

Даний винахід належить до способу готування екстракту із *Ginkgo biloba*, практично позбавленого стійких органічних забруднень. Винахід стосується також екстракту із *Ginkgo biloba*, який є практично позбавленим стійких органічних забруднень, може готуватися за допомогою способу згідно з даним винаходом і призначається для застосування, зокрема, у сфері терапії.

Екстракти із *Ginkgo biloba* завдяки визнаній у них судиннорозширювальної, протіокисної та нейрозахисної дії використовуються вже протягом кількох років у терапевтичних цілях і, зокрема, при лікуванні розладів периферійного та церебрального кровообігу, деменції або синдромів недоумства.

Певні методи екстрагування дозволяють значно знизити наявність у цих екстрактах таких небажаних компонентів, як гінголеві кислоти. Але в наш час, у зв'язку з забрудненням навколишнього середовища, наявності в цих екстрактах стійких органічних забруднень (POP: persistent organic pollutants), хоча і в незначних кількостях, до тих пір позбавитися було неможливо, якого б не було походження листя рослини *Ginkgo biloba*. Оскільки POP забруднення є органічними сполуками, які протистоять природному біологічному розкладанню (є високо стійкими в навколишніх умовах), вони поряд з тим, що несуть з собою небезпеку зростання шкідливих впливів на здоров'я людини та навколишнє середовище, є також здатними накопичуватися в тканинах живих організмів (явище біонакопичування в харчовому ланцюзі). Через ці їхні властивості, тобто стійкість і здатність до біонакопичування, POP забруднення можуть виявлятися далеко від місця їх емісії, перенесені морськими та повітряними шляхами транспортування. Отже для запобігання цим небезпекам рівні POP забруднень бажано робити якомога нижчими.

У контексті даного винаходу під "стійкими органічними забрудненнями" (POP) маються на увазі поліциклічні ароматичні вуглеводні (PAH: polycyclic aromatic hydrocarbons), поліхлоровані біфеніли (PCB: polychlorinated biphenyls), поліхлоровані дібензодіоксини (PCDD: polychlorinated dibenzodioxins), і поліхлоровані дібензофурані (PCDF: polychlorinated dibenzofurans). Серед PAH вуглеводнів у цьому зв'язку можна згадати, зокрема, такі ароматичні сполуки: бензо(а)антрацен, хризен, трифенілен[а], бензо(б)фторантен, бензо(к/і)фторантен, бензо(а)пірен, індено(1,2,3-сд)пірен, дібенз(аh)антрацен, бензо(ghi)перилен, дібензо(al)пірен, дібензо(ai)пірен, дібензо(ah)пірен, дібензо(ae)пірен, циклопентан(cd)пірен і 5-метилхризен. Серед PCDD/PCDF забруднень можна назвати, зокрема, такі сполуки: 2,3,7,8-тетраCDF (CDF: хлордібензофуран), 1,2,3,7,8-пентаCDF, 2,3,4,7,8-пентаCDF, 1,2,3,4,7,8-гексаCDF, 1,2,3,6,7,8-гексаCDF, 1,2,3,7,8,9-гексаCDF, 2,3,4,6,7,8-гексаCDF, 1,2,3,4,6,7,8-гептаCDF, 1,2,3,4,7,8,9-гептаCDF, октаCDF, CDF і 2,3,7,8-тетраCDD (CDD: хлордібензодіоксин), 1,2,3,7,8-пентаCDD, 1,2,3,4,7,8-гексаCDD, 1,2,3,6,7,8-гексаCDD, 1,2,3,7,8,9-гексаCDD, 1,2,3,4,6,7,8-гептаCDD і октаCDD. І нарешті, серед PCB забруднень тут можна назвати, зокрема, PCS 77, PCB 81, PCB 105, PCB 114, PCB 118, PCB 123, PCB 126, PCB 156, PCB 157, PCB 167, PCB 169 і PCB 189.

У патенті EP 431535 описаний спосіб екстрагування *Ginkgo biloba*, головною метою якого було отримання екстракту зі зниженим рівнем гінголевих кислот (менше 10 млн. ч. (мас), а ще краще - менше 1 млн. ч. (мас.)).

У заявці WO 2006/117170 пропонувалося поліпшити спосіб готування згідно з патентом EP 431535 таким чином, щоб кінцевий екстракт, отримуваний за допомогою такого способу, мав ще більше знижений рівень поліциклічних ароматичних вуглеводнів (PAH).

Автором даного винаходу було знайдено, що способи, описані в патенті EP 431535 та заявці WO 2006/117170 можна поліпшити ще більше таким чином, щоб отримуваний кінцевий екстракт був практично позбавлений визначених вище POP забруднень, включаючи PAH вуглеводні.

Отже, предметом даного винаходу є спосіб готування екстракту із листя *Ginkgo biloba*, практично позбавленого стійких органічних забруднень, де зазначений спосіб включає у себе такі стадії:

(а) листя *Ginkgo biloba* (бажано свіже зелене або висушене) екстрагують при температурі приблизно від 40 до 100 °C водним розчином ацетону, водним розчином спирту з 1-3 атомами вуглецю або безводним метанолом;

(b) більшу частину органічного розчинника відокремлюють від екстракту до максимального вмісту 10 %(мас.) таким чином, щоб можна було додавати воду на останніх стадіях дистиляції,

(c) решту концентрованого водного розчину розбавляють водою до вмісту твердої речовини від 5 до 25 %(мас), залишають охолонути в умовах перемішування до температури нижче 25 °C, залишають у спокої до утворення осаду, та утворений осад, що складається із погано розчинних у воді ліпофільних компонентів, відокремлюють,

