

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202192149 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.01.20

(51) Int. Cl. A61K 36/18 (2006.01)
B01F 13/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.01.31

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ СО СНИЖЕННОЙ
ВАРИАБЕЛЬНОСТЬЮ

(31) 19154942.7

(32) 2019.01.31

(33) EP

(86) PCT/EP2020/052430

(87) WO 2020/157277 2020.08.06

(71) Заявитель:
БИОНОРИКА СЕ (DE)

(72) Изобретатель:

Попп Михаэль (DE), Делюг Штефани

(AT), Интельманн Даниэль (DE),

Шёнбихлер Штефан, Диттмер

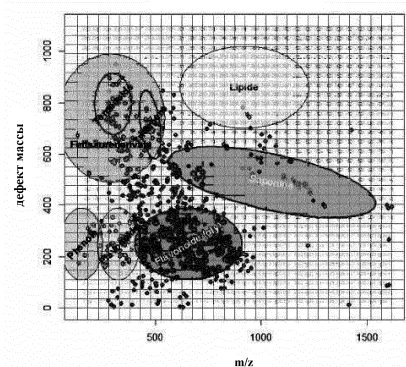
Мартин (AT), Рубнер Мориц (DE)

(74) Представитель:

Можайский М.А. (RU)

(57) Изобретение относится к способу получения стандартизированных или количественно определенных растительных материалов со сниженной вариабельностью растительных компонентов, в частности, из лекарственных растений с применением калькулятора смеси.

График дефекта массы



на графике: Lipide = липиды, Terpenoide = терпеноиды, Phenole = фенол, Flavonoide (gly) = флавоноиды (гли), Saponine = сапонины и др.

202192149

A1

A1

202192149

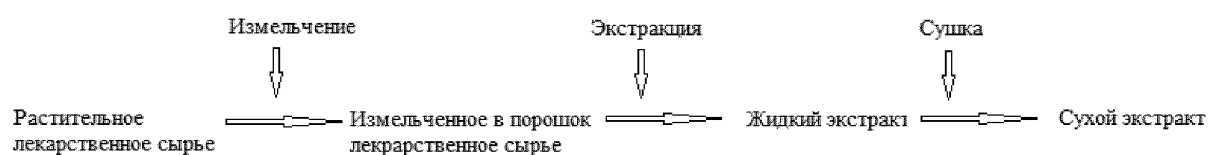
СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ СО СНИЖЕННОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬЮ

Описание

Настоящее изобретение относится к способу получения стандартизированного или количественного определенного растительного материала со сниженной вариабельностью растительных компонентов, в частности, из лекарственных растений (растений, содержащих лекарственные компоненты), с применением калькулятора смеси.

Лекарственные растения содержат, иногда в повышенных количествах в определенных частях, таких как корни, листья, цветы или плоды, компоненты, обладающие фармакологической активностью, и являющиеся основой для большого количества лекарственных средств. Для получения этих компонентов существуют различные способы, большинство из которых основано на принципе экстракции, включая мацерацию или перколяцию растений с использованием подходящего экстрагента и/или растворителя, и более или менее селективного растворения и обогащения определенного растительного активного вещества или группы активных веществ в экстрагенте и/или полученном извлечении. Экстракты могут быть жидкими, полутвердыми или твердыми, и, в частности, могут представлять собой сухой экстракт (*Extracta sicca*), в котором, например, остаток экстракции, полученный жидкий экстракт (*Extracta fluida*) и/или полученная настойка (*Tincturae*) сконцентрированы до сухого состояния. Сушка может осуществляться методом сушки в псевдоожиженном слое или концентрирования с получением густого или вязкого экстракта (густотекущий экстракт, *Extracta spissa*) с последующей вакуумной ленточной сушкой или сушкой в стеллажной сушилке, см., например, документ EP 0753306 B1 на имя заявителя.

Схема:



Заявитель производит и продает, например, такие экстракты лекарственных растений как Bronchipret® (бронхипрет), Sinupret Extract® (синупрет экстракт), Canephron® (канефрон), Imupret® (имупрет) и т.д., а также лекарственные субстанции (Sinupret®).

Указанные лекарства являются зарегистрированными лекарственными препаратами или медицинскими продуктами, требующими разрешения для применения, так называемыми

традиционными или рациональными фитофармацевтическими средствами (включая хорошо изученное медицинское применения), которые необходимо применять в адекватной дозировке, а также прописывать на основании показаний с учетом соотношения риск-польза.

В монографиях, вкл. Фармакопеи (Немецкая фармакопея (DAB), Европейские фармакопеи (EuAB или Ph.Eur. = *Pharmacopoeia Europaea*), описаны растения для применения в качестве лекарственных препаратов или получения лекарственных препаратов, в частности, приведены их компоненты, эффекты, области применения, противопоказания, побочные эффекты, взаимодействия, дозировки и лекарственные формы. Объективно описаны растения, в отношении которых Комиссия Е (Комиссия по Одобрению и Обработке Федерального института лекарственных средств и медицинской продукции Германии (BfArM)) или Комитет по растительным лекарственным препаратам (HMPC) Европейской службы по надзору в сфере лекарственных средств (EMA) смогли получить достаточные свидетельства эффективности и безвредности на основании проведенных исследований.

В соответствии с Европейской фармакопеей и для целей настоящего изобретения экстракты представляют собой жидкие, полутвердые или твердые препараты, получаемые из обычно высушенных растительных лекарственных веществ.

Так называемые *стандартизированные экстракты* корректируют, в допустимых диапазонах, до определенного содержания компонентов, определяющих эффективность (активных веществ). Корректировка может выполняться путем смешивания партий экстрактов и/или путем добавления вспомогательных веществ.

Так называемые *количественно определенные* экстракты корректируют до определенного диапазона компонентов, определяющих эффективность (активных веществ). Корректировка может выполняться путем смешивания партий экстрактов.

Смешивание экстрактов и/или партий может осуществляться при помощи смешивающего устройства с применением калькулятора (средства для расчета смеси - *Mischungsrechner*) смеси, который устанавливает отношения, в которых смешиваются экстракты, с помощью компьютерного калькулятора.

Однако растительные экстракты или партии лекарственных средств содержат большое количество растительных компонентов. Содержание таких растительных компонентов может значительно варьировать в зависимости от различных параметров, таких как регион выращивания, погодные условия, обработка, методы сбора, время сбора и многие другие.

В результате, растительные экстракты или партии лекарственных средств содержат различные уровни растительных компонентов в зависимости от их происхождения, истории, времени сбора, способа обработки и других параметров, что может приводить к количественным различиям между отдельными особями или в партии совместно обрабатываемых особей, а также к различиям между партиями.

Соответственно, растительным экстрактам а также порошковым лекарственным средствам присуща проблема фитохимический вариабельности между партиями. Чтобы обеспечить стабильные терапевтические результаты при лечении фитофармацевтическим средствами, необходимо поддерживать максимальное постоянство состава растительных компонентов экстрактов и/или фитофармацевтических продуктов от партии к партии, т.е. существует потребность в низкой вариабельности между партиями.

В конечном итоге это обусловлено тем, что растительные ингредиенты в экстрактах или партиях демонстрируют природную, биологическую вариабельность („биологический разброс“).

К растительным компонентам относятся вторичные растительные вещества. Вторичные растительные вещества и/или вторичные метаболиты, происходят из продуктов анаболического и катаболического метаболизма, в частности, из углеводов и аминокислот. В случае лекарственных растений вторичные растительные вещества играют решающее значение для возможности применения в качестве активного компонента. Вторичные растительные вещества включают, в частности, фенольные, изопреноидные и алкалоидные соединения, такие как фенолы, полифенолы, флавоноиды, производные кофейной кислоты, ксантоны, терпены, стероиды и др. природные вещества. В частности, присутствие и содержание вторичных растительных веществ может сильно варьировать между особями и/или между партиями.

Растительные компоненты в растительном материале могут быть охарактеризованы количественно и качественно с использованием аналитических методов (например, хемотаксономии). В основном применяют газовую и/или жидкостную хроматографию в комбинации с масс-спектрометром, такую как ГХ-МС или ЖХ-МС. Обычно выводят сигналы (пики $[m/z]$) в зависимости от времени удерживания (хроматограмму). Этот метод также позволяет определять содержание (например, масс/масс или об/об) растительных компонентов в лекарственном средстве или в экстракте, и/или в частности, в растительном материале на основании интегрированной площади полученных пиков.

В уровне техники не описаны методики, позволяющие получать растительные экстракты или партии лекарственных средств, в частности, растительных материалов, которые позволяли бы достичь снижения вариабельности содержания растительных компонентов.

Соответственно, задачей настоящего изобретения является обеспечение растительного материала (материалов), которые характеризуются сниженной вариабельностью (неоднородностью) содержания растительных компонентов в растительном материале, в частности, сниженной вариабельностью между партиями.

Обеспечение растительного материала со сниженной вариабельностью (синоним: неоднородностью) содержания растительных компонентов приводит к оптимизации однородности партий. Оптимизированные партии создают условия для повышенной воспроизводимости партий и, следовательно, обеспечивают новый стандарт качества, что является преимуществом. Это также очень важно с точки зрения лицензирования. Например, FDA (Служба государственного надзора за качеством продуктов питания и лекарственных средств США) еще не выдала не одного разрешения на растительный экстракт или порошковое лекарственное средство как смесь нескольких веществ.

Кроме того, это позволяет уменьшить возможные погрешности в сравнительных исследованиях, что повышает качество исследований, и делает возможным сравнение с синтетическими лекарственными средствами.

Соответственно, настоящее изобретение относится к решению задачи обеспечения способа получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов, в котором применяют по меньшей мере один маркер вариабельности и смешивают по меньшей мере две партии при с использованием калькулятора смеси.

В предпочтительном варианте реализации эта задача решается при помощи способа получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов, включающего следующие этапы (см. также пример В):

i.) определение интенсивностей сигнала для растительных компонентов в двух или более партиях, с использованием устройства для обнаружения, в частности, ГХ-МС и/или ЖХ-МС,

ii.) идентификацию по меньшей мере одного растительного компонента, который вносит вклад, предпочтительно, наибольший вклад, в вариабельность, и определение его природного диапазона (называемого здесь и далее маркером вариабельности),

iii.) задание одного или более граничных значений, которые меньше соответствующего естественного диапазона из этапа ii.),

iv.) смешивание по меньшей мере двух партий с учетом по меньшей мере одного граничного значения из этапа iii.) с использованием калькулятора смеси,

v.) необязательно, повторение этапов i.) - iv.).

В рамках этапа ii.) может быть осуществлено определение вариабельности содержания растительных компонентов.

Соответственно, способ согласно настоящему изобретению позволяет производить стабильные и/или единообразные, однородные партии, что, в частности, обеспечивает воспроизводимость партий, что является преимуществом. Это обусловлено, в частности, тем, что вариабельность растительных компонентов снижается, в частности, за счет идентификации по меньшей мере одного маркера вариабельности, который обеспечивает максимальное снижение общей вариабельности растительных компонентов. Согласно настоящему изобретению, этот маркер вариабельности вносит значительный вклад в разброс, и способ согласно настоящему изобретению снижает его влияние на общую вариабельность.

Термин «содержание растительных компонентов» обозначает относительное или абсолютное количество (массу, вес) одного или более растительных компонентов или их относительную или абсолютную концентрацию (концентрации) (масс/масс) (об/об).

В другом предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения предложен способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов, включающий следующие этапы (см. также **Пример С**):

i.) определение интенсивностей сигнала для растительных компонентов в двух или более партиях с использованием устройства для обнаружения, в частности, ГХ-МС и/или ЖХ-МС,

ii.) разделение сигналов на две или более подобластей и суммирование интенсивностей сигналов растительных компонентов в каждой подобласти,

iii.) идентификацию по меньшей мере одной подобласти, которая вносит вклад, предпочтительно, наибольший вклад, в вариабельность, и определение ее природного диапазона (называемую здесь и далее маркером вариабельности),

iv.) задание одного или более граничных значений, которые меньше соответствующего естественного диапазона из этапа iii.),

v.) смешивание по меньшей мере двух партий, с учетом по меньшей мере одного граничного значения из этапа iv.) с использованием калькулятора смеси,

vi.) необязательно, повторение этапов i.) - v.).

В рамках этапа iii.) может быть осуществлено определение вариабельности содержания растительных компонентов.

Особенно полезно, что этот вариант осуществления позволяет получать растительные материалы из сложных растительных материалов, содержащих большое количество растительных компонентов, в частности, более 300 растительных компонентов, в частности, вторичных растительных веществ. Подобласти согласно настоящему изобретению дают возможность системного представления значений интенсивности сложных сигналов и суммирования этих интенсивностей сигнала.

Однако согласно настоящему изобретению подобласти могут быть определены широко или очень узко (сфокусированы), т.е. каждая подобласть может, например, включать только один сигнал растительного компонента. Соответственно, этот вариант осуществления может также включать первый вариант способа (см. выше).

Ниже настоящее изобретение объясняется более подробно.

