



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
C08B 37/18 (2019.08)

(21)(22) Заявка: 2019115734, 22.05.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
22.05.2019

Дата регистрации:
30.01.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 22.05.2019

(45) Опубликовано: 30.01.2020 Бюл. № 4

Адрес для переписки:
394018, г. Воронеж, Университетская пл., 1,
ФГБОУ ВО "ВГУ", ОЗИС

(72) Автор(ы):

Дьякова Нина Алексеевна (RU),
Мындра Анна Андреевна (RU),
Сливкин Алексей Иванович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Воронежский государственный
университет" (ФГБОУ ВО "ВГУ") (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2635996 C2, 17.11.2017. RU
2656398 C1, 05.06.2018. RU 2351166 C1,
10.04.2009. RU 2485958 C1, 27.06.2013. CN
104744611 A, 01.07.2015. EP 824109 B1, 12.03.2003.

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ИНУЛИНА ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к получению биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья. Способ получения инулина из корней одуванчика лекарственного включает экстрагирование очищенной водой, нагретой до температуры кипения, из измельченных корней одуванчика лекарственного в ультразвуковой ванне; отделение растительного материала путем фильтрации; осаждение водорастворимых полисахаридов путем охлаждения в морозильной камере; фильтрование осадка через высушенный беззольный бумажный фильтр под вакуумом; промывание осадка на фильтре, высушивание фильтра с осадком до постоянной массы. Причем перед промывкой проводят очистку инулина от примесей. Полученный после стадии фильтрации под вакуумом осадок растворяют в нагретой до 80°C воде очищенной, к нему добавляют 50% раствор кальция хлорида из расчета 5 капель на 1 г изначально взятого растительного сырья и 0,5

г мелкодисперсного порошка алюминия оксида, выдерживают 20 мин, затем фильтруют под вакуумом при остаточном давлении 0,4-0,8 атм. Полученный фильтрат последовательно пропускают через ионообменные колонки с анионитом в гидроксильной форме АВ-17-8 и катионитом в водородной форме КУ-2-8 до рН элюата 6,5-7,5 и степени чистоты инулина, равной 97%. После чего для осаждения инулина к элюату вновь добавляют трехкратное количество 95%-ного этанола при перемешивании, охлаждая в морозильной камере при температуре -18°C в течение 1 часа. Затем проводят фильтрование осадка через предварительно высушенный беззольный бумажный фильтр под вакуумом при остаточном давлении 0,4-0,8 атм. Изобретение направлено на глубокую очистку целевого продукта от примесей с достижением степени чистоты, равной 97±2%, в отсутствие использования опасных и токсичных веществ. 3 ил., 1 пр.

RU 2 712 554 C1

RU 2 712 554 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
C08B 37/18 (2019.08)

(21)(22) Application: **2019115734, 22.05.2019**

(24) Effective date for property rights:
22.05.2019

Registration date:
30.01.2020

Priority:

(22) Date of filing: **22.05.2019**

(45) Date of publication: **30.01.2020** Bull. № 4

Mail address:

**394018, g. Voronezh, Universitetskaya pl., 1,
FGBOU VO "VGU", OZIS**

(72) Inventor(s):

**Dyakova Nina Alekseevna (RU),
Myndra Anna Andreevna (RU),
Slivkin Aleksej Ivanovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Voronezhskij gosudarstvennyj
universitet" (FGBOU VO "VGU") (RU)**

(54) **METHOD FOR PRODUCTION OF INULIN FROM VEGETABLE RAW MATERIAL**

(57) Abstract:

FIELD: pharmaceutics.

SUBSTANCE: invention relates to production of biologically active substances from herbal raw material. Method of deriving inulin from dandelion roots includes extraction by purified water heated to boiling point of milled dandelion roots in an ultrasonic bath; separation of plant material by filtration; depositing water-soluble polysaccharides by cooling in a freezing chamber; filtering the precipitate through a dried ash-free paper filter under vacuum; washing the precipitate on the filter, drying the filter with the residue to constant weight. Prior to flushing, inuline is purified from impurities. Residue obtained after filtration under vacuum is dissolved in heated to 80 °C purified water, 50 % calcium chloride solution is added thereto in amount of 5 drops per 1 g of initially taken vegetal raw material and 0.5 g of finely dispersed aluminum oxide

powder, held for 20 minutes, then filtered under vacuum at residual pressure of 0.4–0.8 atm. Produced filtrate is successively passed through ion-exchange columns with anionite in hydroxyl form AV-17-8 and cationite in hydrogen form KU-2-8 to pH of eluate 6.5–7.5 and degree of purity of inulin equal to 97 %. Thereafter, to add inuline to the eluate, a threefold amount of 95 % ethanol is added again while stirring while cooling in a freezer at -18 °C for 1 hour. Precipitate is then filtered through a pre-dried ash-free paper filter under vacuum at residual pressure of 0.4–0.8 atm.