(d) до решти водного розчину додають сульфат амонію, і розчин, що утворився, екстрагують метилетилкетонем або сумішшю метилетилкетону з ацетоном,

(e) отриманий екстракт концентрують до вмісту твердої речовини від 50 до 70 %, і утворений у результаті концентрат розбавляють водою та етанолом таким чином, щоб отримати розчин, що містить 50 %(мас.) води і 50 %(мас.) етанолу, з умістом твердої речовини 10 %(мас),

(f) в отриманий таким чином розчин додають водний розчин солі свинцю доти, поки колір суміші не зміниться з коричневого на бурштиновий, та утворений у результаті осад відокремлюють, або замість солі свинцю використовують поліамід,

(g) решту водно-спиртового розчину екстрагують аліфатичним або циклоаліфатичним

розчинником з точкою кипіння в інтервалі від 60 до 100 °С з метою додаткового відокремлення алкілфенольних сполук,

(h) решту водно-спиртового розчину концентрують під зниженим тиском до максимального вмісту етанолу приблизно 5 %, і до концентрату додають сульфат амонію до його вмісту 20 %(мас),

(i) отриманий у результаті розчин екстрагують сумішшю метилетилкетону з етанолом у співвідношенні від 8/2 до 5/5, а в кращому варіанті - у співвідношенні 6/4,

(j) утворену в результаті органічну фазу концентрують до вмісту твердої речовини від 50 до 70 %(мас),

(k) до отриманого таким чином концентрату додають етанол доти, поки вміст етанолу не досягне принаймні 80 %, після чого суміш охолоджують до температури не вище 12 °С протягом щонайменше двох годин, і нерозчинні речовини видаляють шляхом фільтрації, фільтрат видобувають;

(l) отриманий фільтрат концентрують і висушують під зниженим тиском при температурі в інтервалі від 60 до 80 °С доти, поки не буде отриманий фільтрат з умістом води менше 5 %,

який відрізняється тим, що зазначений спосіб включає у себе додаткову стадію, яка полягає в тому, що одну із органічних фаз, отриманих на стадіях d, i, k, перепускають через адсорбент, що складається із активованого вугілля з питомою поверхнею, яка є більшою або дорівнює 1000 м²/г.

Згідно з даним винаходом використання адсорбенту відповідно до визначеного даною заявкою дозволяє видаляти такі небажані сполуки, як POP забруднення, зберігаючи при цьому рівень активних компонентів, таких як флавоноїди та терпентрилакони (гінкголіди та білобалиди).

Токсичність POP забруднень варіює в залежності від того, є це PAH вуглеводні чи PCDD/PCDF і PCB сполуки. Для сполук PCDD/PCDF і PCB типу розроблена система "токсичних еквівалентів" (TEQ: "toxic equivalents"), згідно з якою ваговий коефіцієнт визначає ступінь токсичності відносно 2,3,7,8-TCDD (2,3,7,8-тетрахлордифеніло-р-діоксину) (Van den Berg et al. (1998), Environmental Health Perspectives 106 (12), 775).

Під виразом "екстракт Ginkgo biloba, практично позбавлений стійких органічних забруднень" тут мається на увазі будь-який екстракт Ginkgo biloba, який містить дуже знижений рівень стійких органічних забруднень, а в кращому варіанті такий, що:

- рівень кожного із PAH вуглеводнів є меншим 5 мкг/кг, краще - меншим 1 мкг/кг, ще краще - меншим 0,5 мкг/кг, а найкраще - менше межі кількісної оцінки (LOQ: limit of quantification), і/або

- величина TEQ (PCDD/PCDF-PCB) є меншою 10 пг/г, у кращому варіанті - меншою 1,5 пг/г, а в найкращому варіанті - меншою 1,0 пг/г.

У кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що

на стадії (b) органічний розчинник відокремлюють до максимального вмісту 5 %(мас),

на стадії (c) водний розчин розбавляють водою до вмісту твердої речовини від 15 до 20 %(мас.) та охолоджують до температури приблизно від 10 до 12 °С,

на стадії (d) до розчину додають сульфат амонію до його вмісту 30 %(мас.), і розчин, що утворився, екстрагують розчинником у співвідношенні від 9/1 до 4/6, а в кращому варіанті 6/4, і

на стадії (f) використовують ацетат свинцю, основний ацетат свинцю або нітрат свинцю, або водний розчин гідроксиду свинцю.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що на стадії (a):

листя Ginkgo biloba (у кращому варіанті сухе) екстрагують при температурі, що лежить в інтервалі приблизно від 50 до 65 °С, водним розчином ацетону з масовим відношенням ацетон/вода в інтервалі від 50/50 до 65/35 і відношенням тверда речовина/розчинник від 1/6 до 1/20 або водним розчином етанолу, що служить розчинником екстрагування,

у ще кращому варіанті

як розчинник екстрагування використовують водний розчин ацетону з масовим відношенням ацетон/вода приблизно 60/40.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що на стадії (b):

органічний розчинник екстракту видаляють шляхом випарювання під зниженим тиском доти, поки не буде досягнутий максимальний рівень залишкового розчинника менше 5 % і вміст твердої речовини в інтервалі від 15 до 30 %.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що на стадії (c):

решту концентрованого водного розчину розбавляють водою доти, поки не буде досягнутий вміст твердої речовини від 10 до 20 %(мас.) і максимальний рівень залишкового розчинника менше 5 %, а потім охолоджують в умовах перемішування до температури в інтервалі 4-12 °С протягом щонайменше однієї години.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що на стадії (d):

