



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **100074**

(13) **C2**

(51) МПК

A61K 31/01 (2006.01)

A61K 31/724 (2006.01)

A23L 1/275 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2011 03549**

(22) Дата подання заявки: **25.03.2011**

(24) Дата, з якої є чинними
права на винахід: **12.11.2012**

(41) Публікація відомостей
про заявку: **27.02.2012, Бюл.№ 4**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **12.11.2012, Бюл.№ 21**

(72) Винахідник(и):

**Капрельянц Леонід Вікторович (UA),
Негру Іван Федорович (UA)**

(73) Власник(и):

**ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ,**

вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039, Україна
(UA)

(56) Перелік документів, взятих до уваги
експертизою:

Polyakov N.E. et al. Inclusion complexes of
carotenoids with cyclodextrins: H NMR, EPR
and optical studies // Free Radical Biology &
Medicine. – 2004. – Vol.36, No. 7, pp.872-880.
Поляков Н.Э., Лёшина Т.В. Некоторые
аспекты реакционной способности
каротиноидов. Окислительно-
восстановительные процессы и
комплексобразование // Успехи химии. –
2006. – Т.75, №12, С.1175-1192.
JP 62267261 A, 19.11.1987, abstract.
JP 4244059 A, 01.09.1992, abstract.
RU 2339649 C1, 27.11.2008.
RU 2129564 C1, 27.04.1999.
RU 2108109 C1, 10.04.1998.
RU 2321598 C1, 10.04.2008.
RU 2375053 C2, 10.12.2009.

**(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ВОДОРОЗЧИННОЇ ФОРМИ ЛІКОПІНУ У ФОРМІ КОМПЛЕКСУ ВКЛЮЧЕННЯ
З β -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ**

(57) Реферат:

Винахід належить до харчової біотехнології, зокрема до способу одержання водорозчинної форми лікопіну, що є комплексом включення β -циклодекстину з лікопіном. Відповідно до способу β -циклодекстрин розчиняють у воді при 30-60 °С, розчинений β -циклодекстрин змішують з лікопіном при їх співвідношенні 1: (1-2), суміш перемішують, після чого відокремлюють осад і висушують його при зниженому тиску.

UA 100074 C2

Винахід належить до харчової біотехнології, зокрема, до способу одержання водорозчинної форми лікопіну, що є комплексом включення β -циклодекстрину з лікопіном.

Відомий спосіб одержання водорозчинної форми коензиму Q10 у формі комплексу включення з β -циклодекстрином [див. патент Російської Федерації на винахід № 2375053, опубл. 27.06.2008].

Відповідно до вказаного патенту β -циклодекстрин розчиняють в дистильованій воді при 70 °С. Розчинений β -циклодекстрин змішують з коензимом Q10, який беруть у твердому виді, суміш перемішують спочатку при температурі 60-70 °С, протягом ~10 годин, а далі при кімнатній температурі декілька годин.

Але, на відміну від заявлюваного, описаним способом одержують водорозчинну форму іншої речовини - коензиму.

Як наведено вище, комплекс коензиму Q10 з β -циклодекстрином відрізняється від заявлюваного як за структурою, так і за властивостями.

Комплекс коензиму Q10 з β -циклодекстрином не може бути використаний для профілактики і лікування простатиту і доброякісної гіперплазії простати, підвищення імунітету на клітинному і системному рівнях, попередження розвитку онкологічних захворювань, зменшення ризику розвитку серцево-судинних захворювань.

На підставі наведеного, заявник вважає, що патент Російської Федерації на винахід № 2375053 не може бути вибраним як прототип.

На дату подання даної заявки заявнику не відомі інформаційні джерела, в яких описаний водорозчинний комплекс лікопіну з β -циклодекстрином та спосіб його одержання.

В основу винаходу поставлено задачу розробити спосіб одержання водорозчинної форми лікопіну з β -циклодекстрином.

Поставлена задача вирішена в способі одержання водорозчинної форми лікопіну у формі комплексу включення з β -циклодекстрином, тим, що β -циклодекстрин розчиняють у воді при 30-60 °С, розчинений β -циклодекстрин змішують з лікопіном при їх співвідношенні 1:(1-2), суміш перемішують, після чого відокремлюють осад і висушують його при зниженому тиску.

