(19) Евразийское патентное ведомство

(11) 045642 (13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.12.13

(21) Номер заявки
202091184

(22) Дата подачи заявки
2018.12.26

(51) Int. Cl. ***A61K 31/05*** (2006.01)
A61K 31/122 (2006.01)
A61K 36/53 (2006.01)

(54) АНТИОКСИДАНТНАЯ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ ТИМОГИДРОХИНОН (ВАРИАНТЫ)

(31) **62/610,565**
(32) **2017.12.27**
(33) **US**
(43) **2020.09.23**
(86) **PCT/US2018/067478**
(87) **WO 2019/133587 2019.07.04**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
САМИ ЛАБС ЛИМИТЕД (IN)

(72) Изобретатель:
Маджид Мухаммед, Нагабхушанам Кальянам (US), Бхат Беена (IN)

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

(56) US-B2-8029831
WO-A2-2005009332
T.V. Suresh KUMAR, 'Studies of the Extracts of Black Cumin (Negilla Sativa L.) obtained by Supercritical Fluid Carbon Dioxide', Dissertation submitted to the University of Mysore, 2011, pg. 1-246. pg. 65; pg. 68; pg. 34, para 1;pg. 61, para 3; pg. 99, para 1; pg. 174, para 1 to pg. 175, para 1
KUMARA et al. 'Extraction, Isolation and Characterisation of Antitumor Principle, a-Hederin, from the Seeds of Nigella sativa', Planta Med, 2001, Vol. 67, pp. 29-32. pg. 30, Col 1, para 2; abstract

(57) Раскрыты композиции, имеющие антиоксидантную и противовоспалительную активность, где композиции представляют собой таблетку, капсулу, мягкий гель, порошок, пилюлю, сироп, пастилку, суспензию или эмульсию, содержащие тимогидрохинон, дополнительно включающие тимохинон, жирные кислоты, розмариновую кислоту, пиперин, гедерагенин и/или α-гедерин, приготовленные путем смешивания активных молекул, выделенных из семян Nigella sativa.

045642 B1

045642 B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Изобретение не является предварительной и испрашивает приоритет по предварительной заявке США № US 62610565, поданной 27 декабря 2017 г.

Уровень техники область техники

Настоящее изобретение в целом относится к композициям, содержащим тимогидрохинон. Более конкретно, настоящее изобретение относится к способу выделения тимогидрохинона и других активных веществ из Nigella sativa.

Описание уровня техники

Nigella sativa - это хорошо известное лекарственное растение, которое широко используется в медицинских системах Аюрведа, Унани и Сиддхи. Это растение содержит много активных ингредиентов, которые, как сообщается, проявляют терапевтические свойства. Некоторые из активных ингредиентов включают тимохинон, тимогидрохинон, дитимохинон, п-цимен, карвакрол, 4-терпинеол, т-анетол, сесквитерпен лонгифолен, α-пинен, тимол, α-гедерин и гедерагенин (Ahmad et al., A review on therapeutic potential of Nigella sativa: A miracle herb, Asian Pac J Trop Biomed. 2013; 3 (5): 337-352).

Известно о различных способах выделения биологически активных веществ из Nigella sativa:

1. Salea et al., Supercritical fluid carbon dioxide extraction of Nigella sativa (black cumin) seeds using taguchi method and full factorial design, Biochemical Compounds 2013, doi: 10.7243/2052-9341-1-1.

2. Venkatachallam et al., Chemical composition of Nigella sativa L. seed extracts obtained by supercritical carbon dioxide, J Food Sci Technol, 2010; 47(6):598–605.

3. Baharetha et al., Use of Nigella sativa Linn. Supercritical Carbon Dioxide Extract for Targeting the Angiogenesis Cascade, Med Aromat Plants 2016, 5(3) 1-12.

4. Baharetha et al., Proapoptotic and Antimetastatic Properties of Supercritical CO2 Extract of Nigella sativa Linn. Against Breast Cancer Cells, J Med Food, 2013;16(12): 20131121–1130.

Однако эти способы либо дорогие, отнимающие много времени, либо промышленно не эффективные с низким выходом биологически активных веществ. Следовательно, существует техническая потребность в новом способе, который является одновременно экономичным, промышленно эффективным с высоким выходом выделенных биоактивных веществ. Настоящее изобретение решает указанную проблему, раскрывая новые высокопроизводительные способы выделения биологически активных веществ из Nigella sativa.

Основная цель настоящего изобретения состоит в том, чтобы раскрыть неочевидный и промышленно применимый способ выделения биологически активных веществ из Nigella sativa.

Другой целью настоящего изобретения является раскрытие композиции, содержащей тимогидрохинон, выделенный из семян Nigella sativa.

Настоящее изобретение удовлетворяет вышеуказанным целям и обеспечивает дополнительные связанные преимущества.

Краткое описание изобретения

Изобретение раскрывает композиции, обогащенные тимогидрохиноном (THQ), дополнительно включающие тимохинон (TQ), α-гедерин и/или гедерагенин, полученные путем смешивания активных молекул, выделенных из семян Nigella sativa. Изобретение также раскрывает новые способы выделения биоактивных компонентов тимогидрохинона и тимохинона из Nigella sativa с использованием экстракции сверхкритической жидкостью (SCFE). Также здесь раскрыт способ выделения α-гедерина и гедерагенина из отработанного материала Nigella sativa.

Другие признаки и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из нижеследующего более подробного описания изобретения, рассматриваемого в сочетании с сопроводительными графическими материалами, иллюстрирующими, в качестве примера, принцип изобретения.

