

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **042306**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- | | |
|--|--|
| (45) Дата публикации и выдачи патента
2023.02.02 | (51) Int. Cl. <i>A23F 3/18</i> (2006.01)
<i>A23F 3/36</i> (2006.01)
<i>C07C 231/24</i> (2006.01)
<i>C07C 237/06</i> (2006.01)
<i>C07D 473/12</i> (2006.01)
<i>A61K 31/52</i> (2006.01)
<i>A61K 31/195</i> (2006.01)
<i>A61P 25/26</i> (2006.01) |
| (21) Номер заявки
202100261 | |
| (22) Дата подачи заявки
2021.04.27 | |

(54) **СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ СУБСТАНЦИИ ИЗ ЧАЙНЫХ ОТХОДОВ, СОСТОЯЩЕЙ ИЗ L-ТЕАНИНА И КОФЕИНА, ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ УМСТВЕННОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ**

- | | |
|--|---|
| (43) 2022.10.31 | (56) US-A-5501866
KR-A-20070074718
CN-A-101058548
CN-A-101798355 |
| (96) 2021/009 (AZ) 2021.04.27 | |
| (71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ГАРАЕВ ЭЛЬДАР АБДУЛЛА ОГЛЫ;
НАСИБОВА ТОХФА АСЛАН КЫЗЫ
(AZ) | |
| (72) Изобретатель:
Гараев Эльдар Абдулла оглы,
Насибова Тохфа Аслан кызы, Гараев
Эльнур Эльдар оглы (AZ) | |
| (74) Представитель:
Насибова Т.А. (AZ) | |

(57) Изобретение относится к технологическому процессу получения субстанции из чайных отходов, которая содержит определенное количество теанина и кофеина, для улучшения умственной работоспособности и может быть использована в фармацевтической промышленности для получения лекарственных препаратов, предназначенных для этой цели. Сущность изобретения состоит в том, что измельченное в ходе чайного производства и высушенное сырье нагревают с очищенной водой, фильтруют, из фильтрата осаждают L-теанин при помощи 95%-ного этилового спирта. Через 1-2 дня выпавший в осадок L-теанин отделяют с помощью фильтрации. После отделения осадка на водяной бане этиловый спирт перегоняют из фильтрата, фильтрат помещают в фарфоровую чашу и нагревают на водяной бане до полного улетучивания этилового спирта. Затем в охлажденный фильтрат добавляют 10,6%-ный раствор гидрокарбоната натрия для подщелачивания, через сутки отфильтровывают образовавшийся осадок - танин, т.е. фильтрат освобождают от танина, который выбрасывают. В освобожденный от танина фильтрат добавляют этиловый спирт и оставляют на сутки. Через сутки кофеин выпадает в осадок. Осадок отделяют способом фильтрации и полученный порошок кофеина смешивают с ранее полученным L-теанином. Таким образом, получают целевой продукт - твердый порошкообразный осадок темно-коричневого цвета, являющийся субстанцией из чайных отходов, состоящей из L-теанина и кофеина.

042306
B1

042306
B1

Изобретение относится к технологическому процессу получения субстанции из чайных отходов, которая содержит определенное количество теанина и кофеина, для улучшения умственной работоспособности и может быть использована в фармацевтической промышленности для получения лекарственных препаратов, предназначенных для этой цели.

В современном мире большой интерес вызывают пищевые продукты или напитки, способствующие усилению умственной работоспособности человека, а именно, улучшению памяти, внимания, скорости передачи информации.

L-теанин по природе является аминокислотой, производной глутаминовой кислоты - L-γ-глутамилэтиламидом (γ-этиламин-L-глутаминовая кислота). L-теанин проявляет ноотропные свойства, по своей химической структуре схожие с глутамином и двумя нейромедиаторами - гамма-аминомасляной кислотой (ГАМК) и глутаматом натрия. ГАМК, будучи органическим соединением, является важнейшим тормозным нейромедиатором, а глутамат натрия (натриевая соль глутаминовой кислоты) - важнейшим возбуждающим нейротрансмиттером в биохимических процессах центральной нервной системы человека. Противоположное сочетание этих двух действий придает L-теанину уникальные свойства. L-теанин, являясь антагонистом NMDA-рецепторов, препятствует гиперстимуляции нервной системы, особенно в стрессовых ситуациях [1].