Заявлений спосіб одержання водорозчинної форми лікопіну у формі комплексу з β -циклодекстрином відрізняється від способу одержання водорозчинної форми коензиму Q10 у формі комплексу з β -циклодекстрином тим, що:

- а) різні вихідні субстанції (коензим Q10 і лікопін);
- б) температура води нижче на 10 °С і складає 30-60 °С;
- в) співвідношення β -циклодекстрину і лікопіну 1:(1-2) відповідно;

г) суміш розчиненого β -циклодекстрину і лікопіну (за заявленим способом) перемішують при 50-70 °С протягом 20 хвилин, а суміш розчиненого β -циклодекстрину і коензиму Q10 (за патентом RU №2375053) перемішують в II етапі: на I етапі при 60-70 °С протягом ~ 10 годин, на II - при кімнатній температурі декілька годин.

Відомо, що лікопін є могутнім антиоксидантом, здатним підсилювати захисні функції організму, він сприяє гальмуванню дегенеративних процесів в тканинах, знижує ризик ініціації і розвитку онкологічних захворювань, серцево-судинних та інших патологій. Лікопін розглядається як найважливіший функціональний інгредієнт, що забезпечує профілактику і лікування різних хронічних захворювань. Однак він практично не розчиняється у воді і легко руйнується під дією кисню повітря, світла й окислювачів.

Тому пошук водорозчинної форми лікопіну є актуальною задачею.

Частота захворювань на рак корелює, в основному, з високим рівнем споживання і високим вмістом в крові лікопіну. Лікопін міститься в багатьох тканинах людського організму в кількостях, більших, ніж інші каротиноїди. Зокрема, в плазмі крові, він становить 25 % всіх присутніх каротиноїдів, що свідчить про його важливе біологічне значення.

В основі застосування лікопіновмісних препаратів у медицині лежить здатність лікопіну нейтралізувати так звані вільні радикали. Виявлено, що споживання в їжу продуктів томату призводить до зниження ймовірності виникнення раку передміхурової залози. Дослідження показали, що включення до раціону хворих лікопіну призводить до регресії, зменшення злоякісної пухлини. В результаті шестирічного дослідження 48000 працюючих чоловіків вчені з Гарвардської медичної школи з'ясували, що споживання томатів, томатних соусів частіше ніж два рази на тиждень в порівнянні з тими, хто відмовляється вживати ці продукти зменшує ризик раку передміхурової залози на 21-34 %. Вчені Гарвардського Університету з'ясували, що літні люди, у раціоні яких важливе місце займають помідори, у два рази рідше вмирають від раку.

Дослідження, що проводилося в Аукленді (Нова Зеландія) в період з 1996 по 1997 рр..., показало залежність між виникненням раку передміхурової залози і споживанням лікопіну, а

також β -каротину. У результаті, з'ясувалося, що в даному випадку тільки лікопін здатний певною мірою знизити ризик виникнення раку передміхурової залози.

При дослідженнях на клітинному рівні, виявлено, що лікопін накопичується в тканинах простати, причому у великих концентраціях, ніж інші каротиноїди. Виходячи з цього, були проведені дослідження, які показали, що рівень лікопіну в крові у хворих на рак передміхурової залози менше, ніж у здорових людей. Це стало підставою судити про те, що у разі виникнення раку передміхурової залози організм використовує лікопін для запобігання розвитку цієї хвороби.

Рак грудей - найбільш поширений вид раку у жінок. Вживання в їжу фруктів і овочів в деякій мірі допомагає справлятися з раком, але вживання томатів і його продуктів більшою мірою запобігає розвитку раку грудей. Саме лікопін, що знаходиться в помідорах, інгібує розвиток ракової пухлини.

Проведено дослідження, в яких порівнювалася інгібуюча здатність по відношенню до грудних пухлин у лікопіну, альфа-каротину і бета-каротину. Було доведено, що лікопін виявився більш ефективним у даному випадку. У випадку, коли мишам, генетично схильним до розвитку грудної пухлини, давали вживати лікопін, пухлини в кінцевому підсумку придушувалися.

Інше випробування показало, що коли щурам вводили лікопін, пухлини зменшувалися в порівнянні з тими щурами, яким лікопін не вводили. Дія β -каротину в даному випадку не принесла жодного ефекту.

Дослідження раку грудей і легенів, проведені в Ізраїльському Університеті Бен Гуріон показали, що лікопін більш ефективно гальмує розвиток ракових клітин (уповільнює перехід від однієї фази розвитку до іншої), ніж α - і β -каротин. Це свідчить про те, що лікопін в деяких випадках є більш сильним антиоксидантом, ніж каротин.

