

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **047640**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.08.16

(21) Номер заявки
202290452

(22) Дата подачи заявки
2020.07.31

(51) Int. Cl. **A61K 36/25** (2006.01)
A61K 36/53 (2006.01)
A61K 47/00 (2006.01)
B01D 1/00 (2006.01)

**(54) МЕМБРАННАЯ ФИЛЬТРАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЦИКЛОДЕКСТРИНА**

(31) 19189464.1

(32) 2019.07.31

(33) EP

(43) 2022.05.04

(86) PCT/EP2020/071738

(87) WO 2021/019097 2021.02.04

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
БИНОРИКА СЕ (DE)

(72) Изобретатель:
Рубнер Мориц, Ферш Сильвия (DE)

(74) Представитель:
Можайский М.А. (RU)

(56) N.N. "Cefacur" 01 June 2018 (2018-06-01), Retrieved from the Internet: https://www.cefak.com/fileadmin/user_upload/pdf_ratgeber/cefacur-ratgeber.pdf [retrieved on 2020-01-20], XP055659290, the whole document

EP-A1-2621505

JP-A-H05236877

WADHWA GEETIKA ET AL. "Essential oil-cyclodextrin complexes: an updated review", JOURNAL OF INCLUSION PHENOMENA AND MACROCYCLIC CHEMISTRY, KLUWER, DORDRECHT, NL, Vol. 89, No. 1, 21 August 2017 (2017-08-21), pages 39-58 [retrieved on 2017-08-21], DOI: 10.1007/S10847-017-0744-2, ISSN: 1388-3127, XP036321530, cited in the application, the whole document

(57) Настоящее изобретение относится к способу получения состава, имеющего пониженное содержание спирта или не содержащего спирт, по меньшей мере из одного спиртосодержащего растительного экстракта фильтрацией через мембранный фильтр с применением циклодекстрина.

047640

B1

047640
B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к способу получения состава, имеющего уменьшенное содержание спирта или не содержащего спирт, по меньшей мере из одного спиртосодержащего растительного экстракта с использованием мембранной фильтрации с использованием циклодекстрина.

Уровень техники

Лекарственные растения содержат ингредиенты с фармакологическим действием, возможно, обогащенные ими в определенных частях растения, таких как корни, листья, цветы или плоды, и являются основой для значительного количества лекарственных препаратов и пищевых добавок. Существуют различные способы получения этих ингредиентов, большинство из которых работает по принципу экстракции того или иного вида, включая настаивание или перколяцию растений с подходящим экстрагентом или растворителем, но в основном со спиртом, в результате чего получается более или менее избирательный раствор и накопление определенных активных растительных веществ или групп активных веществ в экстрагенте или экстракте. При этом получают спиртосодержащие растительные экстракты. Однако спиртосодержащие фармацевтические препараты, настои и жидкие экстракты на основе растительных экстрактов постоянно подвергаются критике. В качестве экстрагентов для растительных экстрактов, в основном, используются водно-этанольные растворители, которые могут содержать от 30 до 70% этанола. Жидкие экстракты включают в такие лекарственные формы, как, например, капли или соки. При этом существует большая потребность в средствах, не содержащих спирта, в частности, в фармацевтических препаратах из растительных экстрактов.

Мембранная фильтрация представляет собой процесс фильтрации под давлением, который используется для селективного разделения молекул с молекулярной массой, составляющей по меньшей мере 100 дальтон, и размером до 5 мкм, как правило, при низких температурах, например, при температуре окружающей среды, без фазового перехода.

Особым вариантом осуществления мембранной фильтрации является обратный или реверсный осмос. Обратный осмос представляет собой процесс, выполняемый под высоким давлением и применяемый для выделения воды или спирта из технологических жидкостей, в частности, для концентрирования низкомолекулярных соединений. Обратный или реверсный осмос - это физический способ концентрирования веществ, растворенных в жидкостях, который под действием давления делается обращенным относительно естественного процесса осмоса.

Другие варианты осуществления мембранной фильтрации в зависимости от величины молекул и приложенных давлений включают как ультрафильтрацию, так и нано- и микрофильтрацию.

Из уровня техники известно применение мембранной фильтрации, в частности, обратного осмоса, в технологии изготовления продовольственных продуктов, например при производстве безалкогольного пива.

В процессе мембранной фильтрации из исходной жидкости или сырья образуется пермеат (фильтрат), содержащий удаленный спирт и воду, в то время как ретант задерживается на мембране и, таким образом, концентрируется (концентрат).

В документе EP 2621505 B1 описана деалкоголизация таких растительных экстрактов, как экстракт тимьяна, экстракт фенхеля и т.п. с применением диспергатора и смачивателя, в частности, на основе масел, жиров, жирных кислот, лецитинов и глицеридов.

При этом существует потребность в дальнейшем усовершенствовании деалкоголизации растительных экстрактов.

Раскрытие сущности изобретения

Циклодекстрины широко известны из уровня техники, однако авторам впервые удалось успешно использовать циклодекстрины для деалкоголизации растительных экстрактов. В частности, пригодность циклодекстринов для получения соединений включения позволяет увеличивать размер молекул, чтобы обеспечивать возможность удержания их на мембране во время мембранной фильтрации. Такие молекулы могут предпочтительно представлять собой низкомолекулярные соединения, в частности, терпен, монотерпен, тимол, карвакрол, лимонен, 1,8-цинеол и 1,4-цинеол, п-цимол, анетол, эвгенол, фенхон, миристицин, ваниллин, эстрагол, цингиберол, пинен, линалоол, терпинеол, мирцен, ментон, ментол, фелландрен, ментан, карвеол и дигидрокарвеол, карвон, туйон, борнеол, 3-карен и многие другие.