водний розчин, що залишився, екстрагують сумішшю метилетилкетон/ацетон з масовим відношенням приблизно 6/4 при наявності від 30 до 40 %, ще краще 35 % (мас.), по відношенню до об'єму водного розчину, сульфату амонію, а потім, після розділення фаз, органічну фазу видобувають.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що на стадії (f):

у розчин, отриманий на попередній стадії (e), додають водний розчин основного ацетату свинцю

$(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2\text{Pb}$, $2\text{Pb}(\text{OH})_2$ [CAS# 1335-32-6] у концентрації в інтервалі від 15 до 20 % з відношенням кількості Pb до вмісту твердої речовини в інтервалі від 0,15 до 0,30, а в найкращому варіанті - в інтервалі від 0,18 до 0,25.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що на стадії (g) решту водно-спиртового розчину екстрагують гептаном.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що він включає у себе додаткову стадію, яка полягає в тому, що органічну фазу, отриману на стадії d, перепускають через адсорбент.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що він включає у себе додаткову стадію, яка полягає в тому, що органічну фазу, отриману на стадії i, перепускають через адсорбент.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що він включає у себе додаткову стадію, яка полягає в тому, що органічну фазу, отриману на стадії k, перепускають через адсорбент.

Іншим предметом даного винаходу є спосіб одержання екстракту із листя *Ginkgo biloba*, що є практично позбавлений стійких органічних забруднень, де зазначений спосіб включає у себе такі стадії:

(aa) екстрагування сухого листя *Ginkgo biloba* при температурі в інтервалі приблизно від 40 до 100 °C розчинником екстрагування, вибраним серед: водного розчину ацетону та нижчого спирту з менш, ніж трьома атомами вуглецю;

(ba) видалення органічного розчинника із екстракту до максимального рівня залишкового розчинника менше 10 %;

(ca) решту концентрованого водного розчину розбавляють водою доти, поки не буде досягнутий вміст твердої речовини від 5 до 25 % (мас.) і максимальний рівень залишкового розчинника менше 5 %, після чого його охолоджують в умовах перемішування до температури нижче 25 °C протягом щонайменше однієї години, а утворений в результаті осад, що складається із ліпофільних сполук, видаляють,

(da) водний розчин, що залишився, екстрагують сумішшю метилетилкетону з ацетоном при наявності сульфату амонію, а потім, після розділення фаз, органічну фазу концентрують до вмісту твердої речовини в інтервалі від 40 до 60 % (мас.),

(ea) отриманий концентрат розбавляють водним розчином етанолу та водою таким чином, щоб кінцевий розчин містив приблизно 50 % (мас.) води і 50 % (мас.) етанолу, а вміст твердої речовини складав 10-12 %;

(fa) в отриманий на стадії (e) розчин додають водний розчин солей свинцю з відношенням кількості Pb до вмісту твердої речовини в інтервалі від 0,15 до 0,3, а утворений у результаті осад видаляють;

(ga) решту водного розчину етанолу екстрагують гептаном для видалення сполук алкілфенольного типу, а решту водного розчину спирту концентрують під зниженим тиском до вмісту етанолу менше 5 % (мас.);

(ha) отриманий у результаті розчин екстрагують сумішшю метилетилкетону з етанолом при наявності сульфату амонію;

(ia) до органічної фази, отриманій на попередній стадії, додають при перемішуванні сульфат амонію, а потім, після декантації, органічну фазу видобувають і концентрують до вмісту твердої речовини в інтервалі приблизно 50-70 % (мас.);

(ja) до отриманого таким чином концентрату додають етанол і воду доти, поки вміст твердої речовини не досягне 10-12 %, а вміст етанолу не буде лежати в інтервалі приблизно 75-90 %, де решту буде складати вода, після чого суміш охолоджують до приблизно 8-12 °C протягом щонайменше однієї години, нерозчинні речовини видаляють шляхом фільтрації, і фільтрат видобувають;

(ka) отриманий таким чином фільтрат концентрують під зниженим тиском доти, поки вміст твердої речовини не буде лежати в інтервалі від 50 до 70 % (мас.), і висушують у печі під вакуумом при температурі, що не перевищує 60 °C;

і додаткову стадію, яка полягає в тому, що одну із органічних фаз, отриманих на одній із попередніх стадій da, ia, ja, перепускають через адсорбент, що складається із активованого вугілля з питомою поверхнею, яка є більшою або дорівнює 1000 м²/г.

У кращому варіанті, зазначений вище спосіб відрізняється тим, що на стадії (aa),

екстрагування сухого листя *Ginkgo biloba* проводять при температурі в інтервалі приблизно від 50 до 65 °C водним розчином ацетону з масовим відношенням ацетон/вода в інтервалі від 50/50 до 65/35 і масовим відношенням сухого листя до розчинника в інтервалі від 1/6 до 1/20 або водним розчином етанолу, що служить розчинником екстрагування,