EFFECT: invention is aimed at deep purification of target product from impurities with achievement of degree of purity equal to 97±2 %, in absence of use of hazardous and toxic substances.

1 cl, 3 dwg, 1 ex

Изобретение относится к фармацевтике и медицинской промышленности, а именно к способу получения биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья, и в частности может быть использовано для получения инулина из корней одуванчика лекарственного.

5 В медицинских и фармацевтических целях используются преимущественно водные извлечения из корней одуванчика лекарственного, а фармакологический эффект обусловлен водорастворимыми соединениями, основу которых составляют водорастворимые полисахариды, представленные инулином (до 40% в корнях одуванчика лекарственного) [Куркин В.А. Фармакогнозия // Самара: СамГМУ, 2004.
10 - 1239 с].

Известен ряд способов получения инулина из клубней топинамбура [RU 2398779, A23L 1/214, 2009; RU 2148588, C08B 37/00, 1998]. Однако ни в одном из них не приводится выход инулина от содержания его в сырье и степень чистоты полученного продукта от сопутствующих веществ.

15 Недостатком известного способа является большое количество примесей в готовом продукте, что позволяет его считать техническим или сырым продуктом, не пригодным для использования в медицинских и пищевых целях.

Известен способ получения инулина из измельченных корней одуванчика лекарственного с помощью исчерпывающей экстракции [RU 2351166 C1, A23L 1/236,
20 A61K 36/00, 2009 г.]. В качестве исходного сырья используют корни одуванчика лекарственного, которые промывают, подсушивают и измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм, заливают водой и подвергают исчерпывающей экстракции в течение 3-5 суток. Полученный бесцветный раствор обрабатывают 96%-ным этиловым спиртом и осаждают инулин при температуре ниже
25 минус 15°C.

Недостатком известного способа является длительность процесса, низкий выход целевого продукта и большое количество примесей в готовом продукте.

Известен способ получения инулина из сухих измельченных клубней топинамбура [RU 2131252, A61K 31/715, A61K 35/78, 1996], включающий получение водных извлечений
30 из сухих измельченных клубней топинамбура смешиванием их с горячей водой в соотношении 1:6, выдерживанием 12 часов для набухания при 70°C и извлечение экстрактивных веществ при 80°C, водное извлечение отделяют и еще трижды по 40 мин проводят извлечение водой в соотношении 1:4 с последующим объединением извлечений, затем их обрабатывают карбонатом кальция при 80°C в течение 60 мин, фильтруют,
35 фильтрат упаривают, проводят кристаллизацию сырого инулина при 4°C в холодильнике в течение 5 суток после добавления спирта 1:1, отделяют осадок инулина, растворяют его в горячей воде при 75°C, дополнительно проводят очистку с помощью анионита, оксида алюминия, карбоната кальция с дальнейшей очисткой с помощью катионита и анионита с последующей кристаллизацией и переосаждением из водно-спиртовой смеси
40 1:3 при 40°C по 24 ч в холодильнике, продукт сушат и измельчают.

Недостатком известного способа является низкий выход продукта (6,7-7%), большое количество технологических операций (более 30), длительность процесса (более 7 суток).

Известен способ получения инулина из клубней топинамбура путем неоднократного извлечения экстрактивных веществ из водного экстракта исходного сырья при
45 нагревании его с отделением каждый раз водного извлечения и последующим объединением водных извлечений [RU 2485958 C1, A61K 31/715, A61K 36/28, B01D 11/02, 2013 г.] Полученные извлечения подвергают очистке осаждением пектиновых веществ солью кальция, после чего экстракционную смесь фильтруют, фильтрат

упаривают и осаждают инулин, отделяют осадок инулина, растворяют его в горячей воде, дополнительно проводят очистку с помощью оксида алюминия с последующим осаждением инулина, продукт сушат и измельчают.

5 Недостатком известного способа является невысокий выход конечного продукта (14,6%), длительность процесса (более суток), большое число технологических операций, использование токсичных и опасных веществ (концентрированная серная кислота).

