стадии (ii), экстрагирующим растворителем, предпочтительно водным растворителем, еще более предпочтительно водой, с получением водного экстракта указанного гликозаминогликана;

(iv) добавление растворителя, предпочтительно этанола, в водный экстракт, полученный на стадии (iii), с получением жидкого продукта;

(v) центрифугирование и/или фильтрацию жидкого продукта, полученного на стадии (iv), с получением жидкой фазы и твердого остатка;

(vi) обработку жидкой фазы, полученной в результате центрифугирования и/или фильтрации на стадии (v), посредством следующей стадии (vi.a) и/или обработку твердого остатка, полученного в результате центрифугирования и/или фильтрации на стадии (v), посредством следующих стадий (vi.b), (vi.c), (vi.d) и (vi.e):

(vi.a) сушка, предпочтительно концентрирование и сушка, жидкой фазы, полученной на стадии (v), с получением гиалуроновой кислоты или ее соли, имеющих среднюю молекулярную массу от 10 кДа до 600 кДа, и/или

(vi.b) выделение и очистка твердого остатка, полученного на стадии (v), с получением хондроитина или его соли (ХС), имеющих среднюю молекулярную массу от 1 кДа до 50 кДа;

(vi.c) обработка хондроитина или его соли (ХС), полученных на стадии (vi.b), источником серной кислоты, предпочтительно выбранным из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из серной кислоты, комплекса триоксида серы с пиридином, комплекса триоксида серы с диметилформамидом и их смесей, с получением подкисленного продукта;

(vi.d) нейтрализация подкисленного продукта, полученного на стадии (vi.c), с использованием основного агента с получением нейтрализованного продукта;

(vi.e) концентрирование и сушка нейтрализованного продукта, полученного на стадии (vi.d), с получением хондроитинсульфата, имеющего среднюю молекулярную массу от 1 кДа до 50 кДа.

FR11. Применение растительного исходного материала, предпочтительно гриба, более предпочтительно из подцарства Дикария (*Dikarya*), еще более предпочтительно из отдела Базидиомикота (*Basidiomycota*), еще более предпочтительно из вида Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*), для получения гиалуроновой кислоты или ее соли, соли гиалуронат-аниона и/или хондроитина или его соли, такой как хондроитинсульфат.

Второе воплощение способа по настоящему изобретению (сокращенно P2) относится к способу получения гиалуроновой кислоты или ее соли (ГК), включающему или, альтернативно, состоящему из следующих стадий:

(i) определение одного или более природных грибов в качестве растительного исходного материала для гиалуроновой кислоты; например, одного или более природных

грибов в сухой или сушеной форме, предпочтительно содержащих или, альтернативно, состоящих из по меньшей мере одного гриба, принадлежащего подцарству Дикария (*Dikarya*), предпочтительно отделу Базидиомикота (*Basidiomycota*), более предпочтительно виду Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*);

(ii) необязательно проведение дробления или измельчения растительного исходного материала (среднее распределение по размеру частиц предпочтительно составляет от 500 мкм до 1800 мкм, предпочтительно от 700 мкм до 1000 мкм, например, примерно 20 меш = 841 мкм);

(pre-iii) проведение ферментативного гидролиза растительного исходного материала, полученного на стадии (i) или стадии (ii), в водном растворителе для гидролиза, предпочтительно в воде, при температуре от 10°C до 90°C, где фермент, предпочтительно протеолитический фермент, добавляют к растительному исходному материалу, диспергированному в объеме растворителя для гидролиза, с получением смеси со стадии (pre-iii);

(iii) экстракцию указанной смеси со стадии (pre-iii) водным экстрагирующим растворителем, предпочтительно водой, при температуре от 91°C до 110°C, предпочтительно от 95°C до 110°C, еще более предпочтительно от 98°C до 105°C (например, при примерно 100°C или при температуре кипения экстрагирующего растворителя) с получением водного экстракта;

(iv) добавление растворителя для осаждения (осаждение путем добавления растворителя), предпочтительно спиртового растворителя, более предпочтительно этанола, в водный экстракт, полученный на стадии (iii), с получением жидкого продукта со стадии (iv); предпочтительно осаждение этанолом путем медленного добавления 95% этанола в указанный водный экстракт, полученный на стадии (iii), при отношении объем/объем от 2 до 4, предпочтительно 3, и поддержании при перемешивании в течение периода времени, составляющего от 8 часов до 16 часов, например около 12 часов;

(vii) обработку указанного жидкого продукта стадии (iv) путем применения стадии (vii.a) и возможно стадии (vii. b):

(vii.a) удаление указанного растворителя для осаждения (например, отгонкой или нагреванием до значения давления ниже комнатной температуры), предпочтительно этанола, с получением жидкого продукта стадии (vii.a);

(vii.b) добавление воды в указанный жидкий продукт со стадии (vii.a) (например, для растворения твердых продуктов) с получением жидкого продукта стадии (vii.b);

(viii) сушка указанного жидкого продукта со стадии (vii.b), предпочтительно

концентрирование и/или сушка (например, удаление воды и возможного остаточного растворителя для осаждения (например, этанола) путем концентрирования и/или сушки и/или сублимационной сушки, предпочтительно сублимационной сушки) с получением продукта PR1, содержащего или, альтернативно, состоящего из гиалуроновой кислоты или ее соли, имеющих среднюю молекулярную массу от 10 кДа до 600 кДа, предпочтительно от 50 кДа до 350 кДа, более предпочтительно от 100 кДа до 300 кДа, и чистоту от 85% до примерно 100% по отношению к общей массе указанного продукта PR1, предпочтительно от 95% до 99,5%, еще более предпочтительно от 97% до 99% (% определяют, например, с помощью ВЭЖХ).

Третье воплощение способа по настоящему изобретению (сокращенно, P3) относится к способу получения хондроитинсульфата, предпочтительно хондроитин-6-сульфата, который включает или, альтернативно, состоит из следующих стадий:

(i) определение одного или более природных грибов в качестве растительного исходного материала для гиалуроновой кислоты; например, один или более природных грибов в сухой или сушеной форме, предпочтительно содержащие или, альтернативно, состоящие из по меньшей мере одного гриба, принадлежащего подцарству Дикария (*Dikarya*), предпочтительно отделу Базидиомикота (*Basidiomycota*), более предпочтительно виду Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*);

(ii) необязательно проведение дробления или измельчения растительного исходного материала (среднее распределение по размеру частиц предпочтительно составляет от 500 мкм до 1800 мкм, предпочтительно от 700 мкм до 1000 мкм, например, примерно 20 меш = 841 мкм);

(pre-iii) проведение ферментативного гидролиза растительного исходного материала, полученного на стадии (i) или стадии (ii), в водном растворителе для гидролиза, предпочтительно в воде, при температуре от 10°C до 90°C, где фермент, предпочтительно протеолитический фермент, добавляют к растительному исходному материалу, диспергированному в объеме растворителя для гидролиза, с получением смеси со стадии (pre-iii);

(iii) экстракцию указанной смеси со стадии (pre-iii) водным экстрагирующим растворителем, предпочтительно водой, при температуре от 91°C до 110°C, предпочтительно от 95°C до 110°C, еще более предпочтительно от 98°C до 105°C (например, при примерно 100°C или при температуре кипения экстрагирующего растворителя) с получением водного экстракта;

(vi.c.) обработку источником серной кислоты (стадия сульфирования) указанного

водного экстракта с получением жидкого продукта со стадии (vi.c), где указанный источник серной кислоты предпочтительно выбран из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из серной кислоты, комплекса триоксида серы с пиридином, комплекса триоксида серы с диметилформамидом и их смесей; более предпочтительно комплекса триоксида серы с диметилформамидом (SO₃-DMS);

(vi.d) нейтрализацию указанного жидкого продукта со стадии (vi.c) путем добавления основания с получением нейтрализованного продукта, где указанное основание предпочтительно представляет собой неорганическое основание, более предпочтительно NaOH, или KOH, или Ca(OH)₂ или Mg(OH)₂, до нейтрального pH;

(vi.e) концентрирование и сушку указанного нейтрализованного продукта, полученного на стадии (vi.d), с получением продукта PR₂, содержащего или, альтернативно, состоящего из хондроитинсульфата или его соли (сокращенно ХС), имеющих среднюю молекулярную массу от 1 кДа до 45 кДа или 50 кДа (или от более 5 кДа до менее 50 кДа), предпочтительно от 3 кДа до 40 кДа, еще более предпочтительно от 5 кДа или более 5 кДа до 25 кДа или от 5 кДа или более 5 до 10 кДа, например, примерно 5 кДа, или 6 кДа, или 7 кДа, или 8 кДа, или 9 кДа, или 10 кДа.

Термин «хондроитинсульфат или его соль (сокращенно ХС)», полученные в указанном третьем воплощении способа по настоящему изобретению (P3), используют для обозначения сочетания несulfатированного хондроитина и моно-, ди- и/или трисульфатированного хондроитина в различных возможных положениях, предпочтительно преимущественно хондроитин-6-сульфата.

Альтернативно, термин «хондроитинсульфат или его соль (сокращенно ХС)», полученные в указанном третьем воплощении способа по настоящему изобретению (P3), используют для обозначения группы моно-, ди- и/или трисульфатированного хондроитина в различных возможных положениях, предпочтительно преимущественно хондроитин-6-сульфата.

Предпочтительно указанный хондроитинсульфат (ХС), полученный в указанном третьем воплощении способа по настоящему изобретению (P3), имеет среднюю молекулярную массу в описанных диапазонах (предпочтительно от 5 кДа или более 5 кДа до 10 кДа, например, примерно 6 кДа, или 7 кДа, или 8 кДа, или 9 кДа), содержит хондроитин-6-сульфат в массовом процентном содержании от 51% до примерно 95±0,5%, предпочтительно от 75% до 90%, еще более предпочтительно от 78% до 86% по отношению к общей массе указанного хондроитинсульфата (ХС) (или по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате), и он имеет чистоту от 80%

до 99,99% (например, 94,5%, 94,6%, 94,7%, 94,8% или 94,9%) по отношению к общей массе продукта PR2, полученного на стадии (vi.e), предпочтительно от 85% до 98% (например, 86%, 87%, 88%, 89% или 89,5%), еще более предпочтительно от 90% до 94,9%, например 91%, 92%, 93%, 94% или 94,5% (% определяют, например, с помощью ВЭЖХ).

