(19) Евразийское патентное ведомство

(11) 027775 (13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента: **2017.08.31**

(21) Номер заявки: **201500559**

(22) Дата подачи: **2013.10.29**

(51) Int. Cl. ***A61K 36/28*** (2006.01)
A61K 36/82 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИЯ, ВКЛЮЧАЮЩАЯ ТЕАНИН И ЭКСТРАКТ ДЕВЯСИЛА КИСТЕВИДНОГО

(31) **12193516.7**
(32) **2012.11.21**
(33) **EP**
(43) **2015.08.31**
(86) **PCT/EP2013/072620**
(87) **WO 2014/079665 2014.05.30**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЮНИЛЕВЕР Н.В. (NL)

(72) Изобретатель:
Банерджи Гаутам, Кадамкоде Винитха, Калатхил Рамитха, Маджумдер Суман (IN)

(74) Представитель:
Саломатина И.С. (RU)

(56) MUKHERJEE P. K. ET AL.: "Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials", JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHERS LTD, IE, vol. 106, no. 1, 15 June 2006 (2006-06-15), pages 1-28, XP025085618, ISSN: 0378-8741, DOI: 10.1016/J.JEP.2006.03.021 [retrieved on 2006-06-15], abstract, page 20, right-hand column, last paragraph

ABEYWICKRAMA K. R. W. ET AL.: "Oral hypoglycaemic, antihyperglycaemic and antidiabetic activities of Sri Lankan Broken Orange Pekoe Fannings (BOPF) grade black tea (L.) in rats", JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHERS LTD, IE, vol. 135, no. 2, 8 February 2011 (2011-02-08), pages 278-286, XP028203413, ISSN: 0378-8741, DOI: 10.1016/J.JEP.2011.02.035 [retrieved on 2011-03-09], abstract

ZEGGWAGH N. A. ET AL.: "Study of hypoglycaemic and hypolipidemic effects of Inula viscosa L. aqueous extract in normal and diabetic rats", JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHERS LTD, IE, vol. 108, no. 2, 24 November 2006 (2006-11-24), pages 223-227, XP027939761, ISSN: 0378-8741 [retrieved on 2006-11-24], abstract

(57) Описывается съедобная композиция, включающая теанин и экстракт девясила кистевидного, например, для стимуляции высвобождения адипонектина у людей.

027775 B1

027775 B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к композиции, включающей теанин и экстракт девясила кистевидного (inula racemosa). Изобретение также относится к способу получения указанной композиции.

Предпосылки создания изобретения

Адипонектин представляет собой белок, циркулирующий в человеческом организме (в кровотоке). Он секретируется из жировой ткани. Уровни адипонектина, циркулирующего в кровотоке, уменьшаются у индивидуумов с преддиабетом и диабетом типа 2. У людей, страдающих от преддиабета и диабета типа 2, в реагирующих на инсулин тканях в организме, подобных скелетным мышцам, адипозной ткани и печени, развивается инсулинорезистентность (т.е. пониженная реакция на инсулин), и у таких индивидуумов может в итоге развиваться клиническая гипергликемия.

Адипонектин является положительным регулятором инсулиночувствительности: он улучшает реакцию тканей на инсулин и таким образом способствует поддержанию уровней глюкозы в организме. Следовательно, любой природный ингредиент, который вызывает секрецию адипонектина, способствует повышению инсулиночувствительности, и это, в свою очередь, хорошо для регулирования глюкозы в крови.

Девясил кистевидный представляет собой травянистое растение, известное в Индии для его применения при лечении диабета, и также известное под аюрведическим названием пушкарамула (Pushkaramool). Кроме того, пушкарамулой обычно называют экстракт корней травянистого растения девясила кистевидного. Также до сих пор не выяснен ни состав такого экстракта, ни тип действия при предупреждении или лечении диабета типа 2 или преддиабета.