Операция «определения интенсивностей сигнала для растительных компонентов в двух или более партиях с использованием устройства для обнаружения, в частности, ГХ-МС и/или ЖХ-МС» предпочтительно включает применение жидкостной хроматографии (ЖХ), предпочтительно ВЭЖХ, в комбинации с масс-спектрометрией высокого разрешения, например, с использованием времяпролетных устройств (TOF, ВП), в частности, ВЭЖХ-ВП-МС. Упомянутые выше термины ГХ-МС и/или ЖХ-МС не следует понимать как ограничивающие, предусмотрено применение любого устройства, подходящего для этой цели. В частности, можно применять любые устройства для обнаружения (детекторы), такие как УФ-ВИД, детектор по теплопроводности (WLD, ДТП), пламенно-ионизационный детектор (ПВД) и т.д.. Единственным требованием является возможность отображения соответствующих сигналов (пиков $[m / z]$) используемого растительного материала как

функции времени удерживания в процессе определения с применением устройства для обнаружения, в частности, ГХ-МС и/или ЖХ-МС, так называемой хроматограммы.

Соответственно, настоящее изобретение предусматривает такие устройства для обнаружения, которые на выходе дают интенсивности сигнала как функцию времени удерживания в хроматограмме.

При необходимости, определение маркеров вариабельности путем, предпочтительно ГХ-МС, и/или ЖХ-МС, в частности, с представлением их в подобластях согласно настоящему изобретению, может быть дополнено другими методами качественного анализа (например: ИК-спектроскопией, спектроскопией в ближней ИК области, Рамановской спектроскопией, атомно-абсорбционной спектроскопией, «мокрыми» химическими анализами (например, определение полифенолов по методу Фолина-Чокальтеу), методики масс-спектрометрии с фрагментацией (MS^n , MC^n)).

В предпочтительном варианте определяют по меньшей мере 100, 200 или 300 сигналов (и/или интенсивностей сигналов) или более в по меньшей мере одной партии. В более предпочтительном варианте интенсивности сигнала определяют в пяти партиях, предпочтительно, отличающихся одна от другой, в частности, в десяти партиях и более.

В более предпочтительном варианте осуществления сигналы и/или интенсивности сигналов для соответствующей партии растительного экстракта могут записываться в базе данных или запоминающем устройстве.

Операция «определения вариабельности содержания растительных компонентов» может быть осуществлена как показано ниже, где отдельные сигналы и/или интенсивности сигналов для партии и/или для n партий, представлены в виде матрицы:

$$A = \begin{pmatrix} & \text{Signal}_1 & \text{Signal}_2 & \dots & \text{Signal}_k \\ \text{Charge}_1 & a_{1,1} & \dots & \dots & a_{1,k} \\ \text{Charge}_2 & a_{2,1} & \ddots & \dots & a_{2,k} \\ \vdots & \vdots & \dots & \ddots & \vdots \\ \text{Charge}_n & a_{n,1} & \dots & \dots & a_{n,k} \end{pmatrix}$$

Charge = партия, Signal = сигнал

Средние значения $\bar{x}_i$ и стандартные отклонения s_i могут быть рассчитаны для каждого столбца. Относительное стандартное отклонение (в %) определяется формулой

$$RSDX = \frac{\sum_{i=1}^k s_i}{\sum_{i=1}^k \overline{x_i}}$$

Согласно настоящему изобретению среднее относительное стандартное отклонение может быть опрaвлено математически из приведенной выше матрицы и затем может быть использовано для снижения вариaбельности. Такое определение может осуществляться с применением калькулятора, компьютерного.

Операция «идентификации по меньшей мере одного растительного компонента, который вносит вклад, предпочтительно, наибольший вклад, в вариaбельность, и определение его природного диапазона (маркера вариaбельности)» и/или «идентификации по меньшей мере одной подобласти, которая вносит вклад, предпочтительно, наибольший вклад, в вариaбельность, и определение ее природного диапазона (маркера вариaбельности)» может быть осуществлена следующим образом:

Для идентификации маркеров вариaбельности можно применять все математические методы, которые позволяют идентифицировать переменные с наибольшей вариaбельностью по матрице данных. Для этой цели, например, в самом простом случае можно рассчитывать вариaбельность всех переменных, а затем отобрать переменные с наибольшей вариaбельностью. Тем не менее, предпочтительным для применения в анализе является метод главных компонент (МГК, PCA - «principal component analysis»). В МГК на основании полученных данных строят так называемый «график счетов» (Фиг. 1), на котором группы используемых партий представляют в виде диаграммы. Чем дальше точки группы (или, как на Фиг. 4 нескольких групп, для которых выполняются расчеты в МГК) на графике счетов разнесены по системе координат, и чем больше охватывающий их доверительный эллипс, тем выше вариaбельность этой группы. В МГК также создается «график нагрузок» (см. Фиг. 2), по которому можно определить, какие сигналы вносят вклад, предпочтительно, наибольший вклад, в общую вариaбельность и, если необходимо, также их корреляцию с другими сигналами. Выбор маркеров вариaбельности осуществляют следующим образом: определяют абсолютное значение нагрузки каждой суммы значений интенсивности сигналов подобласти, в данном случае, для 5 главных компонент (см. также **Пример D**, компоненты, определяющие > 80 % общей вариaбельности), затем суммируют, а затем суммы значений нагрузки сортируют в порядке убывания. Чтобы выбранные сигналы были более представительными для всего экстракта, в качестве дополнительного критерия можно использовать высокую корреляцию с как можно большим возможным числом сигналов.

Суммарные нагрузки с самыми высокими полученными значениям отражают подобласти (и, соответственно, сигналы-кандидаты), которые можно использовать в качестве маркеров вариабельности. На Фиг. 3 показано, что обычно имеется ограниченное число подобластей (сигналов), которые демонстрируют высокую вариабельность.

Целесообразно определять абсолютное значение сигналов, полученных для определенных маркеров вариабельности (с использованием ЖХ-МС, ЖХ с диодно-матричным детектированием, определением методом спектроскопии в ближнем ИК-спектре или других аналитических методов) для получения сравнимых данных по нескольким партиям, предварительно измеряемых в течение более длительных периодов времени.

Для целей настоящего изобретения, МГК, применяемый в соответствии с настоящим изобретением, представляет собой математический метод получения значимой информации из очень объемных и очень сложных наборов данных и отделения статистического шума. Он представляет собой методику так называемого «дата-майнинга» (добычи данных), которая упрощает набор данных, но в то же время максимально сохраняет информационное содержание.

В результате применения МГК обычно получают два блока информации: так называемый «график счетов» и связанный с ним график нагрузок. На графике нагрузок образцы обычно сгруппированы на основании их «свойств» (согласно настоящему изобретению, свойствами являются интенсивности измеренных сигналов (ЖХ-МС)). Образцы, которые очень близки по своим свойствам, группируются близко друг к другу, а образцы, которые различаются в большей степени, располагаются дальше друг от друга. Относительная протяженность облака точек образцов на графике счетов (например, при сравнении несмешанных образцов со смешанными образцами) также содержит некоторую информацию об их природной вариабельности. Компактное облако точек соответствует меньшей природной вариабельности, чем протяженное облако точек.

С другой стороны, график нагрузок показывает, какие характеристики (или, здесь сигналы ЖХ-МС) вносят основной вклад в расположение объектов на графике счетов. Сигналы, которые располагаются далеко от начала координат на графике нагрузок вносят значительный вклад в расположение (и, соответственно, оказывают большое влияние на вариабельность образцов) и, таким образом, являются перспективными критериями оптимизации в контексте расчета смеси.

Термин «задание одного или более граничных значений, которые меньше соответствующего природного диапазона» означает задание граничного значения или области величин, которые меньше, чем природный диапазон по меньшей мере одного маркера вариабельности. Это может включать также значение 0. После определения маркеров вариабельности их природный диапазон можно определить по интенсивностям сигнала.

Операция „смешивания по меньшей мере двух партий с учетом по меньшей мере одного заданного граничного значения с использованием калькулятора смеси“ означает, что предложен алгоритм, который, с использованием калькулятора смеси, вычисляет отношение, в котором нужно смешать по меньшей мере две или более партий для того чтобы вариабельность смеси двух или более партий лежала в новом выбранном, ограниченном интервале и/или (части) диапазоне.

Для вычисления решают систему линейных неравенств, учитывающую ограничения (например, Lay, David C. (22 августа 2005 г.), Linear Algebra and Its Applications («Линейная алгебра и ее приложения» 3е изд.), Addison Wesley). Если в пуле для смешивания доступно n партий и учитывают k интервалов граничных значений, это можно записать как $\mathbf{G} * \vec{x} \geq \vec{h}$ (Далее матрицы всегда написаны жирным шрифтом (Например, $\mathbf{A}$), векторы – со стрелочкой (Например, $\vec{x}$), а скаляры - курсивом (Например, n)). $\mathbf{G}$ представляет собой матрицу из $2 * n$ рядов и k столбцов. Каждый ряд содержит значения измеренных индивидуальных параметров, которые необходимо оптимизировать, для каждой партии, причем ряды $1...n$ имеют положительный знак, а ряды $(n + 1)...2 * n$ имеют отрицательный знак. Вектор $\vec{h}$ содержит граничные значения диапазонов смешивания, где элементы $h_1.. h_{k/2}$ содержат нижние граничные значения, а элементы $h_{k/2+1}.. h_k$ содержат верхние граничные значения, которым также присваивается отрицательный знак. При решении этой системы неравенств также необходимо использовать матрицу ограничений и решать ее одновременно. Это обеспечивает вычисление процентных долей, а также, в соответствующих случаях, присутствия отдельных партий. Это будет представлено в виде формулы $\mathbf{A} * \vec{x} = \vec{b}$, где $\mathbf{A}$ представляет собой матрицу из m рядов (причем $m > 1$) и k столбцов. Вектор $\vec{b}$ также содержит m элементов, которые всегда имеют значение 1. Первая строка матрицы $\mathbf{A}$ также содержит в качестве элементов только 1, но в других строках также можно определять, следует ли также принимать во внимание выбранные пропорции в смеси некоторых партий или следует исключать некоторые партии из рассмотрения.

Сформулированную таким образом задачу смешивания решают с использованием соответствующего алгоритма линейной оптимизации и определяют отношения для смешивания.

В другом предпочтительном варианте осуществления вариабельность этого набора данных предпочтительно представлена средними из метода главных компонент (МГК, Principal Component Analysis (PCA)). В частности, в другом предпочтительном варианте реализации МГК можно осуществить с суммами значений интенсивности сигналов подобластей графика «дефекта массы». В случае графика дефекта массы определенные сигналы изображают в виде функции m/z от дефекта массы. Дефект массы рассчитывается как отношение дробной десятичной части измеренной массы к общему значению измеренной массы (см. также **Пример С**). Растительные компоненты с близкими значениями массы, а также с близким атомным составом располагаются на графике близко друг к другу (см. Фиг. 11: график дефекта массы). В соответствии с изложенным предпочтительным вариантом реализации после этого подобласти могут быть распознаны как области поверхности. Особенно полезно, что при представлении с использованием графика дефекта массы такие области поверхности могут представлять вторичные растительные вещества, такие как фенолы, флавоноиды и многие другие, и могут быть легко идентифицированы маркеры вариабельности для этой подобласти и/или области поверхности.

В контексте настоящего изобретения под партией, в частности, партией растительного материала, такой как партия растительного материала или партия экстракта, понимают совокупность единиц, произведенных в периодическом процессе, в котором получают определенные количества материала за счет того, что исходные материалы подвергают упорядоченной последовательности операций способа в течение определенного периода времени с использованием одного или более устройств. Исходный материал обычно представляет собой лекарственное растение, из которого получают растительный экстракт или подготовленное растительное лекарственное средство.

Согласно настоящему изобретению смешивание двух или более партий можно осуществлять в миксере, причем присутствие или доля отдельных партий в смеси заранее определяют с использованием калькулятора смеси, который, в свою очередь может быть запрограммирован в соответствии с алгоритмом, который, в частности, задает граничные значения согласно настоящему изобретению для маркера вариабельности в соответствии со способом согласно настоящему изобретению.

Растительный материал (один или множество) в контексте настоящего изобретения включает любой растительный материал, такой как части растения, такие как листья, стебли, корни, цветки.

В частности, растительные материалы могут быть представлены в форме растительных лекарственных средства, а также в форме растительных экстрактов (см. выше).

Настоящее изобретение также включает получаемые растительные материалы, в частности, растительные экстракты, которые могут быть получены способом согласно настоящему изобретению. Растительные материалы, получаемые в соответствии с настоящим изобретением, в частности, растительные экстракты характеризуются по меньшей мере измененным содержанием растительных компонентов, в частности, указанные получаемые растительные материалы характеризуются сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов. Получаемые растительные материалы, в частности, растительные экстракты, отличаются сниженной вариабельностью, причем содержание по меньшей мере одного маркера вариабельности среди растительных компонентов изменено. Кроме того, снижен разброс значений содержания растительных компонентов.

Соответственно, настоящее изобретение относится к растительному материалу со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов, который может быть получен или произведен в соответствии со способом согласно настоящему изобретению.

В контексте настоящего изобретения «растительный экстракт» и «растительный материал» обозначают многокомпонентную смесь природных веществ, которая содержит более двух природных веществ, в частности, более 10 или 100 природных веществ, в частности, более 200, 300, 500 или 1000 природных веществ. Растительные экстракты могут быть получены из растительных материалов, например, путем экстракции, перколяции или мацерации. В качестве экстрагента могут использоваться растворители, такие как вода, C1-C5 спирты, этанол или другие растворители, обладающие достаточной полярностью. Обычным экстрагентом является, например, смесь вода/этанол (50:50, 70:30, 30:70).