Еще более предпочтительно указанный хондроитинсульфат (ХС), полученный в указанном третьем воплощении способа по настоящему изобретению (P3), имеет среднемассовую молекулярную массу в описанных диапазонах (предпочтительно от 5 кДа или более 5 кДа до 10 кДа, например, примерно 6 кДа, или 7 кДа, или 8 кДа, или 9 кДа), содержит хондроитин-6-сульфат в массовом процентном содержании от 51% до примерно 95±0,5% (предпочтительно от 75% до 90%, более предпочтительно от 78% до 86%), и хондроитин-4-сульфат в массовом процентном содержании от 0,01% до примерно 5% (предпочтительно от 0,05% до 3%, более предпочтительно от 0,1% до 1,5%) по отношению к общей массе указанного хондроитинсульфата (ХС) (или по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате), и он имеет чистоту от 80% до 99,99% по отношению к общей массе продукта PR2, полученного на стадии (vi.e), предпочтительно от 85% до 98% (например, 86%, 87%, 88% или 89%), более предпочтительно от 90% до 95%, например 91%, 92%, 93%, 94% или 94,5% (% определяют, например, с помощью ВЭЖХ).

Среднемассовая молекулярная масса ГК и/или ХС может быть рассчитана в соответствии со способами и инструментами, общеизвестными специалистам в данной области, например, посредством высокоэффективной эксклюзионной хроматографии (ВЭЭХ); предпочтительно, среднемассовую молекулярную массу ГК и/или ХС можно определить с помощью ВЭЭХ с интегрированным специализированным программным обеспечением для гель-проникающей хроматографии (ГПХ).

На стадии (pre-iii) ферментативного гидролиза, присутствующей во втором и третьем воплощениях способа по настоящему изобретению (P2 и P3), фермент (например, пектиназа, и/или целлюлаза, и/или протеиназа) добавляют к растительному исходному материалу, как описано в настоящем изобретении, в объеме растворителя для гидролиза (например, водный растворитель или вода, в количестве в 25-100 раз превышающем массу растительного исходного материала, предпочтительно в 35-75 раз, более предпочтительно в 45-55 раз (например, в 50 раз) и нагревают до температуры от 10°C до 90°C, предпочтительно от 20°C до 65°C, более предпочтительно от 45°C до 55°C (например, примерно 50°C) в течение периода времени, составляющего от 0,5 часа до 12 часов, предпочтительно от 1 часа до 8 часов, еще более предпочтительно от 2 часов до 6 часов

(например, примерно 4 часов), для получения указанной смеси со стадии (pre-iii), подвергаемой стадии (iii) экстракции или первой стадии (iii.a) экстракции (как описано ниже в данном документе).

Кроме того, указанную стадию (pre-iii) ферментативного гидролиза преимущественно проводят при значении pH раствора ферментативного гидролиза, составляющем от 2 до 9, предпочтительно от 3 до 5 или от 5 до 8, более предпочтительно от 3 до 4 (например, 3,5) или от 6 до 7; и/или на указанной стадии (pre-iii) ферментативного гидролиза количество фермента (водный раствор фермента в концентрации 1-20%, или 2-10%, или 3-6% масс./масс. или масс./об.) используют в объемном процентном содержании от 0,001% до 1%, предпочтительно от 0,005% до 0,1%, более предпочтительно от 0,008% до 0,05% (например, 0,01), по отношению к массе растительного исходного материала, подлежащего экстракции (об./масс.) или, альтернативно, по отношению к объему экстрагируемого раствора растительного исходного материала в растворителе для гидролиза (об./об.).

Согласно предпочтительному примеру стадию (pre-iii) ферментативного гидролиза проводят при следующих условиях (приблизительно): объем 0,01%; температура 50°C; фактический pH 3,5; продолжительность 4 часа.

Указанный фермент, используемый на стадии (pre-iii) второго и/или третьего воплощения (P2 и/или P3), может представлять собой пектиназу, и/или целлюлазу, и/или протеиназу.

Примеры ферментов, используемых в способе по настоящему изобретению:

- коммерческий продукт Pectinex® Ultra Tropical, состав: фермент: пектинлиаза или пектиназа; консерванты: сорбат калия; стабилизаторы: сахароза, глицерин, сорбитол, хлорид натрия, хлорид калия; активность соединения: пектинлиаза или пектиназа (PECTU)=5000 PECTU/г; приблизительная плотность 1,18 (г/мл); пектинлиаза представляет собой фермент, который катализирует отщепление метилового эфира (1,4)-альфа-D-галактуроната, что дает олигосахариды с 4-дезоксигалактозными группами на их невосстанавливаемых концах; другие активные вещества: целлюлаза, полигалактуроназа, бета-глюканаза (эндо-1,3 (4) -);

- коммерческий продукт Pectinex® Ultra SP-L, состав, масс. %: 45% глицерина (CAS No 56-81-5), 45% воды (CAS No 7732-18-5), 5% полигалактуроназы (CAS No 9032-75-1; определяют как концентрацию фермента (в пересчете на сухую массу)), 5% хлорида калия (CAS No 7447-40-7); активность соединения: полигалактуроназа (PGNU) = 3300 PGNU/г; приблизительная плотность 1,17 (г/мл); полигалактуроназа представляет

собой фермент, который гидролизует (1,4) -альфа-D-галактозидуроновые связи в пектате и других галактуронанах;

- коммерческий продукт Viscozyme ®, состав, масс. %: 56,8% воды (CAS No 7732-18-5), 9% бета-глюканаза (эндо-1,3(4)-) (CAS No 62213-14-3; определяют как концентрацию фермента (на основе сухой массы)), 24% сахарозы (CAS No 57-50-1), 10% хлорида натрия (CAS No 7647-14-5), 0,20% сорбата калия (CAS No 24634-61-5); активность соединения: бета-глюканаза (эндо-1,3(4)-) (FGB) = 100 FBG/г; приблизительная плотность 1,21 (г/мл); эндо-бета-глюканаза представляет собой фермент, который гидролизует (1,3)- или (1,4)-связи в бета-D-глюканах, другие активные вещества: ксиланаза, целлюлаза, гемицеллюлаза.

Во втором и третьем воплощениях способа по настоящему изобретению (P2 и/или P3) стадия (iii) экстракции предпочтительно включает или, альтернативно, состоит из первой стадии (iii.a) экстракции, содержащей или, альтернативно, состоящей из экстракции первым объемом экстрагирующего растворителя при температуре от 91°C до 110°C (например, примерно 100°C) или температуре кипения экстрагирующего растворителя в течение периода времени от 0,5 часов до 12 часов, предпочтительно от 1 часа до 9 часов, более предпочтительно от 1 часа до 4 часов (например, примерно 2 часа или 3 часа) с получением первого водного экстракта; за которой следует вторая стадия (iii.b) экстракции, содержащая или, альтернативно, состоящая из экстракции вторым объемом экстрагирующего растворителя при температуре от 90°C до 110°C (например, примерно 100°C) или при температуре кипения экстрагирующего растворителя в течение периода времени, составляющего от 0,5 часа до 8 часов, предпочтительно от 0,5 часа до 4 часов, более предпочтительно от 1 часа до 3 часов (например, 1,5 часа, или 2 часа, или 2,5 часа), с получением второго водного экстракта; указанный первый экстракт и указанный второй экстракт объединяют с получением конечного водного экстракта; и за этим необязательно следует стадия (iii.c) концентрирования указанного конечного водного экстракта с получением концентрированного водного экстракта.

Во втором и третьем воплощениях способа по настоящему изобретению (P2 и P3), предпочтительно, при первой экстракции (iii.a) используют первый объем экстрагирующего растворителя, который в 25-100 раз превышает массу растительного исходного материала, предпочтительно в 35-65 раз, еще более предпочтительно в 45-55 раз, например, в 50 раз. Например, указанный первый объем экстракции, который в 25-100 раз превышает массу растительного исходного материала, добавляют в объем растворителя для ферментативного гидролиза, при этом общий объем растворителя в 50-200 раз превышает массу растительного материала (например, примерно в 100 раз).

Во втором и третьем воплощениях способа по настоящему изобретению (P2 и P3), предпочтительно, при второй экстракции (iii.b) используют второй объем экстрагирующего растворителя, который в 25-75 раз превышает массу растительного исходного материала, предпочтительно в 35-65 раз, более предпочтительно в 45-55 раз (например, примерно в 50 раз).

Во втором и третьем воплощениях способа по настоящему изобретению (P2 и P3) после первой стадии (iii.a) экстракции проводят фильтрацию на стадии (iii.a): фильтрат соответствует первому водному экстракту, полученному на стадии (iii.a), а остаток подвергают второй стадии (iii.b) экстракции. После второй стадии (iii.b) экстракции проводят стадию (iii.b) фильтрации, и фильтрат соответствует второму водному экстракту, полученному на стадии (iii.b). Например, указанные фильтрации на стадиях (iii.a) и (iii.b) (или фильтрации на стадии (iii) экстракции) проводят с фильтрами от 140 до 270 меш, предпочтительно 200 меш. Возможно в указанных втором и третьем воплощениях (P2 и P3) первый водный экстракт, полученный на стадии (iii.a), и второй водный экстракт, полученный на стадии (iii.b), объединяют и подвергают стадии (iii.c) концентрирования в вакууме, например, при температуре от 60°C до 90°C, предпочтительно от 70°C до 80°C, более предпочтительно при примерно 75°C, до относительной плотности, составляющей от примерно 0,8 до 1,5, предпочтительно от 1,00 до 1,20 (например, примерно 1,05-1,08).

