

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202491712 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.09.11

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

(22) Дата подачи заявки
2020.07.31

(54) МЕМБРАННАЯ ФИЛЬТРАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЦИКЛОДЕКСТРИНА

(31) 19189464.1

(72) Изобретатель:

(32) 2019.07.31

Рубнер Мориз, Ферш Сильвия (DE)

(33) EP

(62) 202290452; 2020.07.31

(74) Представитель:

(71) Заявитель:

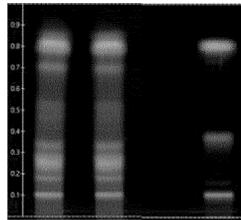
Можайский М.А. (RU)

БИНОРИКА СЕ (DE)

(57) Настоящее изобретение относится к фармацевтическому препарату или пищевой добавке, содержащим бесспиртовой растительный экстракт, а также по меньшей мере один циклодекстрин или производное циклодекстрина, и имеющим пониженное содержание этанола.

Хроматограмма тонкослойной хроматографии

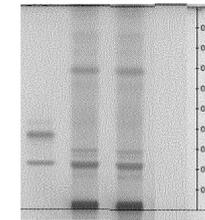
Классы веществ: флавоноиды и фенолы



1 Исходный продукт
2 Концентрат
3 Пермеат
4 Эталон (рутин, госсипетин-8-г-люкуроид,
кофейная кислота)

Хроматограмма тонкослойной хроматографии

Классы веществ: тритерпеноиды



1 Эталон (гинсеноид Рg1 / гинсеноид С)
2 Исходный продукт
3 Концентрат
4 Пермеат

202491712
A1

202491712
A1

МЕМБРАННАЯ ФИЛЬТРАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЦИКЛОДЕКСТРИНА

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

5.000 промилле (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 промилле меньшее, 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 рН (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 макроголглицеролгидроксистеарат, 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 гидроксилалкилциклодекстрины, 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 тимола 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 тимола связываются внутри α - и β -ЦД в молярном отношении 1:1. Таким образом, обеспечивается увеличение размера молекул тимола.

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 1.000 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 градусах Цельсия 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, бедренец, 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, цитрон, 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, гваяковое дерево и гваякум священный, плющ обыкновенный, хмель обыкновенный, иберийка горькая, касатик, орех грецкий, лаванда узколистая, любисток лекарственный, лилия ланцетолистная, ромашка аптечная, Melissa 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 волчниковая, 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 масс. %, более предпочтительно 3,7-4,2 масс. %.

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, полиэферы, полиэтиленсульфон, 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 5.000 промилле, 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 масс. % (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 гипертоническими 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% HP-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 ретаната. 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, поступившем 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 об. % 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 макроголглицеролгидроксистеарат, 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 промилле.

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 НР-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

НР-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% НР-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 циклодекстрин.

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 НР-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 B	без	0,02261	0,00035	1,55
Пермеат	Мембрана C	с	0,01927	0,00052	2,70
Пермеат	Мембрана C	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 меньше, 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 масс. % было снижено по меньшей мере до ≤ 3 масс. %. 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 $\leq 0,5$ масс. %.

В этом опыте исходный продукт подвергался 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 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 продуктом 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 обеспечивать непрерывное уменьшение содержания этанола в концентрате. Обратный осмос проводили до тех пор, пока содержание этанола в концентрате не достигло ≤ 3 масс. %, а масса концентрата не стала соответствовать массе исходного продукта.

В следующей **Таблице 4** обобщены результаты данного опыта:

	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 масс. %. Готовое лекарственное средство, изготовленное из концентрата, имело содержание этанола 0,4 масс. %.

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 масс. % удалось снизить примерно до 2,8 масс. %.

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

<i>Количественно определяемый параметр</i>	<i>Степень извлечения в концентрате относительно исходного продукта</i>
<i>Тимол</i>	99,8%
<i>Линалоол</i>	102,9%
<i>Тертине-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</i>	98,3%

<i>предел определения)</i>	<i>количественного</i>	
--------------------------------	------------------------	--

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 фармакопеи, 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.

