

RZECZPOSPOLITA  
POLSKA



Urząd Patentowy  
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **239450**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **433136**

(22) Data zgłoszenia: **04.03.2020**

(51) Int.Cl.

**C07G 5/00 (2006.01)**

**B01D 11/02 (2006.01)**

**A61K 36/00 (2006.01)**

(54) **Sposób ekstrakcji metabolitów z materiału roślinnego oraz zastosowanie naturalnych lotnych eutektycznych mieszanin do ekstrakcji metabolitów z materiału roślinnego**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

**19.04.2021 BUP 08/21**

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

**29.11.2021 WUP 35/21**

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIwersytet Medyczny w Lublinie,  
Lublin, PL**

**UNIwersytet  
Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**MACIEJ STRZEMSKI, Lublin, PL**

**MAGDALENA WÓJCIĄK-KOSIOR, Lublin, PL**

**SŁAWOMIR DRESLER, Lublin, PL**

**IRENEUSZ SOWA, Lublin, PL**

**MICHAŁ STANIAK, Cynków, PL**

**RYSZARD KOCJAN, Ciecierzyn, PL**

(74) Pełnomocnik:

**rzecz. pat. Anna Bełz**

**PL 239450 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób ekstrakcji metabolitów roślinnych oraz zastosowanie naturalnych lotnych, głęboko eutektycznych mieszanin w ekstrakcji metabolitów z materiału roślinnego.

Metabolity roślinne wykorzystuje się w wielu gałęziach przemysłu, jako dodatki do żywności, preparatów kosmetycznych, substancje lecznicze czy środki ochrony roślin. Bardzo ważną grupę roślinnych związków stanowią alkaloidy. Związki te cechuje wybitna aktywność farmakologiczna i wiele z nich stosowanych jest w lecznictwie w postaci standaryzowanych ekstraktów roślinnych oraz czystych, wyizolowanych związków.

Dotychczas w ekstrakcji metabolitów roślinnych stosowane są naturalne, głęboko eutektyczne mieszaniny (NADES), które składają się z naturalnych, nietoksycznych związków chemicznych takich jak: cukry, kwas mlekowy, cytrynowy czy chlorek choliny (patent EP3485874A1 „Method of preparing a natural deep eutectic solvent (nades)-active ingredient system; a NADES-, and preferably a polymeric precipitation inhibitor containing nades-, based drug formulation technology and development method”). Takie podejście jest niezwykle istotne z punktu widzenia tzw. „zielonej chemii” i stoi w opozycji do tradycyjnie stosowanych syntetycznych i często toksycznych ekstrahentów. Jednak stosowanie NADES stwarza pewne niedogodności w praktyce, gdyż cechują się one niską prężnością par i wysoką lepkością. W efekcie pozbycie się ekstrahentu i uzyskanie suchej pozostałości ekstraktu jest niemożliwe na drodze destylacji lub liofilizacji. Jest to największa bariera, utrudniająca przemysłowe zastosowanie NADES. Ponadto wysoka lepkość dotychczas stosowanych NADES stwarza problemy technologiczne, utrudniając ich wymieszanie z ekstrahowanym materiałem (Dai Y., van Spronsen J., Witkamp G-J., Verpoorte R., Choi Y.H. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta* 2013.766:61-68).

Wynalazek rozwiązuje zagadnienie otrzymywania metabolitów roślinnych zwłaszcza alkaloidów izochinolinowych przy użyciu naturalnych układów mieszanin o niskiej lepkości oraz o poszukiwanej lotności.

Nieoczekiwanie okazało się, że zastosowanie naturalnych mieszanin w określonym układzie i stosunku względem siebie pozwala na efektywne przeprowadzenie procesu ekstrakcji o dużej wydajności pozyskiwanych związków.

Istota wynalazku polega na tym, że w procesie ekstrakcji alkaloidów z materiału roślinnego stosuje się głęboko eutektyczną mieszaninę składającą z naturalnych związków: tymolu i mentolu lub tymolu i kamfory, przy czym składniki występują względem siebie w następującym stosunku masowym:

Tymol : mentol od 1 : 1 do 1 : 1,5

Tymol : kamfora od 1 : 1,5 do 1,5 : 1

Korzystnie gdy stosuje się na 1 część wagową materiału roślinnego od 20 do 100 części wag. naturalnej eutektycznej mieszaniny.