Що стосується інших поширених жіночих хвороб - раку потилиці і раку яєчників, то і тут лікопін має свій сприятливий вплив. При обстеженнях жінок хворих на рак потилиці, виявлено, що вміст лікопіну в їх крові менше, ніж у здорових жінок. При обстеженні 147 жінок з діагнозом раку потилиці і 191 здорових жінок, виявлено, що вміст лікопіну в сироватці крові було менше у хворих жінок. В іншому дослідженні 32 жінки з раком потилиці і 113 жінок без діагнозу раку, при визначенні мікро-складу крові, з'ясувалося, що ті з жінок, які вживали в їжу більше лікопіну і вітаміну А, рівень лікопіну в крові був вищим і, виходячи з цього, ризик виникнення раку потилиці був нижче у 3 рази.

Дослідники Університету штату Іллінойс стверджують, що жінки з високим рівнем лікопіну в організмі мають у 5 разів менший ризик розвитку шийки матки, ніж жінки з низьким рівнем лікопіну.

Клінічні дослідження лікопіну показали також, що лікопін зупиняє падіння зору у людей похилого віку (macular degeneration), зменшує ризик серцевих нападів.

Крім значення лікопіну як перспективного медичного препарату, цей пігмент передбачається все ширше використовувати як барвник для харчових виробів і в парфумерії.

Барвники каротиноїдного типу, поряд з фарбувальною функцією мають самостійне значення як біологічно активні добавки. Заміна хімічних барвників в кондитерських виробках, рослинних оліях, мазах і кремах на природні (зокрема лікопін) забезпечує не тільки забарвлюючий ефект, а й надає готовому продукту оздоровчу дію. Особливо велике його значення при виготовленні ковбас та шинкових виробів, де він може замінити нітрит натрію.

Комплекс отримують новим і неочевидним способом, підбираючи, ґрунтуючись на характеристиках β -циклодекстрину і лікопіну, умови, які роблять можливим формування комплексу включення лікопіну з β -циклодекстрином. Істотною особливістю способу приготування комплексу є розчинення β -циклодекстрину у воді при підвищеній температурі, а саме при температурі, що перевищує кімнатну, переважно при температурі від 30-60 °C. Потім при інтенсивному перемішуванні додають лікопін. Комплекс включення формується при включенні молекули лікопіну або її частин в одну молекулу або більше молекул β -циклодекстрину.

Відповідно до цього, підібрані відношення лікопіну до β -циклодекстрину для того, щоб контролювати співвідношення і ступінь комплексоутворення. Часткове поліпшення розчинності лікопіну і його біологічній засвоюваності досягається навіть в тих випадках, коли кількість β -циклодекстрину по відношенню до лікопіну нижча еквімолярного (наприклад, в співвідношенні 1:10). Вміст зв'язаного в комплекс лікопіну і ступінь комплексоутворення (відношення кількості молекул β -циклодекстрину до молекул лікопіну в комплексі включення) зростають із збільшенням відношення кількості β -циклодекстрину до лікопіну, яке практично не має верхньої межі. З цієї причини використовується оптимальне співвідношення між β -циклодекстрином і лікопіном, а саме до декількох десятків, переважно до тридцятикратного надлишку β -

циклодекстрину, коли необхідно використовувати комплекс спільно з іншими речовинами, схильними до утворення комплексу з β -циклодекстрином. Зазвичай використовується співвідношення від 1:10 до 10:1, переважно 1:(1-2), що дає оптимальні результати з погляду властивостей комплексу включення і вартості синтезу. Інтенсивне перемішування продовжують до зникнення лікопіну і початку осадження комплексу включення лікопіну з β -циклодекстрином. Реакційну суміш охолоджують і комплекс ізолюють декантацією, фільтруванням або випаровуванням води. За необхідністю комплекс висушують. Його можна застосовувати також і у вигляді розчину або вологого осаду комплексу, якщо подальший виробничий процес здійснюють у водному середовищі. Як наслідок отримана суміш не містить токсичних розчинників. Вихід комплексу практично кількісний. Лікопін у формі отриманого комплексу виявляє підвищену розчинність у водному середовищі. Вона перевищує розчинність, потрібну для денної дози лікопіну, що вводиться дорослим у формі самостійних препаратів або у формі добавок до харчових і інших продуктів або незалежно для харчових, профілактичних або інших цілей.

Винахід ілюструється графіками і таблицями, де:

фіг. 1 - диференціальний інфрачервоний (ІЧ) спектр комплексу β -циклодекстрин: лікопін і фізичної суміші;

фіг. 2 - диференціальні інфрачервоні спектри комплексу β -циклодекстрин: коензим Q10 та фізичної суміші β -БЦД і коензиму Q10;

табл. 1 - порівняння хвильових чисел окремих піків в ІЧ спектрі комплексу і фізичної суміші β -циклодекстрину і лікопіну та відмінність між поодинокими піками;

табл. 2 - вміст β -циклодекстрину у комплексі β -ЦД: лікопін при різних співвідношеннях компонентів;

табл. 3 - вміст лікопіну у комплексі β -ЦД: лікопін при різних співвідношеннях компонентів.