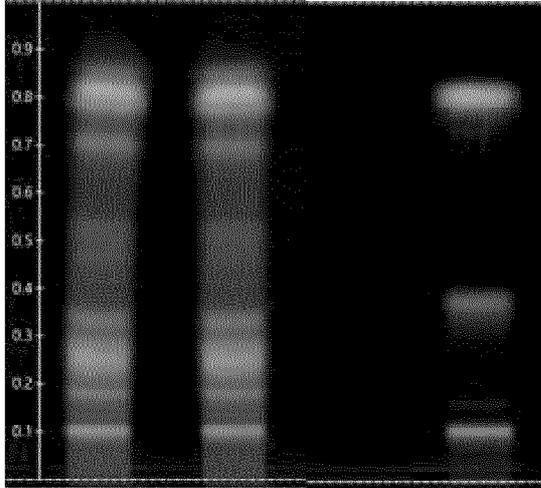
- Davis, M.E., Brewster, M.E.: Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future. / Фармацевтические препараты на основе циклодекстринов: прошлое, настоящее и будущее. *Nature Reviews* 2004, 3, 1023-1035.
- de Oliveira-Filho, e Silva, A.R.A., de Azevedo Moreira, R., Nogueira, N.A.P.: Biological 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, M.M., 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. Фармацевтический препарат, содержащий бесспиртовой растительный экстракт, при этом состав имеет содержание этанола менее 1,5 об. %, однако указанное содержание этанола составляет больше 0,0 об. %, а также содержит по меньшей мере один циклодекстрин или производное циклодекстрина.
2. Пищевая добавка, содержащая бесспиртовой растительный экстракт, при этом состав имеет содержание этанола менее 1,5 об. %, однако указанное содержание этанола составляет больше 0,0 об. %, а также содержит по меньшей мере один циклодекстрин или производное циклодекстрина.
3. Фармацевтический препарат или пищевая добавка, содержащие бесспиртовой растительный экстракт, по любому из пп. 1-2, при этом содержание циклодекстрина или производного циклодекстрина составляет 0,1–5 масс. %.
4. Фармацевтический препарат или пищевая добавка, содержащие бесспиртовой растительный экстракт, по любому из пп. 1-3, в жидком виде, в частности, в лекарственной форме, выбранной из группы, содержащей капли, сок, сироп, настой, глоточный спрей, а также дезинфицирующие растворы, назальный спрей, жидкие препараты для ингаляции, растворы для промывания, в частности, в комбинации с физиологическими и гиперосмолярными концентрациями солей или смесей солей, предпочтительно поваренной соли, в частности, морской соли.

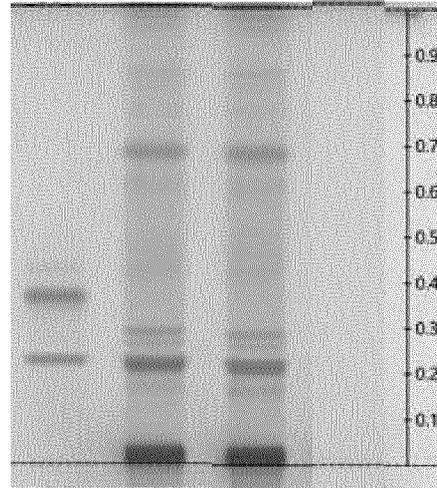
Фиг. 1

Хроматограмма тонкослойной хроматографии
Классы веществ: флавоноиды и фенолы



1 Исходный продукт
2 Концентрат
3 Пермеат
4 Эталон (рутозид, госсипетин-8-г.люкуроид,
кофейная кислота)