Описание предпочтительных воплощений изобретения

В наиболее предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к композиции, содержащей тимогидрохинон, представленный STR#1, выделенный из семян Nigella sativa, где указанную композицию получают с использованием способа, включающего стадии:

a) измельчения в порошок семян Nigella sativa, распыления с использованием 1,5 мм сопла и пропускания через магнитный сепаратор с получением грубодисперсного порошка;

b) подвергания порошка со стадии a) экстракции сверхкритической жидкостью (SCFE) с использованием жидкого CO_2 с получением трех фракций: низколетучих соединений - фракция S1, высоколетучих соединений - фракция S2 и отработанного остатка;

c) идентификации соединений во фракциях с низкой летучестью и высокой летучестью как тимохи-

нона, представленного STR#2, тимогидрохинона, представленного STR#1, и свободных жирных кислот (FFA) с использованием газовой хроматографии с общим выходом приблизительно 10-40 % во фракции S1 и приблизительно 1-6 % во фракции S2 соответственно;

d) экстрагирования отработанного остатка со стадии b) 5 объемами этанола при 60-65°C при перемешивании в течение 3 часов;

e) фильтрования концентрированного этанольного экстракта со стадии d) с получением коричневатой пасты;

f) растворения коричневатой пасты со стадии e) в воде и трехкратного фракционирования тремя объемами гексана с получением водной и гексановой фракций;

g) трехкратного фракционирования водной фракции со стадии f) н-бутанолом;

h) гашения фракции н-бутанола со стадии g) водой для удаления растворителя при сохранении 20-30 % общего количества растворенных твердых веществ;

i) распылительной сушки с получением бледно-коричневатого порошка, идентифицированного с помощью ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) как α-гедерин (CAS № 27013-91-8), представленный STR#3, с выходом 0,001-5 % в пересчете на сухое вещество;

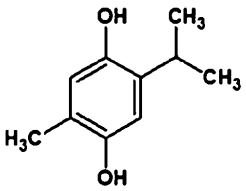
j) смешивания фракции S2 со стадии c) с α-гедерином со стадии i) с получением смеси, содержащей тимогидрохинон, тимохинон, α-гедерин и свободные жирные кислоты;

k) растворения смеси со стадии j) этанолом в реакторе с перемешиванием при 650-700°C в течение 30 мин с получением гомогенной смеси;

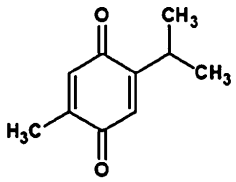
l) отгонки этанола из смеси со стадии k) в вакууме и фильтрования для удаления нерастворимых веществ с получением коричневато-желтой маслянистой жидкости;

m) добавления стабилизаторов и усилителей биодоступности к смеси со стадии l);

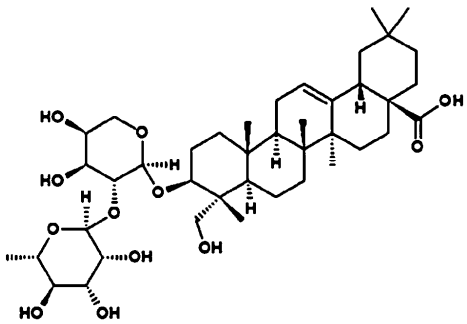
n) составления смеси со стадии m) в таблетки, капсулы, мягкие гели, порошок, пилюли, сиропы, пастилки, суспензию, эмульсии.



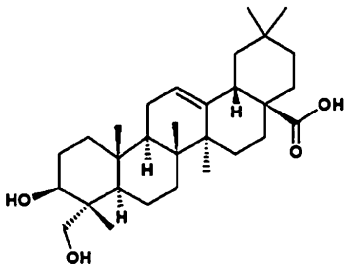
STR#1



STR#2



STR#3



STR#4

В связанном варианте осуществления композицию стандартизируют так, чтобы она содержала приблизительно 0,1-5 мас./мас.% тимохинона, приблизительно 0,01-10 мас./мас.% тимогидрохинона, приблизительно 20-95 мас./мас.%, жирных кислот, приблизительно 0,001-3 мас./мас.% α-гедерина, 0,1-4,0 мас./мас.% стабилизатора и 0,2-2 мас./мас.% усилителя биодоступности. В другом связанном варианте осуществления свободные жирные кислоты в композициях содержат менее 0,5 мас./мас.% жирных кислот Ω3 (омега-3), 40-70 мас./мас.% жирных кислот Ω6 (омега-6) и 15-25 мас./мас.% жирных кислот Ω9 (омега-9). В другом связанном варианте осуществления стабилизатор выбран из группы, состоящей из розмариновой кислоты, бутилированного гидроксианизола, бутилированного гидрокситолуола, метабисульфита натрия, пропилгаллата, цистеина, аскорбиновой кислоты и токоферолов. В связанном варианте осуществления стабилизатор предпочтительно представляет собой розмариновую кислоту. В еще одном связанном варианте осуществления усилитель биодоступности выбран из группы пиперина, кверцетина, экстракта чеснока, экстракта имбиря и нарингина. В связанном варианте осуществления усилитель биодоступности предпочтительно представляет собой пиперин.

В еще одном предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к ком-

позиции, содержащей тимогидрохинон, представленный STR#1, выделенный из семян Nigella sativa, где указанную композицию получают с помощью способа, включающего стадии:

a) измельчения в порошок семян Nigella sativa, распыления с использованием 1,5 мм сопла и пропускания через магнитный сепаратор с получением грубодисперсного порошка;

b) подвергания порошка со стадии a) экстракции сверхкритической жидкостью (SCFE) с использованием жидкого CO_2 с получением трех фракций: низколетучих соединений - фракция S1, высоколетучих соединений - фракция S2, и отработанного остатка;

c) идентификации соединений во фракции S1 и фракции S2 как тимохинона, представленного STR#2, тимогидрохинона, представленного STR#1, и свободных жирных кислот с использованием газовой хроматографии с общим выходом приблизительно 10-40 % во фракции S1 и приблизительно 1-6 % во фракции S2 соответственно;

d) экстрагирования отработанного остатка со стадии b) 5 объемами этанола при 60-65°C при перемешивании в течение 3 ч;

e) фильтрования концентрированного этанольного экстракта со стадии d) с получением коричневатой пасты;

f) растворения коричневатой пасты со стадии e) в воде и трехкратного фракционирования тремя объемами гексана с получением водной и гексановой фракций;

g) трехкратного фракционирования водной фракции со стадии f) н-бутанолом;

h) гашения фракции н-бутанола со стадии g) водой для удаления растворителя при сохранении 20-30 % общего количества растворенных твердых веществ;