Следующие роды, в частности, лекарственные растения, являются предпочтительными в соответствии с настоящим изобретением для растительных экстрактов, а также для растительных материалов:

Equiseti, Juglandis, Millefolii, Quercus, Taraxaci, Althaeae, Matricariae, Centaurium, Levisticum, Rosmarinus, Angelica, Artemisia, Astragalus, Leonurus, Salvia, Saponaria, Scutellaria, Siegesbeckia, Armoracia, Capsicum, Cistus, Echinacea, Galphimia, Hedera, Melia,

Olea, Pelargonium, Phytolacca, Primula, Salix, Thymus, Vitex, Vitis, Rumicis, Verbena, Sambucus, Gentiana, Cannabis, Silybum.

Следующие виды, в частности, следующие лекарственные растения являются предпочтительными в соответствии с настоящим изобретением для растительных экстрактов, а также для растительных материалов:

Equiseti herba (трава хвоща полевого), *Juglandis folium* (лист грецкого ореха), *Millefolii herba* (трава тысячелистника), *Quercus cortex* (кора дуба), *Taraxaci herba* (трава одуванчика аптечного), *Althaeae radix* (корень алтея) и *Matricariae flos* (ромашка аптечная (цветы ромашки)), *Centaureum erythraea* (золототысячник), *Levisticum officinale* (любисток), *Rosmarinus officinalis* (розмарин), *Angelica dahurica* (дудник даурский, название в транскрипции Пиньинь: Baizhi (байчжи)), *Angelica sinensis* (дудник китайский, название в транскрипции Пиньинь Danguai (Донгквей)), *Artemisia scoparia* (полынь метельчатая, название в транскрипции Пиньинь: Yinchen (иньчэнь)), *Astragalus membranaceus* (var. *Mongolicus*) (астрагал перепончатый, кит.: Huang-Qi (хуанчи)), *Leonurus japonicus* (пустырник японский, кит.: тей), *Salvia miltiorrhiza* (красный шалфей, кит. : Danshen (дань шень)), *Saposhnikovia divaricata* (Сапожниковия растопыренная, название в транскрипции Пиньинь Fangfeng (фан-фэн)), *Scutellaria baicalensis* (шлемник байкальский, Banzhilian (бан чжи лян)), *Siegesbeckia pubescens* (сигезбекия, название в транскрипции Пиньинь Xixiancao (Си Сянь Цыао)), *Armoracia rusticana* (хрен деревенский), *Capsicum sp.* (паприка), *Cistus incanus* (ладанник), *Echinacea angustifolia* (рудбекия), *Echinacea purpurea* (эхинацея пурпурная), *Galphimia glauca* (триаллис сизый), *Hedera helix* (плющ), *Melia toosendan* (мелия сучуаньская, Кит.: Чуань Лянь Цзы), *Olea europaea* (олива), *Pelargonium sp.* (пеларгонии), *Phytolacca americana* (лаконос американский), *Primula veris* (первоцвет), *Salix sp.* (ива), *Thymus L.* (тимьян), *Vitex agnus castus* (авраамово дерево), *Vitis vinifera* (виноград культурный), *Rumicis herba* (трава щавеля), *Verbena officinalis* (вербена аптечная), *Sambucus nigra* (бузина черная), *Gentiana lutea* (горечавка желтая), *Cannabis sativa* (Hanf), *Silybum marianum* (остропестр).

Настоящее изобретение также предусматривает смеси приведенных выше родов и/или видов.

Примеры и чертежи:

Представленные ниже примеры предназначены для того, чтобы более подробно объяснить изобретение, но настоящее изобретение не ограничено этими примерами.

Фигуры 1-12 объясняются выше и ниже.

На фиг. 13 объединены варианты определения маркеров вариабельности, перечисленных в описании примеров В, С и D. Эти варианты осуществления не являются исключительными.

Пример А

Пример смешивания

Primula veris (первоцвет весенний)

Для препарата первоцвета весеннего (*Primula veris*) 30 несмешанных партий подвергали измерению методом ВЭЖХ-времяпролетной масс-спектрометрии, определяли их природную вариабельность (т.е. RSDX (см. выше)), а затем определяли маркеры вариабельности способом, описанным выше. Затем с использованием этой информации проводят расчет смеси для нескольких составов, которые готовили в специальной лаборатории и снова подвергали измерению методом ВЭЖХ-времяпролетной масс-спектрометрии. Для расчета смеси и последующего измерения использовали 5 маркеров вариабельности с самыми высокими абсолютными суммарными значениями нагрузки. Сравнение значений, которые могут быть достигнуты для такого RSDX показано на Фиг. 5. В этом примере с использованием первоцвета весеннего также проводили расчеты по МГК с использованием данных для смешанных и несмешанных образцов и размещали доверительный эллипс вокруг каждой группы образцов (Фиг. 4). Чем меньше площадь эллипса, тем меньше вариабельность, которая ожидаемо была самой маленькой в смешанных образцах. В этом случае наблюдаем такую же ситуацию, как и в альтернативном способе для RSDX (см. выше).

Rumex crispus (щавель курчавый)

Для препарата щавеля курчавого (*Rumex crispus*) 40 несмешанных партий подвергали исходным измерениям и обработке так же, как описано для *Primula veris*. Сравнение достигнутых значений для данного RSDX показано на Фиг. 6.

Sambuccus nigra (бузина черная)

Для препарата бузины черной (*Sambucus nigra*) 40 несмешанных партий подвергали исходным измерениям и обработке так же, как описано для *Primula veris*. Сравнение достигнутых значений для данного RSDX показано на Фиг. 7.

Verbena officinalis (вербена лекарственная)

Для препарата вербены лекарственной (*Verbena officinalis*) 30 несмешанных партий подвергали исходным измерениям и обработке так же, как описано для *Primula veris*. Сравнение достигнутых значений для данного RSDX показано на Фиг. 8.

Пример В

Пример процедуры снижения вариабельности растительного материала путем расчета смеси для *Rumex crispus* (щавеля курчавого)

Приведена выдержка из первоначальных наборов данных, достаточная для процедуры согласно изобретению.

i) Определение сигналов растительных компонентов методом ЖХ-МС в нескольких партиях

Результаты обычно представляют собой таблицу, подобную приведенной ниже: числа представляют собой измеренные интенсивности, полученные в измерении, например, методом ЖХ-МС.

	Сигнал 1	Сигнал 2	Сигнал 3	Сигнал 4	Сигнал 5	Сигнал 6	Сигнал 7	Сигнал 8	Сигнал 9	Сигнал 10	Сигнал 11	Сигнал 12
Партия_1	16711	5763	14366	8912	8521	24000	29252	11208	9471	8302	7189	5317
Партия_2	16797	5961	14480	8713	9170	23294	25059	5834	7969	8250	5102	3937
Партия_3	16411	6182	14636	8096	7357	23788	21161	7111	9148	7458	4075	5450
Партия_4	16800	7030	12939	8800	8293	24433	19279	6319	9599	8005	4291	6829
Партия_5	16677	6739	13440	9141	9954	23389	20415	6159	10361	8324	2171	6645

ii) Определение общей вариабельности / стандартного отклонения для 5 образцов

	Сигнал 1	Сигнал 2	Сигнал 3	Сигнал 4	Сигнал 5	Сигнал 6	Сигнал 7	Сигнал 8	Сигнал 9	Сигнал 10	Сигнал 11	Сигнал 12
Среднее значение	16679	6335	13972	8733	8659	23781	23033	7326	9310	8068	4566	5636

Стандартное отклонение	159	533	742	390	973	465	4100	2220	872	364	1818	1169
Относительное Стандартное отклонение	0,95	8,41	5,31	4,47	11,23	1,95	17,80	30,31	9,36	4,51	39,81	20,74

Сумма средних значений	136097
Сумма стандартных отклонений	13804
Среднее относительное стандартное отклонение (RSDX) в %	10,14

iii) Идентификация сигналов, которые вносят наибольший вклад в вариабельность / стандартное отклонение.

Расчет нагрузок для таблицы, полученной на этапе i) с использованием метода главных компонент (МГК) (например, 5 главных компонент):

	ГК1	ГК 2	ГК 3	ГК 4	ГК 5
Сигнал 1	0,109279	0,412709	-0,046291	-0,523313	-0,689587
Сигнал 2	0,429376	-0,111223	-0,019776	-0,179957	0,030141
Сигнал 3	-0,416814	-0,070444	0,164048	0,221163	-0,299226
Сигнал 4	0,214981	0,454797	-0,077392	0,11073	0,361717
Сигнал 5	0,182568	0,418618	0,271278	0,18247	0,151153
Сигнал 6	0,090994	-0,153925	-0,571312	-0,340579	0,308789
Сигнал 7	-0,350032	0,291495	-0,176306	0,116159	0,05639
Сигнал 8	-0,231543	0,129218	-0,49517	0,318806	-0,107474
Сигнал 9	0,313837	-0,004629	-0,276986	0,533461	-0,322529
Сигнал 10	0,070295	0,52119	0,004128	0,23006	0,098764
Сигнал 11	-0,33773	0,15198	-0,360046	-0,220731	0,050834
Сигнал 12	0,385359	-0,100694	-0,28623	0,185295	-0,232151

Суммирование абсолютных значений сигналов:

Сигнал 1	Сигнал 2	Сигнал 3	Сигнал 4	Сигнал 5	Сигнал 6	Сигнал 7
1,781179	0,770473	1,1716956	1,2196165	1,2060872	1,465598	0,990382

Сигнал 8	Сигнал 9	Сигнал 10	Сигнал 11	Сигнал 12
1,2822101	1,451442	0,7173837	1,1213197	1,1897284

Сортировка от наибольшего к наименьшему значению – определение 5 наиболее важных сигналов для дальнейшей оптимизации (выделены оранжевым):

Сигнал 1	Сигнал 6	Сигнал 9	Сигнал 8	Сигнал 4	Сигнал 5	Сигнал 12
1,781179	1,4655984	1,4514416	1,2822101	1,2196165	1,206087	1,1897284

Сигнал 3	Сигнал 11	Сигнал 7	Сигнал 2	Сигнал 10
1,1716956	1,1213197	0,9903817	0,7704728	0,7173837

Определение природных диапазонов 5 идентифицированных сигналов:

	Сигнал 1	Сигнал 6	Сигнал 9	Сигнал 8	Сигнал 4
Минимальное значение диапазона	16411	23294	7969	5834	8096
Среднее значение	16679	23781	9310	7326	8733
Максимальное значение диапазона	16800	24433	10361	11208	9141

iv) Определение содержания растительных компонентов, на которых основаны маркеры вариабельности

Необязательно, его можно выполнить таким образом, что интенсивностям сигнала будут поставлены в соответствие содержания в определенных единицах (например, в мг/л и т.п.). Для этой цели существуют соответствующие методы количественной оценки для различных аналитических методов. Однако при необходимости этот этап также можно пропустить (как в данном примере), поскольку он представляет собой всего лишь линейное преобразование значений интенсивности.

v) задание нового, ограниченного диапазона

Допустимое минимальное значение увеличивают, а допустимое максимальное значение уменьшают, ограничивая таким образом допустимый диапазон для смеси или смесей (см. Фиг 14):

	Сигнал1	Сигнал6	Сигнал9	Сигнал8	Сигнал4
Новый допустимый минимум	16545	23537	8639	6580	8414
Среднее значение	16679	23781	9310	7326	8733
Новый допустимый максимум	16740	24107	9835	9267	8937

vi) Осуществление расчета смеси

После расчета получают следующие рабочие инструкции для партий, которые можно использовать для смешивания:

	Доля в %
Партия 1	59,34
Партия 2	35,53
Партия 5	5,13

Ожидаемые результаты для этого примера смеси:

	Сигнал 1	Сигнал 6	Сигнал 9	Сигнал 8	Сигнал 4
Ожидаемая интенсивность сигнала	16740	23718	8983	9040	8853

Все ожидаемые интенсивности сигнала укладываются в желаемый сокращенный диапазон.

vii) Этот расчет можно, соответственно, повторить, например, при новом смешивания других партий.

Пример С

Пример процедуры для снижения вариабельности растительного сырья путем расчета смеси для *Rumex crispus* (щавеля курчавого)

Приведена выдержка из первоначального набора данных, достаточная для осуществления процедуры согласно изобретению.

i) определение сигналов растительных компонентов методом ЖХ-МС в нескольких партиях

Результаты обычно представляют собой таблицу, подобную приведенной ниже: числа представляют собой измеренные интенсивности, полученные при измерении, например, методом ЖХ-МС.

	Сигна л 1	Сигна л 2	Сигна л 3	Сигна л 4	Сигна л 5	Сигна л 6	Сигна л 7	Сигна л 8	Сигна л 9	Сигна л 10	Сигна л 11	Сигна л 12
Партия _1	16711	5763	14366	8912	8521	24000	29252	11208	9471	8302	7189	5317
Партия _2	16797	5961	14480	8713	9170	23294	25059	5834	7969	8250	5102	3937
Партия _3	16411	6182	14636	8096	7357	23788	21161	7111	9148	7458	4075	5450
Партия _4	16800	7030	12939	8800	8293	24433	19279	6319	9599	8005	4291	6829
Партия _5	16677	6739	13440	9141	9954	23389	20415	6159	10361	8324	2171	6645

ii) Деление сигналов на несколько подобластей и суммирование этих подобластей

1.1. Существуют различные стратегии для разделения сигналов на несколько подобластей. Например, можно отсортировать их по времени удерживания сигнала ЖХ-МС или по массе и соответственно суммировать.