Хроматограмма тонкослойной хроматографии
Классы веществ: тритерпеногликозиды

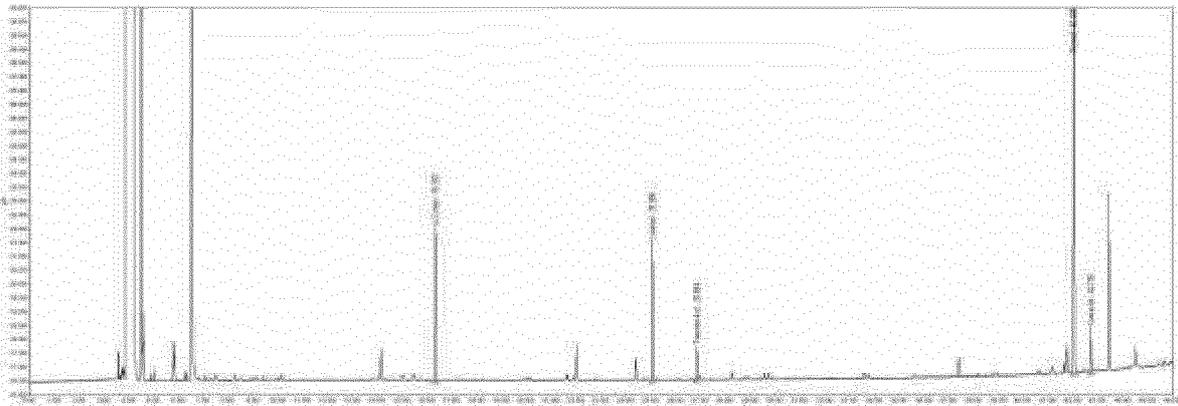


1 Эталон (эсцин / гедеракозид С)
2 Исходный продукт
3 Концентрат
4 Пермеат

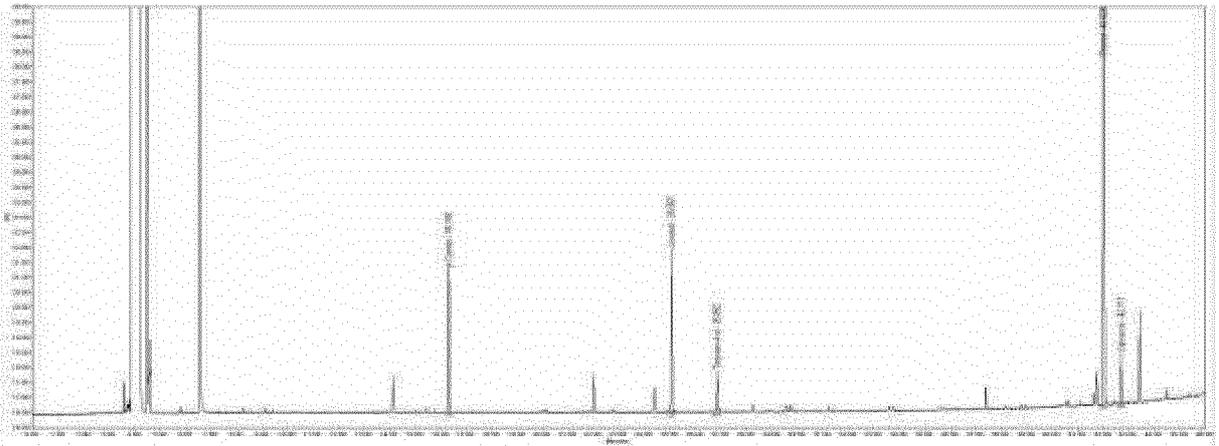
Фиг. 2

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

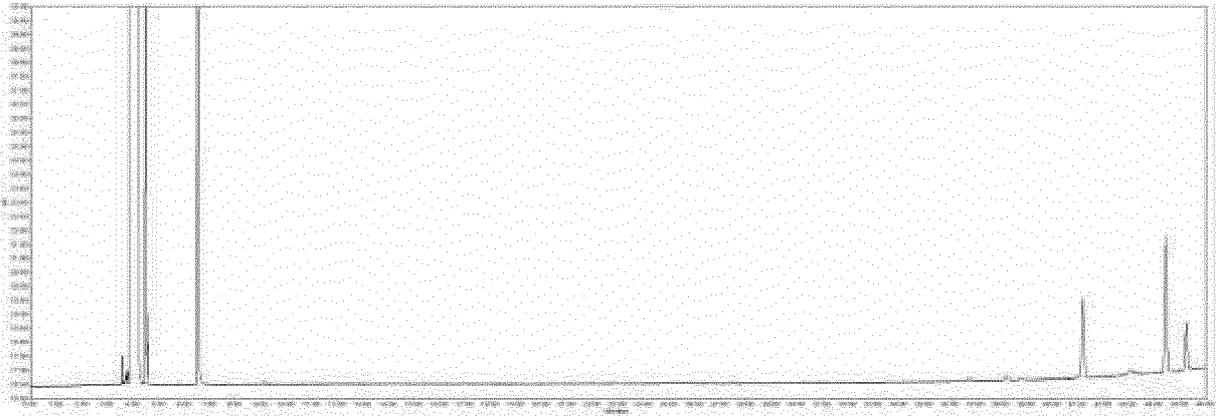
Исходный продукт



Концентрат



Пермеат



**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts BNC190WO_PLA-UOS	WEITERES VORGEHEN siehe Formblatt PCT/ISA/220 sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP2020/071738	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 31 Juli 2020 (31-07-2020)	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 31 Juli 2019 (31-07-2019)
Anmelder BIONORICA SE		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 4 Blätter.

Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** beruht die internationale Recherche auf

- der internationalen Anmeldung in der Sprache, in der sie eingereicht wurde
 einer Übersetzung der internationalen Anmeldung in die folgende Sprache _____, bei der es sich um die Sprache der Übersetzung handelt, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (Regeln 12.3 a) und 23.1 b)).

b. Dieser internationale Recherchenbericht wurde erstellt unter Berücksichtigung der **Berichtigung eines offensichtlichen Fehlers**, die nach Regel 91 von dieser Behörde genehmigt wurde bzw. dieser Behörde mitgeteilt wurde (Regel 43.6**bis**. (a)).

c. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** siehe Feld Nr. I.

2. **Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen** (siehe Feld Nr. II).

3. **Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung** (siehe Feld Nr. III).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
 wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
 wurde der Wortlaut nach Regel 38.2 in der in Feld Nr. IV angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann dieser Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Hinsichtlich der **Zeichnungen**

a. ist folgende Abbildung der **Zeichnungen** mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 1