а в найкращому варіанті

як розчинник екстрагування використовують водний розчин ацетону з масовим відношенням ацетон/вода приблизно 60/40.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що на стадії (ba): видалення органічного розчинника екстракту здійснюють шляхом випарювання під зниженим тиском доти, поки не буде досягнутий максимальний рівень залишкового розчинника менше 5 % і вміст твердої речовини в інтервалі від 15 до 30 %.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що на стадії (ca): решту концентрованого водного розчину розбавляють водою доти, поки не буде досягнутий вміст твердої речовини від 10 до 20 %(мас), а потім охолоджують в умовах перемішування до температури в інтервалі 4-12 °C.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що на стадії (da): водний розчин, що залишився, екстрагують сумішшю метилетилкетон/ацетон з масовим відношенням компонентів в інтервалі від 5/5 до 7/3, у кращому варіанті - приблизно 6/4, при наявності сульфату амонію на рівні від 30 до 40 %, ще краще 35 %(мас), по відношенню до об'єму водного розчину.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що на стадії (fa): сіль свинцю вибирають серед ацетату свинцю, гідроксиду свинцю та основного ацетату свинцю.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що на стадії (fa): відношення Pb/тверда речовина лежить в інтервалі від 0,18 до 0,25.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що на стадії (fa): до розчину, отриманого на стадії (ea), додають водний розчин основного ацетату свинцю $(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2\text{Pb}$, $2\text{Pb}(\text{OH})_2$ [CAS# 1335-32-6] у концентрації в інтервалі від 15 до 20 % з відношенням кількості Pb до вмісту твердої речовини в інтервалі від 0,18 до 0,25.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що на стадії (ha): отриманий у результаті розчин екстрагують сумішшю метилетилкетону з етанолом з масовим відношенням приблизно 6/4 при наявності сульфату амонію в кількості від 30 до 40 %(мас), ще краще - в кількості 35 %(мас), по відношенню до об'єму водного розчину.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що на стадії (ja): додають етанол і воду до отримання вмісту етанолу приблизно 78-90 %, ще краще 78-80 %.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що він включає у себе додаткову стадію, яка полягає в тому, що органічну фазу, отриману на стадії da, перепускають через адсорбент.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що він включає у себе додаткову стадію, яка полягає в тому, що органічну фазу, отриману на стадії ia, перепускають через адсорбент.

Так само у кращому варіанті зазначений вище спосіб відрізняється тим, що він включає у себе додаткову стадію, яка полягає в тому, що органічну фазу, отриману на стадії ja, перепускають через адсорбент.

У кращому варіанті окреслені вище способи відрізняються тим, що адсорбент має принаймні одну із таких характеристик:

- він не містить жодної функціональної групи;
- він є наявним у сферичній формі (або у формі бісеру);
- він має питому поверхню, що є більшою або дорівнює 1100 м²/г.

У найкращому варіанті окреслені вище способи відрізняються тим, що адсорбент має принаймні дві із таких характеристик:

- він не містить жодної функціональної групи;
- він є наявним у сферичній формі (або у формі бісеру);
- він має питому поверхню, що є більшою або дорівнює 1100 м²/г.

Також у найкращому варіанті окреслені вище способи відрізняються тим, що адсорбентом є активоване вугілля, що не містить жодної функціональної групи і має сферичну форму (або форму бісеру) з мінімальною питомою поверхнею, що перевищує або дорівнює 1100 м²/г.

Також у найкращому варіанті окреслені вище способи відрізняються тим, що адсорбент має розмір часток в інтервалі від 0,2 до 1 мм, ще краще - в інтервалі від 0,3 до 0,9 мм.

Також у найкращому варіанті окреслені вище способи відрізняються тим, що адсорбентом є активоване вугілля, що не містить жодної функціональної групи і має сферичну форму (або форму бісеру) діаметром в інтервалі від 0,4 до 0,8 мм, з мінімальною питомою поверхнею, що перевищує або дорівнює 1200 м²/г, діаметром пор приблизно 8 нм та об'ємом пор приблизно 0,15 см³/г.

Згідно з даним винаходом адсорбент може мати сферичну форму (або форму бісеру), а отже - правильну форму. Для фахівця в даній галузі цілком зрозуміло, що адсорбенти сферичної форми (або у формі "бісеру") відрізняються від адсорбентів гранулярного типу з неправильною поверхнею або формою, тобто від адсорбентів у циліндричній ("гранулярній" або "стрижневій") формі, отримуваний шляхом екструзії.

Адсорбентом згідно з даним винаходом є активоване вугілля. Активоване вугілля може бути натуральним або синтетичним у залежності від природи сировинного продукту, використовуваного

для його одержання. Активоване вугілля натурального походження можна отримувати із будь-якого багатого на вуглець природного органічного матеріалу, такого як об'ємна деревина, кора дерев, шкарлупа горіхів, оливкові кісточки, макуха тощо. Активоване вугілля синтетичного походження можна отримувати із будь-якого багатого на вуглець синтетичного матеріалу і, зокрема, стиrolу, який піддають піролізу в контрольованих умовах, у кращому варіанті в інертному середовищі, наприклад азоту, при високих температурах.

Активоване вугілля у сферичній формі можна отримувати із попередньо сформованого бісеру сировинного продукту. Таким чином, синтетичне активоване вугілля у сферичній формі можна отримувати із попередньо сформованого бісеру сировинного продукту.

У кращому варіанті, активованим вугіллям, використовуваним згідно з даним винаходом, є синтетичне активоване вугілля.

Ще одним предметом даного винаходу є екстракт *Ginkgo biloba*, який є практично позбавленим стійких органічних забруднень і може готуватися відповідно до одного із описаних вище способів.