Кофеин оказывает стимулирующее воздействие на нервную систему, усиливает и регулирует процессы возбуждения в коре головного мозга. Стимулирующее действие характеризуется уменьшением сонливости и усталости, также повышением умственной и физической работоспособности, благотворным влиянием на когнитивные функции и настроение [2].

При приеме одновременно L-теанина с кофеином повышается работоспособность, расширяются сосуды в головном мозге, организм взбадривается, улучшается память и быстрота обработки визуальной информации [3].

Как известно, листья чая содержат разнообразные биологически активные вещества. Известно, что теанин натурального происхождения составляет только около 1% от экстрагируемых сухих веществ растительного материала чая, а на долю кофеина приходится 2-5% от общей массы сухого чайного листа. В процессе упаковки чая на предприятиях остаются отходы в виде порошкообразной массы, состоящей из мелких частиц сухого листового чая - чайная пыль, которая в настоящее время практически не используется. Доказано, что чайная пыль по своему составу и наличию в ней биологически активных веществ приближается к листовому чаю и, как следствие, может служить дополнительным источником биологически активных веществ [4].

Известен способ получения экстракта чая, богатого теанином, который включает экстракцию теанина из растительного материала с помощью ряда этапов экстракции, адсорбции и фильтрации (US 2005/0084544) [5], способ выделения натурального кофеина из чайных листьев (CN1047017A) [6], однако недостатками вышеупомянутых способов является применение различных органических растворителей, адсорбентов и кислот, которые по токсичности небезопасны, усложняют процесс и повышают себестоимость целевого продукта, а также содержат много примесей, для удаления которых требуется дополнительная фильтрация.

Задача изобретения состоит в рациональном и полноценном использовании отходов чая для получения заявляемой субстанции, упрощении и удешевлении способа, применении нетоксичных растворителей, повышении чистоты и выхода целевого продукта, а также в получении целевого продукта, состоящего из L-теанина и кофеина в ходе единого технологического процесса.

Данная задача решается за счет того, что измельченное в ходе чайного производства и высушенное сырье нагревают с очищенной водой, фильтруют, из фильтрата осаждают L-теанин при помощи 95%-ного этилового спирта. Через 1-2 дня выпавший в осадок L-теанин отделяют с помощью фильтрования. После отделения осадка на водяной бане этиловый спирт перегоняют из фильтрата, фильтрат помещают в фарфоровую чашу и нагревают на водяной бане до полного улетучивания этилового спирта. Затем в охлажденный фильтрат добавляют 10,6%-ный раствор гидрокарбоната натрия для подщелачивания, через сутки отфильтровывают образовавшийся осадок - танин, т.е. фильтрат освобождают от танина, который выбрасывают. В освобожденный от танина фильтрат добавляют этиловый спирт и оставляют на сутки. Через сутки кофеин выпадает в осадок. Осадок отделяют способом фильтрования и полученный порошок кофеина смешивают с ранее полученным L-теанином. Таким образом, получают целевой продукт - твердый порошкообразный осадок темно-коричневого цвета, являющийся субстанцией из чайных отходов, состоящей из L-теанина и кофеина.

Сущность изобретения состоит в использовании в качестве исходного сырья отходов чайного производства (чайной пыли), неядовитого и более доступного растворителя - этилового спирта, а также получении заявляемой субстанции в ходе единого технологического процесса.