	Область 1			Область 2			Область 3			Область 4		
	Сигнал 1	Сигнал 2	Сигнал 3	Сигнал 4	Сигнал 5	Сигнал 6	Сигнал 7	Сигнал 8	Сигнал 9	Сигнал 10	Сигнал 11	Сигнал 12
Партия_1	16711	5763	14366	8912	8521	24000	29252	11208	9471	8302	7189	5317
Партия_2	16797	5961	14480	8713	9170	23294	25059	5834	7969	8250	5102	3937
Партия_3	16411	6182	14636	8096	7357	23788	21161	7111	9148	7458	4075	5450
Партия_4	16800	7030	12939	8800	8293	24433	19279	6319	9599	8005	4291	6829
Партия_5	16677	6739	12440	9194	9954	23389	20415	6159	10361	8324	2171	6645

1.2. Суммирование сигналов из подобластей, далее в соответствии с этапом iii)

	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Партия_1	36841	41433	49932	20808
Партия_2	37238	41177	38862	17290
Партия_3	37229	39241	37421	16983
Партия_4	36769	41526	35197	19126
Партия_5	36855	42485	36934	17140

2.1. Другую возможность дает применение графика дефекта массы, с помощью которого сигналы можно разделить на основании соответствующих им классов химических веществ. Дефект массы для каждого сигнала рассчитывают следующим образом.

$$MD = \frac{mz - \text{floor}(mz)}{mz} * 10^6$$

MD = дефект массы

$mz = m/z$ (масса/заряд) – отношение до 4 десятичных разрядов

$\text{floor}()$ = функция, которая округляет десятичную дробь до ближайшего меньшего целого числа

Пример расчета для некоторых отношений

mz (измеренное)	$\text{floor}(mz)$	$mz - \text{floor}(mz)$ mz	MD (дефект массы)
183,1748	183	0,00095428	954,2797372
187,0981	187	0,000524324	524,3238707
357,0568	357	0,000159078	159,0783315
585,1575	585	0,000269158	269,1583035
839,1849	839	0,000220333	220,3328492

Результатом является график, как на Фиг. 11, на котором каждый сигнал располагают в системе координат, в которой по оси X откладывают отношение m/z , а по оси Y – соответствующие значения дефекта массы. Положение сигналов обычно является характеристическим для группы веществ (например, флавоноидов, терпеноидов и т.д.), к которой относится сигнал.

2.2. Затем сумму интенсивностей сигналов, входящих в каждую партию в каждой ячейке, можно рассчитать, например, с помощью размещенной поверх сетки (здесь показана серым).

2.3. Число сигналов на клетку (клетка может содержать несколько сигналов с различными интенсивностями) может быть ясно отражено на карте интенсивностей (см. Фиг. 12).

2.4. Суммирование интенсивностей сигналов в отдельных клетках может дать, например, следующие сжатые данные (клетки, сумма в которых равна 0 из-за отсутствия сигнала, в этом случае исключали. Подписи всегда следуют следующей схеме: „клетка (координата по оси X | координата по оси Y)“)

	Клетка (1 5)	Клетка (1 6)	Клетка (1 9)	Клетка (2 8)	Клетка (2 9)
Партия 1	1430	4703	541	1671	4298
Партия 2	2577	5058	950	2133	4306
Партия 3	2664	4939	1046	2502	4309
Партия 4	2808	5186	971	2526	4306
Партия 5	1717	4316	600	1817	4300

Эту таблицу затем можно использовать аналогично тому, как описано в пункте iii) ниже, в остальном процедура идентична.

iii) идентификация подобластей, которые оказывают самое большое влияние на вариабельность/ стандартное отклонение

Расчет нагрузок на основе таблицы из этапа 1.2 (или 2.4) с использованием метода главных компонент (в данном случае, например, в любом случае можно выбрать 4 главные компоненты):

	ГК1	ГК2	ГК3	ГК4
Область 1	0,5560277	-0,3779871	0,4745952	-0,568083
Область 2	- 0,4228279	0,588995	0,6291389	-0,2801532
Область 3	- 0,4177076	-0,6292769	0,4980767	0,4259701
Область 4	- 0,5810078	-0,3379663	-0,3617503	-0,6460277

Суммирование абсолютных значений для всех областей:

Область 1	Область 2	Область 3	Область 4
------------------	------------------	------------------	------------------

1,976693	1,921115	1,9710313	1,9267471
----------	----------	-----------	-----------

Сортировка от наибольшего к наименьшему значению – идентификация 2 наиболее важных областей для дальнейшей оптимизации (выделены подчеркиванием; для дальнейшей оптимизации также может быть выбрано больше областей):

<u>Область 1</u>	<u>Область 3</u>	Область 4	Область 2
1,976693	1,9710313	1,9267471	1,921115

iv) Определение содержания растительных компонентов, на которых основаны маркеры вариабельности

Необязательно, его можно выполнить таким образом, что интенсивностям сигнала будут поставлены в соответствие конкретные содержания в определенных единицах (например, в мг/л и т.п.). Для этой цели существуют соответствующие методы количественной оценки для различных аналитических методов. Однако при необходимости этот этап также можно пропустить (как в данном примере), поскольку он представляет собой всего лишь линейное преобразование значений интенсивности.

v) Установление природного диапазона выбранных областей

	<u>Область 1</u>	<u>Область 3</u>
Минимум диапазона	36769	35197
Среднее значение	36986	39669
Максимум диапазона	37238	49932

vi) Установление ограниченного диапазона

Допустимое минимальное значение увеличивают, а допустимое максимальное значение уменьшают, ограничивая таким образом допустимый диапазон для смеси или смесей (см. Фиг. 15):

	<u>Область 1</u>	<u>Область 3</u>
--	------------------	------------------

Новый допустимый минимум	36878	37433
Среднее значение	36986	39669
Новый допустимый максимум	37112	44801

vii) Осуществление расчета смеси

После расчета получают следующие рабочие инструкции для партий, которые можно использовать для смешивания:

	Доля в %
Партия 1	50,00
Партия 2	20,00
Партия 5	30,00

Ожидаемые результаты для этого примера смеси:

	Область 1	Область 3
Ожидаемая интенсивность сигнала	36924	43819

Все ожидаемые интенсивности сигнала укладываются в желаемый сокращенный диапазон.

viii) Этот расчет можно, соответственно, повторить, например, при новом смешивании других партий.

Пример D

Пример того, как сигналы ЖХ-МС могут использоваться для оптимизации, применяемой в контексте расчета смеси. Ниже приведены 2 возможных примера

a) путем оценки с использованием метода главных компонент (МПК) измерений методом ЖХ-МС отдельных образцов лекарственного сырья.

b) путем оценки стандартных отклонений сигналов, полученных в ЖХ-МС-измерении отдельных образцов лекарственного сырья

Для краткости приведена только выдержка из исходного набора данных, достаточная для демонстрации принципа.

Для а):

i) определение сигналов растительных компонентов методом ЖХ-МС в нескольких партиях

Результат обычно представляет собой таблицу, подобную приведенной ниже: числа представляют собой измеренные интенсивности, полученные при измерении, например, методом ЖХ-МС. (В нижеследующем примере измеряли 40 партий и определяли 363 сигнала в каждом случае, приведенная ниже таблица представляет собой выдержку из этих данных)

	Сигна л 1	Сигна л 2	Сигна л 3	Сигна л 4	Сигна л 5	Сигна л 6	Сигна л 7	Сигна л 8	Сигна л 9	Сигна л 10	Сигна л 11	Сигна л 12
Партия _1	9418	20502	15661	8338	19523	5265	769	4071	3142	3710	53741	5275
Партия _2	12067	24221	15079	3575	19903	5549	7052	3991	3373	10319	55016	5898
Партия _3	10880	18391	15361	4120	19271	4581	5274	3660	2731	4308	52762	4763
Партия _4	12972	19288	16197	7262	21719	7748	7889	4790	2897	6482	57076	7193
Партия _5	11923	17665	17322	5598	21461	6120	7760	4734	3110	5847	56114	6207

ii) Реализация метода главных компонент (МПК)

Представление счетов и нагрузок

В качестве частного примера здесь представлены 6 главных компонент и приведены расчеты для них; они соответствуют приблизительно 80% от общей вариабельности в настоящем примере и, соответственно, достаточно хорошо описывают этот набор данных. Однако, в любом случае можно использовать другие главные компоненты для лучшего представления общей вариабельности.

	ГК1	ГК 2	ГК 3	ГК 4	ГК 5	ГК 6
Доля вариабельности (%)	27,552	23,735	10,993	7,845	5,311	4,809
Кумулятивная вариабельность (%)	27,552	51,287	62,22	70,065	75,376	80,185

Как в Примере А, рассчитывают абсолютные значения полученных значений нагрузок, суммируют по выбранным главным компонентам, а затем сортируют в порядке убывания величины. На Фиг. 10 выбрали 5 сигналов, которые вносят в наибольший вклад в вариабельность, и отметили их красным на изображениях графика нагрузки (по 2 из 6 главных компонент на график) (также в каждом случае можно выбрать дополнительные сигналы). Сигналы, отмеченные красным, во всех случаях фактически являются одними и теми же сигналами, только представлены различными главными компонентами. Они охватывают весь диапазон сигналов и достаточно хорошо представляют образцы.

Выбранные таким образом сигналы можно затем использовать для расчета смеси в соответствии с процедурой, описанной в Примере А

Для b):

Можно осуществить альтернативный выбор сигналов, просто рассмотрев стандартные отклонения интенсивностей сигналов от партий, измеренных методом ЖХ-МС. Например, можно идентифицировать 5 сигналов с наибольшим стандартным отклонением и использовать для расчета смеси.

i) Измерение нескольких партий с использованием ЖХ-МС (здесь: представлена выдержка из полученной таблицы сигналов) и расчет стандартного отклонения для каждого сигнала

	Сигнал 1	Сигнал 2	Сигнал 3	Сигнал 4	Сигнал 5	Сигнал 6	Сигнал 7	Сигнал 8	Сигнал 9	Сигнал 10	Сигнал 11	Сигнал 12
Партия_1	9418	20502	15661	8338	19523	5265	769	4071	3142	3710	53741	5275
Партия_2	12067	24221	15079	3575	19903	5549	7052	3991	3373	10319	55016	5898
Партия_3	10880	18391	15361	4120	19271	4581	5274	3660	2731	4308	52762	4763
Партия_4	12972	19288	16197	7262	21719	7748	7889	4790	2897	6482	57076	7193
Партия_5	11923	17665	17322	5598	21461	6120	7760	4734	3110	5847	56114	6207
Стандартное отклонение	1358	2580	884	2024	1135	1196	2973	493	246	2595	1741	928

ii) Сортировка/ идентификация сигналов с наибольшим стандартным отклонением. В этом примере выбрали 5 сигналов (в каждом случае можно выбрать больше), которые выделены подчеркиванием.

	Стандартное отклонение
<u>Сигнал 7</u>	2972,69048
<u>Сигнал 10</u>	2594,5976
<u>Сигнал 2</u>	2579,53471
<u>Сигнал 4</u>	2024,25463
<u>Сигнал 11</u>	1741,25076
Сигнал 1	1357,8297
Сигнал 6	1195,66479
Сигнал 5	1135,03692

Сигнал 12	927,916591
Сигнал 3	884,462549
Сигнал 8	493,222769
Сигнал 9	245,744379

С выбранными таким образом сигналами также можно осуществить расчет смеси как объясняется ранее в этом документе. В этом втором способе идентифицируются в основном те же сигналы, что и в методе главных компонент (МГК).

Например, при определении 20 сигналов вместо всего лишь 5 в этих двух способах, этот пример все ещё демонстрирует совпадение 17 выбранных сигналов (см. Фиг. 9).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов, характеризующийся тем, что применяют по меньшей мере один маркер вариабельности и смешивают по меньшей мере две партии при с использованием калькулятора смеси.

2. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов, включающий следующие этапы:

i.) определение интенсивностей сигнала для растительных компонентов в двух или более партиях с использованием устройства для обнаружения, в частности, ГХ-МС и/или ЖХ-МС,

ii.) идентификацию по меньшей мере одного растительного компонента, который вносит вклад, предпочтительно, наибольший вклад, в вариабельность, и определение его природного диапазона,

iii.) задание одного или более граничных значений, которые меньше соответствующего естественного диапазона из этапа ii.),

iv.) смешивание по меньшей мере двух партий с учетом по меньшей мере одного граничного значения из этапа iii.) с использованием калькулятора смеси,

v.) необязательно, повторение этапов i.) - iv.).

3. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов, включающий следующие этапы:

i.) определение интенсивностей сигнала для растительных компонентов в двух или более партиях с использованием устройства для обнаружения, в частности, ГХ-МС и/или ЖХ-МС,

ii.) разделение сигналов на две или более подобластей и суммирование интенсивностей сигналов растительных компонентов в каждой подобласти,

iii.) идентификацию по меньшей мере одной подобласти, которая вносит вклад, предпочтительно, наибольший вклад, в вариабельность, и определение его природного диапазона

iv.) задание одного или более граничных значений, которые меньше соответствующего естественного диапазона из этапа iii.),

v.) смешивание по меньшей мере двух партий, с учетом по меньшей мере одного граничного значения из этапа iv.) с использованием калькулятора смеси,

vi.) необязательно, повторение этапов i.) - v.).

4. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов, характеризующийся тем, что по меньшей мере одно устройство для обнаружения выбрано из группы, состоящей из жидкостной хроматографии (ЖХ), в частности, ВЭЖХ, предпочтительно, в комбинации с масс-спектрометрией высокого разрешения, такой как времяпролетные (TOF) устройства, в частности, ВЭЖХ-ВП-МС, УФ-ВИД, детектор по теплопроводности, пламенно-ионизационный детектор или, или такими устройствами для обнаружения, которые выдают интенсивности сигнала как функцию от времени удерживания на хроматограмме.

5. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов по любому из предыдущих пунктов, характеризующийся тем, что в партии определяют 100, 200 или 300 или более интенсивностей сигнала.

6. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов по любому из предыдущих пунктов, характеризующийся тем, что интенсивности сигнала определяют в 5 или 10 партиях.

7. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов по любому из предыдущих пунктов, характеризующийся тем, что растительный материал выбран из группы, включающей *Equiseti*, *Juglandis*, *Millefolii*, *Quercus*, *Taraxaci*, *Althaeae*, *Matricariae*, *Centaurium*, *Levisticum*, *Rosmarinus*, *Angelica*, *Artemisia*, *Astragalus*, *Leonurus*, *Salvia*, *Saposhnikovia*, *Scutellaria*, *Siegesbeckia*, *Amaranthus*, *Capsicum*, *Cistus*, *Echinacea*, *Galphimia*, *Hedera*, *Melia*, *Olea*, *Pelargonium*, *Phytolacca*, *Primula*, *Salix*, *Thymus*, *Vitex*, *Vitis*, *Rumicis*, *Verbena*, *Sambucus*, *Gentiana*, *Cannabis*, *Silybum*.

8. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов по любому из предыдущих пунктов, характеризующийся тем, что растительный материал представляет собой растительных экстракт.

9. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов по любому из предыдущих пунктов,

характеризующийся тем, что в нем применяют метод главных компонент (Principal component analysis, PCA).

10. Растительный материал со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов, получаемый способом по любому из пп. 1-9.

11. Растительный материал со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов или с сниженной неоднородностью партий.

ИЗМЕНЁННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов, включающий следующие этапы:

i.) определение интенсивностей сигнала для растительных компонентов в двух или более партиях с использованием устройства для обнаружения, в частности, ГХ-МС и/или ЖХ-МС,

ii.) идентификацию по меньшей мере одного растительного компонента, который вносит вклад, предпочтительно, наибольший вклад, в вариабельность, и определение его природного диапазона,

iii.) задание одного или более граничных значений, которые меньше соответствующего естественного диапазона из этапа ii.),

iv.) смешивание по меньшей мере двух партий с учетом по меньшей мере одного граничного значения из этапа iii.) с использованием калькулятора смеси,

v.) необязательно, повторение этапов i.) - iv.).

2. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов, включающий следующие этапы:

i.) определение интенсивностей сигнала для растительных компонентов в двух или более партиях с использованием устройства для обнаружения, в частности, ГХ-МС и/или ЖХ-МС,

ii.) разделение сигналов на две или более подобластей и суммирование интенсивностей сигналов растительных компонентов в каждой подобласти,

iii.) идентификацию по меньшей мере одной подобласти, которая вносит вклад, предпочтительно, наибольший вклад, в вариабельность, и определение его природного диапазона

iv.) задание одного или более граничных значений, которые меньше соответствующего естественного диапазона из этапа iii.),

v.) смешивание по меньшей мере двух партий, с учетом по меньшей мере одного граничного значения из этапа iv.) с использованием калькулятора смеси,

vi.) необязательно, повторение этапов i.) - v.).

3. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов по пп. 1 или 2, характеризующийся тем, что по меньшей мере одно устройство для обнаружения выбрано из группы, состоящей из жидкостной хроматографии (ЖХ), в частности, ВЭЖХ, предпочтительно, в комбинации с масс-спектрометрией высокого разрешения, такой как времяпролетные (TOF) устройства, в частности, ВЭЖХ-ВП-МС, УФ-ВИД, детектор по теплопроводности, пламенно-ионизационный детектор или, или такими устройствами для обнаружения, которые выдают интенсивности сигнала как функцию от времени удерживания на хроматограмме.

4. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов по любому из предыдущих пунктов, характеризующийся тем, что в партии определяют 100, 200 или 300 или более интенсивностей сигнала.

5. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов по любому из предыдущих пунктов, характеризующийся тем, что интенсивности сигнала определяют в 5 или 10 партиях.

6. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов по любому из предыдущих пунктов, характеризующийся тем, что растительный материал выбран из группы, включающей *Equiseti*, *Juglandis*, *Millefolii*, *Quercus*, *Taraxaci*, *Althaeae*, *Matricariae*, *Centaurium*, *Levisticum*, *Rosmarinus*, *Angelica*, *Artemisia*, *Astragalus*, *Leonurus*, *Salvia*, *Saposhnikovia*, *Scutellaria*, *Siegesbeckia*, *A Armoracia*, *Capsicum*, *Cistus*, *Echinacea*, *Galphimia*, *Hedera*, *Melia*, *Olea*, *Pelargonium*, *Phytolacca*, *Primula*, *Salix*, *Thymus*, *Vitex*, *Vitis*, *Rumicis*, *Verbena*, *Sambucus*, *Gentiana*, *Cannabis*, *Silybum*.

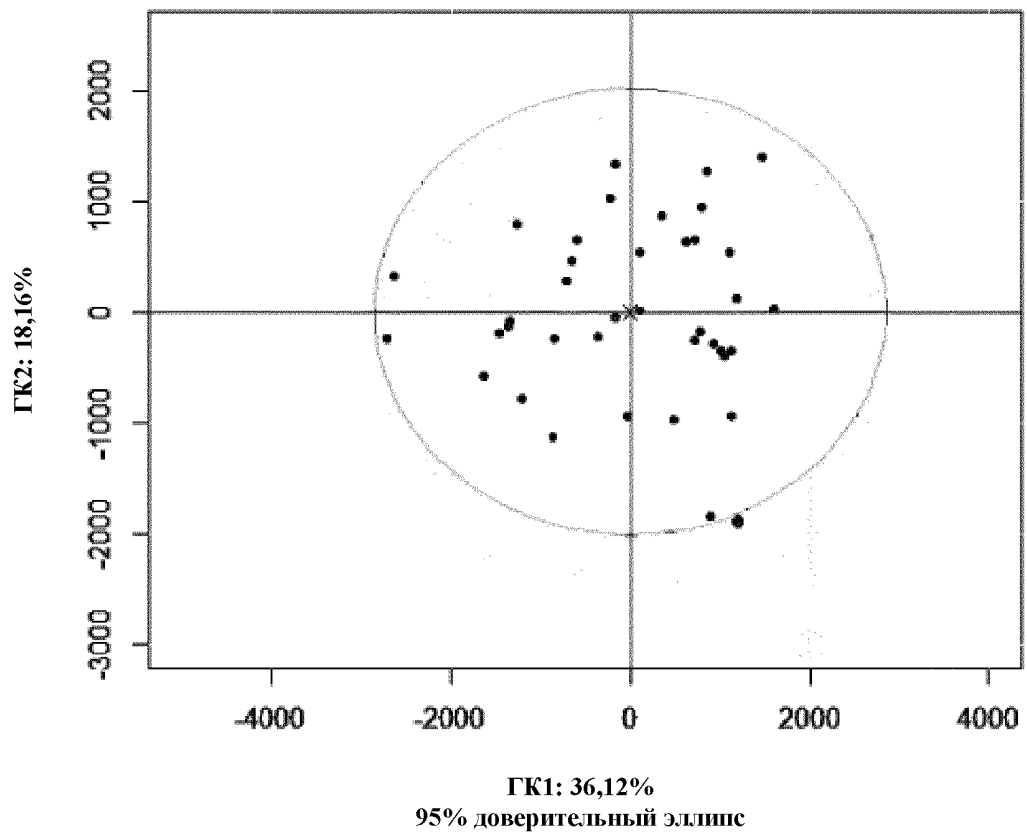
7. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов по любому из предыдущих пунктов, характеризующийся тем, что растительный материал представляет собой растительных экстракт.

8. Способ получения растительного материала со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов по любому из предыдущих пунктов, характеризующийся тем, что в нем применяют метод главных компонент (Principal component analysis, PCA).

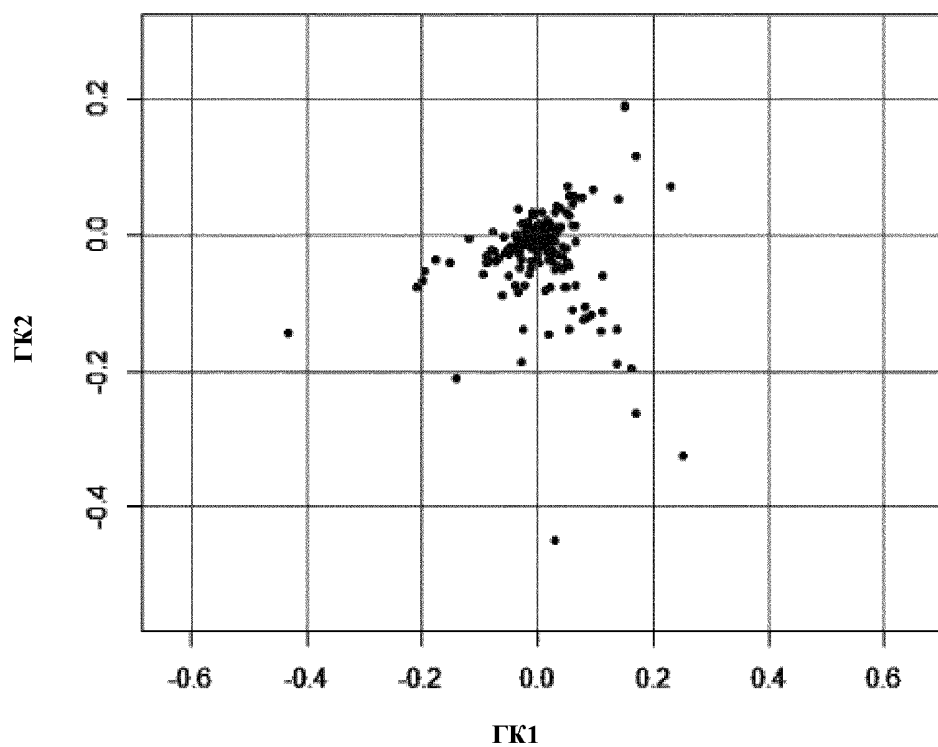
9. Растительный материал со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов, получаемый способом по любому из пп. 1-8.

10. Растительный материал со сниженной вариабельностью содержания растительных компонентов или со сниженной неоднородностью партий.