У кращому варіанті, визначений вище екстракт, практично позбавлений стійких органічних забруднень, містить:

- від 20 до 30 %(мас.) флавоноглікозидів,
- від 2,5 до 4,5 % в загальній масі гінголідів А, В, С і J (загалом),
- від 2,0 до 4,0 %(мас.) білобаліду,
- менше 10 млн. ч. (мас.) алкілфенолів і менше 10 %(мас.) попередників антоціаніну;

а в найкращому варіанті:

- від 22 до 26 %(мас.) флавоноглікозидів,
- від 2,5 до 4,5 % в загальній масі гінголідів А, В, С і J,
- від 2,0 до 4,0 %(мас.) білобаліду,
- менше 1 млн. ч. (мас.) алкілфенолів і менше 10 %(мас.) попередників антоціаніну;

Так само у кращому варіанті визначений вище екстракт, практично позбавлений стійких органічних забруднень, містить:

- від 20 до 30 %(мас.) флавоноглікозидів,
- від 2,5 до 4,5 % в загальній масі гінголідів А, В і С,
- від 2,0 до 4,0 %(мас.) білобаліду,
- менше 10 млн. ч. (мас.) алкілфенолів і менше 10 %(мас.) попередників антоціаніну;

У найкращому варіанті визначені вище екстракти містять рівень стійких органічних забруднень, в якому:

- рівень кожного із ПАН вуглеводнів є меншим 5 мкг/кг, у кращому варіанті - меншим 1 мкг/кг, а в найкращому варіанті - меншим 0,5 мкг/кг, і/або

- величина TEQ (PCDD/PCDF/PCB) є меншою 10 пг/г, у кращому варіанті - меншою 1,5 пг/г,

а в найкращому варіанті:

- рівень кожного із ПАН вуглеводнів є меншим межі кількісної оцінки (LOQ), і/або
- величина TEQ (PCDD/PCDF/PCB) є меншою 1,0 пг/г.

Екстракт *Ginkgo biloba* згідно з даним винаходом може використовуватися як активний інгредієнт терапевтичного складу або як харчова добавка. Склади, основані на такому екстракті, можуть мати форму порошків, гранул, таблеток або желатинових капсул.

Ще одним предметом даного винаходу є застосування екстракту, що відповідає даному вище визначенню, для приготування медикаменту для лікування розладів периферійного або церебрального кровообігу, деменції або синдромів недоумства.

Ще одним предметом даного винаходу є терапевтичний склад, що містить як активний інгредієнт екстракт, який відповідає даному вище визначенню, у комбінації з терапевтично прийнятними ексципієнтами.

Якщо не зазначено іншого, то співвідношення, що фігурують в тексті даної заявки, є масовими співвідношеннями і виражаються в масових відсотках. Цілком зрозуміло, що робочі температури різноманітних стадій запропонованого способу є нижчими точок кипіння використовуваних органічних розчинників, і в кращому варіанті є принаймні на 5 °C нижче точки кипіння.

Експериментальна частина

Приклад 1. Готування екстракту *Ginkgo biloba*

Сухе листя *Ginkgo biloba* в кількості 2 кг двічі екстрагують при температурі приблизно 60 °C сумішшю ацетон/вода у співвідношенні 60/40 (мас), використовуючи кожний раз 10-кратну кількість розчинника (маса/маса).

Органічний розчинник видаляють шляхом випарювання доти, поки не досягається приблизно 35 % вміст твердої речовини.

Решту концентрованого водного розчину розбавляють навіпіл водою доти, поки не досягається приблизно 17 %(мас.) вміст твердої речовини, після чого його охолоджують в умовах перемішування до температури приблизно 10-12 °C протягом щонайменше однієї години, а утворений в результаті осад видаляють.

Водний розчин, що залишився, екстрагують сумішшю метилетилкетону з ацетоном (6/4 (мас.)) при наявності 35 %(мас.) сульфату амонію, а потім, після розділення фаз, знову екстрагують сумішшю метилетилкетону з ацетоном (6/4 (мас.)) і далі концентрують до вмісту твердої речовини від 50 до 60 %(мас.).

Отриманий концентрат розбавляють водою та етанолом до масового співвідношення вмістів тверда речовина/етанол/вода = 10/45/45. В отриманий таким чином розчин додають 16 % водний розчин основного ацетату свинцю $(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2\text{Pb}$, $2\text{Pb}(\text{OH})_2$ [CASE# 1335-32-6] з об'ємним співвідношенням розчин свинцю/розчин етанолу = 16/100; утворений у результаті осад свинцю видаляють шляхом центрифугування.

Видобутий супернатант водного розчину етанолу тричі екстрагують гептаном, кожний раз третьою загальною об'ємом, видаляючи таким чином сполуки алкілфенольного типу, а решту водного розчину спирту концентрують під зниженим тиском до досягнення вмісту етанолу менше 5 %(мас.).

Водний розчин, що залишився, екстрагують сумішшю метилетилкетон/етанол (6/4 (мас.)) при наявності 35 %(мас.) сульфату амонію, а потім, після розділення фаз, знову екстрагують сумішшю метилетилкетон/ацетон (6/4 (мас.)), органічні фази об'єднують і перепускають по колонці Lewatit AF5 з активованим вугіллям (10 г).

До отриманої на попередній стадії органічної фази при перемішуванні знову додають 20 %(мас.) сульфату амонію, а потім, після декантації, органічну фазу видобувають і концентрують до вмісту твердої речовини в інтервалі 50-70 % (мас.).

Після цього до отриманого таким чином концентрату додають більше 90 % етанолу і воду з умістом твердої речовини, етанолу і води у масовому співвідношенні, відповідно, 12/78/10, з наступним охолодженням до приблизно 8-12 °C протягом принаймні трьох годин. Після цього нерозчинні матеріали відфільтровують, а отриманий фільтрат концентрують під зниженим тиском, а потім сушать у печі під вакуумом, отримуючи в результаті вміст твердої речовини більше 98 %(мас.).

Приклад 2. Зниження рівню POP забруднень шляхом перепускання через адсорбент.