Между техническим результатом и совокупностью существенных признаков изобретения существует причинно-следственная связь: использование отходов (чайной пыли) позволяет рационально и полноценно использовать сырье для чайного производства, сокращение этапов технологического процесса позволяет значительно упростить способ, использование нетоксичного растворителя этилового спирта

позволяет удешевить способ и повысить чистоту и выход целевого продукта, т.е. получить продукт, пригодный в пищу и для использования в легкой промышленности.

Способ получения субстанции из чайных отходов, состоящей из L-теанина и кофеина, для улучшения умственной работоспособности, состоит в том, что измельченное в ходе чайного производства и высушенное сырье нагревают с очищенной водой, фильтруют, из фильтрата осаждают L-теанин при помощи 95%-ного этилового спирта. Через 1-2 дня выпавший в осадок L-теанин отделяют с помощью фильтрации. После отделения осадка на водяной бане этиловый спирт перегоняют из фильтрата, фильтрат помещают в фарфоровую чашу и нагревают на водяной бане до полного улетучивания этилового спирта. Затем в охлажденный фильтрат добавляют 10,6%-ный раствор гидрокарбоната натрия для подщелачивания, через сутки отфильтровывают образовавшийся осадок - танин, т.е. фильтрат освобождают от танина, который выбрасывают. В освобожденный от танина фильтрат добавляют этиловый спирт и оставляют на сутки. Через сутки кофеин выпадает в осадок. Осадок отделяют способом фильтрации и полученный порошок кофеина смешивают с ранее полученным L-теанином. Таким образом, получают целевой продукт - твердый порошкообразный осадок темно-коричневого цвета, являющийся субстанцией из чайных отходов, состоящей из L-теанина и кофеина.

Пример выполнения способа. 20 г измельченных чайных отходов смешивают с 80 мл очищенной воды, нагревают при температуре 80°C в течение 40 минут. Смесь фильтруют через фильтровальную бумагу и в полученный 60 мл фильтрат добавляют 50 мл 95%-ного этилового спирта. Через 1-2 дня выпавший в осадок L-теанин (0,077 г, 0,385% от веса) отделяют при помощи фильтрации. На водяной бане этиловый спирт перегоняют из фильтрата, фильтрат помещают в фарфоровую чашу и нагревают на водяной бане до полного улетучивания этилового спирта. Полученный концентрат разбавляют 40 мл горячей воды и прибавляют 50 мл насыщенного раствора гидрокарбоната натрия (5,915 г гидрокарбоната натрия растворяют нагреванием в 50 мл воды). Через сутки выпавший в осадок танин (0,766 г, 3,83% от веса) отделяют при помощи фильтрации через фильтровальную бумагу и выбрасывают. В около 70 мл фильтрат добавляют 80 мл 95%-ного этилового спирта. Через 1-2 дня с помощью фильтрации через бумагу отделяют кофеин (1,07 г, 5,35% от веса) в виде осадка. Осадок, содержащий L-теанин, смешивают с осадком, содержащим кофеин, и получают целевой продукт (1,147 г) темно-коричневого цвета в виде твердого порошка. Выход из 20 г исходного сырья составляет 5,735%.

Вещества идентифицировали методом хроматографии в тонких слоях сорбента (ТСХ). Реагент нингидрин получали растворением 2 г соединения в 1 л метанола.

ТСХ стандарта теанина и осадка, содержащего теанин, проводили на пластинах (Alugram, 0,20 мм силикагель 60 с флуоресцентным индикатором UV₂₅₄, Macherey-Nagel, Германия). Пластины хроматографировали в смеси н-бутанол - ацетон - уксусная кислота - вода (7: 7: 2: 4, об./об.) в качестве подвижной фазы. Затем пластины сушили при комнатной температуре. После опрыскивания раствором нингидрина и нагревания пластины теанин детектировался в виде красноватых пятен с R_F=0,39.