В третьем воплощении способа по настоящему изобретению (P3), предпочтительно на стадии (vi.c) (стадия сульфирования), используют от 1 мл до 50 мл комплекса триоксида серы с диметилформамидом (SO_3DMF). предпочтительно от 2 мл до 40 мл, еще более предпочтительно от 4 мл до 30 мл, на каждые 100 г хондроитина или его соли (XC), полученных на стадии (vi.b), например, примерно 5 мл, 10 мл, 15 мл, 18 мл, 22 мл или 25 мл комплекса триоксида серы с диметилформамидом на каждые 100 г хондроитина или его соли (XC), полученных на стадии (vi.b). Более предпочтительно, комплекс триоксида серы с диметилформамидом добавляют к хондроитину или его соли (XC), полученным на стадии (vi.b), в несколько стадий, например, путем добавления от 2 мл до 8 мл, затем добавления от 8 мл до 12 мл, и наконец, добавления еще от 8 мл до 12 мл комплекса триоксида серы с диметилформамидом. Обработку на стадии (vi.c) проводят в течение периода времени от 1 минуты до 4 часов, предпочтительно от 10 минут до 2 часов, еще более предпочтительно от 20 минут до 60 минут (например, примерно 30 минут) при температуре от 20°C до 80°C, предпочтительно от 30°C до 70°C, еще более предпочтительно от 40°C до 60°C (например, примерно 50°C). Согласно предпочтительному примеру, указанную стадию сульфирования (vi.c) проводят путем добавления $\text{SO}_3\text{-DMF}$ (5 мл, 15 мл, 25 мл) в примерно 100 мл водного

экстракта, полученного на стадии (iii), или (iii.b), или (iii.c) (содержание твердого вещества 10-15 г/100 мл и относительная плотность 1,05-1,08) при температуре от 40°C до 60°C (например, при 50°C) и в течение периода времени, составляющего от 20 минут до 60 минут (например, 30 минут).

В третьем воплощении способа по настоящему изобретению (P3), предпочтительно, основной агент, используемый на стадии (vi.d), предпочтительно представляет собой неорганический основной агент, выбранный из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из: аммиака, гидроксида натрия, гидроксида калия и их смесей, предпочтительно гидроксида натрия (например, в концентрации 1 М, 2 М или 4 М).

В третьем воплощении способа по настоящему изобретению (P3), предпочтительно, указанная стадия (vi.e) включает мембранную фильтрацию посредством диализа, например, с помощью диализного мешка 1000 Да в течение периода времени, составляющего от 18 часов до 36 часов, предпочтительно 24 часа, до достижения относительной плотности от 1,3 до 1,5, предпочтительно примерно 1,1, с последующей сушкой, например, в вакуумной печи.

Согласно одному аспекту изобретения, в указанном первом и третьем воплощениях способа по настоящему изобретению (P1 и P3) хондроитинсульфат или его соль (ХС) по настоящему изобретению имеет среднемассовую молекулярную массу, составляющую от более 5 до менее 50 кДа, предпочтительно от более 5 до 25 кДа, и включает:

- хондроитин-6-сульфат с массовым процентным содержанием от 50% до 95±0,5%, предпочтительно от 75% до 90%;
- несульфатированный хондроитин с массовым процентным содержанием от 5% до 20%, предпочтительно от 7% до 15%;
- хондроитин-2,6-дисульфат с массовым процентным содержанием от 0,1% до 10%, предпочтительно от 0,2% до 8%, и
- хондроитин-4-сульфат с массовым процентным содержанием от 0,01% до 5%, предпочтительно от 0,05% до 3%, причем все проценты выражены по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате, или по отношению к общей массе хондроитинсульфата.

Согласно предпочтительному аспекту изобретения хондроитинсульфат или его соль (ХС) по настоящему изобретению (способ P1 и/или P3) имеет среднемассовую молекулярную массу от более 5 кДа до 10 кДа, и где указанный хондроитинсульфат или его соль включают:

- хондроитин-6-сульфат с массовым процентным содержанием от 78% до 86%;

- несульфатированный хондроитин с массовым процентным содержанием от 8% до 13%;

- хондроитин-2,6-дисульфат с массовым процентным содержанием от 0,3% до 5% и

- хондроитин-4-сульфат с массовым процентным содержанием от 0,1% до 1,5%,
причем все проценты выражены по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате, или по отношению к общей массе хондроитинсульфата.

Согласно предпочтительному аспекту изобретения, хондроитинсульфат или его соль (ХС) по настоящему изобретению (способ Р1 и/или Р3) имеет среднемассовую молекулярную массу от более 5 кДа до менее 50 кДа, предпочтительно от более 5 кДа до менее 25 кДа, и при этом указанный хондроитинсульфат или его соль содержит:

- хондроитин-6-сульфат с массовым процентным содержанием от 50% до $95 \pm 0,5\%$, предпочтительно от 75% до 90%, и

- хондроитин-4-сульфат с массовым процентным содержанием от 0,01% до 5%, предпочтительно от 0,05% до 3%, причем все проценты выражены по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате, или по отношению к общей массе хондроитинсульфата.

Согласно другому предпочтительному аспекту изобретения хондроитинсульфат или его соль (ХС) по настоящему изобретению (способ Р1 и/или Р3) имеет среднемассовую молекулярную массу от более 5 кДа до 10 кДа, и где указанный хондроитинсульфат или его соль включают:

- хондроитин-6-сульфат с массовым процентным содержанием от 78% до 86% и

- хондроитин-4-сульфат с массовым процентным содержанием от 0,1% до 1,5%,
причем все проценты выражены по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате, или по отношению к общей массе хондроитинсульфата.

Согласно другому предпочтительному аспекту изобретения хондроитинсульфат или его соль (ХС) по настоящему изобретению (способ Р1 и/или Р3) имеет среднемассовую молекулярную массу от более 5 кДа до менее 50 кДа, предпочтительно от более 5 кДа до менее 25 кДа и содержит:

- хондроитин-6-сульфат с массовым процентным содержанием от 50% до $95 \pm 0,5\%$, предпочтительно от 75% до 90%;

- несульфатированный хондроитин с массовым процентным содержанием от 5% до 20%, предпочтительно от 7% до 15%;

- хондроитин-2,6-дисульфат с массовым процентным содержанием от 0,1% до 10%, предпочтительно от 0,2% до 8%;

- хондроитин-4-сульфат с массовым процентным содержанием от 0,01% до 5%, предпочтительно от 0,05% до 3%;

- хондроитин-4,6-дисульфат с массовым процентным содержанием от 0,01% до 5%, предпочтительно от 0,05% до 3% и

- хондроитин-2,4-дисульфат с массовым процентным содержанием от 0,01% до 5%, предпочтительно от 0,05% до 3%, все проценты выражены по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате, или по отношению к общей массе хондроитинсульфата.

Согласно одному воплощению, хондроитинсульфат или его соль (ХС) по настоящему изобретению (способ Р1 и/или Р3) имеет среднемассовую молекулярную массу, составляющую от более 5 кДа до 10 кДа, и где указанный хондроитинсульфат или его соль содержат:

- хондроитин-6-сульфат с массовым процентным содержанием от 78% до 86%;

- несультатированный хондроитин с массовым процентным содержанием от 8% до 13%;

- хондроитин-2,6-дисульфат с массовым процентным содержанием от 0,3% до 5% и, кроме того,

- хондроитин-4-сульфат, хондроитин-4,6-дисульфат и хондроитин-2,4-дисульфат, каждый в массовом процентном содержании от 0,1% до 1,5%.

Экспериментальная часть

I. Способ получения гиалуроновой кислоты согласно второму воплощению (Р2)

(i) приготовление сушеных грибов, принадлежащих к виду Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*),

(ii) дробление или измельчение указанных сушеных грибов (примерно 20 меш) путем размола с получением дробленых/измельченных в порошок сухих грибов;

(pre-iii) проведение ферментативного гидролиза с использованием пектиназы в качестве фермента путем добавления дистиллированной воды (50 об./масс.) к дробленным/измельченным сухим грибам и ферментной пектиназе (Pectinex® Ultra Tropical, 0,01 об.%) и нагревание при примерно 50°C в течение примерно 3 часов с получением гидролизной смеси;

(iii.a) осуществление первой экстракции посредством добавления дистиллированной воды (50 об./масс.) в указанную гидролизную смесь и нагревания при примерно 100°C (кипячение) в течение примерно 2,5 часов, а затем фильтрования через сито 200 меш и сбора фильтрата и твердого остатка;

(iii.b) осуществление второй экстракции, проводимой в отношении указанного твердого остатка, полученного в результате указанной первой экстракции (iii.a), посредством добавления дистиллированной воды (50 об./масс.) и нагревания до примерно 100°C (кипячение) в течение примерно 2 часов, затем фильтрования через сито 200 меш и сбора фильтрата, и объединение фильтрата, полученного при указанной первой экстракции (iii.a), с фильтратом, полученным при указанной второй экстракции (iii.b), с получением водного экстракта;

(iii.c) концентрирование указанного водного экстракта при температуре примерно 75°C с получением концентрированного водного экстракта, имеющего относительную плотность примерно 1,05; за которым следует

(iv) медленное добавление при перемешивании 95%-ного этанола (об./об. = 3) в указанный концентрированный водный экстракт и выдержка в течение 12 часов; удаление этанола и выделение экстракта;

(vii) добавление дистиллированной воды в указанный экстракт и лиофильная сушка с получением продукта PR1, содержащего или, альтернативно, состоящего из гиалуроновой кислоты или ее соли (ГК), имеющих среднюю молекулярную массу от 100 до 300 кДа и чистоту в массовых процентах от 95% до 99% по отношению к общей массе указанного продукта PR1.