i) распылительной сушки с получением бледно-коричневатого порошка, идентифицированного с помощью ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) как α-гедерин (CAS № 27013-91-8), представленный STR#3, с выходом 0,001-5 % в пересчете на сухое вещество;

j) подвергания порошка со стадии i) мягкому гидролизу путем растворения в 2 объемах этанола, 1,4 объемах 2 н. HCl и нагревания смеси при 500-600°C при перемешивании в течение 5-6 ч;

k) удаления фракции этанола из реакционной массы с получением фракции этилацетата;

l) промывания этилацетатной фракции 2 % раствором Na_2CO_3 для нейтрализации pH;

m) отделения этилацетатной фракции и концентрирования с получением бледно-коричневого порошка, идентифицированного с помощью ВЭЖХ как гедерагенин, представленный STR#4, с чистотой 40-70 %;

n) смешивания фракции S2 со стадии c) с гедерагенином со стадии m) для получения смеси, содержащей тимогидрохинон, тимохинон, гедерагенин и свободные жирные кислоты;

o) растворения смеси со стадии n) этанолом в реакторе с перемешиванием при 650-700°C в течение 30 мин для получения гомогенной смеси;

p) отгонки этанола из смеси со стадии o) в вакууме и фильтрования для удаления нерастворимых веществ с получением коричневато-желтой маслянистой жидкости;

q) добавления стабилизаторов и усилителей биодоступности к смеси со стадии p);

r) составления смеси со стадии q) в таблетки, капсулы, мягкие гели, порошок, пилюли, сиропы, пастилки, суспензию, эмульсии.

В связанном варианте осуществления композицию стандартизируют так, чтобы она содержала приблизительно 0,1-5 мас./мас.% тимохинона, приблизительно 0,01-10 мас./мас.% тимогидрохинона, приблизительно 20-95 мас./мас.%, жирных кислот, приблизительно 0,001-3 мас./мас.% гедерагенина, 0,1-4,0 мас./мас.% стабилизатора и 0,2-2 мас./мас.% усилителя биодоступности. В другом связанном варианте осуществления свободные жирные кислоты в композициях содержат менее 0,5 мас./мас.% жирных кислот Ω3 (омега-3), 40-70 мас./мас.% жирных кислот Ω6 (омега-6) и 15-25 мас./мас.% жирных кислот Ω9 (омега-9). В другом связанном варианте осуществления стабилизатор выбран из группы, состоящей из розмариновой кислоты, бутилированного гидроксианизола, бутилированного гидрокситолуола, метабисульфита натрия, пропилгаллата, цистеина, аскорбиновой кислоты и токоферолов. В связанном варианте осуществления стабилизатор предпочтительно представляет собой розмариновую кислоту. В еще одном связанном варианте осуществления усилитель биодоступности выбран из группы пиперина, кверцетина, экстракта чеснока, экстракта имбиря и нарингина. В связанном варианте осуществления усилитель биодоступности предпочтительно представляет собой пиперин.

В еще одном предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к композиции, содержащей тимогидрохинон, представленный STR#1, выделенный из семян Nigella sativa, где указанную композицию получают с использованием способа, включающего стадии:

a) измельчения в порошок семян Nigella sativa, распыления с использованием 1,5 мм сопла и пропускания через магнитный сепаратор с получением грубодисперсного порошка;

b) подвергания порошка со стадии a) экстракции сверхкритической жидкостью (SCFE) с использованием жидкого CO_2 с получением трех фракций: низколетучих соединений - фракция S1, высоколетучих соединений - фракция S2 и отработанного остатка;

c) идентификации соединений во фракциях с низкой летучестью и высокой летучестью как тимохи-

нона, представленного STR#2, тимогидрохинона, представленного STR#1, и свободных жирных кислот с использованием газовой хроматографии с общим выходом приблизительно 10-40 % во фракции S1 и приблизительно 1-6 % во фракции S2 соответственно;

d) экстрагирования порошка со стадии a) этанолом с получением этанольного экстракта и отработанного материала;

e) высушивания отработанного материала со стадии d) в духовом шкафу при температуре 60-70°C, распыления и просеивания через сито с ячейками размером 40# с получением обезжиренного порошка Nigella sativa;

f) смешивания 2-5 % фракции S2, полученной на стадии b), с 30-40 % этанольного экстракта со стадии d) и 50-70 % обезжиренного порошка со стадии e) с получением композиции, содержащей тимогидрохинон, тимохинон и свободные жирные кислоты;

g) смешивания композиции со стадии f) с 0,001-1 % гедерагенина, представленного STR#4, полученного на стадии m), и/или 0,001-1 % α-гедерина, представленного STR#3, полученного на стадии i) способа, упомянутого во втором варианте осуществления, для получения композиции, содержащей тимогидрохинон, тимохинон, свободные жирные кислоты, α-гедерин и/или гедерагенин;

h) добавления стабилизаторов и усилителей биодоступности к композиции со стадии g);

i) составления смеси со стадии h) в таблетки, капсулы, мягкие гели, порошок, пилюли, сиропы, пастилки, суспензию, эмульсии.