Сообщается о применении природного ингредиента теанина (также известного как гамма-глутамилэтиламид или 5-N-этилглутамид) при лечении людей, имеющих диабет или опасность его развития. Теанин присутствует в зеленом чае и некоторых других растительных экстрактах. Точный механизм, по которому теанин может поддерживать лечение или предупреждение диабета типа 2 или преддиабета, неизвестен.

До сих пор разработано и разрабатываются несколько лекарственных средств для применения при лечении диабета типа 2 или предупреждении развития преддиабета в диабет типа 2. Несмотря на некоторые успехи, также остается потребность в композициях для снижения опасности развития диабета типа 2 и/или преддиабета, которые могут использоваться потребителями в пищевых продуктах.

Сущность изобретения

Целью настоящего изобретения является съедобная композиция, которую можно использовать для стимуляции высвобождения адипонектина организмом человека, и/или которая может повысить уровень адипонектина в кровотоке человека.

Теперь обнаружено, что такой цели можно достичь с помощью съедобной композиции, включающей теанин и экстракт девясила кистевидного, которая не содержит зеленый чай или экстракт зеленого чая.

Изобретение также относится к съедобной композиции, включающей теанин и экстракт девясила кистевидного, которая необязательно включает EGCG, при этом, если смесь включает EGCG, массовое отношение теанин/EGCG меньше 5, предпочтительно меньше 3, предпочтительнее меньше 2.

Изобретение также относится к способу получения композиции, включающей экстракт девясила кистевидного и теанин, который включает получение сухого измельченного корня пушкарамулы, экстрагирование такого корня жидкой композицией, включающей низший спирт в количестве 50-99 мас.% в воде, сушку полученного экстракта, смешивание полученного таким образом сухого экстракта с теанином таким образом, что теанин и экстракт девясила кистевидного присутствуют в массовом соотношении от 1:0,1 до 1:50.

Изобретение также относится к применению композиции, включающей теанин и экстракт девясила кистевидного, при этом теанин и экстракт девясила кистевидного присутствуют в массовом соотношении теанин:экстракт девясила кистевидного от 1:0,1 до 1:50, при получении пищевого продукта или лекарственного средства для стимуляции инсулиночувствительности и/или для лечения преддиабета и/или для лечения диабета типа 2.

Изобретение также относится к композиции, включающей теанин и экстракт девясила кистевидного, при этом теанин и экстракт девясила кистевидного присутствуют в массовом соотношении теанин:экстракт девясила кистевидного от 1:0,1 до 1:50, для применения при лечении стимуляции инсулиночувствительности и/или для лечения преддиабета и/или для лечения диабета типа 2.

Подробное описание изобретения

"Теанин", также известный под названиями 2-амино-4-(этилкарбамоил)масляная кислота или N-этил-L-глутамин или гамма-глутамилэтиламид или 5-N-этилглутамин, в данном описании следует представлять как форму L-аминокислоты, известную как L-теанин, и в данном случае охватывает его съедобные соли.

Девясил кистевидный (inula racemosa, также пишется как innula racemosa) представляет собой вид декоративного растения семейства Astraceae. Девясил кистевидный растет при температуре и высотах восточных Гималаев, обычно находится в Кашмире и известен под аюрведическим названием "пушкара-

мула". Под "экстрактом девясила кистевидного" в данном описании следует понимать композицию, которую можно получить путем экстрагирования корней таких растений или частей таких корней жидкостью, включающей воду и низший спирт (С1-С6). В данном описании "экстракт девясила кистевидного" это то же самое, что "девясила кистевидного экстракт".

"Чай" для целей настоящего изобретения обозначает материал из Camellia sinensis, сорт sinensis, и/или Camellia sinensis, сорт assamica. "Зеленый чай" обозначает, по существу, неферментированный чай. "Черный чай" обозначает, по существу, ферментированный чай. "Чай оолонг" обозначает полуферментированный чай. Ферментацией называют окислительный и гидролитический процесс, которому подвергают чай, когда некоторые эндогенные ферменты и субстраты доставляются вместе, например, за счет механического разрушения клетки путем мацерации листьев. Во время такого процесса бесцветные катехины в листьях превращаются в сложную смесь желтых и оранжевых, до темно-коричневых, полифенольных веществ. Свежие чайные листья подвергают стадии дезактивации ферментов для предотвращения ферментации, если они должны перерабатываться для получения продукта зеленого чая.