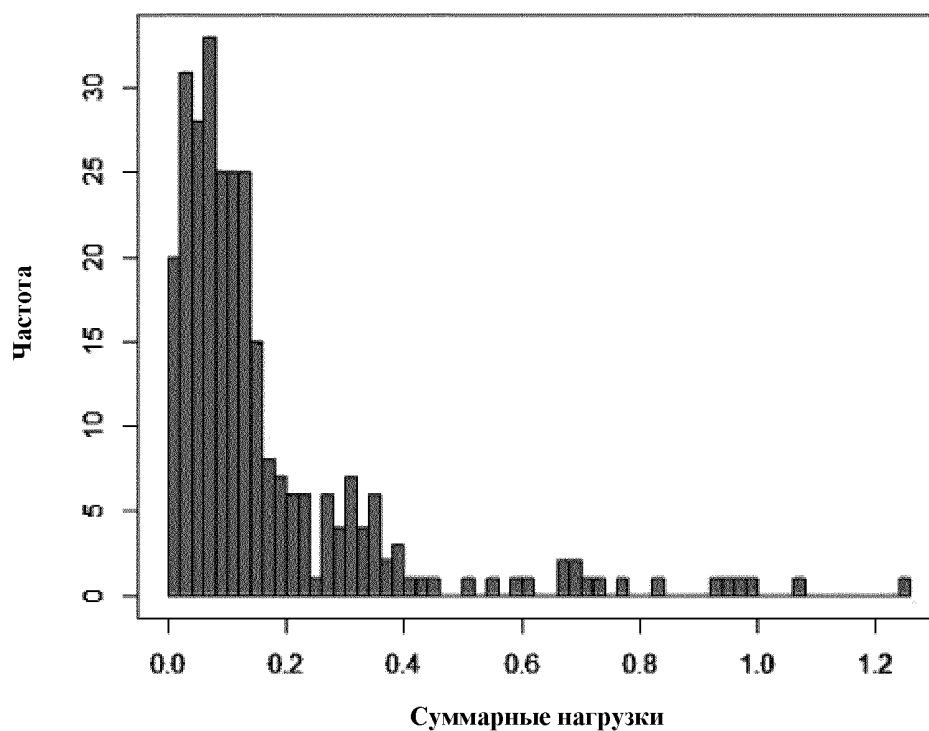
График счетов в МГК, шкала Парето



Фиг. 1: Пример графика счетов в МГК для несмешанного лекарственного средства

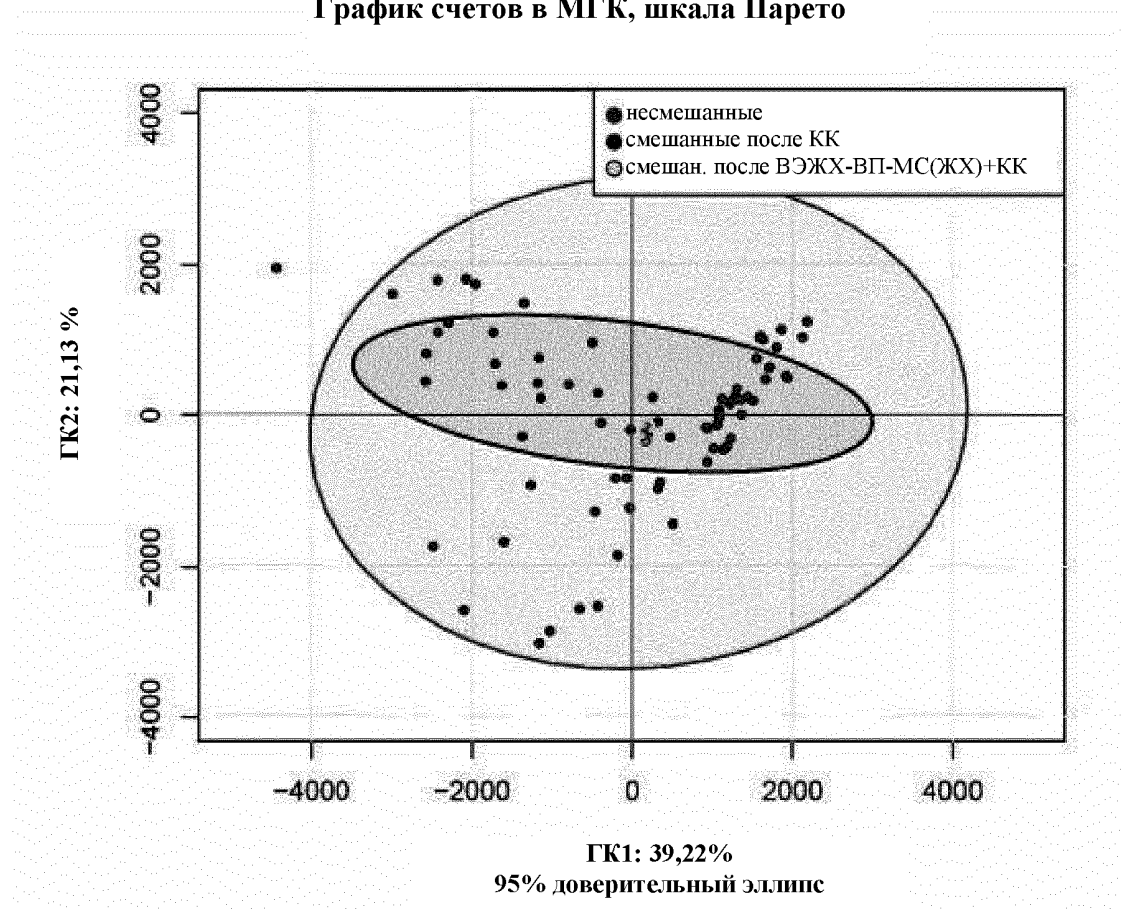
График нагрузок в МГК, шкала Парето

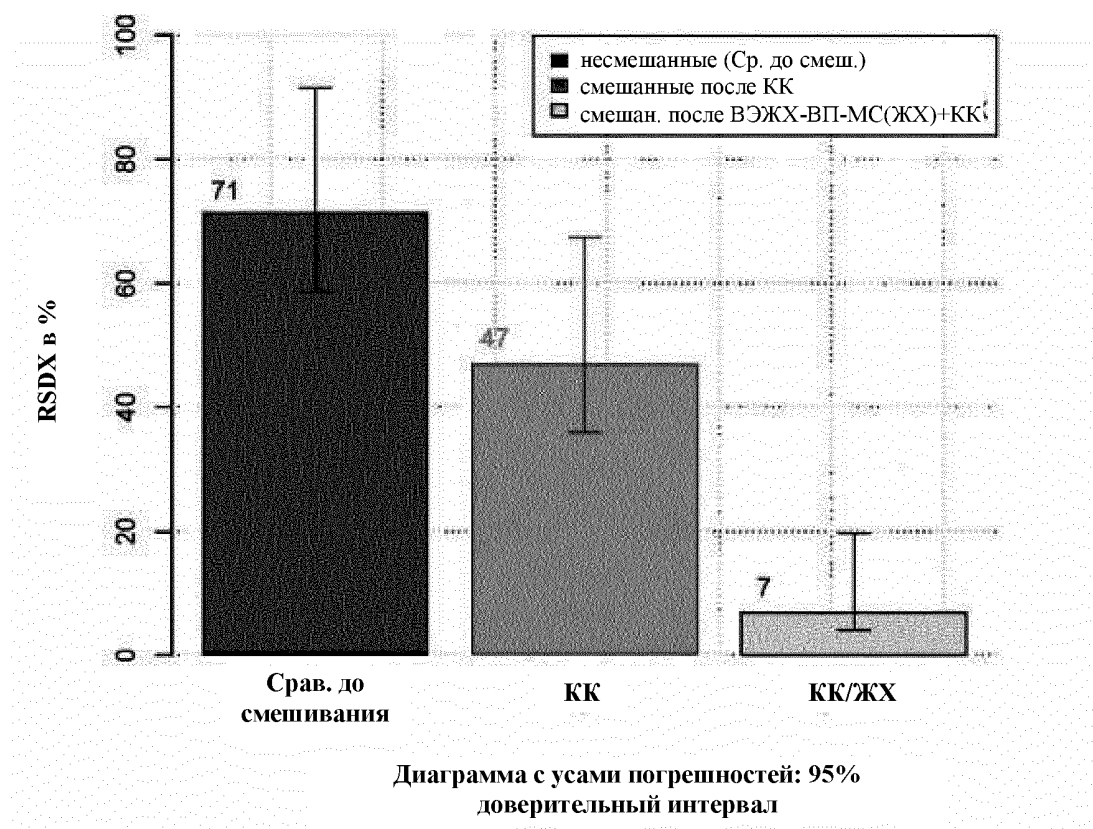
Фиг. 2: Пример графика нагрузок в МГК для несмешанного лекарственного средства

Гистограмма суммарных нагрузок (5 главных компонент)

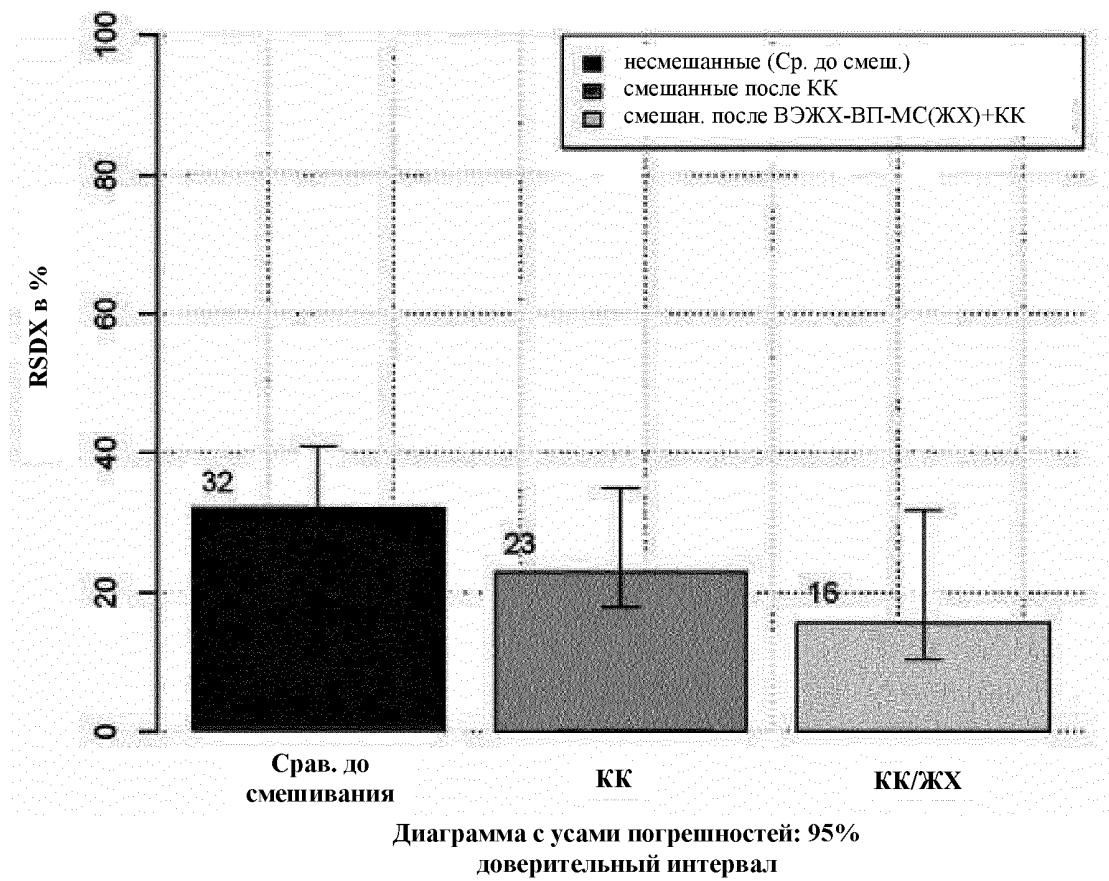
Фиг. 3: Пример гистограммы суммарных значений нагрузки. В качестве маркеров variability можно рассматривать сигналы в правой части диаграммы

График счетов в МГК, шкала Парето

Фиг. 4: Пример графика счетов в МГК для смеси первоцвета весеннего (*Primula veris*)



Фиг. 5: Получение смеси первоцвета весеннего (*Primula veris*)



Фиг. 6: Получение смеси щавеля курчавого (*Rumex crispus*)