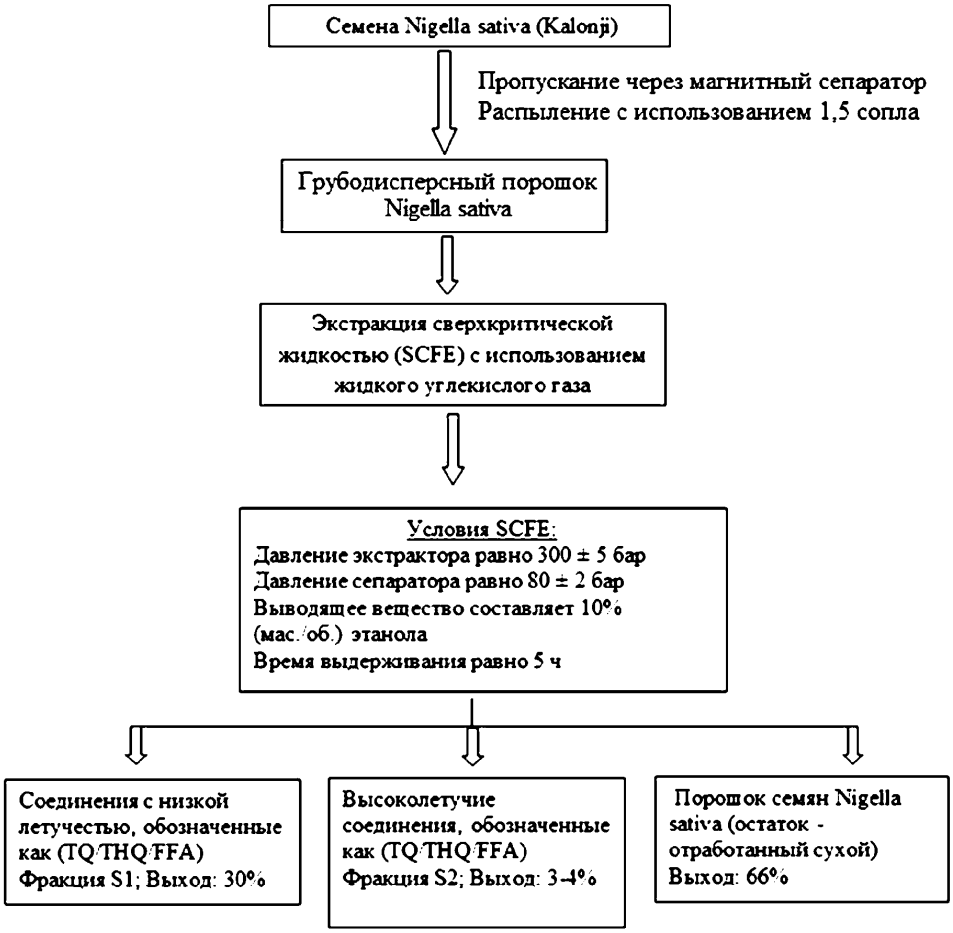
В связанном варианте осуществления композицию стандартизируют так, чтобы она содержала приблизительно 0,1-5 мас./мас.% тимохинона, приблизительно 0,01-10 мас./мас.% тимогидрохинона, приблизительно 20-95 мас./мас.% жирных кислот, приблизительно 0,001-3 мас./мас.% α-гедерина и/или гедерагенина, 0,1-4,0 мас./мас.% стабилизатора и 0,2-2 мас./мас.% усилителя биодоступности. В другом связанном варианте осуществления свободные жирные кислоты в композициях содержат менее 0,5 мас./мас.% жирных кислот Ω3 (омега-3), 40-70 мас./мас.% жирных кислот Ω6 (омега-6) и 15-25 мас./мас.% жирных кислот Ω9 (омега-9). В другом связанном варианте осуществления стабилизатор выбран из группы, состоящей из розмариновой кислоты, бутилированного гидроксианизола, бутилированного гидрокситолуола, метабисульфита натрия, пропилгаллата, цистеина, аскорбиновой кислоты и токоферолов. В связанном варианте осуществления стабилизатор предпочтительно представляет собой розмариновую кислоту. В еще одном связанном варианте осуществления усилитель биодоступности выбран из группы пиперина, кверцетина, экстракта чеснока, экстракта имбиря и нарингина. В связанном варианте осуществления усилитель биодоступности предпочтительно представляет собой пиперин.

Вышеупомянутые наиболее предпочтительные варианты осуществления, включающие технические признаки и технические эффекты настоящего изобретения, поясняются посредством иллюстративных примеров, приведенных ниже.

Пример 1. Способ выделения активных молекул из Nigella sativa путем экстракции SCFE и получения композиции.

Настоящее изобретение относится к композициям, содержащим тимогидрохинон и другие биологически активные вещества, выделенные из семян Nigella sativa. На блок-схеме № 1 показан процесс выделения тимохинона (TQ) и тимогидрохинона из семян Nigella sativa:

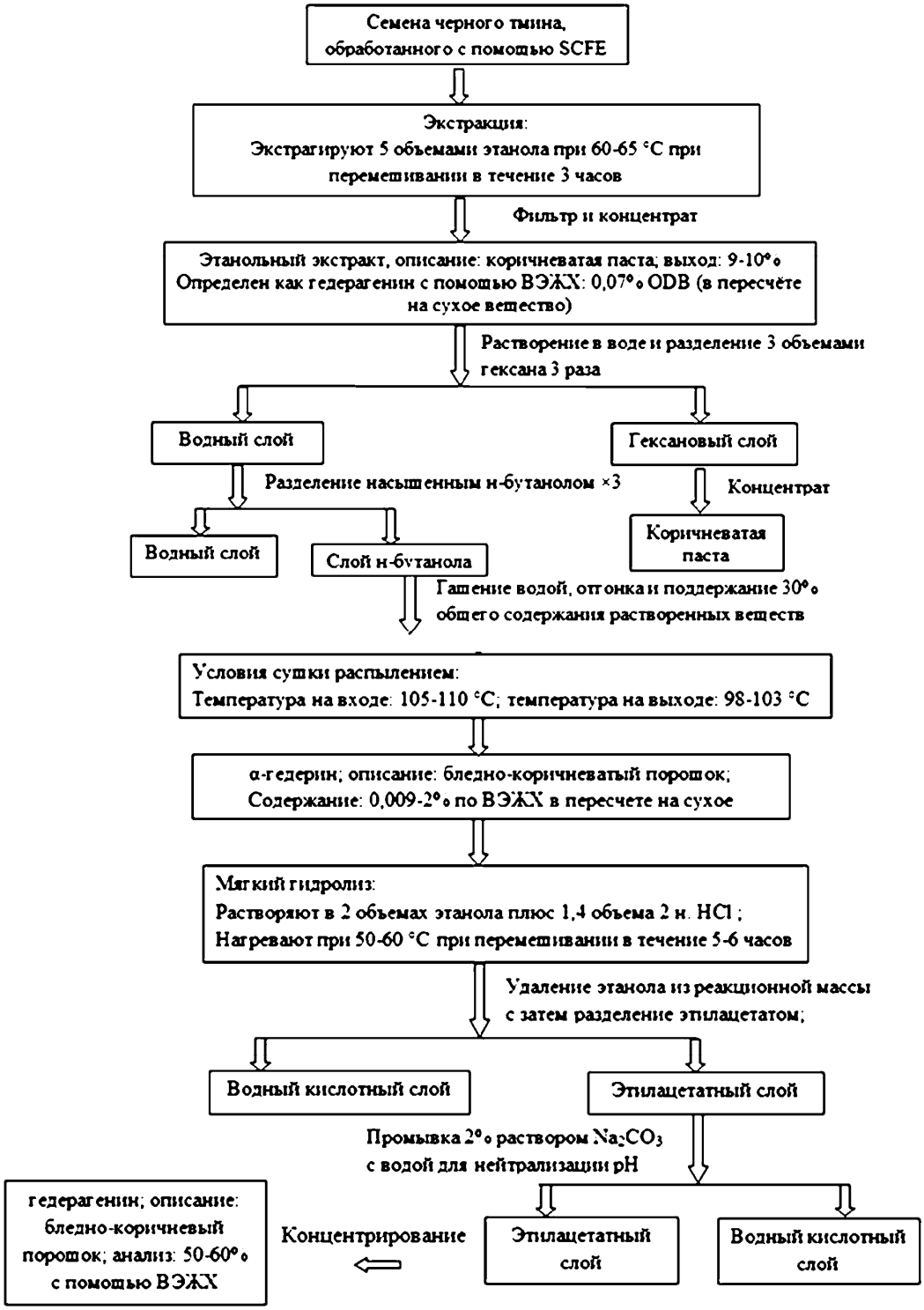
Блок-схема № 1: способ выделения тимохинона (TQ) и тимогидрохинона (THQ)