Оптимальність вибраних параметрів підтверджують приклади виконання винаходу, що заявляється.

Приклад 1. β -циклодекстрин 1,135 г (1 моль) розчинили в 6 мл води при температурі 60 °С. Розчинений β -циклодекстрин змішали з 0,536 г (1 моль) лікопіну і суміш, при їх співвідношенні 1:1, перемішували протягом 20 хвилин при температурі 60 °С. Після перемішування протягом 1 хвилини комплекс лікопіну з β -циклодекстрином починав випадати в осад. Кількість осаду збільшувалася протягом 15 хвилин. Отриману суміш центрифугували, розділяли фази і сушили при температурі 30 °С і зниженому тиску. Вихід складав 1,3 г комплексу лікопіну з β -циклодекстрином у вигляді жовто-оранжевого порошку. Продукт ідентифікували за допомогою інфрачервоної спектроскопії (ІЧ спектроскопії).

Порівняння ІЧ спектрів на фіг. 1 і в таблиці 1, що представляють хвильові числа піків, указує на відмінність між фізичною сумішшю β -циклодекстрину з лікопіном і комплексом включення. Спектри були отримані на ІЧ спектрометрі Specord 75 R.

Ступінь включення лікопіну в порожнину β -циклодекстрину оцінювався після центрифугування ($n=8000$ об/хв.) водних розчинів комплексів з молярним співвідношенням β -циклодекстрин: лікопін, рівним 1:2, 1:3, 1:4, і визначення вмісту β -циклодекстрину та лікопіну в розчині до і після центрифугування (в осаді і надосадочній рідині).

Приклад 2. Отримали водорозчинну форму лікопіну у формі комплексу включення з β -циклодекстрином так, як у прикладі 1, β -циклодекстрин і лікопін брали у співвідношенні 1:2.

Приклад 3. Отримали водорозчинну форму лікопіну у формі комплексу включення з β -циклодекстрином так, як у прикладі 1, β -циклодекстрин і лікопін брали у співвідношенні 1:3.

Приклад 4. Отримали водорозчинну форму лікопіну у формі комплексу включення з β -циклодекстрином так, як у прикладі 1, β -циклодекстрин і лікопін брали у співвідношенні 1:4.

Результати наведені в таблицях 2 і 3.

Дослідження показали, що в препаратах комплексу із співвідношенням компонентів 1:3 і 1:4 лікопін включається в порожнину β -циклодекстрину менш ніж 50 %, тоді як в комплексі при співвідношенні 1:1 і 1:2 близько 80 % лікопіну знаходиться у вигляді стабільного комплексу включення.

Приклади, які підтверджують температурний режим розчинення β -циклодекстрину, наведені нижче.

Приклад 5. Отримали водорозчинну форму лікопіну у формі комплексу включення з β -циклодекстрином так, як у прикладі 1, але β -циклодекстрин розчиняли у воді при температурі 30 °С

Приклад 6. Отримали водорозчинну форму лікопіну у формі комплексу включення з β -циклодекстрином так, як у прикладі 1, але β -циклодекстрин розчиняли у воді при температурі 45 °С. β -циклодекстрин і лікопін брали у співвідношенні 1:2.

5 Приклад 7. Отримали водорозчинну форму лікопіну у формі комплексу включення з β -циклодекстрином так, як у прикладі 1, але β -циклодекстрин розчиняли у воді при температурі 20 °С.

Приклад 8. Отримали водорозчинну форму лікопіну у формі комплексу включення з β -циклодекстрином так, як у прикладі 1, але β -циклодекстрин розчиняли у воді при температурі 80 °С. β -циклодекстрин і лікопін брали у співвідношенні 1:2.

10 Проведені експерименти показали, що зменшення температури води, наприклад, до 20 °С, Приклад 7, призводить до суттєвої тривалості процесу - до 40 хв., замість 15 хв. при 60 °С.

Збільшення температури води, наприклад, до 80 °С, Приклад 8, недоцільно, через те, що комплекс нестійкий і швидко руйнується.