"EGCG" в данном описании следует понимать как галлат эпигаллокатехина, также известный как эпигаллокатехин-3-галлат. EGCG присутствует как в зеленом чае, так и в черном чае, но его значительно больше в зеленом чае (обычно больше в 5-10 раз).

Экстракты пушкарамулы или девясила кистевидного известны в Индии для их применения при лечении диабета. Кроме того, таким экстрактом обычно называют экстракт корней травянистого растения девясила кистевидного. До сих пор не выяснен ни точный состав такого экстракта, ни его механизм действия при предупреждении или лечении диабета 2 или преддиабета.

Теанин представляет собой встречающееся в природе соединение (также доступное из химического источника), и сообщается о его применении при лечении людей с диабетом или имеющих опасность его развития. Механизм его действия пока неизвестен.

Теанин встречается в чае (в экстрактах) как в зеленом, так и в черном, в довольно схожих количествах.

Авторами настоящего изобретения обнаружено, что комбинация теанина и экстракта девясила кистевидного показывает благоприятное действие на секрецию адипонектина (что определено анализом с использованием дифференцированных мышиных адипоцитов 3T3L1, который считают предсказательным в отношении секреции или стимуляции адипонектина у людей), и такое действие превышает собственное действие теанина и экстракта девясила кистевидного и даже превышает аддитивное действие на секрецию адипонектина указанных отдельных соединений. Иными словами, обнаружено, что теанин и экстракт девясила кистевидного имеют синергическое действие на стимуляцию секреции адипонектина у людей. Поэтому настоящее изобретение относится к комбинациям теанина и экстракта девясила кистевидного как активному коктейлю и его применению в комбинации с пищевыми продуктами, подобными, например, черному чаю и богатым крахмалом и/или сахаром пищевым продуктам, или для добавления к ним, например, в виде приправы.

В композициях, применениях, процессах и способах по настоящему изобретению предпочтительно, в особенности, для хорошего синергического действия, чтобы теанин и экстракт девясила кистевидного присутствовали в массовом соотношении теанин:экстракт девясила кистевидного от 1:0,1 до 1:50, предпочтительнее в массовом соотношении от 1:0,5 до 1:20.

Теанин и экстракт девясила кистевидного по настоящему изобретению могут использоваться как таковые для добавления к пищевым продуктам или являться частью приправы (например, приправы на столе, также содержащей соль и/или зелень и специи), или в композиции, также включающей черный чай и/или экстракты черного чая, или в композиции, также включающей усваиваемые углеводы в количестве от 40 до 99 мас.% от всей композиции. Последние могут представлять собой, например, муку, такую как пшеничная мука для приготовления лепешек, или другой основной пищевой продукт, богатый усваиваемыми углеводами, так как (постоянные) потребители такого пищевого продукта могут получить наибольшую пользу от эффекта секреции адипонектина композиций по настоящему изобретению.

Композицию по настоящему изобретению, содержащую как экстракт девясила кистевидного, так и теанин, можно соответственно составить в виде приправы, например, приправы на столе. Такую приправу можно, например, добавить к усваиваемым богатым крахмалам пищевым продуктам, таким как рис или блюда, содержащие рис, для смягчения, по меньшей мере, частично, действий, вызываемых поглощением больших количеств быстро перевариваемого крахмала. Поэтому изобретение также относится к композициям по изобретению (т.е. содержащим экстракт девясила кистевидного и теанин), также включающим 30-95 мас.% соли от всей композиции. После соли такая приправа также может включать, например, 10-50 мас.% зелени и/или специй.