Сюда же включаются соответствующие стереоизомеры, диастереоизомеры, энантиомеры, в частности, (+), (-), альфа, бета, R, S и т.п.

Таким образом, изобретение относится к способу получения состава с уменьшенным содержанием спирта или не содержащего спирта, по меньшей мере из одного растительного экстракта, при этом указанный состав имеет содержание спирта менее 10 об.%, в частности, менее 5 об.%, предпочтительно менее 2,5 об.%, в частности, менее 1,5 об.%, или равное 5000 м.д. (0,5 объемного процента) или меньшее или даже равное 0,0% или большее, а указанный способ включает следующие этапы:

- (а) обеспечение по меньшей мере одного спиртосодержащего растительного экстракта;
- (б) добавление по меньшей мере одного циклодекстрина или производного циклодекстрина;
- (в) удаление спирта фильтрацией через мембранный фильтр (пермеат);
- (г) отбор состава (ретанта) с уменьшенным содержанием спирта или не содержащего спирта.

Полученный ретант может быть снова использован на этапе (а), чтобы дополнительно уменьшить содержание спирта. Полученный ретант в случае необходимости может быть разбавлен водой.

В контексте настоящего изобретения под термином "не содержащий спирта (бесспиртовой)" понимается содержание спирта, в частности, этанола, в жидком составе, меньшее, чем 1,5 об.%, предпочтительно - равное или 5000 м.д. меньше, равное 0,0 об.% или большее. В случае необходимости могут быть использованы дополнительные вспомогательные компоненты и добавки, в частности, консерванты (в том числе сорбат калия, сорбиновая кислота, бензоат натрия), регуляторы pH (в том числе лимонная кислота моногидрат), буферы (в том числе глюконат натрия), агенты растворения (в том числе глицерин, монопропиленгликоль, полиэтиленгликоль), усилители вязкости (в том числе поливинилпирролидон, ксантановая смола, натрий-карбоксиметилцеллюлоза, альгинат натрия, мальтодекстрин, метилцеллюлоза), солубилизаторы (в том числе макроглицеролгидроксистеарат, октенилсукцинат крахмала), подсластители (в том числе сахароза, мальтит, сорбитол, изомальт, сахарин натрия), отдушки, растворители (очищенная вода), красители, антиоксиданты (в том числе аскорбиновая кислота), хелатирующие агенты (в том числе натриевая соль этилендиаминуксусной кислоты), вспомогательные вещества для фильтрации (в том числе поливинилпирролидон с поперечной сшивкой макромолекул), чтобы получить конечный продукт, не содержащий спирта.

В контексте настоящего изобретения под термином "циклодекстрин (сокращенно: ЦД)" понимается невосстанавливающийся циклический сахарид, называемый также циклогексаамилозой и состоящий из шести или более α -1,4-связанных D-глюкопиранозильных звеньев, который получается из гидролизованного крахмала под действием циклоглюкозилтрансферазы (CGTase, код классификации фермента 2.4.1.19). В зависимости от количества D-глюкопиранозильных звеньев различают альфа, бета, гамма и дельта-циклодекстрин, пригодный для образования соединений включения с какой-либо молекулой. Изобретение включает также производные циклодекстринов, в частности, алкилциклодекстрины или ацилциклодекстрины, например, метил- β -циклодекстрин или гидроксиалкилциклодекстрины, как, например, 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин, при этом гидроксильные группы являются производными от остатка глюкозы.

За образование комплексов включения с ЦД могут быть ответственными силы Ван-дер-Ваальса, электростатические взаимодействия, образование водородных мостиков и взаимодействия с переносом заряда. Вытеснение воды из полости и уменьшение конформационных напряжений играют лишь второстепенную роль. Связывающие взаимодействия α -, β - и γ -ЦД, например, с тимолом в кристаллическом и растворенном состоянии обобщены в работе Seborgska (2018). Взаимодействия тимолом с α - и β -ЦД были исследованы спектроскопически и с использованием молекулярного докинга и моделирования в работе Bose et al. (2019). Согласно этим исследованиям сольватизированные молекулы тимолом связываются внутри α - и β -ЦД в молярном отношении 1:1. Таким образом, обеспечивается увеличение размера молекул тимолом.

В рамках данного изобретения под термином "растительный экстракт" понимается многокомпонентная смесь природных веществ, которая содержит более, чем два природных вещества, в частности, более, чем 10 или 100 природных веществ, в частности, более, чем 200, 300, 500 или 1000 природных веществ. Растительные экстракты могут быть получены из растительных материалов, например, с использованием экстракции, перколяции или настаивания. В качестве экстрагента могут применяться спиртосодержащие растворители, спирты C1-C5, в частности, этанол. Традиционная экстракция представляет собой, например, водно-этанольную экстракцию, в частности, в смеси воды и этанола (50:50, 70:30, 30:70), например, при 15-80°C и нормальном давлении. Термин "растительный экстракт" включает также жидкие экстракты (Extractum fluidum), при этом получают жидкий лекарственный препарат, для экстракции которого используется как можно меньше экстрагирующей жидкости. Это оказывает влияние на соотношение содержания лекарственного препарата и экстракта (Drogen-Extrakt-Verhältnis, DEV).