II. Способ получения хондроитинсульфата согласно третьему воплощению (P3)

(i) приготовление сушеных грибов, принадлежащих к виду Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*);

(ii) дробление или измельчение в порошок указанных сушеных грибов (примерно 20 меш) путем размола с получением дробленых/измельченных в порошок сухих грибов;

(pre-iii) проведение ферментативного гидролиза с использованием пектиназы в качестве фермента путем добавления дистиллированной воды (50 об./масс.) к дробленным/измельченным сухим грибам и ферментной пектиназе (Pectinex® Ultra Tropical, 0,01 об.%) и нагревания при примерно 50°C в течение примерно 3 часов с получением гидролизной смеси (pH от 5-7);

(iii.a) осуществление первой экстракции посредством добавления дистиллированной

воды (50 об./масс.) в указанную гидролизную смесь и нагревания при примерно 100°C (кипячение) в течение примерно 2,5 часов, а затем фильтрования через сито 200 меш и сбора фильтрата и твердого остатка;

(iii.b) осуществление второй экстракции, проводимой в отношении указанного твердого остатка, полученного в результате указанной первой экстракции (iii.a), посредством добавления дистиллированной воды (50 об./масс.) и нагревания до примерно 100°C (кипячение) в течение примерно 1,5 часов, затем фильтрования через сито 200 меш и сбора фильтрата, и объединение фильтрата, полученного при указанной первой экстракции (iii.a), с фильтратом, полученным при указанной второй экстракции (iii.b), с получением водного экстракта;

(iii.c) концентрирование указанного водного экстракта при температуре примерно 75°C с получением концентрированного водного экстракта, имеющего относительную плотность примерно 1,05-1,08; за которым следует

(vi.c) проведение реакции сульфирования (или сульфатирования) путем добавления 5 мл, 15 мл, 55 мл SO₃DMF на каждые 100 мл концентрированного водного экстракта при температуре примерно 75°C в течение примерно 30 минут;

(vi.d) нейтрализация с помощью NaOH до значения pH примерно 7;

(vi.e) помещение полученного раствора в диализный мешок (1000 Да) по меньшей мере на 24 часа, пока не будет достигнута относительная плотность раствора примерно 1,1. Сушка в вакуумной печи с получением продукта PR2, содержащего или, альтернативно, состоящего из хондроитинсульфата или его соли (ХС), имеющих среднюю молекулярную массу от более 5 кДа до 10 кДа (например, примерно 8 кДа), где указанный ХС имеет состав, аналогичный составу соединения ХС.1, приведенному в таблице 1, и чистоту в массовых процентах от 89% до 94,5% по отношению к общей массе указанного продукта PR2.

1
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения по меньшей мере одного гликозаминогликана, выбранного из гиалуроновой кислоты или ее соли (ГК) и/или хондроитина или его соли (ХС), включающий по меньшей мере одну стадию экстракции из исходного материала растительного происхождения водным растворителем или водой, где указанный исходный материал растительного происхождения включает или, альтернативно, состоит по меньшей мере из одного природного гриба, принадлежащего подцарству Дикария (*Dikarya*), предпочтительно отделу Базидиомикота (*Basidiomycota*).

2. Способ по п. 1, в котором указанный по меньшей мере один гриб принадлежит к виду Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*) (Berk. 1856).

3. Способ по п. 1 или п. 2, включающий следующие стадии:

(i) определение указанного по меньшей мере одного природного гриба в качестве растительного исходного материала для указанного по меньшей мере одного гликозаминогликана;

(ii) необязательно проведение дробления или измельчения растительного исходного материала с получением указанного по меньшей мере одного измельченного и дробленого гриба;

(iii) проведение экстракции указанного гликозаминогликана из указанного по меньшей мере одного гриба, полученного на стадии (i) или на стадии (ii), с использованием экстрагирующего растворителя, предпочтительно водного растворителя, еще более предпочтительно воды, с получением водного экстракта указанного гликозаминогликана;

(iv) добавление растворителя, предпочтительно спирта, более предпочтительно этанола, в водный экстракт, полученный на стадии (iii), с получением жидкого продукта;

(v) осуществление центрифугирования и/или фильтрации жидкого продукта, полученного на стадии (iv), с получением жидкой фазы и твердого остатка;

(vi) осуществление обработки указанной жидкой фазы, полученной посредством центрифугирования и/или фильтрации на стадии (v), посредством следующей стадии (vi.a) и/или

осуществление обработки указанного твердого остатка, полученного посредством центрифугирования и/или фильтрации на стадии (v), посредством следующих стадий (vi.b), (vi.c), (vi.d) и (vi.e):

(vi.a) сушка, предпочтительно концентрирование и сушка, указанной жидкой фазы, полученной на стадии (v), с получением продукта PR1, содержащего или, альтернативно, состоящего из гиалуроновой кислоты или ее соли, имеющих среднюю молекулярную массу от 10 кДа до 600 кДа;

(vi.b) выделение и очистка указанного твердого остатка, полученного на стадии (v), с получением продукта стадии (vi.b);

(vi.c) обработка указанного продукта стадии (vi.b) источником серной кислоты, предпочтительно указанный источник серной кислоты выбран из группы, включающей или, альтернативно, состоящей из серной кислоты, комплекса триоксида серы с пиридином, комплекса триоксида серы с диметилформамидом и их смесей, более предпочтительно SO₃-DMF, с получением подкисленного продукта;

(vi.d) нейтрализация указанного подкисленного продукта, полученного на стадии (vi.c), с использованием основного агента, предпочтительно гидроксида натрия, с получением нейтрализованного продукта;

(vi.e) концентрирование и сушка указанного нейтрализованного продукта, полученного на стадии (vi.d), с получением продукта PR2, содержащего или, альтернативно, состоящего из хондроитинсульфата или его соли, имеющих среднюю молекулярную массу от 1 кДа до 50 кДа.

4. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором стадия (iii) экстракции указанного по меньшей мере одного гликозаминогликана из растительного исходного материала включает или, альтернативно, состоит из следующих стадий:

(iii) осуществление первой экстракции из растительного исходного материала первым объемом экстрагирующего растворителя при температуре от 10°C до 90°C в течение периода времени, составляющего от 0,5 часа до 12 часов, с получением первого водного экстракта и твердого остатка и

(iii.b) осуществление второй экстракции из указанного твердого остатка, полученного на стадии (iii.a), вторым объемом экстрагирующего растворителя при температуре от 90°C до 110°C в течение периода времени, составляющего от 0,5 часа до 8 часов, с получением второго водного экстракта и объединение указанного первого экстракта и указанного второго экстракта с получением водного экстракта.

5. Способ по п. 4, в котором на стадии (iii) осуществления экстракции используют фермент, предпочтительно протеолитический фермент.

6. Способ по любому из пп. 1-5, в котором указанная гиалуроновая кислота или ее соль, полученные в способе, имеют среднемассовую молекулярную массу от 100 кДа до 300 кДа, и/или

указанная гиалуроновая кислота или ее соль, полученные в способе, имеют чистоту в массовых процентах, составляющую от 85% до 100% по отношению к общей массе указанного продукта PR1, предпочтительно от 95% до 99,5%, более предпочтительно от 97% до 99%.

7. Способ по любому из пп. 1-5, в котором указанный хондроитинсульфат или его соль, полученные в способе, имеют среднемассовую молекулярную массу от 5 кДа или более 5кДа до 25 кДа, предпочтительно от 5 кДа или более 5кДа до 10 кДа, и/или

указанный хондроитинсульфат или его соль, полученные в способе, содержат или, альтернативно, состоят из хондроитин-6-сульфата, в массовых %, от 50% до 95±0,5% по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате или его соли.

8. Применение гриба, принадлежащего подцарству Дикария (*Dikarya*), предпочтительно отделу Базидиомикота (*Basidiomycota*), более предпочтительно виду Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*) (Berk. 1856), в качестве растительного исходного материала для получения гиалуроновой кислоты или ее соли, предпочтительно гиалуроновой кислоты или ее соли, имеющих среднемассовую молекулярную массу от 10 кДа до 600 кДа, предпочтительно от 100 кДа до 500 кДа, более предпочтительно от 100 кДа до 300 кДа.

9. Применение гриба, принадлежащего подцарству Дикария (*Dikarya*), предпочтительно отделу Базидиомикота (*Basidiomycota*), более предпочтительно виду Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*) (Berk. 1856), в качестве растительного исходного материала для получения гиалуроновой кислоты или ее соли, предпочтительно хондроитинсульфата или его соли, имеющих среднемассовую молекулярную массу от 1 кДа до 50 кДа, предпочтительно от 5 кДа или более 5 кДа до 25 кДа, более предпочтительно от 5 кДа или более 5 кДа до 10 кДа.

10. Хондроитинсульфат или его соль, имеющие среднемассовую молекулярную массу от более 5 кДа до менее 50 кДа, и

причем указанный хондроитинсульфат или его соль содержит: от 50% до $95 \pm 0,5\%$, в массовых %, хондроитин-6-сульфата, и от 0,01% до 5%, в массовых %, хондроитин-4-сульфата, причем % выражены по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате.

11. Хондроитинсульфат или его соль (ХС) по п. 10, имеющие среднемассовую молекулярную массу от более 5 кДа до 25 кДа, предпочтительно от более 5 кДа до 10 кДа, и причем указанный хондроитинсульфат или его соль содержит: от 75% до 90%, предпочтительно от 78% до 86%, в массовых %, хондроитин-6-сульфата, и от 0,05% до 3%, предпочтительно от 0,1% до 1,5%, в массовых %, хондроитин-4-сульфата, причем % выражены по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате.