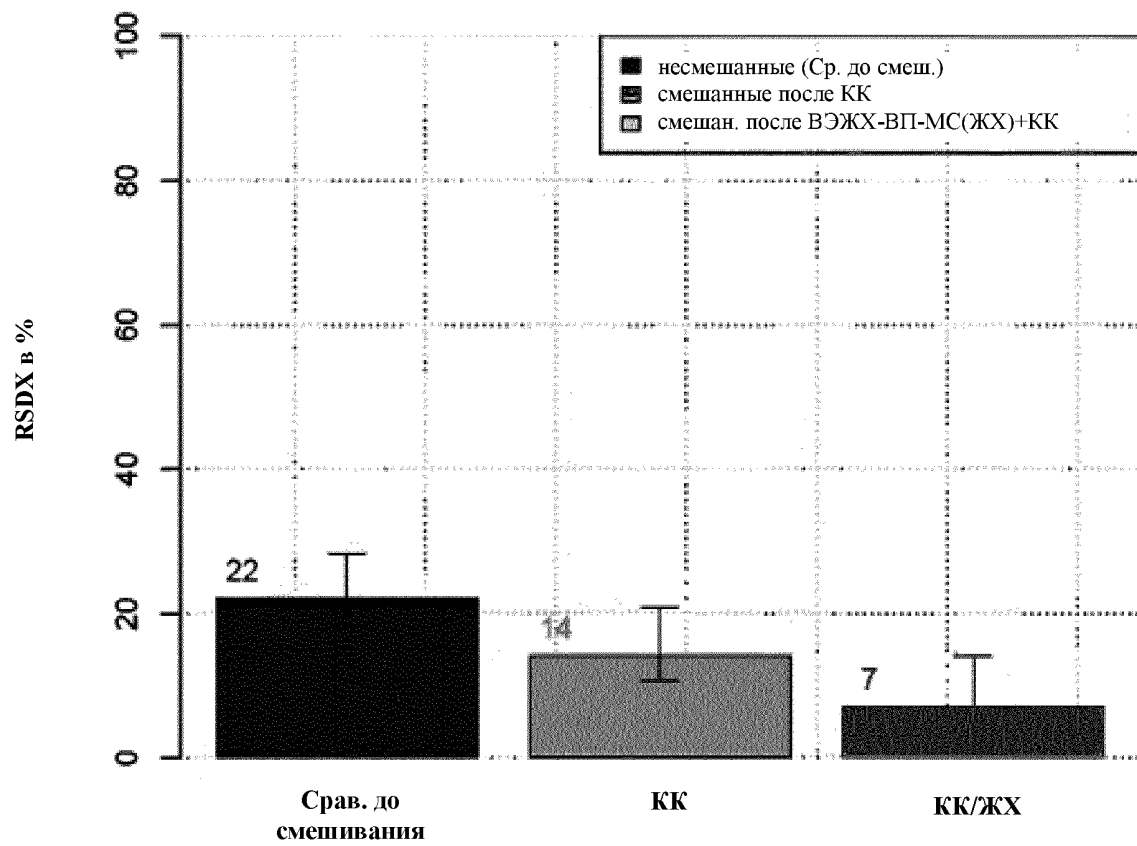
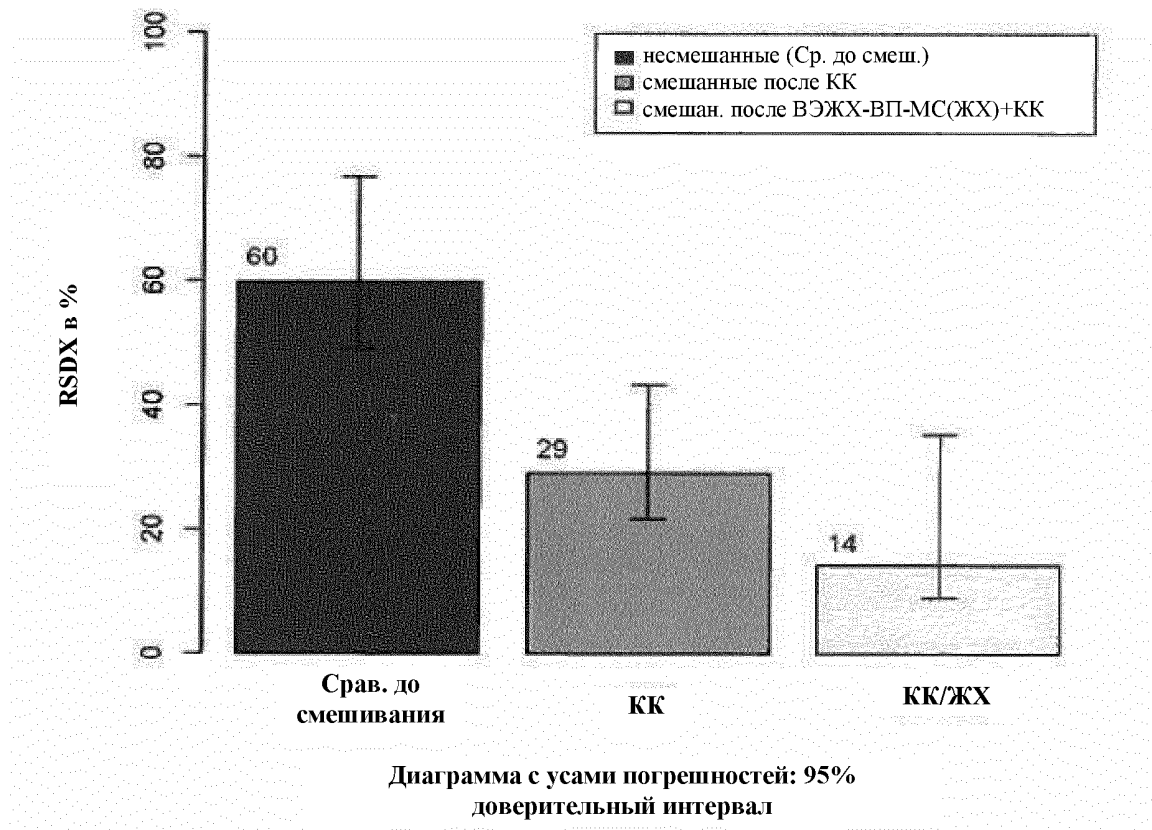
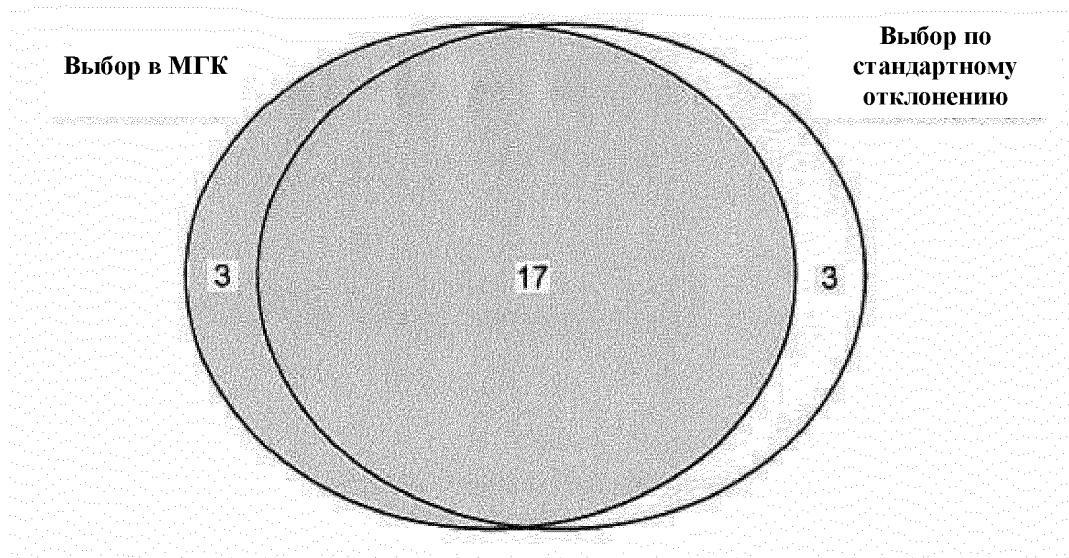


Диаграмма с усами погрешностей: 95%
доверительный интервал

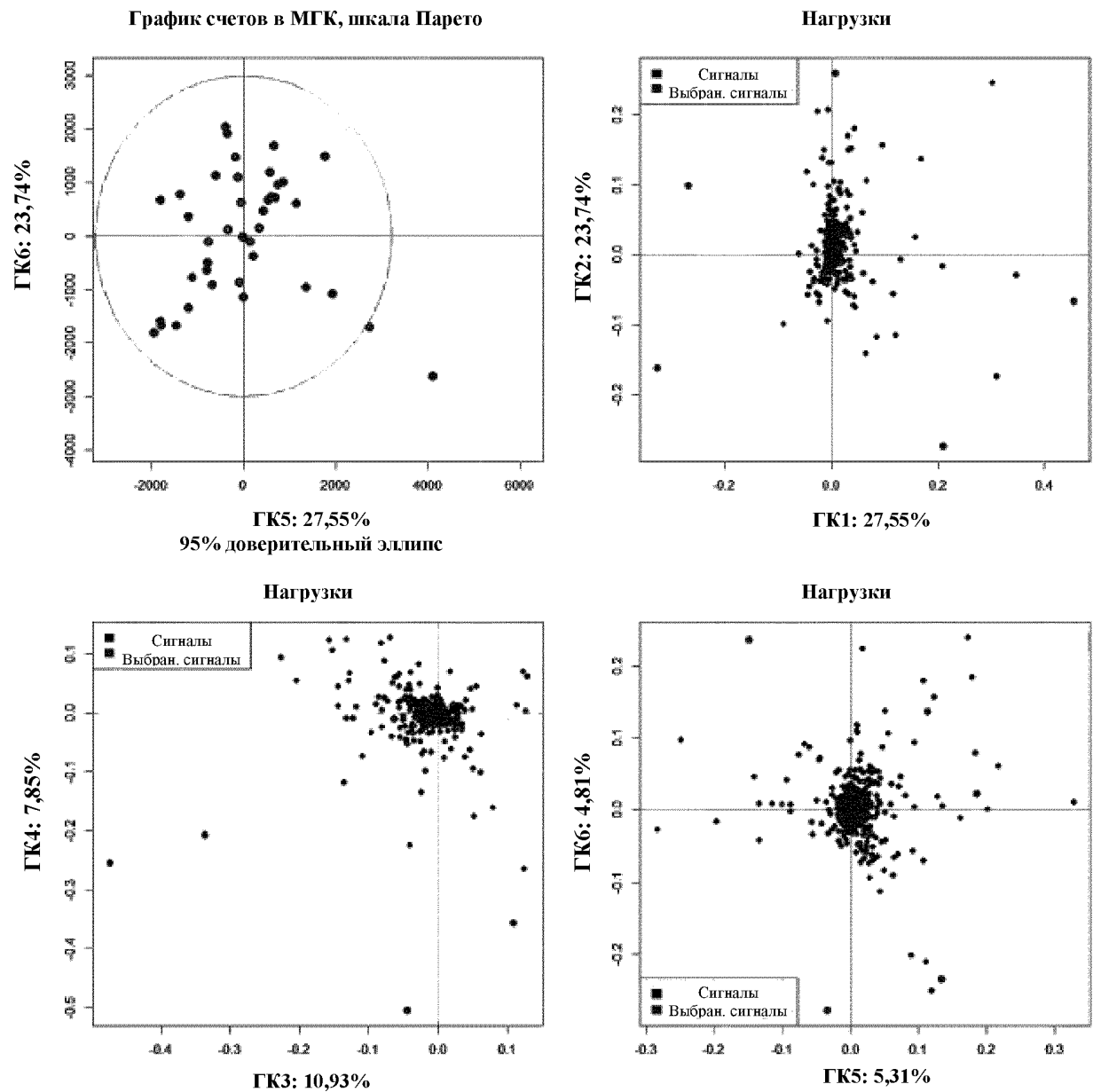
Фиг. 7: Получение смеси бузины чёрной (*Sambucus nigra*)



Фиг. 8: получение смеси вербены лекарственной (*Verbena officinalis*)

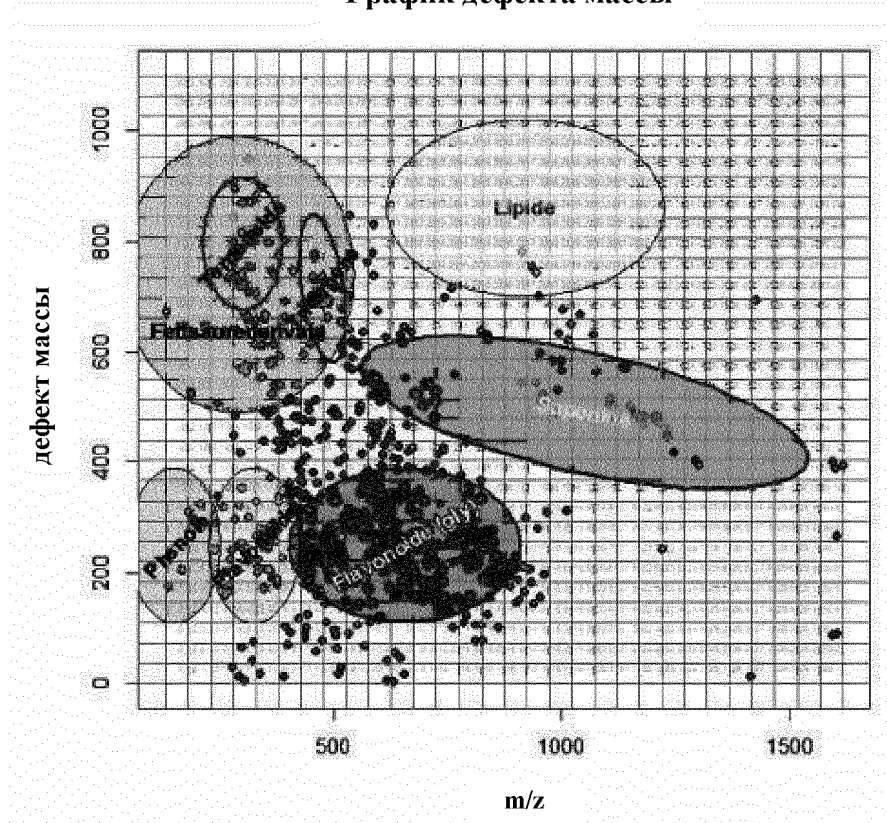


Фиг. 9: Диаграмма Венна для выбора сигналов



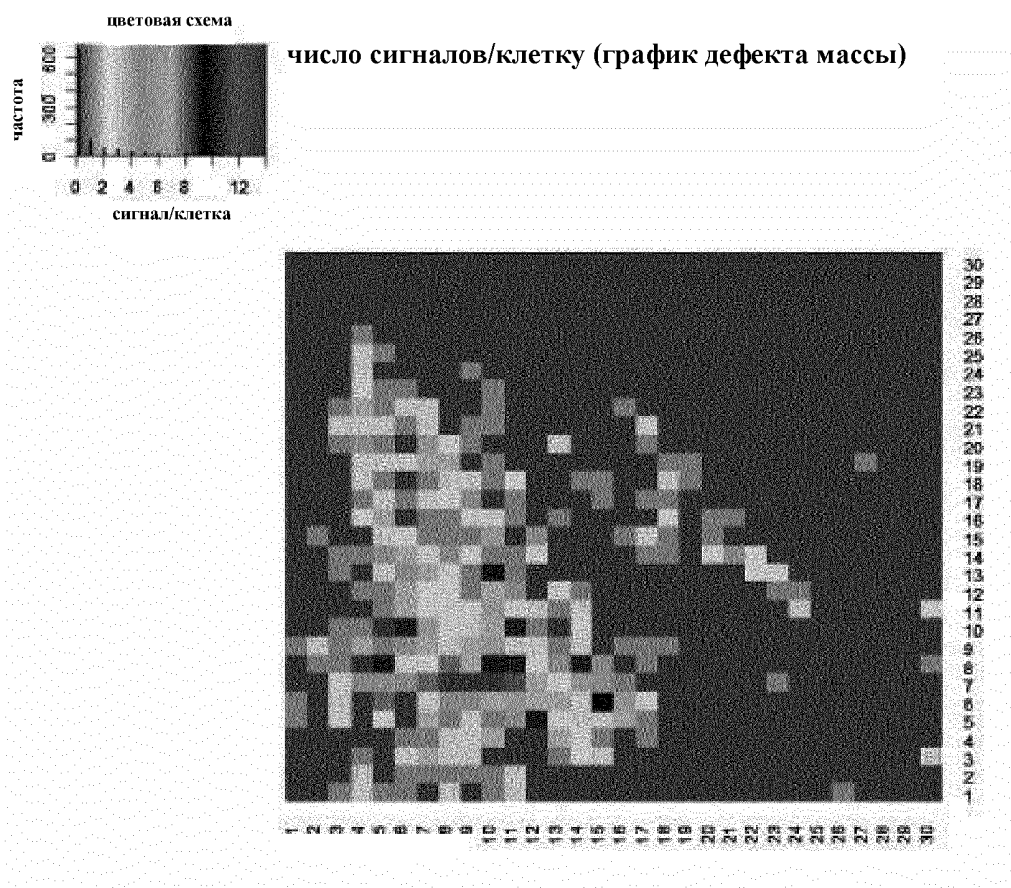
Фиг. 10: Графики МГК с выбранными сигналами