Ponadto korzystnie jest, gdy proces ekstrakcji prowadzi się z wykorzystaniem energii ultradźwiękowej.

Korzystnie jest, gdy proces ekstrakcji prowadzi się w temperaturze pokojowej.

Korzystnie jest, gdy proces ekstrakcji prowadzi się w temperaturze od 15 do 35°C.

Korzystnie proces ekstrakcji powtarza się co najmniej dwukrotnie.

Korzystnie, gdy otrzymane ciekłe ekstrakty odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem korzystnie w wyparce rotacyjnej.

Korzystnie, gdy otrzymane zamrożone ekstrakty uzyskane odparowuje się przez liofilizację.

Przedmiotem wynalazku jest także zastosowanie eutektycznych lotnych mieszanin składających się z naturalnych związków: tymolu i mentolu lub tymolu i kamfory do ekstrakcji metabolitów z materiału roślinnego, przy czym korzystnie gdy składniki mieszanin występują względem siebie odpowiednio w następujących proporcjach masowych od 1 : 1 do 1 : 1,5 oraz 1 : 1,5 do 1,5 : 1.

Dzięki zastosowaniu naturalnej, lotnej, głęboko eutektycznej mieszaniny do ekstrakcji alkaloidów możliwe jest w szybkim czasie uzyskanie ekstraktów o wysokiej zawartości tych związków w sposób ekologiczny bez użycia syntetycznych rozpuszczalników organicznych charakteryzujących się wysoką toksycznością dla ludzi i zwierząt. Ponadto zastosowanie naturalnej, lotnej głęboko eutektycznej mieszaniny ma tę przewagę nad dotychczas stosowanymi NADES, że istnieje możliwość usunięcia ekstrahentu (mieszaniny będącej przedmiotem wynalazku) za pomocą destylacji lub liofilizacji. Ponadto mieszaniny będące przedmiotem wynalazku charakteryzują się znacznie mniejszą lepkością w porównaniu

do dotychczas stosowanych NADES co znacząco ułatwia proces technologiczny uzyskiwania ekstraktów roślinnych. Dodatkową zaletą wynalazku jest łatwość przygotowania. Składniki mieszaniny, które w warunkach normalnych są ciałami stałymi, wystarczy połączyć ze sobą w temperaturze pokojowej by uzyskać ciekły ekstrahent. Stanowi to znaczne ułatwienie w stosunku do dotychczas stosowanych NADES, których wykonanie wymaga najczęściej dostarczenia energii cieplnej.

#### Przykład 1

50 mg drobno zmielonego korzenia glistnika jaskółcze ziele (*Chelidonium majus*) zalano 2 ml mieszaniny składającej się z tymolu i mentolu połączonych w stosunku masowo-masowym 1 : 1, wymieszano poprzez energiczne wstrząsanie i umieszczone w łaźni ultradźwiękowej. Ekstrakcję wspomaganą energią ultradźwiękową prowadzono w temperaturze pokojowej przez 15 minut. Po tym czasie mieszaninę wirowano i oddzielono uzyskany supernatant od osadu. Osad ponownie zalano świeżą porcją mieszaniny i powtórzono proces ekstrakcji i wirowania mieszaniny. Uzyskane supernatanty połączono w kolbce miarowej o pojemności 5 ml i uzupełniono mieszaniną ekstrakcyjną do kreski. Tak sporządzony ekstrakt poddano analizie chromatograficznej. Analiza wykazała, że tak sporządzony ekstrakt zawierał: 0,03 mg protopiny, 0,18 mg chelidoniny, 0,14 mg koptyzyny, 0,02 mg berberyny, 0,08 mg sangwinaryny oraz 0,12 mg chelerytryny. Przykładowy chromatogram badanego ekstraktu przedstawia rysunek 1.

#### Przykład 2

100 mg drobno zmielonej kory berberysu zwyczajnego (*Berberis vulgaris*) zalano 4 ml mieszaniny składającej się z tymolu i kamfory połączonych w stosunku masowo-masowym 1,5 : 1, wymieszano poprzez energiczne wstrząsanie i umieszczone w łaźni ultradźwiękowej. Ekstrakcję wspomaganą energią ultradźwiękową prowadzono w temperaturze pokojowej przez 15 minut. Po tym czasie mieszaninę wirowano i oddzielono uzyskany supernatant od osadu. Osad ponownie zalano świeżą porcją mieszaniny i powtórzono proces ekstrakcji i wirowania mieszaniny. Uzyskane supernatanty połączono w kolbce miarowej o pojemności 10 ml i uzupełniono mieszaniną ekstrakcyjną do kreski. Tak sporządzony ekstrakt poddano analizie chromatograficznej. Analiza wykazała, że tak sporządzony ekstrakt zawierał 1,25 mg berberyny.