Вышеуказанный способ приводит к получению двух фракций, содержащих TQ, THQ и свободные жирные кислоты (FFA) с высокими общими выходами 30% и 3-4% соответственно. Содержание TQ, THQ во фракции S2 является пропорционально высоким.

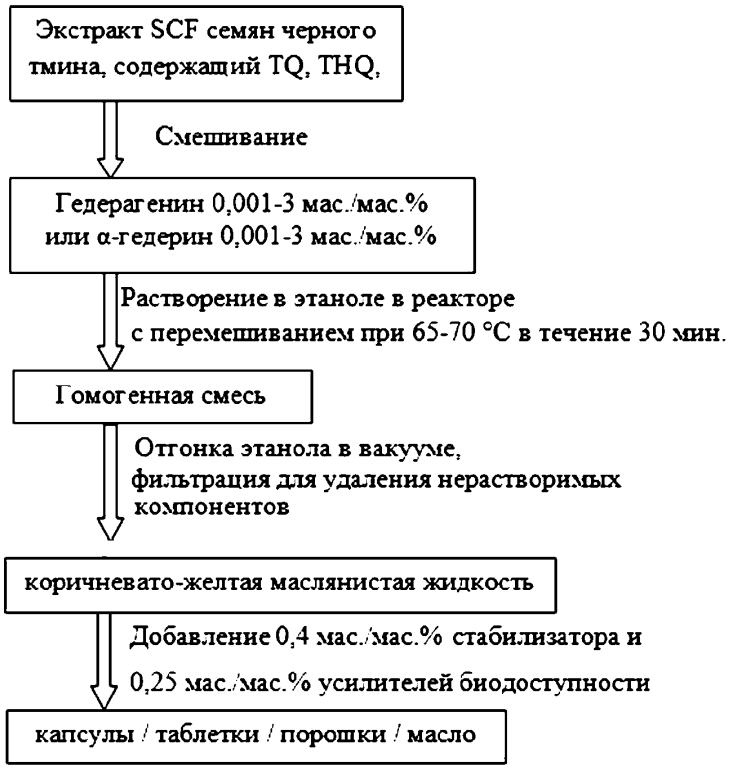
Отработанный материал из вышеописанного способа обрабатывали для получения дополнительных компонентов, таких как гедерагенин и α-гедерин. На блок-схеме № 2 показан способ выделения гедерагенина и α-гедерина.

Блок-схема № 2: способ выделения гедерагенина и α-гедерина



Блок-схема ниже (блок-схема № 3) описывает способ смешивания состава, содержащего тимохинон, тимогидрохинон, α-гедерин или гедерагенин.

Блок-схема № 3: композиция, содержащая тимохинон, тимогидрохинон, α-гедерин или гедерагенин



Пример 2. Способ выделения активных молекул из Nigella sativa путем экстракции этанолом и получение композиции.

В альтернативном способе семена Nigella sativa подвергали экстракции этанолом и композицию составляли с биологически активными веществами, выделенными как путем SCFE, так и этанольной экстракцией. Блок-схема № 4 описывает способ выделения биологически активных веществ из Nigella sativa.

Блок-схема № 4

Композицию, содержащую тимохинон, тимогидрохинон, α-гедерин или гедерагенин и свободные жирные кислоты, смешивали с активными веществами, выделенными вышеуказанным способом, как описано в табл. 1.

Таблица 1

Состав композиции

№ фракции	Наименование материала для смешивания	Название	Процентное содержание (%)
1	Экстракт SCFE из семян черного тмина (фракция S2)	A	2 - 5
2	Этанольный экстракт из семян черного тмина	B	30 - 40
3	Обезжиренный порошок	C	50 - 70
4	Гедерагенин или α-гедерин	-	0,001 - 1

Пример 3. Композиции, содержащие тимогидрохинон.

С помощью способов, описанных выше, были приготовлены следующие композиции, включающие тимохинон, тимогидрохинон, гедерагенин или α-гедерин и свободные жирные кислоты. В табл. 2 раскрыты различные композиции и концентрации отдельных активных веществ. Композиции дополнительно содержат стабилизаторы (розмариновая кислота) и усилители биодоступности (пиперин).