15 Порівняння хвильових чисел окремих піків в ІЧ спектрі комплексу і фізичної суміші β -циклодекстрину і лікопіну 78 відмінність між поодинокими піками

Таблиця 1

Порівняння хвильових чисел окремих піків в ІЧ спектрі комплексу і фізичної суміші β -циклодекстрину і лікопіну та відмінність між поодинокими піками

Піки комплексу [см ⁻¹]	Піки фізичних сумішей [см ⁻¹]	Зрушення [см ⁻¹]
500	490	10
575	580	-5
700	690	10
750	745	5
820	830	-10
940	925	15
1000	1010	-10
1100	1110	-10
1150	1125	25
1250	1245	5
1300	1320	-20
1340	1350	-10
1375	1400	-25
1425	1425	/
1700	1700	/
1750	1750	/
2855	2825	30
2910	2900	10
3250	3250	/
3340	3330	10

Таблиця 2

Вміст β -циклодекстрину у комплексі β -ЦД: лікопін при різних співвідношеннях компонентів, %

Аналізована проба в комплексі	№ прикладу			
	1	2	3	4
1.Початковий розчин	100	100	100	100
2.Центрифугат	3	2	2	2
3.Осад	93	94	94	94
4.Вільний β -ЦД	4	4	4	4

Таблиця 3

Вміст лікопіну у комплексі β -ЦД: лікопін при різних співвідношеннях компонентів, %

Аналізована проба в комплексі	№ прикладу			
	1(1:1)	2(1:2)	3(1:3)	4(1:4)
1.Початковий розчин	100	100	100	100
2.Центрифугат	2	3	20	25
3.Осад	80	76	48	29
4.Вільний лікопін	18	21	32	46

Таблиця 4

Порівняння хвильових чисел окремих піків в ІЧ спектрі комплексу і фізичної суміші β -циклодекстрину і CoQ10 та відмінність між поодинокими піками

Піки CDQ10 [см ⁻¹]	Піки фізичних сумішей [см ⁻¹]	Зрушення [см ⁻¹]
3390,46	3418,53	28,07
/	2944,11	
2916,44	2913,28	2,16
1448,43	1446,53	1,9
/	1348,25	
1334,00	1336,56	2,56
1289,78	1287,60	2,18
1230,76	1227,97	2,79
1057,34	/	
1028,35	1026,07	2,28
1001,39	995,80	5,59
942,65	945,45	2,80
861,53	/	
/	730,41	
703,52	707,40	3,88
598,60	601,37	2,77
575,05	579,42	4,37
444,75	/	
/	425,17	
411,33	/	

5

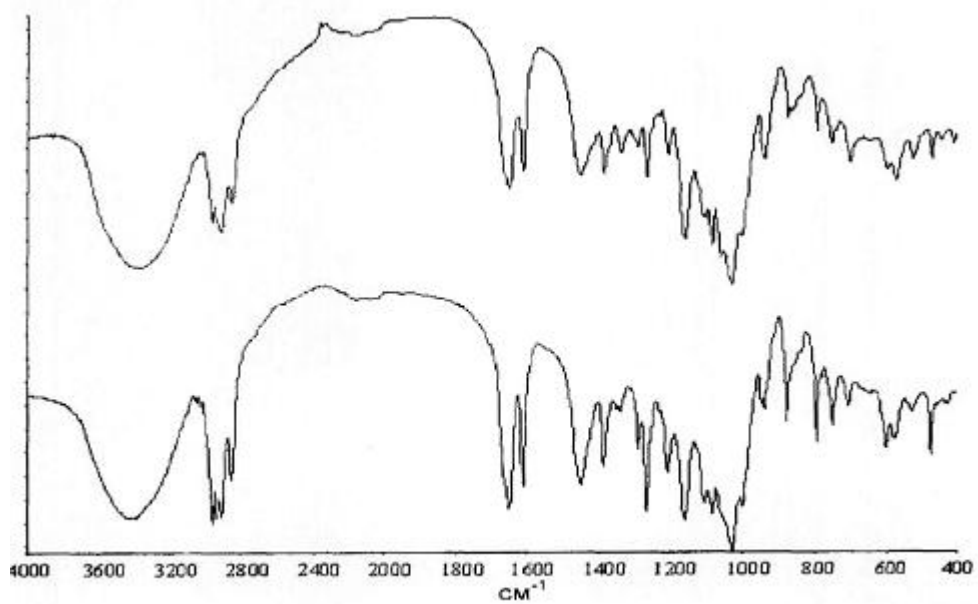
ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб одержання водорозчинної форми лікопіну у формі комплексу включення з β -циклодекстрином, який **відрізняється** тим, що β -циклодекстрин розчиняють у воді при 30-60 °С, розчинений β -циклодекстрин змішують з лікопіном при їх співвідношенні 1:(1-2), суміш перемішують, після чого відокремлюють осад і висушують його при зниженому тиску.

10



Фіг. 1



Фіг. 2

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601