- wie vom Anmelder vorgeschlagen
 wie von der Behörde ausgewählt, weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.
 wie von der Behörde ausgewählt, weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

b. wird keine der Abbildungen mit der Zusammenfassung veröffentlicht.

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES INV. A61K36/25 A61K36/53 A61K47/00 B01D1/00 ADD.		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) A61K F17C B01D		
Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	N.N.: "Cefacur", 1. Juni 2018 (2018-06-01), XP055659290, Gefunden im Internet: URL:https://www.cefak.com/fileadmin/user_upload/pdf_ratgeber/cefacur-ratgeber.pdf [gefunden am 2020-01-20] das ganze Dokument -----	10-12
X	EP 2 621 505 A1 (KLOSTERFRAU MCM VETRIEB GMBH [DE]) 7. August 2013 (2013-08-07) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche; Beispiele -----	1-13
X	JP H05 236877 A (YAIZU MIILE KYOGYO KUMIAI) 17. September 1993 (1993-09-17) Absätze [0007] - [0011]; Ansprüche ----- -/--	1-13
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist		"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 22. Oktober 2020		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts 05/11/2020
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Friederich, Martin

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>WADHWA GEETIKA ET AL: "Essential oil-cyclodextrin complexes: an updated review", JOURNAL OF INCLUSION PHENOMENA AND MACROCYCLIC CHEMISTRY, KLUWER, DORDRECHT, NL, Bd. 89, Nr. 1, 21. August 2017 (2017-08-21), Seiten 39-58, XP036321530, ISSN: 1388-3127, DOI: 10.1007/S10847-017-0744-2 [gefunden am 2017-08-21] in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-13

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2020/071738

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 2621505	A1	07-08-2013	
		DE 102010055170 A1	21-06-2012
		DE 202011003763 U1	17-01-2012
		EP 2621505 A1	07-08-2013
		ES 2588741 T3	04-11-2016
		PL 2621505 T3	30-12-2016
		WO 2012084075 A1	28-06-2012

JP H05236877	A	17-09-1993	KEINE