Таблица 2

Композиции, содержащие тимогидрохинон

	TQ (%)	THQ (%)	Гедерагенин или α-гедерин (%)	Жирные кислоты (%)
Композиция 1	0,1 - 5,0	0,01-10	0,001 - 1	больше 85 %
Композиция 2 (Белый эксципиент)	0,1 - 5,0	0,01-10	0,001 - 1	больше 20 %
Композиция 3 (Этанольный экстракт - черный эксципиент)	0,1 - 5,0	0,01-10	0,001 - 1	больше 20 %

Общие жирные кислоты в композиции были дополнительно охарактеризованы с помощью газовой хроматографии и, как было обнаружено, были богаты Ω3, 6, 9. Результаты сведены в табл. 3.

Таблица 3

Жирные кислоты в композициях, содержащих тимогидрохинон

Название жирной кислоты	Композиция 1 (%)	Композиция 2 (%)	Композиция 3 (%)
Омега 3	0-0,2	0,2	0,0
Омега 6	50-66	55	44
Омега 9	16-23	22	18

В данной области техники хорошо известно, что тимохинон и тимогидрохинон являются двумя основными компонентами эфирного масла семян черного тмина. Хотя тимогидрохинон является восстановленной формой тимохинона, химические и биологические свойства этих молекул отличаются друг от друга. Исследования антиоксидантных и противовоспалительных свойств активных веществ показали, что тимогидрохинон является более мощным антиоксидантом и противовоспалительной молекулой, чем тимохинон. Большинство способов, которые используются для выделения биологически активных веществ из семян черного тмина, позволяют получать только тимохинон. В настоящем изобретении описан

новый способ, в результате которого получают композицию с повышенным содержанием тимогидрохинона.

Исследование стабильности с ускоренной деградацией показало, что наблюдается постепенное увеличение количества тимогидрохинона с уменьшением содержания тимохинона.

Таблица 4

Исследование стабильности с ускоренной деградацией

Продолжительность исследования	Содержание TQ (%), определенное с помощью газовой хроматографии	Разница в содержании TQ	Процентная разница в содержании TQ	Содержание THQ (%), определенное с помощью газовой хроматографии	Разница в содержании THQ (%)	Процентная разница в содержании THQ
Первоначальное значение (0 месяцев)	0,733	0	0	0,033	0	0
1-й месяц	0,717	0,016	-2,18	0,037	0,004	+12,12
2-й месяц	0,706	0,027	-3,68	0,041	0,008	+24,24
3-й месяц	0,622	0,111	- 15,14	0,092	0,059	+178,78
6-й месяц	0,548	0,185	-25,23	0,120	0,087	+263,63

Исследование стабильности с ускоренной деградацией показывает постепенное увеличение количества тимогидрохинона с уменьшением содержания тимохинона.

Таблица 5

Исследование долгосрочной стабильности

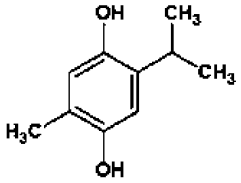
Продолжительность исследования	Содержание TQ (%), определенное с помощью газовой хроматографии	Разница в содержании TQ	Процентная разница в содержании TQ	Содержание THQ (%), определенное с помощью газовой хроматографии	Разница в содержании THQ	Процентная разница в содержании THQ
Первоначальное значение (0 месяцев)	0,733	0	0	0,033	0	0
3-й месяц	0,643	0,09	-12,27	0,095	0,062	+187,88
6-й месяц	0,634	0,099	-13,50	0,138	0,105	+318,18

Таким образом, композиции, обогащенные тимогидрохиноном, могут проявлять улучшенные терапевтические свойства и могут вводиться для лечения многих заболеваний и расстройств.

Другие модификации и изменения изобретения будут очевидны для специалистов в данной области техники из предшествующего раскрытия и идей. Таким образом, хотя в данном документе конкретно описаны только некоторые варианты осуществления изобретения, будет очевидно, что в него могут быть внесены многочисленные модификации, не выходящие за пределы сущности и объема изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, имеющая антиоксидантную и противовоспалительную активность, где композиция представляет собой таблетку, капсулу, мягкий гель, порошок, пилюлю, сироп, пастилку, суспензию или эмульсию, содержащая тимогидрохинон, представленный STR#1



STR#1

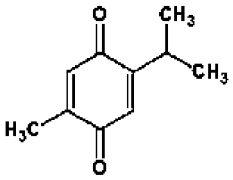
,

выделенный из семян Nigella sativa, где указанная композиция является стандартизированной, чтобы содержать 0,1-5 мас./мас.% тимохинона, 0,01-10 мас./мас.% тимогидрохинона, 20-95 мас./мас.% жирных кислот, 0,001-3 мас./мас.% α-гедерина, 0,1-4,0 мас./мас.% розмариновой кислоты и 0,2-2 мас./мас.% пиперина, и где указанную композицию получают с использованием способа, включающего стадии:

a) измельчения в порошок семян Nigella sativa, распыления с использованием 1,5 мм сопла и пропускания через магнитный сепаратор с получением грубодисперсного порошка;

b) подвергания порошка со стадии a) экстракции сверхкритической жидкостью (SCFE) с использованием жидкого CO_2 с получением трех фракций: низколетучих соединений - фракция S1, высоколетучих соединений - фракция S2 и отработанного остатка;

c) идентификации соединений во фракциях с низкой летучестью и высокой летучестью как тимохинона, представленного STR#2



STR#2

,

тимогидрохинона, представленного STR#1, и свободных жирных кислот с использованием газовой хроматографии с общим выходом 10-40% во фракции S1 и 1-6% во фракции S2 соответственно;

d) экстрагирования отработанного остатка со стадии b) 5 объемами этанола при 60-65°C при перемешивании в течение 3 ч;