12. Применение хондроитинсульфата или его соли по п. 10 или п. 11 в качестве добавки, или эксципиента, или градиента при приготовлении фармацевтических продуктов, медицинских устройств, нутрицевтиков, пищевых продуктов для специальных медицинских целей (SFMP), диетических добавок или пищевых продуктов.

13. Композиция, содержащая: (i) хондроитинсульфат или его соль по п. 11 или п. 12 и (ii) технологические добавки или эксципиенты фармацевтического или пищевого качества.

14. Композиция по предшествующему пункту для применения в качестве лекарственного средства.

15. Композиция по п. 14 для применения в способе профилактического и/или радикального лечения артрита, остеоартрита, артроза, боли в суставах, воспаления конечностей и суставов или гастроэзофагеального рефлюкса у людей и животных.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ,

измененная на международной стадии (по ст. 19 РСТ)

1. Способ получения по меньшей мере одного гликозаминогликана, выбранного из гиалуроновой кислоты или ее соли (ГК), имеющей среднemasсовую молекулярную массу от 10 кДа до 600 кДа, и/или хондроитинсульфата или его соли (ХС), включающий по меньшей мере одну стадию экстракции из исходного материала растительного происхождения водным растворителем или водой, где указанный исходный материал растительного происхождения включает или, альтернативно, состоит по меньшей мере из одного природного гриба, принадлежащего подцарству Дикария (*Dikarya*), предпочтительно отделу Базидиомикота (*Basidiomycota*).

2. Способ по п. 1, в котором указанный по меньшей мере один гриб принадлежит к виду Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*) (Berk. 1856).

3. Способ по п. 1 или п. 2, включающий следующие стадии:

(i) определение указанного по меньшей мере одного природного гриба в качестве растительного исходного материала для указанного по меньшей мере одного гликозаминогликана;

(ii) необязательно проведение дробления или измельчения растительного исходного материала с получением указанного по меньшей мере одного измельченного и дробленого гриба;

(iii) проведение экстракции указанного гликозаминогликана из указанного по меньшей мере одного гриба, полученного на стадии (i) или на стадии (ii), с использованием экстрагирующего растворителя, предпочтительно водного растворителя, еще более предпочтительно воды, с получением водного экстракта указанного гликозаминогликана;

(iv) добавление растворителя, предпочтительно спирта, более предпочтительно этанола, в водный экстракт, полученный на стадии (iii), с получением жидкого продукта;

(v) осуществление центрифугирования и/или фильтрации указанного жидкого продукта, полученного на стадии (iv), с получением жидкой фазы и твердого остатка;

(vi) осуществление обработки указанной жидкой фазы, полученной посредством центрифугирования и/или фильтрации на стадии (v), посредством следующей стадии (vi.a) и/или

осуществление обработки указанного твердого остатка, полученного посредством центрифугирования и/или фильтрации на стадии (v), посредством следующих стадий (vi.b), (vi.c), (vi.d) и (vi.e):

(vi.a) сушка, предпочтительно концентрирование и сушка, указанной жидкой фазы, полученной на стадии (v), с получением продукта PR1, содержащего или, альтернативно, состоящего из гиалуроновой кислоты или ее соли, имеющих среднюю молекулярную массу от 10 кДа до 600 кДа;

(vi.b) выделение и очистка указанного твердого остатка, полученного на стадии (v), с получением продукта стадии (vi.b);

(vi.c) обработка указанного продукта стадии (vi.b) источником серной кислоты, предпочтительно указанный источник серной кислоты выбран из группы, включающей или, альтернативно, состоящей из серной кислоты, комплекса триоксида серы с пиридином, комплекса триоксида серы с диметилформамидом и их смесей, более предпочтительно $\text{SO}_3\text{-DMF}$, с получением подкисленного продукта;

(vi.d) нейтрализация указанного подкисленного продукта, полученного на стадии (vi.c), с использованием основного агента, предпочтительно гидроксида натрия, с получением нейтрализованного продукта;

(vi.e) концентрирование и сушка указанного нейтрализованного продукта, полученного на стадии (vi.d), с получением продукта PR2, содержащего или, альтернативно, состоящего из хондроитинсульфата или его соли, имеющих среднюю молекулярную массу от 1 кДа до 50 кДа.

4. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором стадия (iii) экстракции указанного по меньшей мере одного гликозаминогликана из растительного исходного материала включает или, альтернативно, состоит из следующих стадий:

(iii) осуществление первой экстракции из растительного исходного материала первым объемом экстрагирующего растворителя при температуре от 10°C до 90°C в течение периода времени, составляющего от 0,5 часа до 12 часов, с получением первого водного экстракта и твердого остатка и

(iii.b) осуществление второй экстракции из указанного твердого остатка, полученного на стадии (iii.a), вторым объемом экстрагирующего растворителя при температуре от 90°C до 110°C в течение периода времени, составляющего от 0,5 часа до 8 часов, с получением второго водного экстракта и объединение указанного первого экстракта и указанного второго экстракта с получением водного экстракта.

5. Способ по п. 4, в котором на стадии (iii) осуществления экстракции используют фермент, предпочтительно протеолитический фермент.

6. Способ по любому из пп. 1-5, в котором указанная гиалуроновая кислота или ее соль, полученные в способе, имеют среднемассовую молекулярную массу от 100 кДа до 300 кДа.

7. Способ по п. 3, в котором указанная гиалуроновая кислота или ее соль, полученные в способе, имеют чистоту в массовых процентах, составляющую от 85% до 100% по отношению к общей массе указанного продукта PR1, предпочтительно от 95% до 99,5%, более предпочтительно от 97% до 99%.

8. Способ по любому из пп. 1-5, в котором указанный хондроитинсульфат или его соль, полученные в способе, имеют среднемассовую молекулярную массу от 5 кДа или более 5кДа до 25 кДа, предпочтительно от 5 кДа или более 5кДа до 10 кДа, и/или

указанный хондроитинсульфат или его соль, полученные в способе, содержат или, альтернативно, состоят из хондроитин-6-сульфата, в массовых %, от 50% до 95±0,5% по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате или его соли.

9. Применение гриба, принадлежащего подцарству Дикария (*Dikarya*), предпочтительно отделу Базидиомикота (*Basidiomycota*), более предпочтительно виду Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*) (Berk. 1856), в качестве растительного исходного материала для получения гиалуроновой кислоты или ее соли, имеющих среднемассовую молекулярную массу от 10 кДа до 600 кДа, предпочтительно от 100 кДа до 500 кДа, более предпочтительно от 100 кДа до 300 кДа.

10. Применение гриба, принадлежащего подцарству Дикария (*Dikarya*), предпочтительно отделу Базидиомикота (*Basidiomycota*), более предпочтительно виду Тремелла фукусовидная (*Tremella fuciformis*) (Berk. 1856), в качестве растительного исходного материала для получения хондроитинсульфата или его соли, предпочтительно хондроитинсульфата или его соли, имеющих среднемассовую молекулярную массу от 1 кДа до 50 кДа, предпочтительно от 5 кДа или более 5 кДа до 25 кДа, более

предпочтительно от 5 кДа или более 5 кДа до 10 кДа.

11. Хондроитинсульфат или его соль, имеющие среднемассовую молекулярную массу от более 5 кДа до менее 50 кДа, и

причем указанный хондроитинсульфат или его соль содержит: от 50% до $95 \pm 0,5\%$, в массовых %, хондроитин-6-сульфата, и от 0,01% до 5%, в массовых %, хондроитин-4-сульфата, причем % выражены по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате.

12. Хондроитинсульфат или его соль (ХС) по п. 11, имеющие среднемассовую молекулярную массу от более 5 кДа до 25 кДа, предпочтительно от более 5 кДа до 10 кДа, и причем указанный хондроитинсульфат или его соль содержит: от 75% до 90%, предпочтительно от 78% до 86%, в массовых %, хондроитин-6-сульфата, и от 0,05% до 3%, предпочтительно от 0,1% до 1,5%, в массовых %, хондроитин-4-сульфата, причем % выражены по отношению к общему количеству дисахаридов, содержащихся в хондроитинсульфате.

13. Применение хондроитинсульфата или его соли по п. 11 или п. 12 в качестве добавки, или эксципиента, или градиента при приготовлении фармацевтических продуктов, медицинских устройств, нутрицевтиков, пищевых продуктов для специальных медицинских целей (SFMP), диетических добавок или пищевых продуктов.