Готують різноманітні органічні розчини екстракту *Ginkgo biloba* з довільними рівнями POP забруднень, а потім ці розчини перепускають через адсорбент.

i) Готування розчинів екстракту *Ginkgo biloba*

Готують розчини стандартизованого екстракту *Ginkgo biloba* (EGb761®) у трьох різних розчинниках і додають до них довільні кількості POP забруднень.

Розчин № 1: 120 г сухого екстракту в 1440 мл суміші метилетилкетон/етанол (6/4 (мас.)) з умістом води 22 %(мас.); отриманий у результаті розчин розділяють на 2 однакові об'єми.

Розчин № 2: 60 г сухого екстракту в 720 мл суміші метилетилкетон/ацетон (6/4 (мас.)) з умістом води 20 %(мас.).

Розчин № 3: 60 г сухого екстракту в 720 мл водного розчину етанолу (88 %(мас.)).

Нижче наведені бажані рівні забруднень і межі кількісної оцінки, які мали всі розчини.

Додані забруднення *	Бажаний рівень забруднення	Межа кількісної оцінки
Pathol.	20 мкг/кг	< 0,5 мкг/кг
PCDD/PCDF	200 нг/кг	< 0,1-0,4 нг/кг
PCB	200 нг/кг	< 0,5-30 нг/кг

* Фірми-постачальники: Supelco і Well-Labs

Серед PAH забруднень використовуються такі сполуки: бензо(а)антрацен, хризен, трифенілен[а], бензо(б)фторантен, бензо(к/і)фторантен, бензо(а)пірен, індено(1,2,3-сд)пірен, дибенз(аh)антрацен, бензо(ghi)перилен, дибензо(al)-пірен, дибензо(ai)-пірен, дибензо(аh)-пірен, дибензо(ае)-пірен, циклопента(cd)пірен і 5-метилхризен. Отримані результати подані нижче в Табл. 1.

Серед PCDD/F забруднень використовуються такі сполуки: 2,3,7,8-тетраCDF, 1,2,3,7,8-пентаCDF, 2,3,4,7,8-пентаCDF, 1,2,3,4,7,8-гексаCDF, 1,2,3,6,7,8-гексаCDF, 1,2,3,7,8,9-гексаCDF, 2,3,4,6,7,8-гексаCDF, 1,2,3,4,6,7,8-гептаCDF, 1,2,3,4,7,8,9-гептаCDF, октаCDF, 2,3,7,8-тетраCDD, 1,2,3,7,8-пентаCDD, 1,2,3,4,7,8-гексаCDD, 1,2,3,6,7,8-гексаCDD, 1,2,3,7,8,9-гексаCDD, 1,2,3,4,6,7,8-гептаCDD та октаCDD. Отримані результати подані нижче в Табл. 2.

Серед PCB забруднень використовуються такі матеріали: PCB 77, PCB 81, PCB 105, PCB 114, PCB 118, PCB 123, PCB 126, PCB 156, PCB 157, PCB 167, PCB 169 і PCB 189. Отримані результати подані нижче в Табл. 3.

ii) Перепускання забруднених розчинів через адсорбент

Забруднені розчини перепускають через адсорбент Lewatit AF5® (синтетичне активоване вугілля, що не містить жодної функціональної групи і має сферичну форму з питомою поверхнею не менше 1200 м²/г, і принаймні 90 % часток якого мають розміри в інтервалі від 0,4 до 0,8 мм, що в подальшому зветься "AF5"). Розчини перепускають тричі крізь колонку (внутрішній діаметр 1 см, висота шару 20

см), що містить 10 г адсорбенту AF5.

Масове співвідношення між сухим екстрактом і використовуваним адсорбентом складає приблизно 6:1.

iii) Результати

Отримані результати представлені нижче, в Табл. 1, 2 і 3 (де подані величини округлені до максимум 3 знаку після коми).

У таблицях використані такі позначення:

<0,5: означає, що дана межа кількісної оцінки (LOQ) дорівнює 0,5, а виміряна концентрація є нижчою цієї межі.

ND: скорочення, яке означає "не визначено" (Not Determined), оскільки жодний із представників даного класу не перевищує межу кількісної оцінки (LOQ).

TEQ excl.LOQ[a]: скорочення, яке означає, що дана обчислена величина TEQ включає у себе лише кількісно оцінені об'єкти даного класу.

TEQ incl.LOQ[b]: скорочення, яке означає, що дана обчислена величина TEQ включає у себе кількісно оцінені об'єкти даного класу з урахуванням величин їхніх LOQ.

Представлені результати показують, що перепускання через адсорбент знижує рівень POP забруднень з рівнем нижче межі кількісної оцінки.

Приклад 3. Приклад для порівняння

Наведені нижче Приклади 3а і 3б ілюструють використання інших адсорбентів і розчинників, відмінних від використовуваних у попередніх прикладах. Масове співвідношення між сухим екстрактом та використовуваним адсорбентом складає приблизно 6:1.

Приклад 3а. Використання синтетичної смоли.

Разом з розчином № 2, визначеним вище у Прикладі 2, використовують синтетичну смолу.

Смола має такі характеристики: смола марки Lewatit® VP OC 1163, що не містить жодної функціональної групи, на основі зшитих полістиролів, має сферичну форму з питомою поверхнею більше 1300 м²/г і розмірами часток в інтервалі від 0,45 до 0,55 мм.

Протокол експерименту (забруднення, перепускання розчину через адсорбент) є ідентичним описаному в Прикладі 2.

Отримані результати подані нижче в Табл. 4 (величини є округленими максимум до 3 знаку після коми).