В качестве растительных материалов согласно изобретению предпочтительно рассматриваются такие виды растений, как тысячелистник, алоэ, алтей, дудник, арника, полынь, конопля, перец, тмин, стеблелист, золототысячник, чистотел, воронец, цитрусовые, цикламен, артишок, эхинацея, хвощ, солодка, гваякум, плющ, хмель, иберийка, касатик, орех грецкий, лаванда, любисток, лилия, ромашка, Melissa, мята, базилик (душистый), лаконос, бедронец, примула, гранат, дуб, розмарин, щавель, ива, шалфей, бузина, расторопша, стрихнос, одуванчик, тимьян, вакцинум, валериана, вербена, витекс и виноград.

В качестве растительных материалов согласно изобретению предпочтительно рассматриваются такие виды растений, как тысячелистник обыкновенный, алоэ настоящее, алтей лекарственный, дудник лекарственный, арника горная, полынь обыкновенная, однолетняя и горькая, конопля индийская, конопля сорная, конопля посевная, перец стручковый, тмин обыкновенный, стеблелист василисниковидный, золототысячник, чистотел большой, воронец кистевидный, мандарин, апельсин, юдзу, лимон, помело, лайм, померанец, папеда ежеиглистая, лимон, грейпфрут, ладанник критский, цикламен пурпурный, артишок испанский, эхинацея пурпурная и узколистная, хвощ полевой, солодка обыкновенная, солодка китайская, солодка уральская, гваякум священное, плющ обыкновенный, хмель обыкновенный, иберийка горькая, касатик, орех грецкий, лаванда узколистная, любисток лекарственный,

лилия ланцетолистная, ромашка аптечная, мелисса лекарственная, мята канадская, мята полевая, мята перечная, базилик обыкновенный, лаконос американский, анис, примула весенняя, первоцвет высокий и первоцвет обыкновенный, гранат обыкновенный, дуб черешчатый, дуб скальный, дуб пушистый, розмарин, щавель курчавый, щавель туполистный, щавель альпийский, щавель шпинатный, щавель кислый, щавель воробьиный, щавель пирамидальный, ива пурпурная, ива волчьиная, ива ломкая, шалфей лекарственный, бузина черная, расторопша пятнистая, стрихнос Игнатия, одуванчик лекарственный, тимьян обыкновенный, клюква крупноплодная, черника, валериана лекарственная, вербена лекарственная, витекс священный и виноград культурный.

При этом концентрация циклодекстрина в жидком растительном экстракте или в жидком экстракте перед проведением мембранной фильтрации предпочтительно составляет 0,1-20 мас.%, более предпочтительно 3,7-4,2 мас.%.

В другом предпочтительном варианте осуществления мембранной фильтрации согласно изобретению размер пор мембраны составляет примерно от 0,0001 до 0,001 мкм. Такой размер пор позволяет задерживать на мембране молекулы, превышающие 100-200 дальтон. Особенно подходящими материалами для изготовления мембран являются, в частности, полиамиды, полисульфоны, полиэфир, полиэтилсульфон, полиэтилен, ацетат целлюлозы, целлюлоза и полипропилен. Химическая или физическая модификация материалов может оказывать влияние на избирательность.

Согласно изобретению мембранная фильтрация, в частности, обратный осмос, представляет собой способ повышения концентрации, осуществляемый с применением давления. При этом жидкость, в которой должна быть уменьшена концентрация, с использованием мембраны отделяется от среды, в которой должна быть увеличена концентрация спирта. Мембрана отличается свойствами селективной проницаемости. Процесс осмоса в результате повышения гидростатического давления проходит в обратном направлении, поэтому переход вещества возможен противоположно градиенту концентраций. Под действием возникающего трансмембранного давления осуществляется мембранная фильтрация, в частности, обратный осмос. Оказалось, что давления (перепад давления и/или градиент давления и/или гидростатический перепад давления), составляющие 5-80 бар, предпочтительно 10-60 бар, являются особенно пригодными для уменьшения содержания спирта, в частности, этанола, в растительных экстрактах с циклодекстринами согласно изобретению. При этом проницаемость мембраны можно регулировать, изменяя температуру процесса. Особенно предпочтительной является температура в пределах 5-60°C, предпочтительно 25-35°C. Кроме того, предпочтительно, чтобы процесс проходил непрерывно и в закрытой системе, чтобы, с одной стороны, минимизировать время процесса, а, с другой стороны, предотвратить возможность загрязнений, перекрестной контаминации и потери важных ингредиентов.

В другом варианте осуществления изобретения может предпочтительно производиться предварительная или последующая обработка растительных экстрактов, в частности, стерилизация посредством кратковременного нагрева, пастеризация, сверхпастеризация, стерилизующая фильтрация или т.п. Возможно также осуществление консервации с применением консервантов, например, сорбата калия.

Изобретение относится также к веществу, в частности, к бесспиртовому растительному экстракту, содержащему фармацевтические препараты или пищевые добавки, при этом указанное вещество содержит спирт в количестве менее 1,5%, предпочтительно 5000 м.д., однако содержание спирта составляет более нуля, и по меньшей мере один циклодекстрин или производное циклодекстрина и, необязательно, другие добавки и вспомогательные компоненты. При этом предпочтительно, чтобы содержание циклодекстрина или производного циклодекстрина составляло 0,1-5 мас.% (в расчете на общую массу или общий объем фармацевтического препарата).

Фармацевтический препарат может быть предпочтительно получен в жидкой форме, в частности, в лекарственной форме, выбранной из следующей группы: капли, сок, сироп, настой, в частности, глоточный спрей, а также дезинфицирующие растворы, назальный спрей, жидкие препараты для ингаляции, растворы для орошения, в частности, в комбинации с физиологическими и гиперосмолярными концентрациями солей или смесей солей, предпочтительно - поваренной соли, в частности, морской соли.

Примеры.

Приведенные далее примеры и прилагаемые чертежи более подробно поясняют изобретение, не ограничивая его.