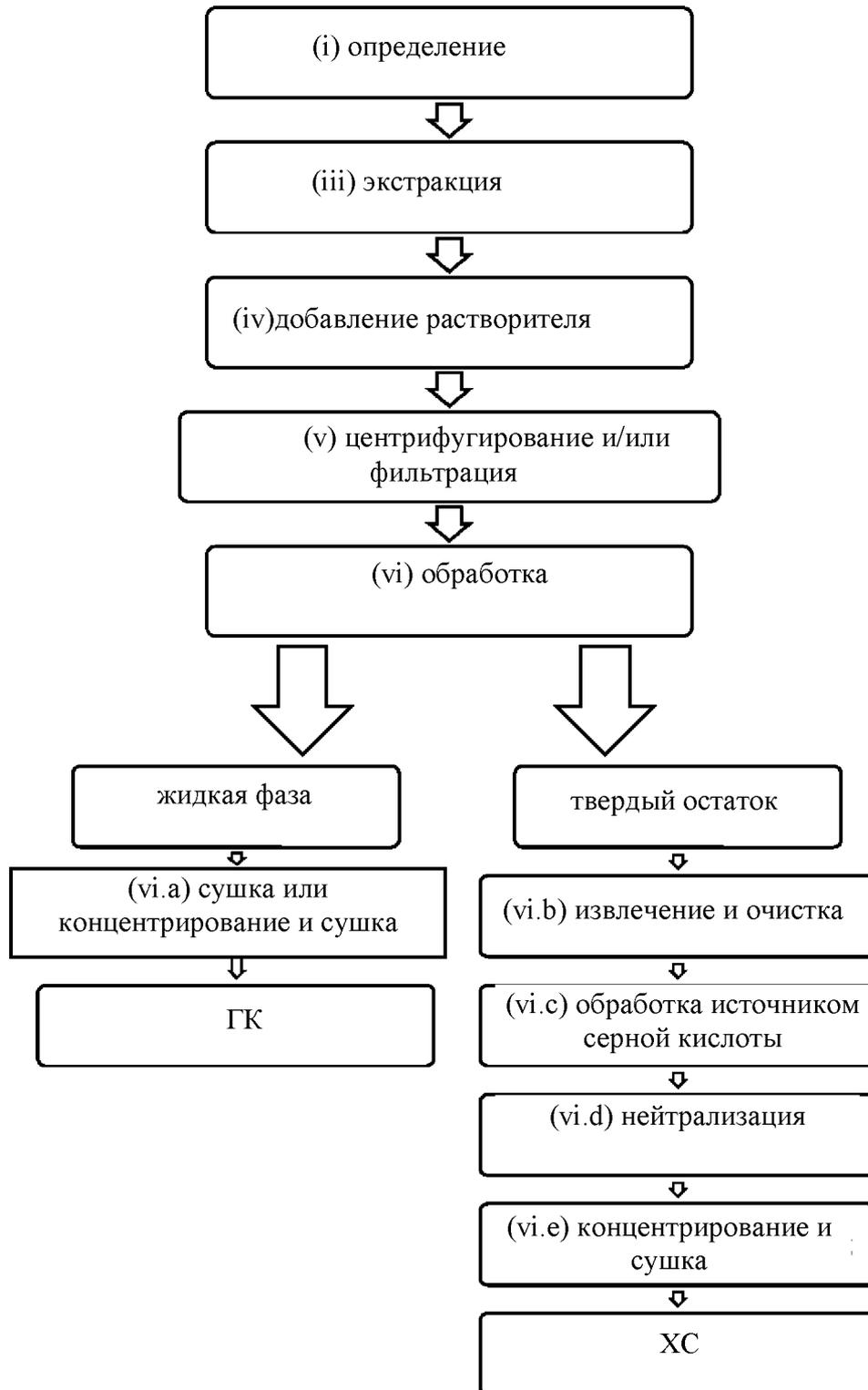
14. Композиция, содержащая: (i) хондроитинсульфат или его соль по п. 11 или п. 12 и (ii) технологические добавки или эксципиенты фармацевтического или пищевого качества.

15. Композиция по предшествующему пункту для применения в качестве лекарственного средства.

16. Композиция по п. 15 для применения в способе профилактического и/или радикального лечения артрита, остеоартрита, артроза, боли в суставах, воспаления конечностей и суставов или гастроэзофагеального рефлюкса у людей и животных.

Определение и выбор растительного исходного материала для растительного хондроитинсульфата и гиалуроновой кислоты и преобразование такого растительного исходного материала с получением ингредиентов для применения в пищевых продуктах, добавках, медицинских устройствах или лекарствах

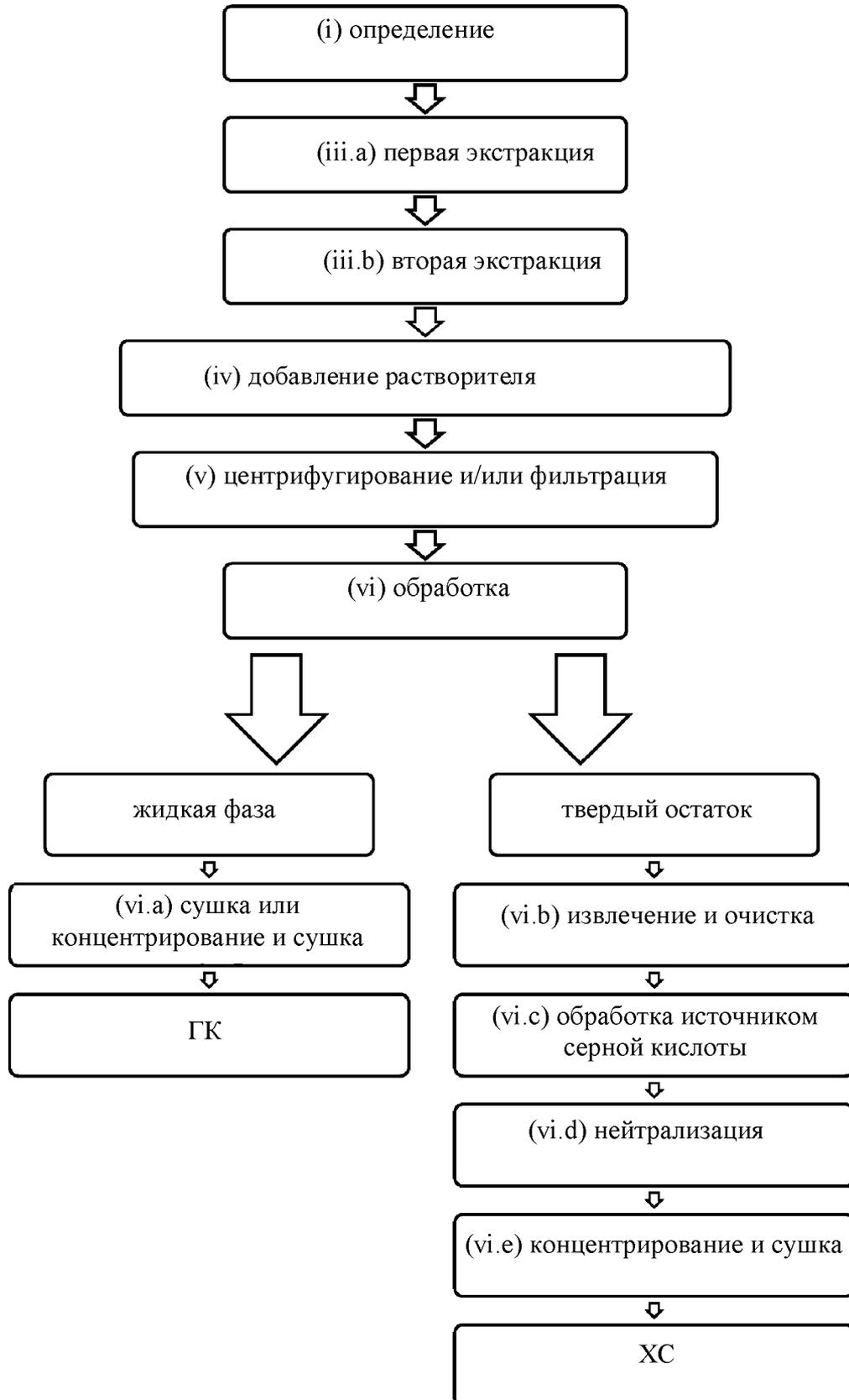
1/7



Фиг. 1

Определение и выбор растительного исходного материала для растительного хондроитинсульфата и гиалуроновой кислоты и преобразование такого растительного исходного материала с получением ингредиентов для применения в пищевых продуктах, добавках, медицинских устройствах или лекарствах

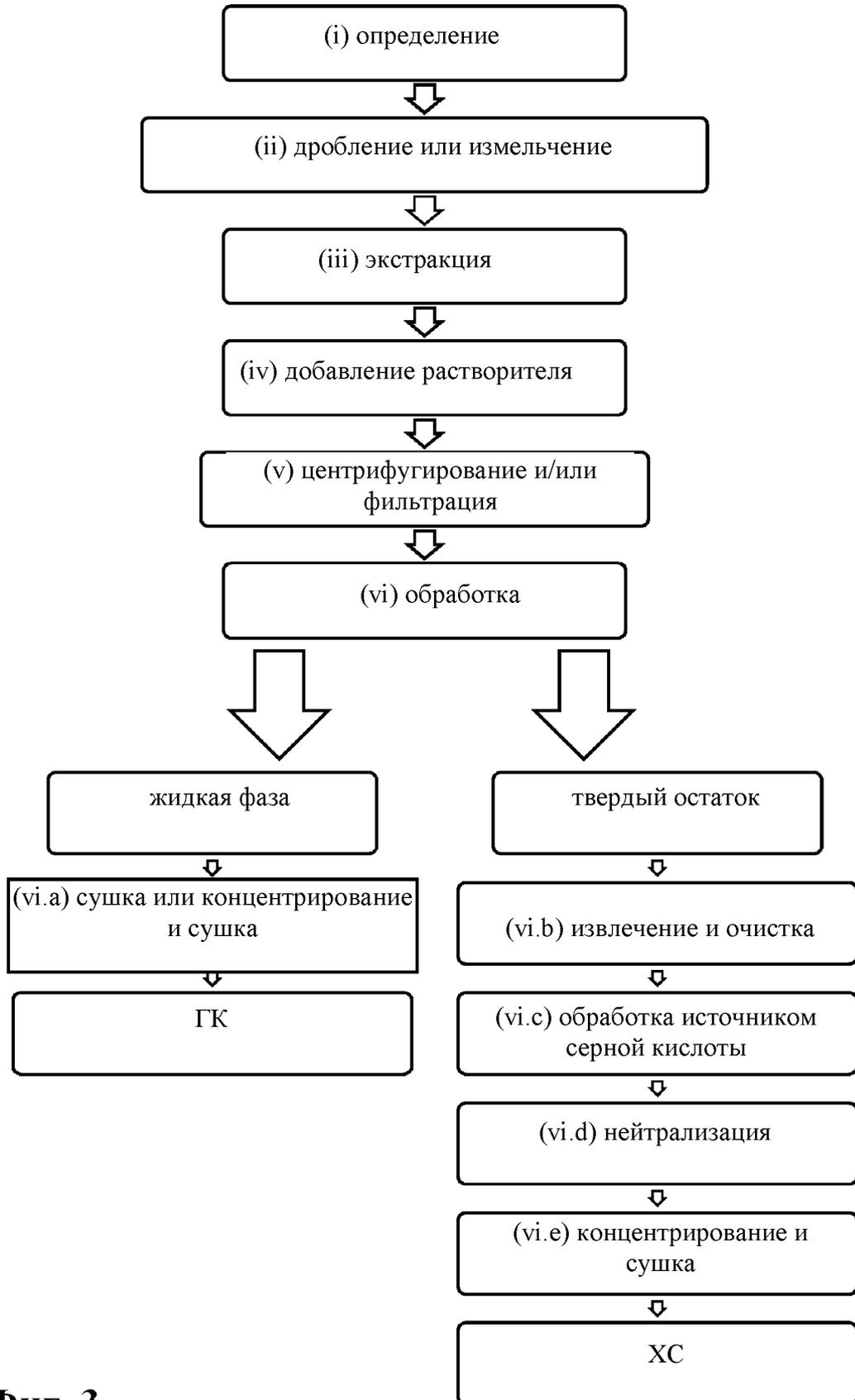
2/7



Фиг. 2

Определение и выбор растительного исходного материала для растительного хондроитинсульфата и гиалуроновой кислоты и преобразование такого растительного исходного материала с получением ингредиентов для применения в пищевых продуктах, добавках, медицинских устройствах или лекарствах