ТСХ стандарта танинов и осадок, содержащий танины, проводили на пластинах (Alugram, 0,20 мм силикагель 60 с флуоресцентным индикатором UV₂₅₄, Macherey-Nagel, Германия). Пластины хроматографировали в смеси этилацетат - уксусная кислота - муравьиная кислота (100: 11: 27, об./об.) в качестве подвижной фазы. Затем пластины сушили при комнатной температуре. При наблюдении в УФ-свете с длиной волны 254 нм и 365 нм танины детектировались как голубоватые пятна, а в белом свете - как черные пятна.

Процесс ТСХ стандарта кофеина и осадка, содержащего кофеин, проводили на пластинах (Alugram, 0,20 мм силикагель 60 с флуоресцентным индикатором UV₂₅₄, Macherey-Nagel, Германия). Пластины хроматографировали в смеси этилацетат - уксусная кислота - метанол (8: 1: 1, об./об.) в качестве подвижной фазы. Затем пластины сушили при комнатной температуре. При наблюдении в УФ-свете с длиной волны 254 нм кофеин обнаруживался в виде голубоватых пятен с R_F=0,47.

Изучено влияние заявляемой субстанции на умственную работоспособность на 25 здоровых людях, 25 больных с хронической усталостью и 150 студентах. Контрольные группы взрослых и студентов не получали заявляемого препарата. Заявляемое средство принималось однократно в дозе 3 мг/кг массы или в виде курсового лечения в течение 30 дней в дозе 2 мг/кг массы 2 раза в день. Изучение влияния заявляемой субстанции осуществлялось на основе специальных тестов (таблицы Крепелина, Шульте и др.), позволяющих оценить скорость счетно-вычислительных операций, внимание, краткосрочную память.

Изучение влияния однократного приема заявляемого препарата на скорость счетно-вычислительных операций показало, что через 30 мин после приема заявляемого препарата у студентов в 80,7% случаев сокращаются (на 1,5-2 мин) затраты времени на сложение чисел и вдвое уменьшается количество ошибок в счете, у практически здоровых взрослых людей аналогичные показатели составили 75,3%, у больных с хронической усталостью - 69,7%. В контрольной группе практически здоровых взрослых людей и у больных с хронической усталостью значимых изменений в выполнении теста не произошло. После месячного курса данные показатели у студентов, практически здоровых и больных с хронической усталостью были 87,9%, 81,1% и 75,4% соответственно.

Исследование внимания осуществлялось с помощью теста Шульте. В этом тесте испытуемому предъявляется квадратное табло, разделенное на 49 клеток, в которых беспорядочно расположены 24

красных и 25 черных чисел. Числа отыскиваются в табло в строгой последовательности, например красные - в возрастающей, черные - в убывающей. При этом фиксируются время выполнения всего задания, время поиска каждой цифры и количество ошибок. Тест дает возможность оценить внимание.

Опытная и контрольная группы выполняли весь объем тестов двукратно: первое исследование оценивалось как исходное (фон), после чего опытная группа детей получала заявляемый препарат однократно в дозе 3 мг/кг массы, а контрольная не получала заявляемого препарата, и проводилось второе тестирование.

Исследования показали, что все студенты первую серию тестов (фон) выполнили в полном объеме, однако большинство из них отмечало усталость, выраженную - 12,6%, умеренную - 20,6%, незначительную - 65,5%, а 82,5% испытуемых отмечали, что наибольшие затруднения испытывали при запоминании двухзначных чисел из-за большого волнения и невозможности сосредоточиться, а также при отыскании чисел с переключением (тест Шульте). Последний тест вызывал выраженное нервно-психическое напряжение испытуемых, сопровождающееся покраснением лица, тремором рук, выраженной потливостью. Повторное тестирование в опытной группе выявило положительное влияние заявляемого препарата на эмоциональное состояние, умственную работоспособность, память и внимание. После приема заявляемого препарата в 88,1% случаев отмечено субъективное и объективное улучшение общего состояния: исчезновение усталости, появление большей собранности и более спокойного состояния при выполнении тестов.