Представлені результати показують, що після перепускання через смолу приблизно 25-70 % доданих РАН вуглеводнів залишаються в екстракті, у той час як перепускання через адсорбент Lewatit AF5® (Приклад 1) зменшує кількість POP до рівня нижче межі кількісної оцінки.

Приклад 3б

Використовуване в даному прикладі активоване вугілля є ідентичним тому, що використовується у Прикладі 2 (Lewatit AF5®) з розчином №4.

Розчин № 4: 120 г сухого екстракту в 1440 мл n-бутанолу з 20 %(мас.) води; приготований розчин фільтрують, додають до фільтрату POP забруднення, і цілий об'єм розділяють на 2 однакові об'єми, один із яких використовують як контроль, а інший перепускають через адсорбент Lewatit AF5®.

Протокол експерименту (забруднення, перепускання розчину через адсорбент) є ідентичним описаному в Прикладі 2.

Отримані результати подані нижче в Табл. 5 (величини є округленими максимум до 3 знаку після коми).

Представлені результати показують, що після перепускання експериментального розчину через зазначений адсорбент приблизно 3-9 % доданих РАН вуглеводнів, 1-12 % доданих PCDD/PCDF сполук і 27-46 % доданих PCB сполук залишаються в екстракті, у той час як перепускання цього розчину через адсорбент Lewatit AF5® (Приклад 2) зменшує кількість POP забруднень до рівня нижче межі кількісної оцінки.

Представлені результати показують, що після перепускання розчину через це активоване вугілля, але з n-бутаноловим розчинником, приблизно 10-30 % доданих PCDD/PCDF сполук і 20-30 % доданих PCB сполук залишаються в екстракті, у той час як перепускання розчину через такий самий адсорбент (Приклад 2), але з такими розчинниками, що використовуються у Прикладі 2, зменшує кількість POP забруднень до рівня нижче межі кількісної оцінки.

Розчинники, використовувані у Прикладі 2, тобто метилетилкетон, етанол, ацетон, вода та їхні суміші, мають індекс полярності (PI) в інтервалі від 5 до 6 (для порівняння: в роботі [Modern Methods of Pharmaceutical Analysis by Roger E. Schimer, Volume II, page 305] зазначений індекс полярності води, що дорівнює 9). Розчинник n-бутанол має меншу полярність з індексом 4,8, тобто такий, що лежить за межами інтервалу 5-6.

У цитованій вище роботі (Schimer) вказано на те, що хоча полярність розчинника, який являє собою суміш розчинників, не залежить лінійно від його складу, лінійна апроксимація є все ж достатньо точною для того, щоб за її допомогою можна було проводити оцінку індексу полярності сумішей. Таким чином, індекс полярності суміші можна визначати підсумовуванням добутків об'ємної частини

на індекс полярності для кожного із розчинників, з яких складається дана суміш.

Отже, для суміші, яка складається із розчинників А і В, об'ємні частини котрих у даній суміші дорівнюють, відповідно, V_A і V_B , а індекси полярності чистих розчинників А і В дорівнюють, відповідно, I_A і I_B , індекс полярності суміші дорівнює $V_A I_A + V_B I_B$.

Таблиця 1

Вимірювання PAH вуглеводнів

Використовуваний адсорбент	Розчин №1	Розчин №1	Розчин №2	Розчин №3
	Відсутній	AF5	AF5	AF5
	мкг/кг	мкг/кг	мкг/кг	мкг/кг
1 Бензо(а) антрацен	24	<0,5	<0,5	<0,5
2 Хризен/Трифенілен[а]	24	<0,5	<0,5	<0,5
3 Бензо(б)фторантен	29	<0,5	<0,5	<0,5
4 Бензо(к/л)фторантен	34	<0,5	<0,5	<0,5
5 Бензо(а)пірен	26	<0,5	<0,5	<0,5
6 Індено(1,2,3-сд)пірен	25	<0,5	<0,5	<0,5
7 Дибенз(аh)антрацен	25	<0,5	<0,5	<0,5
8 Бензо(ghi)перилен	26	<0,5	<0,5	<0,5
9 Дибензо(аl)-пірен	13	<1	<1	<1
10 Дибензо-(ai)-пірен	9,7	<1	<1	<1
11 Дибензо-(аh)-пірен	7,4	<1	<1	<1
12 Дибензо-(ае)-пірен	8,1	<1	<1	<1
13 Циклопента(сd)пірен	13	<1	<1	<1
14 5-Метилхризен	14	<1	<1	<1

Таблиця 2

Вимірювання PCDD/F сполук

Використовуваний адсорбент	Розчин № 1	Розчин № 1	Розчин № 2	Розчин № 3
	відсутній	AF5	AF5	AF5
PCDD/F	пг/г	пг/г	пг/г	пг/г
2,3,7,8-тетраCDF	26	<0,09	<0,09	<0,11
1,2,3,7,8-пентаCDF	1124	<0,12	<0,13	<0,14
2,3,4,7,8-пентаCDF	114	<0,12	<0,13	<0,14
1,2,3,4,7,8-гексаCDF	101	<0,11	<0,12	<0,13
1,2,3,6,7,8-гексаCDF	80,2	<0,11	<0,12	<0,13
1,2,3,7,8,9-гексаCDF	122	<0,11	<0,12	<0,13
2,3,4,6,7,8-гексаCDF	99,8	<0,11	<0,12	<0,13
1,2,3,4,6,7,8-гептаCDF	81,7	<0,11	<0,11	<0,13
1,2,3,4,7,8,9-гептаCDF	102	<0,11	<0,11	<0,13
ОктаCDF	186	<0,42	<0,44	<0,50
2378-тетраCDD	122	<0,05	<0,05	<0,06
1,2,3,7,8-пентаCDD	113	<0,07	<0,07	<0,08
1,2,3,4,7,8-гексаCDD	98,3	<0,13	<0,14	<0,16
1,2,3,6,7,8-гексаCDD	91,8	<0,13	<0,14	<0,16
1,2,3,7,8,9-гексаCDD	133	<0,13	<0,14	<0,16
1,2,3,4,6,7,8-гептаCDD	87,9	<0,09	<0,09	<0,11
ОктаCDD	160	0,31	0,25	0,31
OMS(2005)-PCDD/F-TEQ excl.LOQ[a]	350	0,00009	0,00008	0,00009
OMS(2005)-PCDD/F-TEQ incl.LOQ[b]	350	0,255	0,268	0,305