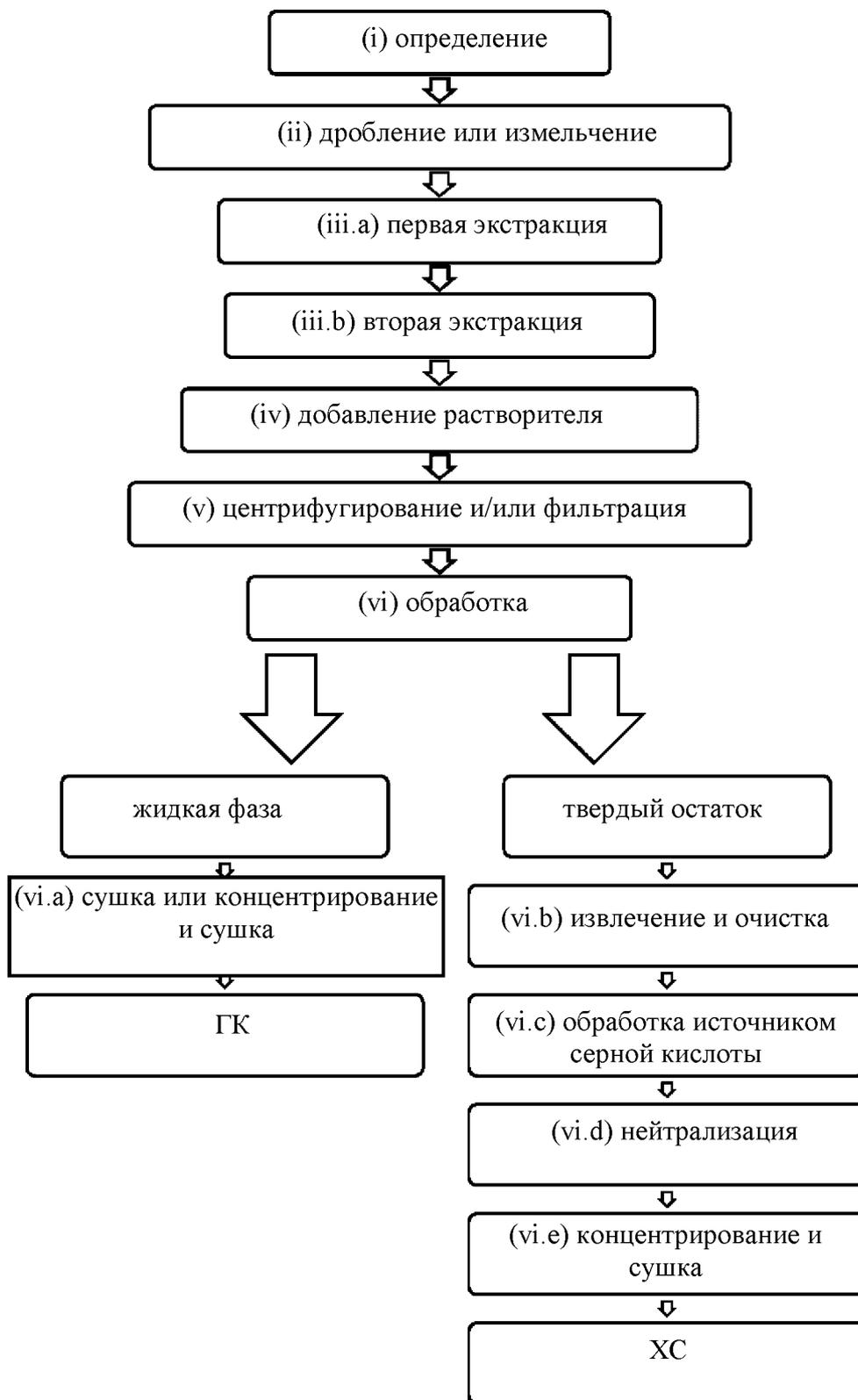
3/7



Фиг. 3

Определение и выбор растительного исходного материала для растительного хондроитинсульфата и гиалуроновой кислоты и преобразование такого растительного исходного материала с получением ингредиентов для применения в пищевых продуктах, добавках, медицинских устройствах или лекарствах

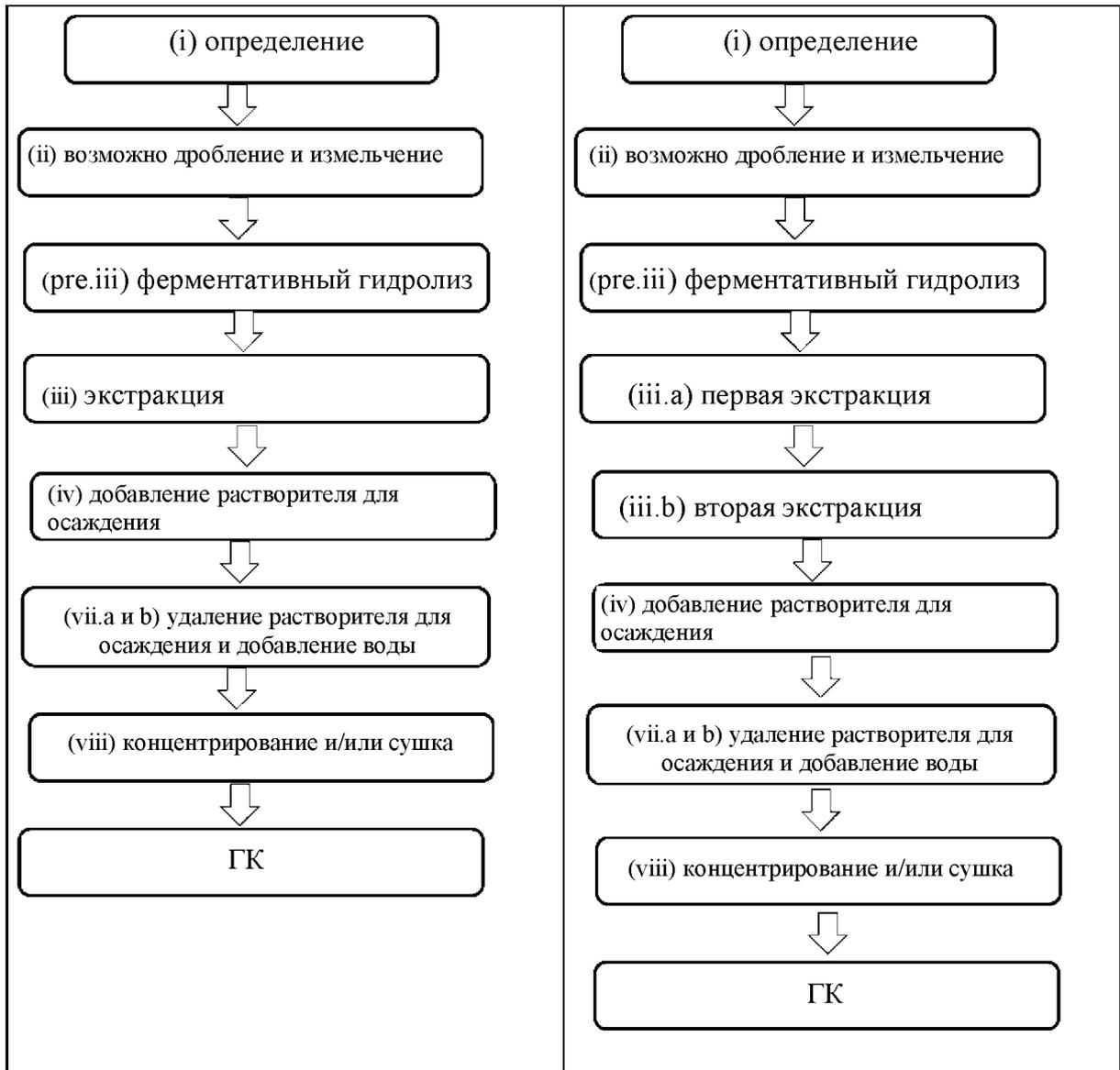
4/7



Фиг. 4

Определение и выбор растительного исходного материала для растительного хондроитинсульфата и гиалуроновой кислоты и преобразование такого растительного исходного материала с получением ингредиентов для применения в пищевых продуктах, добавках, медицинских устройствах или лекарствах