10 Прототипом заявленного изобретения является способ получения инулина из измельченных корней одуванчика лекарственного (патент РФ 2635996 (МПК А61К 31/715, А61К 36/288, В01Д 11/02; опубл. 17.11.2017) с помощью исчерпывающей экстракции исходного сырья очищенной водой, нагретой до температуры кипения. Способ предусматривает отделение растительного сырья, осаждение водорастворимых полисахаридов, их промывку, сушку, при этом экстрагирование проводят в ультразвуковой ванне с частотой 35 кГц в течение 40 минут при температуре 80°C, растительный материал отделяют путем фильтрации, а водорастворимые полисахариды 15 осаждают 95% этанолом, охлаждая в морозильной камере в течении 1 часа, а последующее высушивание фильтра с осадком осуществляют при температуре 100-105°C до постоянной массы.

К недостаткам данного способа относится низкая степень чистоты целевого продукта.

20 Задачей настоящего изобретения является разработка способа извлечения биологически активного вещества - инулина, с высокой степенью чистоты из корней одуванчика лекарственного.

Поставленная задача в изобретении решена тем, что в способе получения инулина из корней одуванчика лекарственного извлечение биологически активных веществ из сырья проводится трехкратно горячей водой очищенной в ультразвуковой ванне, что 25 позволяет значительно ускорить процесс экстракции, а также увеличить выход полисахаридов из сырья; после чего проводится осаждение смеси водорастворимых полисахаридов спиртом этиловым, осадок растворяют и приступают к очистке кальция хлоридом (от пектиновых веществ), алюминия оксидом (от пигментных веществ) и на ионообменных смолах (для более глубокой очистки от прочих примесей), после чего 30 проводят осаждение инулина спиртом этиловым и сушат до постоянной массы.

Технический результат изобретения заключается в глубокой очистке целевого продукта от примесей с достижением степени чистоты, равной 97±2%, в отсутствии использования опасных и токсичных веществ.

35 Технический результат достигается тем, что в способе получения очищенного инулина из корней одуванчика лекарственного, включающем трехкратное экстрагирование очищенной водой, нагретой до температуры кипения, из измельченных до линейного размера в 0,2-0,5 мм корней одуванчика лекарственного, при соотношении сырье: экстрагент 1:10; где колбу с сырьем и экстрагентом помещают в ультразвуковую ванну с частотой 35 кГц на 40 мин при температуре 80°C; отделение растительного материала 40 путем фильтрации; осаждение водорастворимых полисахаридов трехкратным количеством 95%-ного этанола при перемешивании, охлаждая в морозильной камере при температуре -18°C в течение 1 часа; фильтрование осадка через предварительно высушенный беззольный бумажный фильтр под вакуумом при остаточном давлении 0,4-0,8 атм; промывание осадка на фильтре, проводимое последовательно раствором 45 95%-ного этилового спирта в очищенной воде, взятых в объемном соотношении 3:1, при соотношении сырье:раствор 1:15, и смесью этилацетата и 95%-ного этилового спирта, взятых в объемном соотношении 1:1, при соотношении сырье:раствор 1:10, высушивание фильтра с осадком при температуре от 100 до 105°C до постоянной массы,

согласно изобретению перед промывкой проводят очистку инулина от примесей, где полученный после стадии фильтрации под вакуумом осадок растворяют в нагретой до 80°C воде очищенной, к нему добавляют 50% раствор кальция хлорида из расчета 5 капель на 1 г изначально взятого растительного сырья и 0,5 г мелкодисперсного порошка алюминия оксида, выдерживают 20 мин, затем фильтруют под вакуумом при остаточном давлении 0,4-0,8 атм; полученный фильтрат последовательно пропускают через ионообменные колонки с анионитом в гидроксильной форме АВ-17-8 и катеонитом в водородной форме КУ-2-8 до рН элюата 6,5-7,5 и степени чистоты инулина, равной 97%, после чего для осаждения инулина к элюату вновь добавляют трехкратное количество 95% - ного этанола при перемешивании, охлаждая в морозильной камере при температуре -18°C в течение 1 часа, затем проводят фильтрование осадка через предварительно высушенный беззольный бумажный фильтр под вакуумом при остаточном давлении 0,4-0,8 атм.

Получаемый после осаждения водорастворимых полисахаридов этанолом осадок содержит также примеси пектина, некоторых пигментов и некоторые органические кислоты. Для удаления пектинов предлагается добавить соли кальция в виде раствора кальция хлорида, для удаления пигментов - мелкодисперсный порошок алюминия оксида. Для более глубокой очистки от оставшихся примесей предлагается также раствор осадка дополнительно пропустить через колонки катионита и анионита. Степень очистки готового продукта оценивали методом тонкослойной хроматографии, сравнивая со стандартным образцом (пластинки - Silufol, система - 55% этанол, проявитель - растворы резорцина и кислоты серной разведенной с последующим нагреванием, Rf~0,82).

На фиг. 1 представлены результаты выделения инулина (%) из корней одуванчика лекарственного при варьировании степенью измельчения сырья и температурой ультразвуковой бани.