Объем кратковременной памяти возрос, в среднем, на 27% в 60,9% случаев, а у 26,6% испытуемых он не ухудшился и сохранился на исходном уровне. У 55,3% студентов под влиянием заявляемого препарата отмечалось уменьшение латентного периода зрительно-моторной реакции и количества срывов дифференцировки. Прием заявляемого препарата существенно повлиял и на внимание, сократив время переключения внимания и количество сделанных ошибок. У студентов, которые не получали заявляемого препарата, в 63% случаев при повторном исследовании наблюдалось нарастание утомления, снижение работоспособности (ухудшение памяти на 24% и показателей зрительно-моторной реакции, удлинение времени переключения внимания).

Литература

1. Yamada, T., Terashima, T., Kawano, S., Furuno, R., Okubo, T., Juneja, L. R., & Yokogoshi, H. Theanine, gamma-glutamylethylamide, a unique amino acid in tea leaves, modulates neurotransmitter concentrations in the brain striatum interstitium in conscious rats // *Amino acids*, 2009. 36(1), 21-27.
<https://doi.org/10.1007/s00726-007-0020-7>
2. Cappelletti, S., Piacentino, D., Sani, G., & Aromatario, M. Caffeine: cognitive and physical performance enhancer or psychoactive drug? // *Current neuropharmacology*, 2015. 13 (1), 71-88.
<https://doi.org/10.2174/1570159X13666141210215655>
3. Giesbrecht, T., Rycroft, J. A., Rowson, M. J., & De Bruin, E. A. The combination of L-theanine and caffeine improves cognitive performance and increases subjective alertness. *Nutritional neuroscience*, 2010. 13(6), 283-290.
<https://doi.org/10.1179/147683010X12611460764840>
4. Щеголева, И. Д., & Молчанова, Е. Н. (2020). Отходы чайного производства как дополнительный ресурс биологически активных веществ // *Health, Food & Biotechnology*, 2020. 2(1), 153-164.
<https://doi.org/10.36107/hfb.2020.il.s297>.
5. US 2005/0084544. Process For Enriching Extracts Of Natural Theanine.
6. Способ получения теанина CN1047017A. From tealeaves, extract the method for natural caffeine.

Используемые вещества и аппаратура

1. Стандарты для тонкослойной хроматографии (Sigma-Aldrich, Германия).
2. Растворители для тонкослойной хроматографии (Merck, Германия).
3. Реагенты для тонкослойной хроматографии (Merck, Германия).
4. Лабораторный измельчитель (Fritsch GmbH, Pulverisette 11 model, Германия).
5. Водяная баня (HH-S water bath, Китай).

6. Фильтровальная бумага (Whatman qualitative filter paper, Grade 1, circles, diameter 110 mm, pack of 100, Германия).
7. UV 254, UV 365 - Camag UV cabinet (США).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ получения субстанции из чайных отходов, состоящей из L-теанина и кофеина, для улучшения умственной работоспособности, включающий то, что измельченное в ходе чайного производства и высушенное сырье нагревают с очищенной водой, фильтруют, из фильтрата осаждают L-теанин при помощи 95%-ного этилового спирта, через 1-2 дня выпавший в осадок L-теанин отделяют с помощью фильтрования, после отделения осадка на водяной бане этиловый спирт перегоняют из фильтрата, фильтрат помещают в фарфоровую чашу и нагревают на водяной бане до полного улетучивания этилового спирта, далее в охлажденный фильтрат добавляют 10,6%-ный раствор гидрокарбоната натрия для подщелачивания, через сутки отфильтровывают образовавшийся осадок - танин, в освобожденный от танина фильтрат добавляют этиловый спирт, оставляют на сутки, через сутки кофеин выпадает в осадок, осадок отделяют способом фильтрования и полученный порошок кофеина смешивают с ранее полученным L-теанином, получают целевой продукт - твердый порошкообразный осадок темно-коричневого цвета.