В композициях, применениях, способах и процессах по настоящему изобретению предпочтительно, чтобы экстракт девясила кистевидного представлял собой экстракт корня девясила кистевидного или его частей (так как полагают, что корни содержат активные вещества (больше всего)). В данном случае предпочтительно, чтобы экстракты из корней или других частей девясила кистевидного можно было получить путем экстрагирования указанного растительного вещества жидкой композицией, включающей низший спирт в количестве 50-99 мас.% (предпочтительно, такой низший спирт в количестве 65-90

мас.%) в воде. При экстрагировании низший спирт предпочтительно представляет собой спирт с 1-6 атомами углерода (т.е. спирт C1-C6, предпочтительно алканол), причем наиболее предпочтительно представляет собой этанол.

Изобретение также относится к способу получения композиции, включающей экстракт девясила кистевидного и теанин, включающему получение сухого измельченного корня пушкармулы, экстрагирование такого корня жидкой композицией, включающей низший спирт (предпочтительно, такой низший спирт представляет собой алканол с 1-6 атомами углерода, причем предпочтительным является этанол) в количестве 50-99 мас.% в воде, сушку полученного экстракта, смешивание полученного таким образом сухого экстракта с теанином таким образом, что теанин и экстракт девясила кистевидного присутствуют в массовом соотношении от 1:0,1 до 1:50 (и предпочтительнее, в массовом соотношении от 1:0,5 до 1:20). В таком способе предпочтительно для хорошего экстрагирования, когда экстрагирование сухого измельченного корня пушкармулы включает замачивание такого сухого измельченного корня в указанной жидкой композиции низшего спирта в течение периода 4-48 ч при температуре 5-40°C с последующим нагреванием при температуре свыше 40°C в течение 1-12 ч с последующим удалением нерастворимого вещества. После удаления нерастворимого вещества получают жидкость, которая содержит активные вещества. Такую жидкость можно использовать как таковую, но обычно ее концентрируют. Такое концентрирование можно осуществить любым подходящим способом. Для получения сухого ингредиента концентрирование включает сушку (т.е. удаление воды, спирта и возможных других растворителей).

Пример

Возможное стимулирующее действие теанина и экстракта девясила кистевидного (совместное и отдельное одного и другого) на секрецию адипонектина у людей оценивают с помощью анализа.

Материалы

Теанин.

Используемый теанин закупают у Taiyo green tea products (Япония) под торговым наименованием Suntheanine, представляющим собой 100% чистый L-изомер теанина.

Экстракт девясила кистевидного.

Экстракт девясила кистевидного, который используют, получают, обрабатывая коммерческий образец сухого порошка девясила. Такой образец закупают у местного торговца из Бангалора (Чаннабассаппа) под торговым наименованием пушкармула.

Обработка включает следующее:

замачивание (в течение ночи, приблиз. 16-18 ч) 100 г сухого порошка коммерческого девясила кистевидного в 800 мл смеси, включающей 75% этанола и 25% воды (мас.%);

нагревание такого замоченного порошка при 55-60°C в течение 2 ч;

охлаждение до 35-40°C и отфильтровывание остатка с получением прозрачного фильтрата;

концентрирование фильтрата с использованием роторного испарителя до сухого порошка, который хранят при 4°C до использования.

Протокол анализа на адипонектин

3T3L1 (мышиные преадипоциты) высевают в 96-луночный планшет при плотности $3 \cdot 10^3$ клеток на лунку.

Через 5 дней после слияния (состояние, при котором клетки образуют однородный слой) клетки дифференцируют (процесс, при котором недозрелые адипоциты трансформируются в зрелые адипоциты) в среде для дифференцировки в течение 10 дней.

На 11-й день зрелые адипоциты обрабатывают нетоксичными концентрациями (концентрации указаны ниже) экстракта девясила кистевидного и теанина.

Клетки инкубируют в течение 48 ч и супернатанты собирают и хранят. Клетки анализируют ELISA для детекции уровня адипонектина.

Оценивают эффективность испытываемого ингредиента относительно необработанного контроля (контроль среда).

Если с любой из испытываемых комбинаций экстракта девясила кистевидного и теанина возросший уровень адипонектина больше на статистически значимую величину, чем аддитивный эффект или действие отдельных компонентов, тогда такую определенную комбинацию рассматривают как синергическую.