5/7

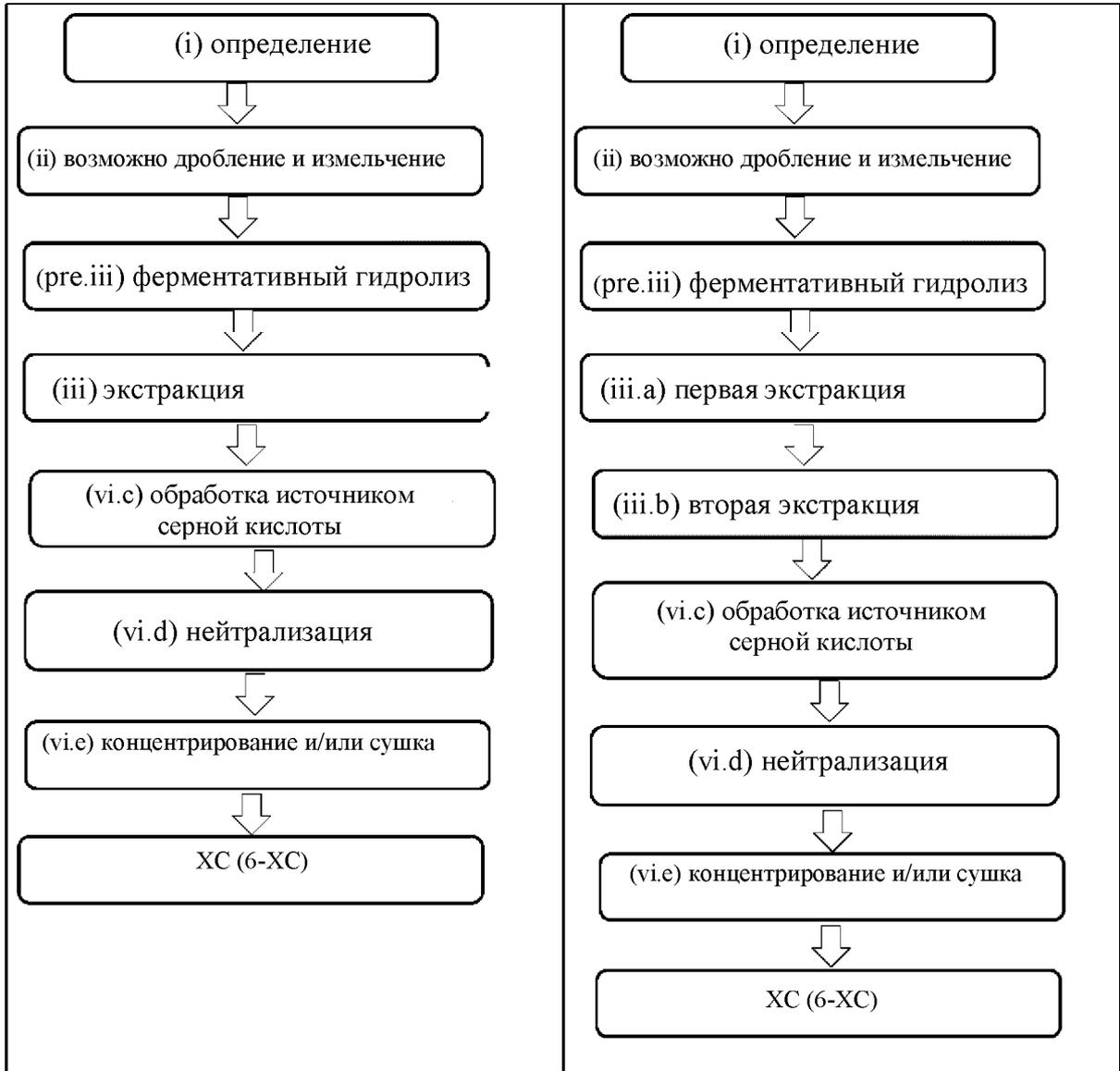


Фиг. 5

Фиг. 6

Определение и выбор растительного исходного материала для растительного хондроитинсульфата и гиалуроновой кислоты и преобразование такого растительного исходного материала с получением ингредиентов для применения в пищевых продуктах, добавках, медицинских устройствах или лекарствах

6/7

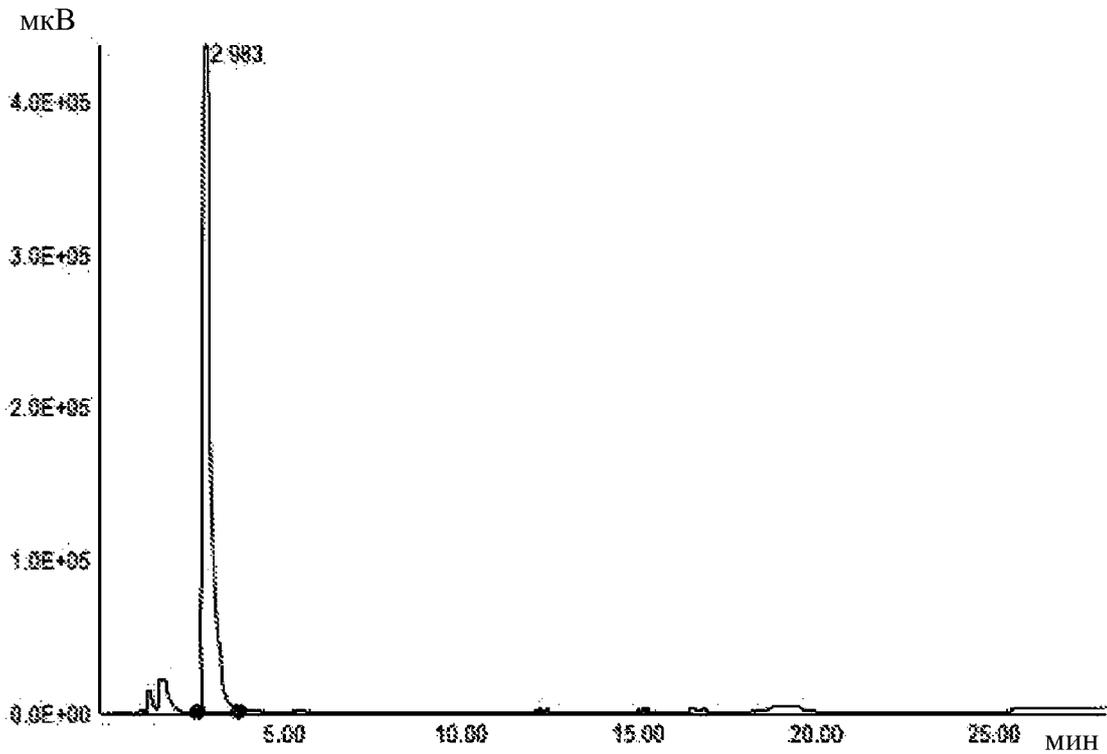


Фиг. 7

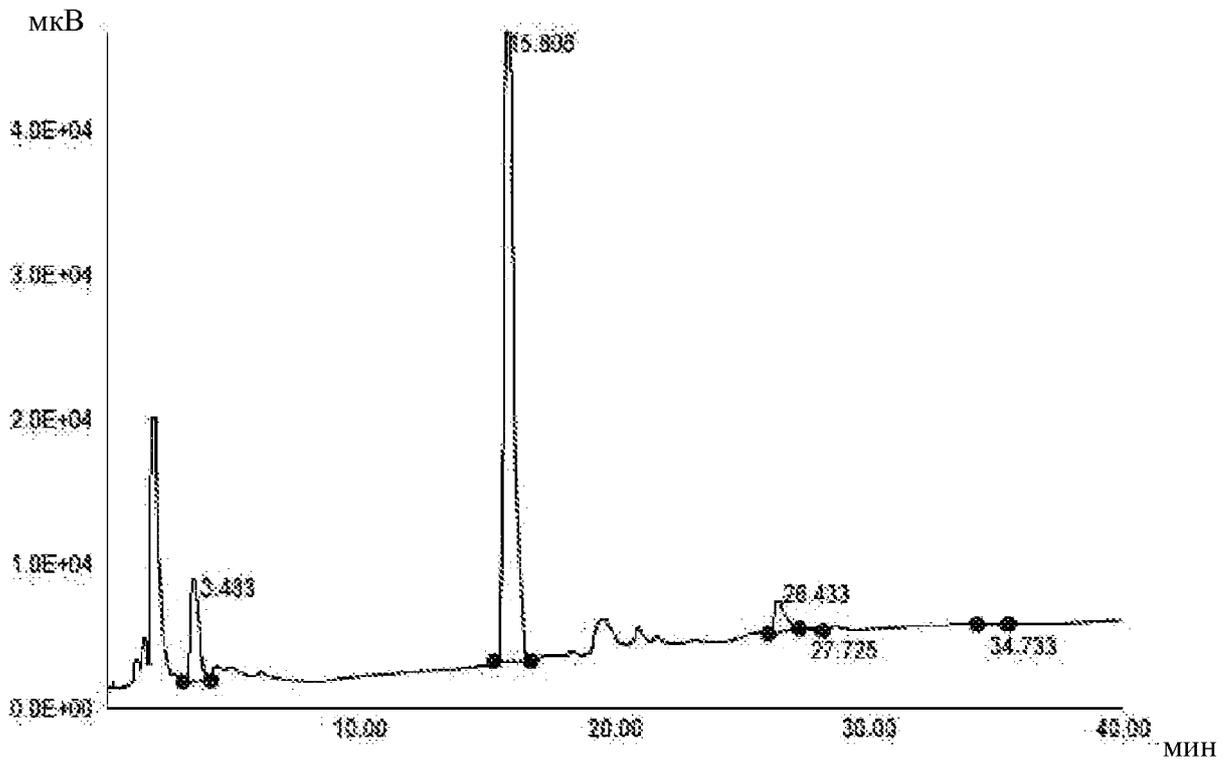
Фиг. 8

Определение и выбор растительного исходного материала для растительного хондроитинсульфата и гиалуроновой кислоты и преобразование такого растительного исходного материала с получением ингредиентов для применения в пищевых продуктах, добавках, медицинских устройствах или лекарствах

7/7



Фиг. 9



Фиг. 10