Пример 1.

Приготовление продукта, поступающего в процесс обратного осмоса.

Вначале приготовили два спиртовых экстракта из взятых в качестве примера тимьяна (*Thymus*) и плюща (*Hedera*). Для получения жидкого экстракта тимьяна в качестве экстрагента использовали смесь из 90%-ного этанола, 85%-ного глицерина и 10%-ного раствора аммиака.

Для получения экстракта плюща применили 70%-ный этанол. Путем повышения концентрации и объединения аликвот экстракта плюща получили жидкий экстракт плюща с содержанием этанола 57 об.%.

Оба приготовленных жидких экстракта и HP-β-циклодекстрин смешали в отношении 10:1:1 (жидкий экстракт тимьяна: жидкий экстракт плюща: HP-β-циклодекстрин). Данный исходный продукт имел

содержание этанола 33,091 об.%.

Смесь перед проведением обратного осмоса разбавили водой в отношении 1:1. Приготовленный таким образом продукт, поступающий в процесс обратного осмоса, содержал 4,2% НР-β-циклодекстрина и 16,304 об.% этанола.

Для данной смеси была получена аналитическая хроматограмма, чтобы зафиксировать и определить характеристики всего спектра ингредиентов этого продукта, поступающего в процесс. Это необходимо для того, чтобы во время следующих опытов установить, изменился ли спектр ингредиентов продукта, поступившего в процесс.

Пример 2.

Уменьшение содержания этанола в продукте с циклодекстрином, поступающем в процесс, путем мембранной фильтрации.

Для деалкоголизации продукта с циклодекстрином, поступающего в процесс, как описано в примере 1, использовали обычную лабораторную установку для мембранной фильтрации.

Для определения эффективности фильтрации наряду с продуктом, поступающим в процесс, определили аналитические характеристики полученного пермеата и ретанта. При этом аналитическая хроматограмма, в свою очередь, служила для фиксации всех ингредиентов продукта, поступающего в процесс.

Целью обратного осмоса было отделение этанола, содержащегося в продукте, поступившем в процесс, с использованием мембранной фильтрации, чтобы при этом как можно меньше ингредиентов продукта отфильтровывать в пермеат.

Для этого произвели два опыта мембранной фильтрации с одним и тем же продуктом, поступившим в процесс.

В первом опыте использовали очищенную установку мембранной фильтрации. Во втором опыте, напротив, установка перед проведением основного опыта была предварительно кондиционирована с использованием продукта, поступающего в процесс. Для этого перед проведением основного опыта установка с встроенной мембраной была запущена в работу с продуктом, поступающим в процесс, чтобы смочить мембрану этим продуктом. В результате все свободные участки связывания полимерной мембраны были связаны с молекулами продукта, поступающего в процесс. Продукт, использованный для предварительного кондиционирования, был отброшен.

В следующей таблице обобщены полученные результаты.

Таблица 1
Первый опыт с очищенной установкой мембранной фильтрации
(без предварительного кондиционирования)

	Масса [г]	Содержание этанола [об. %]	Теоретическое содержание этанола [об. %] после смешивания с другими вспомогательными веществами для получения готового лекарственного средства
Перед обратным осмосом:			
Исходный продукт	557,4	33,091	6,56
Продукт, поступающий в процесс	1114,7	16,304	6,52
После обратного осмоса:			
Концентрат (ретант)	614,2	15,284	2,44
Пермеат	474,0	15,550	--

Таблица 2

Второй опыт с предварительно кондиционированной установкой мембранной фильтрации

	Масса [г]	Содержание этанола [об. %]	Теоретическое содержание этанола [об. %] после смешивания с другими вспомогательными веществами для получения готового лекарственного средства
Перед обратным осмосом:			
Исходный продукт	559,9	33,091	6,56
Продукт, поступающий в процесс	1119,8	16,236	6,49
После обратного осмоса:			
Концентрат (ретант)	794,1	16,087	2,13
Пермеат	298,7	15,502	---

Полученные концентраты, которые оптимальным образом содержали все ингредиенты продукта, представляли собой продукт. Полученный пермеат, который в идеальном случае содержал только этанол и воду без каких-либо ингредиентов продукта, напротив, был отброшен как отходы. Исходные объемы были уменьшены путем фильтрации пермеата.

Таким образом, в результате обоих проведенных опытов были получены концентраты, которые содержали примерно только 15-16 об.% этанола, при этом удалось снизить содержание спирта с 33,091 до 15-16 об.%.

Путем смешивания с другими вспомогательными веществами и добавками, как, например, консерванты (в том числе сорбат калия, сорбиновая кислота, бензоат натрия), регуляторы pH (в том числе лимонная кислота моногидрат), буферы (в том числе глюконат натрия), агенты растворения (в том числе глицерин, монопропиленгликоль, полиэтиленгликоль), усилители вязкости (в том числе поливинилпирролидон, ксантановая смола, натрий-карбоксиметилцеллюлоза, альгинат натрия, мальтодекстрин, метилцеллюлоза), солюбилизаторы (в том числе макроглицеролгидроксистеарат, октенилсукцинат крахмала), подсластители (в том числе сахароза, мальтит, сорбитол, изомальт, сахарин натрия), отдушки, растворители (очищенная вода), красители, антиоксиданты (в том числе аскорбиновая кислота), хелатирующие агенты (в том числе натриевая соль этилендиаминуксусной кислоты), вспомогательные вещества для фильтрации (в том числе поливинилпирролидон с поперечной сшивкой макромолекул) для приготовления лекарственного сока (например, для детей) полученное содержание этанола 5-6 об.% может быть снижено примерно до 2-3 об.%.