Таблиця 3

Вимірювання PCB сполук

	Розчин № 1	Розчин № 1	Розчин № 2	Розчин № 3
--	------------	------------	------------	------------

Використовуваний адсорбент	відсутній	AF5	AF5	AF5
OMS-PCB	пг/г	пг/г	пг/г	пг/г
ТетраСВ (# 77)	118	<2,80	<2,95	<3,35
ТетраСВ (# 81)	111	<0,56	<0,59	<0,67
ПентаСВ (# 105)	112	<11,2	<11,8	<13,4
ПентаСВ (# 114)	95,8	<1,2	1,35	<1,34
ПентаСВ (# 118)	128	<30,8	<32,4	<36,8
ПентаСВ (# 123)	104	<2,80	<2,95	<3,35
ПентаСВ (# 126)	108	<0,42	<0,44	<0,50
ГексаСВ (# 156)	91,4	<5,60	<5,90	<6,70
ГексаСВ (# 157)	91,7	<2,8	<2,95	<3,35
ГексаСВ (# 167)	88,5	<2,8	<2,95	<3,35
ГексаСВ (# 169)	87,1	<0,70	<0,74	<0,84
ГептаСВ (# 189)	77,3	<2,8	<2,95	<3,35
PCB-TEQ:				
QMS (2005)-PCB-TEQ excl.LOQ[a]	13,5	ND	0,00004	ND
QMS (2005)-PCB-TEQ incl.LOQ[b]	13,5	0,065	0,069	0,078
PCDD/F-PCB-TEQ:				
QMS (2005)-PCDD/F-PCB-TEQ excl.LOQ[a]	363,5	0,00009	0,00012	0,00009
OMS(2005)-PCDD/F-PCB-TEQincl.LOQ[b]	363,5	0,320	0,337	0,383

Таблиця 4 (Приклад 3а)

	Без перепускання через адсорбент	Після перепускання через адсорбент	Залишок в екстракті, %
РАН вуглеводні	мкг/кг	мкг/кг	
Флуорен	<0,5	7,2	
Фенантрен	9	2,3	25,6
Антрацен	4,9	3,4	69,4
Фторантен	3,4	1,4	41,2
Пірен	13	8,9	68,5
Бенз(а)антрацен	12	8,0	66,7
Хризен/Трифенілен[a]	13	7,9	60,8
Бензо(б)фторантен	13	6,3	48,5
Бензо(к)фторантен	12	6,5	54,2
Бензо(а)пірен	11	5,9	53,6
Дибенз(аh)антрацен	12	5,9	49,2
Бензо(ghi)перилен	11	4,8	43,6
Індено(1,2,3-сd)пірен	12	5,1	42,5
Загалом РАН excl.LOQ[b]	126,3	73,6	
Загалом РАН incl.LOQ[c]	126,8	73,6	

Таблиця 5 (Приклад 3d)

	Без перепускання через адсорбент	Після перепускання через адсорбент	Залишок в екстракті, %
PCDD/F сполуки	нг/кг	нг/кг	
2378-тетраCDF	3,69	0,42	11
12378-пентаCDF	12,7	1,51	12
23478-пентаCDF	13,6	2,58	19
123478-гексаCDF	11,7	3,14	27
123678-гексаCDF	9,58	2,41	25
123789-гексаCDF	14,1	1,47	10
234678-гексаCDF	12,1	3,3	27
1234678-гептаCDF	8,64	2,66	31
1234789-гептаCDF	12,2	2,47	20
ОктаCDF	21,5	5,66	26
2378-тетраCDD	16,5	3,06	19
12378-пентаCDD	12,8	2,07	16

123478-гексаCDD	12,2	3,05	25
123678-гексаCDD	12,1	2,57	21
123789-гексаCDD	11,3	1,83	16
1234678-гептаCDD	10,9	2,71	25
ОктаCDD	18,3	5,41	30

Таблиця 5 (Приклад 3d) (дальша частина)

WHO-PCB	нг/кг	нг/кг	
ТетраCB (# 77)	23,1	5,04	22
ТетраCB (# 81)	18,1	4,71	26
ПентаCB (# 105)	16,8	<11,6	
ПентаCB (# 114)	15,7	5,42	35
ПентаCB (# 118)	<39,1	<41,3	
ПентаCB (# 123)	17,8	5,66	32
ПентаCB (# 126)	17,6	3,68	21
ГексаCB (# 156)	14,3	<7,68	
ГексаCB (# 157)	13,5	5,24	39
ГексаCB (# 167)	15,4	5,45	35
ГексаCB (# 169)	13,9	3,94	28
ГептаCB (# 189)	11,8	4,28	36