График дефекта массы

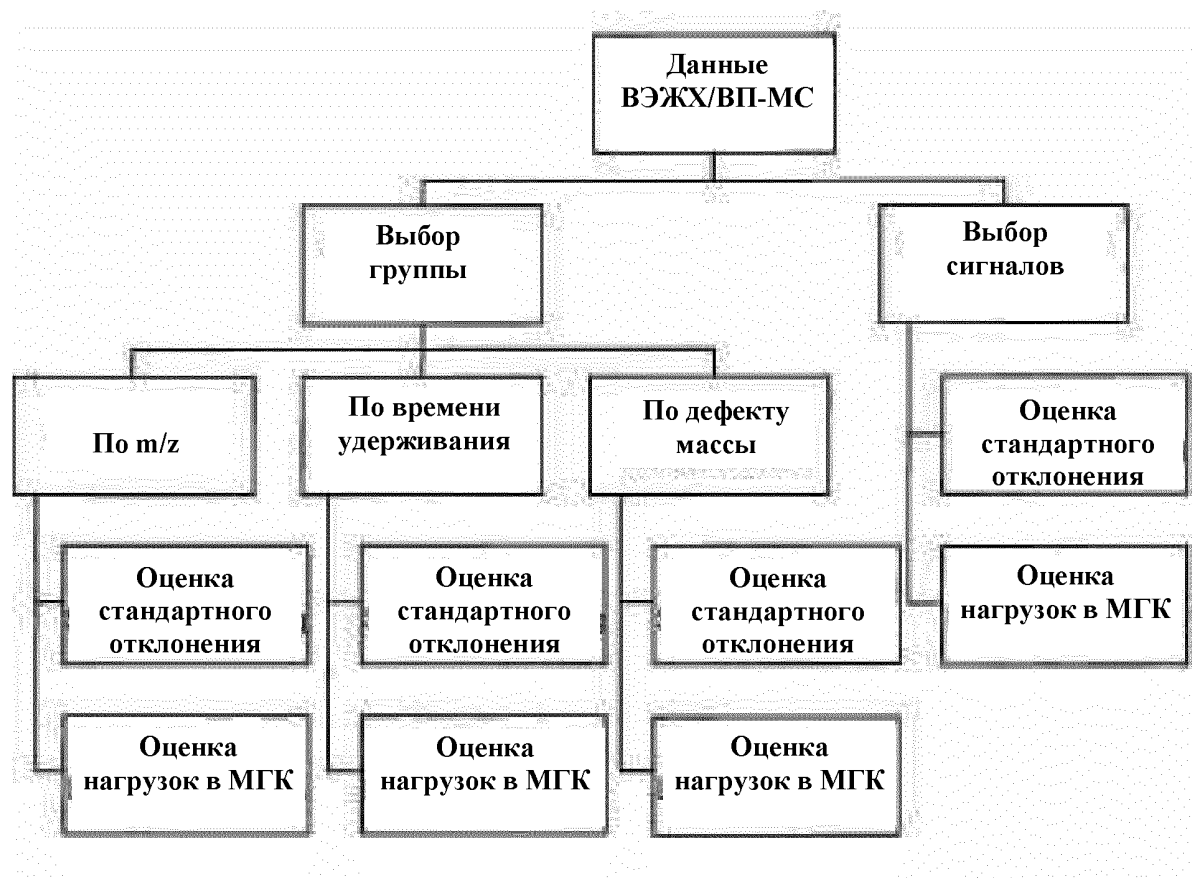


Фиг. 11: График дефекта массы

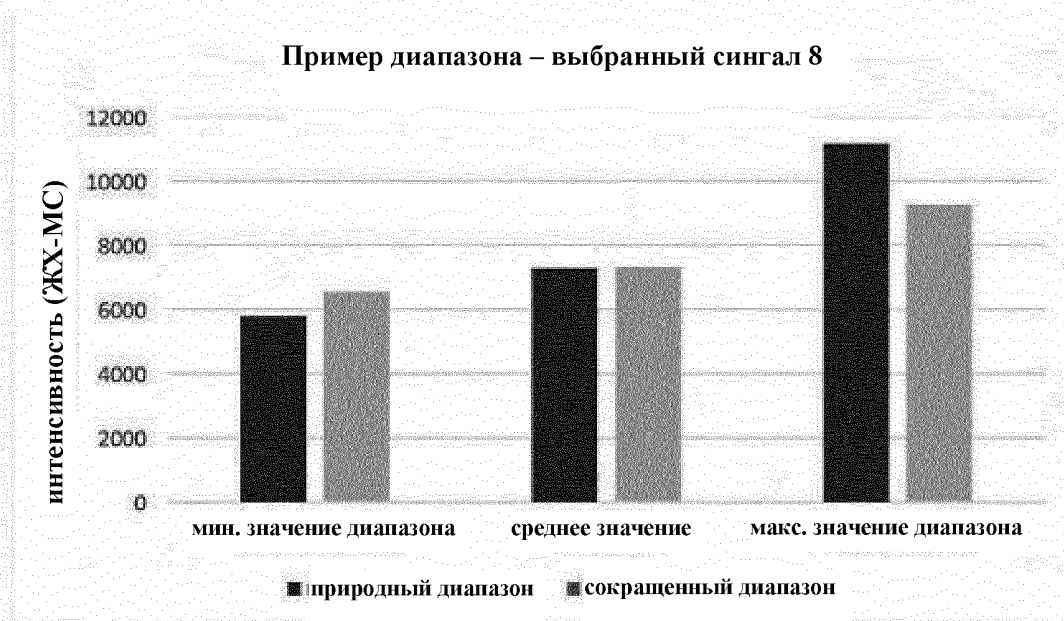
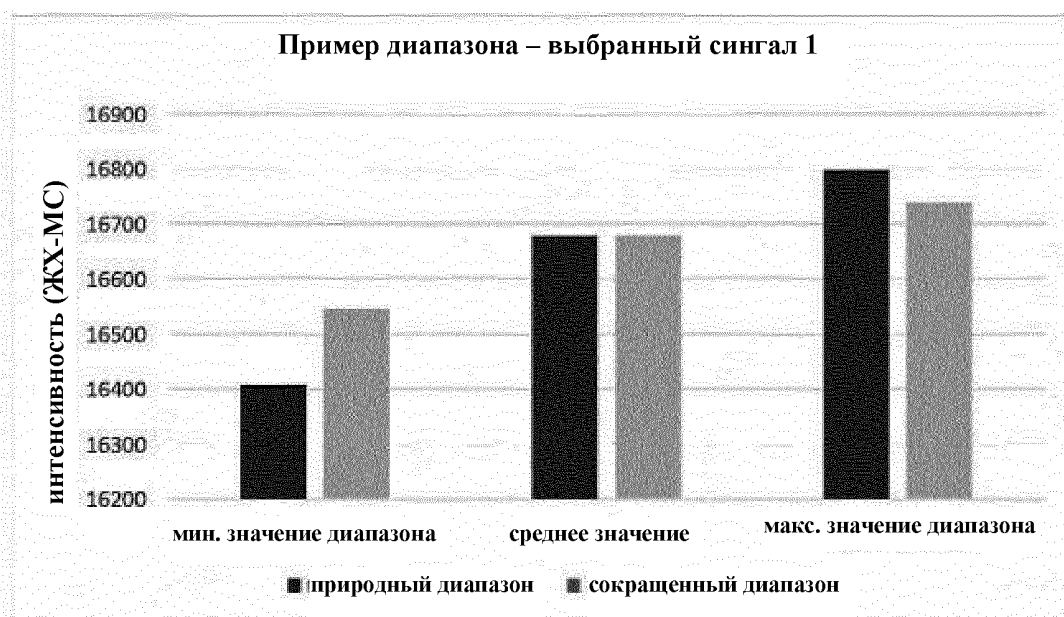
на графике: Lipide = липиды, Terpeneoide = терпеноиды, Phenole = фенол, Flavonoide (gly) = флавоноиды (гли), Saponine = сапонины и др.



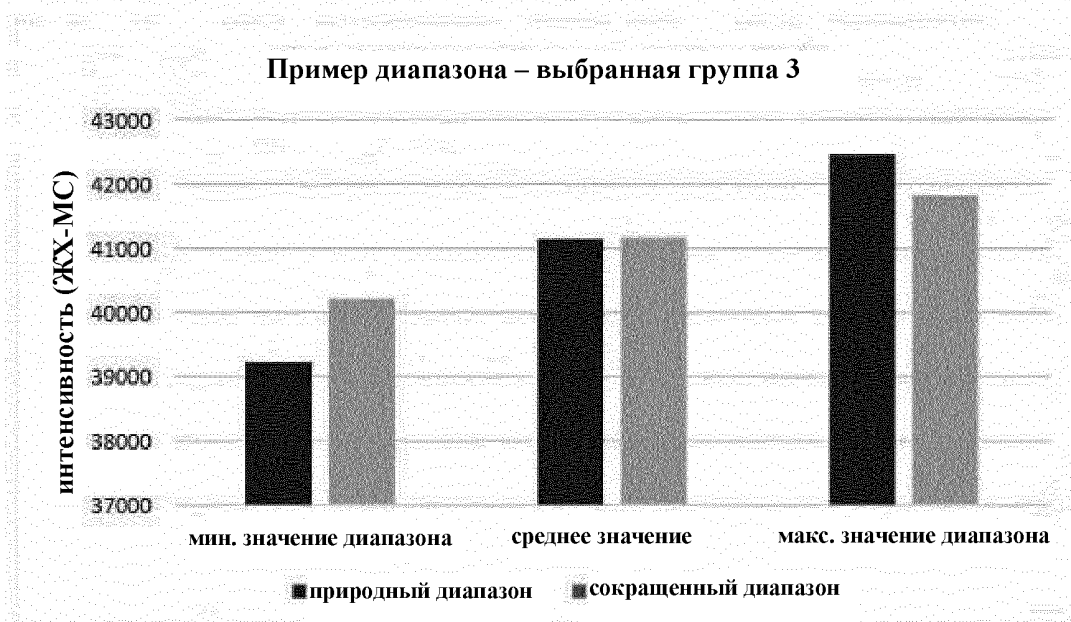
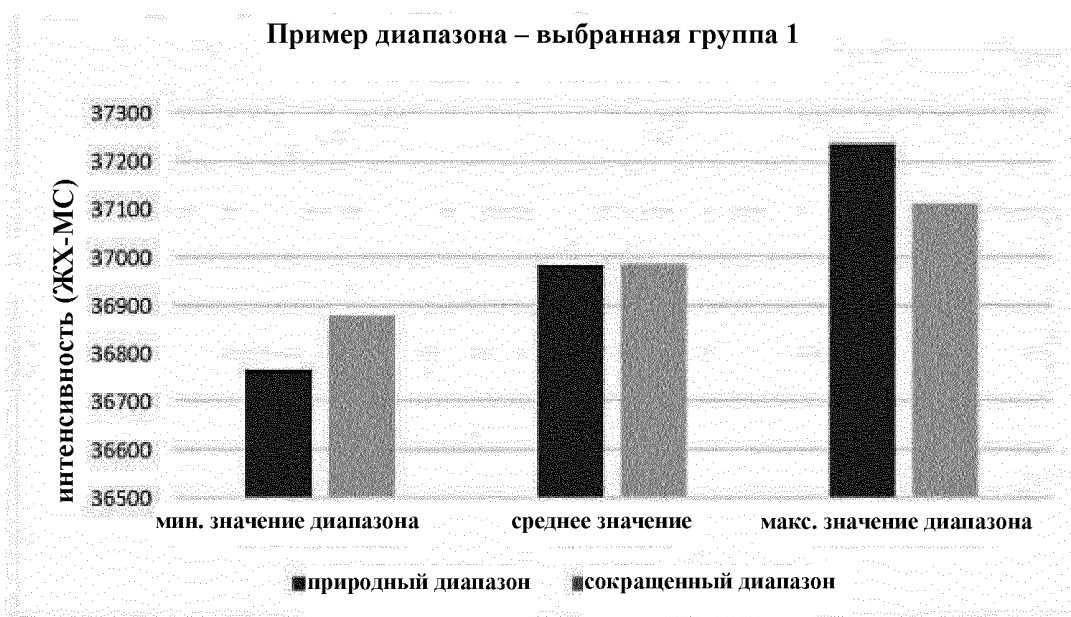
Фиг. 12: Число сигналов / клетка на графике дефекта массы



Фиг. 13: Иллюстративный обзор выбора маркеров variability



Фиг. 14: к Примеру В (v)



Фиг. 15: к Примеру С (vi)