Количественное определение общего полифенола в 75% водно-этанольном экстракте девясила кистевидного

Общее содержание полифенолов (TPP) в образцах девясила кистевидного определяют количественно с использованием реагента Фолина-Чокальтеу (ISO 14502-1:2005(E)). TPP выражают в виде эквивалента галловой кислоты (результат 1%). Это показывает, что содержание полифенолов в 75% водно-этанольном экстракте статистически низкое.

Количественное определение в этанольном экстракте показывает, что присутствие алантолактонов в 75% водно-этанольном экстракте согласно ИК (инфракрасная спектроскопия) составляет 2,5-3% (реф., опубликованный Unilever R & D, BL Phytochem. Anal., 2012, 23, 171-176).

На основании указанного полагают, что экстракт девясила кистевидного богат другими нейтральными соединениями, подобными тритерпеновым гликозидам, которые могут быть ответственны за био-

активность.

Действие in vitro экстракта девясила кистевидного и теанина по отдельности

Для того чтобы исследовать эффективность девясила кистевидного и теанина при усилении секреции адипонектинаиз 3T3L1, клетки обрабатывают различными концентрациями девясила кистевидного (полученного так, как установлено в данном описании в разделе "Материалы") и теанина в клеточной культуральной среде. Принимают за 100% адипонектин из контрольных клеток, после чего вычисляют величины при обработке. Из результатов, приведенных в табл. 1, видно, что девясил кистевидный (спиртово/водный экстракт) и теанин повышают уровни адипонектина при исследовании in vitro в зависимости от дозы.

Таблица 1

Мас.% экстракта дев. кист. или теанина	Контроль	0,00001%	0,00002 %	0,00005 %	0,0001%	0,0005%	0,001%
Девясил	100,00	103,6+/-4,1	110,9+/-7,6	117,0+/-4,0	130,7+/-4,3	137,1+/-7,6	156,9+/-7,9
Величина p		p <0,3	p <0,05	p <0,05	p <0,05	p <0,05	p <0,05
Теанин	100,00	106,7+/-7,4	107,0+/-7,0	136,7+/-7,3	141,7+/-1,6	145,8+/-8,2	156,0+/-8,5
Величина p		p <0,05	p < 0,08	p <0,05	p <0,05	p <0,05	p <0,05

Совместное действие in vitro экстракта девясила кистевидного и теанина

Интервал комбинаций различных количеств экстракта девясила кистевидного и теанина исследуют на их совместную способность в отношении секреции адипонектина. Используемые комбинации (массовое отношение теанин:экстракт девясила кистевидного) составляют 100:1 (A), 100:2 (B), 100:10 (C), 100:50 (D), 100:500 (E), 100:1000 (F), 100:5000 (G), 100:10000 (H). Таких соотношений достигают, растворяя компоненты в исходных водных растворах. Основной исходный раствор теанина (10%) получают в клеточной культуральной среде, и основной этанольный экстракт девясила кистевидного получают в 75% этаноле и как теанин, так и экстракт девясила серийно разводят в клеточной культуральной среде для получения нужной концентрации.

Из табл. 2 ясно, что экстракт девясила кистевидного и теанин при отношениях теанин:экстракт девясила кистевидного C-G в табл. 2 (100:10 - 100:5000) показывают существенное синергическое действие на секрецию адипонектина in vitro.

Таблица 2

	Теанин : экстракт девясила кистевидного	Величина комбинации (% адипонектина)	Аддитивная величина (% адипонектина)	• Величина*
Контроль	0	100	100	-
A	100:1 (0,001%+0,00001%)	122+/- 4,9	111	• <0,1
B	100:2 (0,0005%+0,00001%)	154+/- 9,8	146	• <0,1
C	100:10 (0,0001%+0,00001%)	179+/- 5,8	150	• <0,05
D	100:50 (0,00002%+0,00001%)	219+/- 2,2	160	• <0,05
E	100:500 (0,00001%+0,00005%)	158+/- 1,5	141	• <0,05
F	100:1000 (0,00001%+0,0001%)	155+/- 4,0	146	• <0,05
G	100:5000 (0,00001%+0,0005%)	160+/- 4,2	150	• <0,05
H	100:10,000 (0,00001%+0,001%)	176+/- 3,0	160	• <0,08

* Значимость вычислена в отношении аддитивных величин

Вывод.