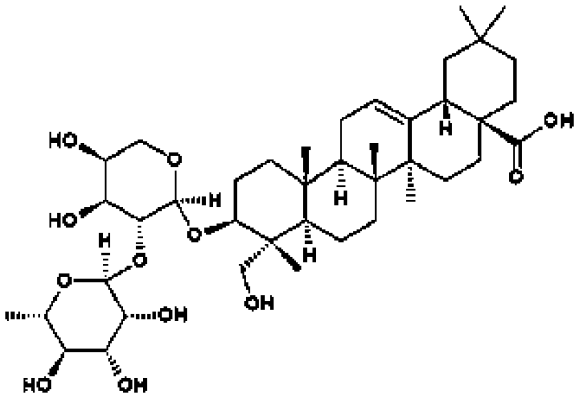
e) фильтрования концентрированного этанольного экстракта со стадии d) с получением коричневатой пасты;

f) растворения коричневатой пасты со стадии e) в воде и трехкратного фракционирования тремя объемами гексана с получением водной и гексановой фракций;

g) трехкратного фракционирования водной фракции со стадии f) н-бутанолом;

h) гашения фракции н-бутанола со стадии g) водой для удаления растворителя при сохранении 20-30% общего количества растворенных твердых веществ;

i) сушки распылением с получением бледно-коричневатого порошка, идентифицированного с помощью ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) как α-гедерин (CAS № 27013-91-8), представленный STR#3



STR#3

с выходом 0,001-5% в пересчете на сухое вещество;

j) смешивания фракции S2 со стадии c) с α-гедерином со стадии i) с получением смеси, содержащей тимогидрохинон, тимохинон, α-гедерин и свободные жирные кислоты;

k) растворения смеси со стадии j) этанолом в реакторе с перемешиванием при 65-70°C в течение 30 мин с получением гомогенной смеси;

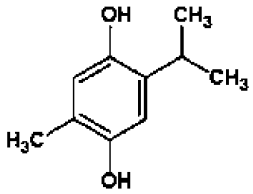
l) отгонки этанола из смеси со стадии k) в вакууме и фильтрования для удаления нерастворимых веществ с получением коричневато-желтой маслянистой жидкости;

m) добавления стабилизаторов и усилителей биодоступности к смеси со стадии l);

n) составления смеси со стадии m) в таблетки, капсулы, мягкие гели, порошок, пилюли, сиропы, пастилки, суспензию, эмульсии.

2. Композиция по п.1, в которой свободные жирные кислоты в композициях содержат менее 0,5 мас./мас.% жирных кислот Ω3 (омега-3), 40-70 мас./мас.% жирных кислот Ω6 (омега-6) и 15-25 мас./мас.% жирных кислот Ω9 (омега-9).

3. Композиция, имеющая антиоксидантную и противовоспалительную активность, где композиция представляет собой таблетку, капсулу, мягкий гель, порошок, пилюлю, сироп, пастилку, суспензию или эмульсию, содержащая тимогидрохинон, представленный STR#1



STR#1

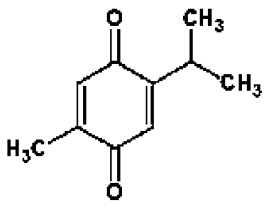
,

выделенный из семян Nigella sativa, где указанная композиция является стандартизированной, чтобы содержать 0,1-5 мас./мас.% тимохинона, 0,01-10 мас./мас.% тимогидрохинона, 20-95 мас./мас.% жирных кислот, 0,001-3 мас./мас.% гедерагенина, 0,1-4,0 мас./мас.% розмариновой кислоты и 0,2-2 мас./мас.% пиперина, и где указанную композицию получают с использованием способа, включающего стадии:

a) измельчения в порошок семян Nigella sativa, распыления с использованием 1,5 мм сопла и пропускания через магнитный сепаратор с получением грубодисперсного порошка;

b) подвергания порошка со стадии a) экстракции сверхкритической жидкостью (SCFE) с использованием жидкого CO_2 с получением трех фракций: низколетучих соединений - фракция S1, высоколетучих соединений - фракция S2 и отработанного остатка;

c) идентификации соединений во фракции S1 и фракции S2 как тимохинона, представленного STR#2



STR#2

,

тимогидрохинона, представленного STR#1, и свободных жирных кислот с использованием газовой хроматографии с общим выходом 10-40% во фракции S1 и 1-6% во фракции S2 соответственно;

d) экстрагирования отработанного остатка со стадии b) 5 объемами этанола при 60-65°C при перемешивании в течение 3 ч;

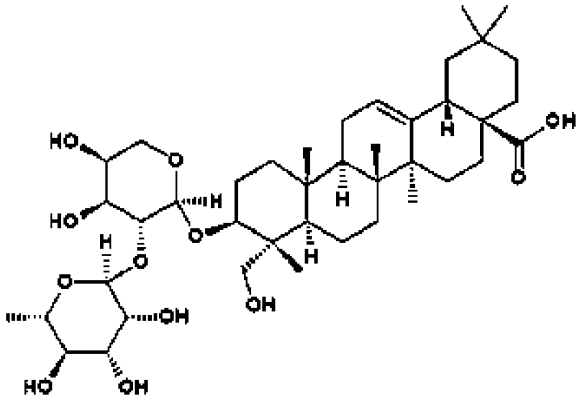
e) фильтрования концентрированного этанольного экстракта со стадии d) с получением коричневатой пасты;

f) растворения коричневатой пасты со стадии e) в воде и трехкратного фракционирования тремя объемами гексана с получением водной и гексановой фракций;

g) трехкратного фракционирования водной фракции со стадии f) н-бутанолом;

h) гашения фракции н-бутанола со стадии g) водой для удаления растворителя при сохранении 20-30% общего количества растворенных твердых веществ;

i) сушки распылением с получением бледно-коричневатого порошка, идентифицированного с помощью ВЭЖХ как α-гедерин, представленный STR#3



STR#3

,

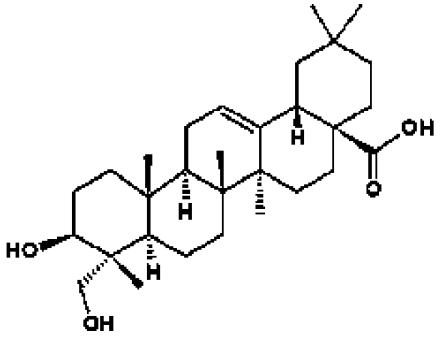
с выходом 0,001-5% в пересчете на сухое вещество;

j) подвергания порошка со стадии i) мягкому гидролизу путем растворения в 2 объемах этанола, 1,4 объемах 2 н. HCl и нагревания смеси при 50-60°C при перемешивании в течение 5-6 ч;

k) удаления фракции этанола из реакционной массы с получением фракции этилацетата;

l) промывания этилацетатной фракции 2% раствором Na_2CO_3 для нейтрализации pH;

m) отделения этилацетатной фракции и концентрирования с получением бледно-коричневого порошка, идентифицированного с помощью ВЭЖХ как гедерагенин, представленный STR#4