Для дополнительного уменьшения содержания этанола концентрат непрерывно разбавляли водой и затем подвергли обратному осмосу согласно изобретению. Уменьшение содержания этанола проводили до остаточной величины, равной примерно 2%. Путем последующего смешивания готового лекарственного средства с вышеуказанными вспомогательными веществами и добавками может быть получена бесспиртовая рецептура готового лекарственного средства с содержанием этанола менее 5000 м.д.

Оценка аналитических хроматограмм образцов, полученных во время опытов, показала, что профили ингредиентов продукта, поступающего в процесс, и концентрата по сравнению с исходным продуктом остались неизменными. В пермеате не обнаружили никаких веществ. Качественно полученный концентрат был идентичен продукту, поступающему в процесс, и, следовательно, используемому исходному продукту.

Таким образом, обратный осмос смеси экстрактов с применением циклодекстрина является чрезвычайно эффективным и предпочтительным в части удержания ингредиентов продукта в ретанте.

Пример 3.

Исследование влияния циклодекстрина при мембранной фильтрации.

Цель следующего опыта заключалась в том, чтобы исследовать влияние циклодекстрина в продукте, поступающем в процесс, при проведении мембранной фильтрации. Решающим фактором здесь является определение того, может ли добавка циклодекстрина количественно сильнее задерживать в ретанте тимол, содержащийся в продукте, поступающем в процесс, и, таким образом, в меньшей степени отфильтровывать его в пермеат. Тимол представляет собой очень важный, фармакологически значимый ингредиент тимьяна, однако, он относится к низкомолекулярным соединениям, поэтому особенно легко

отфильтровывается в пермеат.

Перед началом опыта снова приготовили в качестве исходного продукта смесь из жидкого экстракта тимьяна, жидкого экстракта плюща и HP-β-циклодекстрина (смесь в отношении 10:1:1, как в примере 1).

Для того чтобы целенаправленно исследовать влияние циклодекстрина на мембранную фильтрацию, приготовили такую же смесь жидких экстрактов, но без добавки HP-β-циклодекстрина (смесь жидкого экстракта тимьяна и жидкого экстракта плюща в отношении 10:1).

Оба приготовленных исходных продукта разбавили водой 1:1 и, таким образом, получили два идентичных продукта, поступающих в процесс - один с циклодекстрином и другой без циклодекстрина.

Приготовленный таким образом для использования в процессе продукт с циклодекстрином содержал 3,75% HP-β-циклодекстрина и имел содержание этанола 14,631 об. %.

Приготовленный для использования в процессе продукт без циклодекстрина имел содержание этанола 14,073 об. %.

Для проведения опытов снова использовали обычную лабораторную установку для мембранной фильтрации, которая позволяет в одинаковых условиях опытов одновременно испытывать различные мембраны. Для данного опыта установка была снабжена четырьмя различными мембранами для обратного осмоса (мембраны А-D).

В первом прогоне провели мембранную фильтрацию продукта с добавленным циклодекстрином. Для второго прогона использовали новые мембраны А-D в одинаковых условиях для фильтрации продукта, не содержащего циклодекстрина.

Для чувствительного аналитического контроля результатов опытов проводили количественное определение содержания тимола во всех полученных пермеатах.

Таблица 3
В следующей таблице обобщены результаты серии опытов

Наименование		Продукт, поступающий в процесс, с/без HP-β-циклодекстрина	Содержание тимола в продукте, поступающем в процесс, [мг/100 мг]	Содержание тимола в пермеате [мг/100 мг]	Степень извлечения тимола [%]
Пермеат	Мембрана А	с	0,01927	0,00001	0,05
Пермеат	Мембрана А	без	0,02261	0,00031	1,37
Пермеат	Мембрана В	с	0,01927	0,00001	0,05
Пермеат	Мембрана В	без	0,02261	0,00035	1,55
Пермеат	Мембрана С	с	0,01927	0,00052	2,70
Пермеат	Мембрана С	без	0,02261	0,00352	15,57
Пермеат	Мембрана D	с	0,01927	0,00094	4,88
Пермеат	Мембрана D	без	0,02261	0,00477	21,10

Оценку аналитических результатов проводили на основании расчетной степени извлечения тимола в пермеате. Чем меньше степень извлечения в пермеате, тем меньше переход тимола в пермеат и, следовательно, тем больше удержание тимола на стороне ретанта.

Степень извлечения тимола в пермеате при использовании продукта с циклодекстрином была значительно меньшей, чем в опытах без циклодекстрина. Таким образом, переход тимола в пермеат с применением циклодекстрина был особенно низким. Такой же результат удалось получить со всеми мембранами, т.е., эффект, который заключается в том, что циклодекстрин позволяет удерживать больше тимола на стороне ретанта, и, следовательно, меньше тимола может быть обнаружено в пермеате, был установлен независимо от применяемой мембраны. Этот вывод подтверждается тем, что серию опытов проводили с одним и тем же исходным продуктом, в одних и тех же условиях и с разными мембранами. Это означает, что колебания, связанные с системой, могут быть исключены.

Пример 4.

Проведение деалкоголизации.

Целью следующего опыта являлась деалкоголизация смеси экстрактов (исходный продукт) с циклодекстрином, при этом содержание этанола, составляющее в исходном продукте 25 мас.% было снижено по меньшей мере до ≤ 3 мас.%. Соответственно, из этого деалкоголизированного концентрата путем его смешивания с вспомогательными веществами может быть получено готовое лекарственное средство с содержанием этанола $\leq 0,6$ об.% или $\leq 0,5$ мас.%.