Теанин и экстракт девясила кистевидного при отношениях теанин:экстракт девясила кистевидного от 100:10 до 100:5000 (равнозначно 1:0,1 - 1:50) могут благоприятно включаться в формате различных пищевых продуктов и напитков, при необходимости, для предупреждения диабета, так как такая комбинация в таких соотношениях является синергической комбинацией, что следует из используемого анализа in vitro.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Съедобная композиция, включающая теанин и экстракт девясила кистевидного.

2. Съедобная композиция, включающая теанин и экстракт девясила кистевидного и дополнительно галлат эпигаллокатехина (EOCO), причем массовое соотношение теанин/EOCO составляет меньше 5.

3. Композиция по п.1 или 2, в которой экстракт девясила кистевидного представляет собой экстракт корня девясила кистевидного или его частей.

4. Композиция по любому из предшествующих пунктов, в которой экстракт девясила кистевидного получают экстрагированием указанного растительного вещества жидкой композицией, включающей низший спирт в количестве 50-99 мас.% в воде.

5. Композиция по любому из предшествующих пунктов, в которой теанин и экстракт девясила кистевидного присутствуют в массовом соотношении теанин:экстракт девясила кистевидного от 1:0,1 до 1:50.

6. Композиция по любому из предшествующих пунктов, дополнительно включающая черный чай и/или экстракты черного чая.

7. Композиция по любому из пп.1-5, дополнительно включающая усваиваемые углеводы в количестве от 40 до 99 мас.% относительно всей композиции.

8. Композиция по любому из пп.1-5, дополнительно включающая 30-95 мас.% соли относительно всей композиции.

9. Способ получения композиции, включающей экстракт девясила кистевидного и теанин, включающий получение сухого измельченного корня пушкармулы, экстрагирование его жидкой композицией, включающей низший спирт C1-C6 в количестве 50-99 мас.% в воде, сушку полученного экстракта и смешивание полученного таким образом сухого экстракта с теанином таким образом, что теанин и экстракт девясила кистевидного присутствуют в массовом соотношении от 1:0,1 до 1:50.

10. Способ по п.9, в котором низший спирт представляет собой этанол.

11. Способ по п.9 или 10, в котором концентрация низшего спирта составляет 65-90%.

12. Способ по любому из пп.9-11, в котором экстрагирование сухого измельченного корня пушкармулы включает замачивание сухого измельченного корня в указанной жидкой композиции, включающей низший спирт, в течение периода 4-48 ч при температуре 5-40°C с последующим нагреванием при температуре свыше 40°C в течение 1-12 ч с последующим удалением нерастворимого вещества.

13. Способ по п.10, в котором жидкость, полученную после удаления нерастворимого вещества, концентрируют.

14. Применение композиции, включающей теанин и экстракт девясила кистевидного, в которой теанин и экстракт девясила кистевидного присутствуют в массовом соотношении теанин:экстракт девясила кистевидного от 1:0,1 до 1:50, при получении пищевого продукта.

15. Применение композиции, включающей теанин и экстракт девясила кистевидного, в которой теанин и экстракт девясила кистевидного присутствуют в массовом соотношении теанин:экстракт девясила кистевидного от 1:0,1 до 1:50, для производства лекарственного средства для стимуляции чувствительности к инсулину и/или для лечения преддиабета и/или для лечения диабета типа 2.

16. Композиция для лечения, чтобы стимулировать чувствительность к инсулину, и/или для лечения преддиабета, и/или для лечения диабета типа 2, включающая теанин и экстракт девясила кистевидного, в которой теанин и экстракт девясила кистевидного присутствуют в массовом соотношении теанин:экстракт девясила кистевидного от 1:0,1 до 1:50.

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