STR#4

,

с чистотой 40-70%;

n) смешивания фракции S2 со стадии c) с гедерагенином со стадии m) с получением смеси, содержащей тимогидрохинон, тимохинон, гедерагенин и свободные жирные кислоты;

o) растворения смеси со стадии n) этанолом в реакторе с перемешиванием при 65-70°C в течение 30 мин для получения гомогенной смеси;

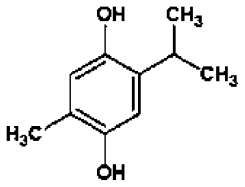
p) отгонки этанола из смеси со стадии o) в вакууме и фильтрования для удаления нерастворимых веществ с получением коричневато-желтой маслянистой жидкости;

q) добавления стабилизаторов и усилителей биодоступности к смеси со стадии p);

r) составления смеси со стадии q) в таблетки, капсулы, мягкие гели, порошок, пилюли, сиропы, пастилки, суспензию, эмульсии.

4. Композиция по п.3, в которой свободные жирные кислоты в композициях содержат менее 0,5 мас./мас.% жирных кислот Ω3 (омега-3), 40-70 мас./мас.% жирных кислот Ω6 (омега-6) и 15-25 мас./мас.% жирных кислот Ω9 (омега-9).

5. Композиция, имеющая антиоксидантную и противовоспалительную активность, где композиция представляет собой таблетку, капсулу, мягкий гель, порошок, пилюлю, сироп, пастилку, суспензию или эмульсию, содержащая тимогидрохинон, представленный STR#1



STR#1

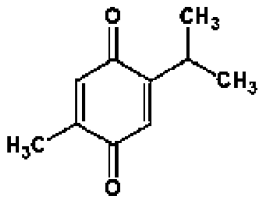
,

выделенный из семян Nigella sativa, где указанная композиция является стандартизированной, чтобы содержать 0,1-5 мас./мас.% тимохинона, 0,01-10 мас./мас.% тимогидрохинона, 20-95 мас./мас.% жирных кислот, 0,001-3 мас./мас.% α-гедерина и/или гедерагенина, 0,1-4,0 мас/мас.% розмариновой кислоты и 0,2-2 мас./мас.% пиперина, и где указанную композицию получают с использованием способа, включающего стадии:

a) измельчения в порошок семян Nigella sativa, распыления с использованием 1,5 мм сопла и пропускания через магнитный сепаратор с получением грубодисперсного порошка;

b) подвергания порошка со стадии a) экстракции сверхкритической жидкостью (SCFE) с использованием жидкого CO_2 с получением трех фракций: низколетучих соединений - фракция S1, высоколетучих соединений - фракция S2 и отработанного остатка;

c) идентификации соединений в низколетучих и высоколетучих фракциях как тимохинона, представленного STR#2



STR#2

,

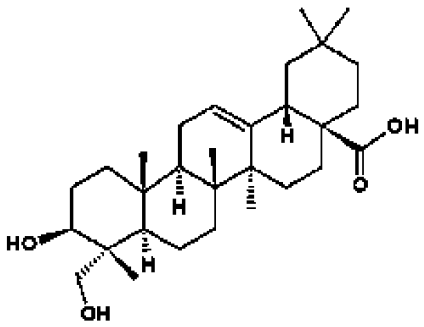
тимогидрохинона, представленного STR#1, и свободных жирных кислот с использованием газовой хроматографии с общим выходом 10-40% во фракции S1 и 1-6% во фракции S2 соответственно;

d) экстрагирования порошка со стадии a) этанолом с получением этанольного экстракта и отработанного материала;

e) сушки отработанного материала со стадии d) в духовом шкафу при температуре 60-70°C, распыления и просеивания через сито с ячейками размером 40# с получением обезжиренного порошка Nigella sativa;

f) смешивания 2-5% фракции S2, полученной на стадии b), с 30-40% этанольного экстракта со стадии d) и 50-70% обезжиренного порошка со стадии e) с получением композиции, содержащей тимогидрохинон, тимохинон и свободные жирные кислоты;

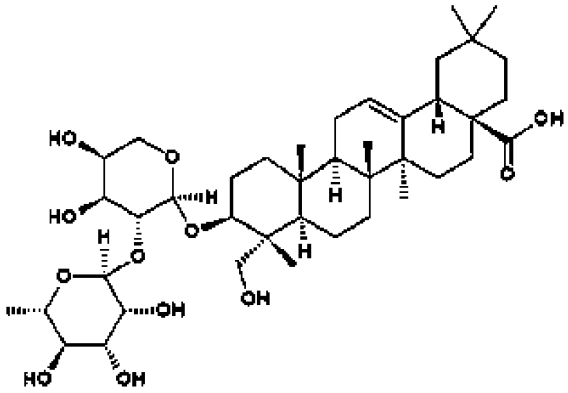
g) смешивания композиции со стадии f) с 0,001-1% гедерагенина, представленного STR#4



STR#4

,

полученного на стадии m) по п.2, и/или 0,001-1% α-гедерина, представленного STR#3



STR#3

,

полученного на стадии i) по п.2, с получением композиции, содержащей тимогидрохинон, тимохинон, свободные жирные кислоты, α-гедерин и/или гедерагенин;

h) добавления стабилизаторов и усилителей биодоступности к композиции со стадии g);

i) составления смеси со стадии h) в таблетки, капсулы, мягкие гели, порошок, пилюли, сиропы, пастилки, суспензию, эмульсии.

6. Композиция по п.5, в которой свободные жирные кислоты в композициях содержат менее 0,5 мас./мас.% жирных кислот Ω3 (омега-3), 40-70 мас./мас.% жирных кислот Ω6 (омега-6) и 15-25 мас./мас.% жирных кислот Ω9 (омега-9).

Евразийская патентная организация, ЕАПВ
Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2