В этом опыте исходный продукт подвергся интенсивной деалкоголизации, однако, спектр ингредиентов исходного продукта в концентрате после деалкоголизации должен был остаться аналитически сравнимым или идентичным исходному продукту. Данный опыт был проведен с относительно большой массой продукта и с применением обычного оборудования для мембранной фильтрации - установки обратного осмоса с мембранным модулем.

Для опыта использовали два спиртовых экстракта из тимьяна и плюща, которые были приготовлены по одинаковой методике, как описано в примере 1. Оба жидких экстракта смешали в отношении 10:1:1 с НР- β -циклодекстрином. Согласно анализу содержание этанола в данном исходном продукте составило 32,79 об.%. Кроме того, получили аналитическую хроматограмму исходного продукта, чтобы зафиксировать весь спектр его ингредиентов и, таким образом, исходное качество.

Предварительное кондиционирование.

Перед процессом деалкоголизации провели предварительное кондиционирование установки обратного осмоса. Для этого в установке со встроенным мембранным модулем запустили циркуляцию смеси исходного продукта и воды (60,6% исходного продукта, 39,4% воды), чтобы смочить полимерную структуру мембранного модуля. Затем смесь исходного продукта и воды, использованную для предварительного кондиционирования, отбросили.

Деалкоголизация.

После окончания предварительного кондиционирования произвели непосредственно процесс деалкоголизации. Для деалкоголизации приготовили смешанный продукт, состоящий из 19,35% исходного продукта и 80,65% воды. Данный продукт, поступающий в процесс, имел содержание этанола 6,31 об.%, а также содержал 1,6% НР- β -циклодекстрина.

Во время выполнения обратного осмоса в концентрат постоянно добавляли воду, чтобы обеспечить непрерывное уменьшение содержания этанола в концентрате. Обратный осмос проводили до тех пор, пока содержание этанола в концентрате не достигло ≤ 3 мас.%, а масса концентрата не стала соответствовать массе исходного продукта.

В следующей табл. 4 обобщены результаты данного опыта.

Таблица 4

	Масса [кг]	Содержание этанола	Содержание этанола после смешивания с другими вспомогательными веществами для получения готового лекарственного средства
Перед обратным осмосом:			
Исходный продукт	11,868	32,79 об. % // 25,3 масс. %	6,12 об. % // 4,3 масс. %
Продукт, поступающий в процесс	61,333	6,31 об. % // 5,0 масс. %	---
После обратного осмоса:			
Концентрат (ретант)	11,162	3,81 об. % // 2,8 масс. %	0,62 об. % // 0,4 масс. %
Пермеат	103,117	4,68 об. % // 3,7 масс. %	---

Представленные результаты показывают, что деалкоголизация исходного продукта прошла успешно, и было достигнуто содержание этанола в концентрате ≤ 3 мас.%. Готовое лекарственное средство, изготовленное из концентрата, имело содержание этанола 0,4 мас.%.

В области растительных активных ингредиентов водно-этанольная экстракция позволяет получить значительно больший спектр ингредиентов, чем чисто водная экстракция. Важно сохранить этот спектр активных веществ и ингредиентов путем щадящей последующей деалкоголизации и тем самым сохранить элюирующую способность этанола. Поэтому аналитические исследования образцов, взятых из опытов, были сосредоточены на определении изменений общего состава сложных смесей в результате обратного осмоса с применением циклодекстрина.

Подводя итог результатам настоящего модельного эксперимента с тимьяном и плющом, можно еще раз подтвердить в этом опыте, что деалкоголизация исходного продукта (исходная смесь, состоящая из жидкого экстракта тимьяна, жидкого экстракта листьев плюща и циклодекстрина) прошла успешно. Начальное содержание этанола 25 мас.% удалось снизить примерно до 2,8 мас.%.

Другие ингредиенты исходного продукта в конце процесса практически не имели качественных и количественных изменений.

Таблица 5

Качественные анализы - сравнение профилей ингредиентов до и после деалкоголизации

<i>Определяемый параметр</i>	<i>Исходный продукт</i>	<i>Конечный(е) продукт(ы)</i>
<i>Отпечаток пальца ТСХ на сапонинах</i>	Отпечаток пальца не отличим	
<i>Отпечаток пальца ТСХ на флавоноидах</i>	Отпечаток пальца не отличим	
<i>Отпечаток пальца ГХ (прямой ввод)</i>	Небольшое отличие в интервале времени удерживания 6-43 мин.	
<i>Хроматограмма ВЭЖХ с МС</i>	Визуально очень хорошее совпадение 896 сигналов	

ТСХ - тонкослойная хроматография.

ГХ - газовая хроматография.

ВЭЖХ с МС - высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией.

Таблица 6

Количественные результаты — степень извлечения отдельных соединений после деалкоголизации

Количественно определяемый параметр	Степень извлечения в концентрате относительно исходного продукта
<i>Тимол</i>	99,8%
<i>Линалоол</i>	102,9%
<i>Терпине-4-ол</i>	98,1%
<i>Карвакрол</i>	99,1%
<i>Эвкалиптол</i>	103,3%
<i>Камфора</i>	98,4%
<i>Кариофиллен оксид</i>	111,8%
<i>Эвгенол</i>	102,0%
<i>Гедеракозид С</i>	97,0%
<i>Совпадение по газовой хроматографии (сумма пиков согласно Европейской фармакопее 1374 больше, чем предел количественного определения)</i>	98,3%

Отпечатки пальцев.

Наряду с количественными методами анализа для сравнения профилей использовали также качественные методы отпечатков пальцев. Эффективность этой методики особенно очевидна для веществ классов флавоноидов и сапонинов. Опосредованное циклодекстрином комплексообразование, описанное также для веществ этих классов, предотвращает потерю этих веществ при деалкоголизации в результате их прохождения на противоположную сторону мембраны в пермеат (см. фиг. 1).