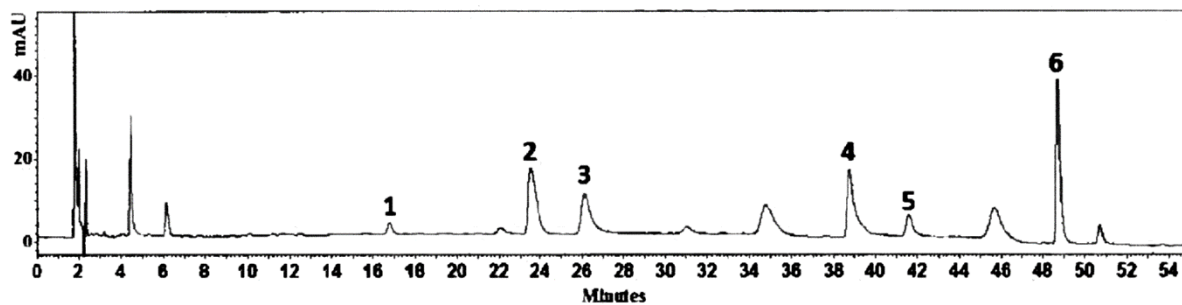
Ekstrakt uzyskany przez ekstrakcję materiału roślinnego cieczami będącymi przedmiotem wynalazku zamrożono w temp.  $-80^{\circ}\text{C}$  i poddano procesowi liofilizacji uzyskując suchą pozostałość.

## Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób ekstrakcji metabolitów z materiału roślinnego z użyciem eutektycznych mieszanin, **znamienny tym**, że w procesie ekstrakcji alkaloidów stosuje się naturalną lotną eutektyczną mieszaninę składającą się z tymolu i mentolu lub tymolu i kamfory, przy czym składniki mieszaniny występują względem siebie odpowiednio w następujących proporcjach masowych od 1 : 1 do 1 : 1,5 oraz 1 : 1,5 do 1,5 : 1.
2. Sposób według zastr. 1, **znamienny tym**, że na 1 część wagową materiału roślinnego korzystnie rozdrobnionego stosuje się od 20 do 100 części wag. naturalnej eutektycznej mieszaniny.
3. Sposób według zastr. 1, **znamienny tym**, że ekstrakty otrzymuje się w postaci ciekłej lub zamrożonej.
4. Sposób według zastr. 1, **znamienny tym**, że proces ekstrakcji prowadzi się z wykorzystaniem energii ultradźwiękowej.
5. Sposób według zastr. 1, **znamienny tym**, że proces ekstrakcji prowadzi się w temperaturze pokojowej.
6. Sposób według zastr. 1, **znamienny tym**, że proces ekstrakcji prowadzi się w temperaturze od 15 do  $35^{\circ}\text{C}$ .
7. Sposób według zastr. 1, **znamienny tym**, że proces ekstrakcji powtarza się co najmniej dwukrotnie.
8. Sposób według zastr. 3, **znamienny tym**, że otrzymane ciekłe ekstrakty odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem korzystnie w wyparce rotacyjnej.
9. Sposób według zastr. 3, **znamienny tym**, że zamrożone ekstrakty uzyskane odparowuje się przez liofilizację.

10. Zastosowanie naturalnych lotnych eutektycznych mieszanin składających się z tymolu i mentolu lub tymolu i kamfory do ekstrakcji metabolitów z materiału roślinnego, korzystnie gdy składniki mieszanin występują względem siebie odpowiednio w następujących proporcjach masowych od 1 : 1 do 1 : 1,5 oraz 1 : 1,5 do 1,5 : 1 oraz od 1,5 : 1 do 2,3 : 1.

### Rysunek



Rys. 1. Przykładowy chromatogram ekstraktu z korzenia glistnika wykonanego z użyciem cieczy stanowiącej przedmiot wynalazku. 1 – protopina, 2 – chelidonina, 3 – koptyzyna, 4- sangwinaryna, 5 – berberyna, 6 – chelerytryna.