На фиг. 1 показана хроматограмма тонкослойной хроматографии (отпечаток пальца тонкослойной хроматографии).

Способ прямого ввода для эфирных масел тимьяна, основанный на методике анализов Европейской фармакопее, обычно использует оценку в интервале времени удержания 6-43 мин. Хроматограммы, представленные на фиг. 2, показывают сравнение общих хроматограмм для образцов исходного продукта, концентрата и пермеата.

В вышеуказанном интервале оценки, в котором фиксируются ингредиенты образцов (в том числе компоненты эфирного масла), хроматограммы исходного продукта и концентрата практически идентичны. Каких-либо сигналов в пермеате в этом интервале не обнаружено.

На фиг. 2 показаны отпечатки пальцев, полученные с использованием газовой хроматографии с

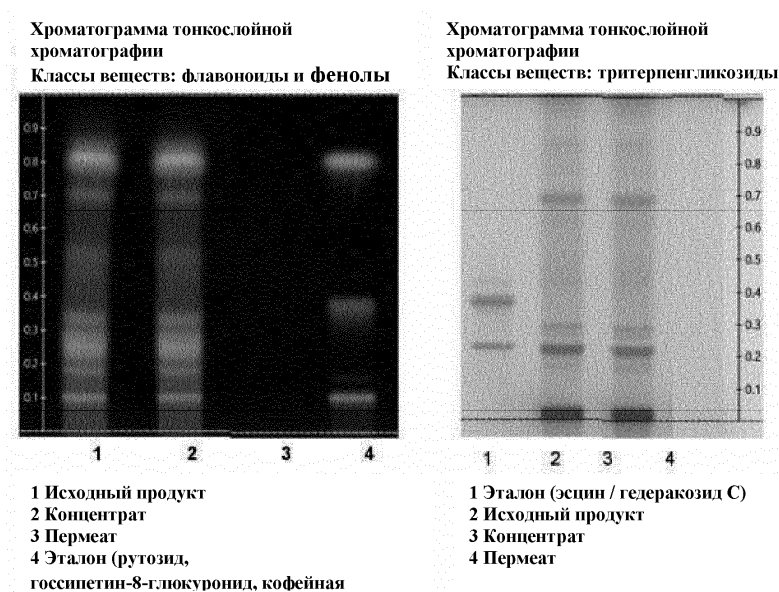
пламенно-ионизационным детектором.

Литература.

- Bose, A., Sengupta, P., Pal, U., Senapati, S., Ahsan, M., Roy, S., Das, U., Sen, K.: Encapsulation of thymol in cyclodextrin nano-cavities: a multi spectroscopic and theoretical study. / Инкапсуляция тимола в нанополостях циклодекстрина: мультиспектроскопическое и теоретическое исследование. *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectr.* 2019, 208, 339-348.
- Brewster, M.E., Loftsson, T.: Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. / Циклодекстрины в качестве фармацевтических солюбилизаторов. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2007, 59, 645-666.
- Ceborska, M.: Structural investigation of solid state host/guest complexes of native cyclodextrins with monoterpenes and their simple derivatives. / Структурное исследование твердотельных комплексов хозяин/гость нативных циклодекстринов с монотерпенами и их простыми производными. *J. Mol. Struct.* 2018, 1165, 62-70.
- Davis, M.E., Brewster, M.E.: Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future. / Фармацевтические препараты на основе циклодекстринов: прошлое, настоящее и будущее. *Nature Reviews* 2004, 3, 1023-1035.
- de Oliveira-Filho, e Silva, A.R.A., de Azevedo Moreira, R., Nogueira, N.A.P.: Biological activities and pharmacological applications of cyclodextrins complexed with essential oils and their volatile components: a systematic review. / Биологическая активность и фармакологическое применение циклодекстринов в комплексе с эфирными маслами и их летучими компонентами: систематический обзор. *Curr. Pharm. Design* 2018, 24 (33), 3951-3963.
- Lima, P.S.S., Lucchese, A.M., Araújo-Filho, H.G., Menezes, P.P., Araujo, A.A.S., Quintans-Junior, L.J., Quintans, J.S.S.: Inclusion of terpenes in cyclodextrins: preparation, characterization and pharmacological approaches. / Включение терпенов в циклодекстрины: получение, определение характеристик и фармакологические подходы. *Carbohydr. Polym.* 2016, 151, 965–987.
- Loftsson, T., Duchene, D.: Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. / Циклодекстрины и их фармацевтическое применение. *Int. J. Pharmaceutics* 2007, 329, 1-11.
- Marques, H.M.C.: A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. / Обзор инкапсуляции циклодекстрином эфирных масел и летучих веществ. *Flavour Fragr. J.* 2010, 25, 313–326.
- Pivetta, T.P., Simoes, S., Araujo, MM., Carvalho, T., Arruda, C., Marcato, P.D.: Development of nanoparticles from natural lipids for topical delivery of thymol: investigation of its anti-inflammatory properties. / Получение наночастиц из природных липидов для местной доставки тимола: исследование его противовоспалительных свойств. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2018, 164, 281-290.
- Szejtli, J.: Medicinal applications of cyclodextrins. / Применение циклодекстринов в медицине. *Med. Res. Rev.* 1994, 14 (3), 353-386.
- Wadhwa, G., Kumar, S., Chhabra, L., Mahant, S., Rao, R.: Essential oil–cyclodextrin complexes: An updated review. / Комплексы эфирных масел и циклодекстринов: обновленный обзор. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 2017, 89, 39–58.

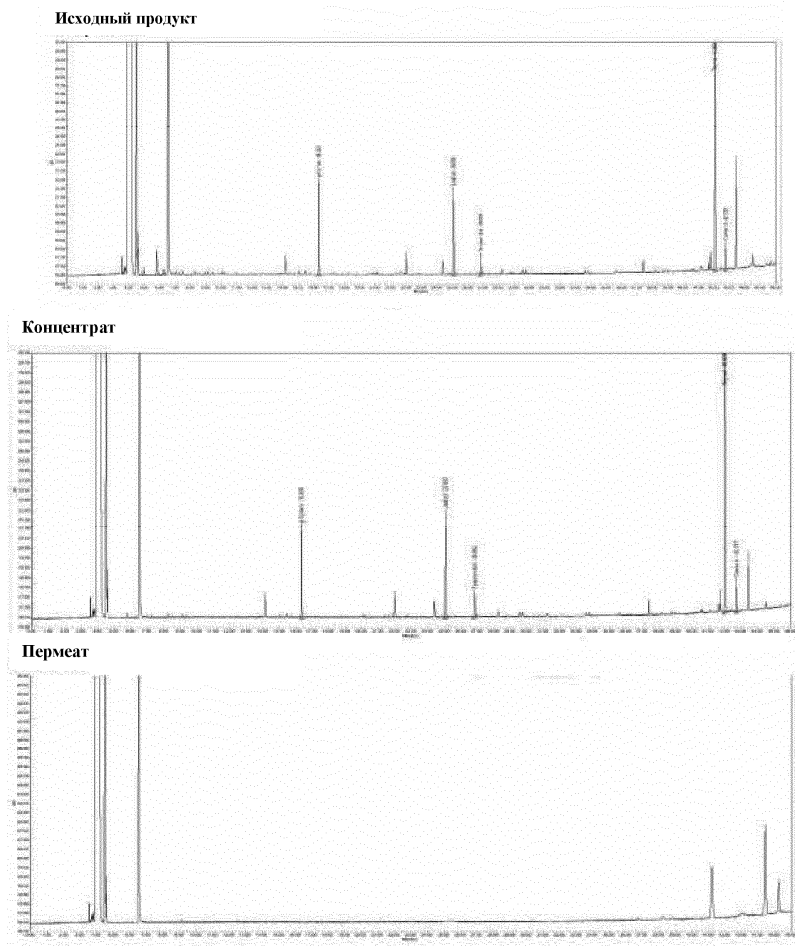
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения состава по меньшей мере из одного растительного экстракта, при этом указанный состав имеет содержание спирта менее 10 об.%, включающий следующие этапы:
 - (а) обеспечение по меньшей мере одного спиртосодержащего растительного экстракта;
 - (б) добавление по меньшей мере одного циклодекстрина или производного циклодекстрина;
 - (в) удаление спирта фильтрацией через мембранный фильтр (пермеат);
 - (г) отбор состава (ретант) с уменьшенным содержанием спирта.
2. Способ получения состава по п.1, при этом указанный состав имеет содержание спирта менее чем 1,5 об.%, в частности 5000 м.д., при этом на этапе (г) отбирают состав, не содержащий спирта.
3. Способ получения состава по п.1 или 2, при этом ретант с этапа (г) используют на этапе (а), и, необязательно, разбавляют водой.
4. Способ получения состава по любому из пп.1-3, при этом мембранная фильтрация на этапе (в) представляет собой ультрафильтрацию, нанофильтрацию или обратный осмос.
5. Способ получения состава по любому из пп.1-4, при этом циклодекстрин или производное циклодекстрина на этапе (б) выбирают из группы, содержащей альфа, бета, гамма и дельта-циклодекстрин, алкилциклодекстрины, ацилциклодекстрины, метил- β -циклодекстрин, гидроксилалкилциклодекстрины и 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин.
6. Способ получения состава по любому из пп.1-5, при этом концентрация циклодекстрина в жидком растительном экстракте или в жидком экстракте перед проведением мембранной фильтрации составляет 0,1-20 мас.%, в частности 3,7-4,2 мас.%
7. Способ получения состава по любому из пп.1-6, при этом мембранную фильтрацию, в частности обратный осмос, осуществляют с перепадом давления и/или с градиентом давления и/или с гидростатическим перепадом давления в пределах 5-80 бар.
8. Способ получения состава по любому из пп.1-7, при этом мембранную фильтрацию, в частности обратный осмос, осуществляют при температуре процесса в пределах 5-60°C.
9. Способ получения состава по любому из пп.1-8, при этом для указанного по меньшей мере одного растительного экстракта выбирают растения из группы, включающей такие виды, как тысячелистник, алоэ, алтей, дудник, арника, полынь, конопля, перец, тмин, стеблелист, золототысячник, чистотел, воронец, цитрусовые, цикламен, артишок, эхинацея, хвощ, солодка, гваякум, плющ, хмель, иберийка, касатик, орех грецкий, лаванда, любисток, лилия, ромашка, Melissa, мята, базилик (душистый), лаконос, бедренец, примула, гранат, дуб, розмарин, щавель, ива, шалфей, бузина, расторопша, стрихнос, одуванчик, тимьян, вакциниум, валериана, вербена, витекс и виноград.
10. Способ получения состава по любому из пп.1-8, при этом для указанного по меньшей мере одного растительного экстракта выбирают растения из группы, включающей такие виды, как тимьян и плющ.



Фиг. 1

Отпечатки пальцев образцов, полученные с использованием газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектором (схематическое представление профилей)



Фиг. 2



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2