На фиг. 2 представлены результаты выделения инулина (%) из корней одуванчика лекарственного при варьировании кратностью и длительностью экстрагирования.

На фиг. 3 представлены результаты выделения инулина (%) из корней одуванчика лекарственного при варьировании частотой ультразвука и соотношением сырья и экстрагента.

Пример 1. Для получения инулина аналитическую пробу сырья измельчают до частиц размера 0,2-0,5 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 10 мл воды очищенной, нагретой до температуры кипения, помещают в ультразвуковую ванну с частотой 35 КГц при температуре 80°C, экстрагируют 40 мин. Экстракцию повторяют еще 2 раза, прибавляя по 10 мл воды.

Водные извлечения объединяют и фильтруют через 3 слоя марли с подложенным тампоном ваты, вложенных в стеклянную воронку диаметром 5 см. Осаждение проводят трехкратным количеством 95%-ного этилового спирта, перемешивают, охлаждают в морозильной камере при температуре -18°C в течение 1 часа. Затем содержимое колбы фильтруют через предварительно высушенный и взвешенный беззольный бумажный фильтр, проложенный в стеклянный фильтр ПОР 16 с диаметром 40 мм, под вакуумом при остаточном давлении 0,4-0,8 атм. Полученный осадок растворяют в 10 мл нагретой до 80°C воде очищенной, добавляют 5 капель 50% раствора кальция хлорида и 0,5 г мелкодисперсного порошка алюминия оксида, выдерживают 20 мин, затем фильтруют под вакуумом при остаточном давлении 0,4-0,8 атм. Полученный фильтрат последовательно пропускают через ионообменные колонки с анионитом в гидроксильной форме АВ-17-8 и катеонитом в водородной форме КУ-2-8 до рН элюата

6,5-7,5 и степени чистоты инулина, равной 97%. Для осаждения инулина к элюату вновь добавляют трехкратное количество 95%-ного этанола при перемешивании, охлаждая в морозильной камере при температуре -18°C в течение 1 часа, фильтрование осадка проводят через предварительно высушенный беззольный бумажный фильтр под вакуумом при остаточном давлении 0,4-0,8 атм. Осадок на фильтре последовательно промывают 15 мл раствора 95%-ного этилового спирта в очищенной воде (3:1), 10 мл смеси этилацетата и 95%-ного этилового спирта (1:1). Фильтр с осадком высушивают сначала на воздухе, затем при температуре $100-105^{\circ}\text{C}$ до постоянной массы.

Предлагаемый способ позволяет получить инулин из корней одуванчика лекарственного со степенью чистоты, равной $97\pm 2\%$ при выходе целевого продукта до 22,36% в пересчете на абсолютно сухое сырье.

(57) Формула изобретения

Способ получения инулина из корней одуванчика лекарственного, включающий трехкратное экстрагирование очищенной водой, нагретой до температуры кипения, из измельченных до линейного размера в 0,2-0,5 мм корней одуванчика лекарственного при соотношении сырье : экстрагент 1:10; где колбу с сырьем и экстрагентом помещают в ультразвуковую ванну с частотой 35 кГц на 40 мин при температуре 80°C ; отделение растительного материала путем фильтрации; осаждение водорастворимых полисахаридов трехкратным количеством 95%-ного этанола при перемешивании, охлаждая в морозильной камере при температуре -18°C в течение 1 часа; фильтрование осадка через предварительно высушенный беззольный бумажный фильтр под вакуумом при остаточном давлении 0,4-0,8 атм; промывание осадка на фильтре, проводимое последовательно раствором 95%-ного этилового спирта в очищенной воде, взятых в объемном соотношении 3:1, при соотношении сырье : раствор 1:15 и смесью этилацетата и 95%-ного этилового спирта, взятых в объемном соотношении 1:1, при соотношении сырье : раствор 1:10, высушивание фильтра с осадком при температуре от 100 до 105°C до постоянной массы, отличающийся тем, что перед промывкой проводят очистку инулина от примесей, где полученный после стадии фильтрации под вакуумом осадок растворяют в нагретой до 80°C воде очищенной, к нему добавляют 50% раствор кальция хлорида из расчета 5 капель на 1 г изначально взятого растительного сырья и 0,5 г мелкодисперсного порошка алюминия оксида, выдерживают 20 мин, затем фильтруют под вакуумом при остаточном давлении 0,4-0,8 атм; полученный фильтрат последовательно пропускают через ионообменные колонки с анионитом в гидроксильной форме АВ-17-8 и катионитом в водородной форме КУ-2-8 до рН элюата 6,5-7,5 и степени чистоты инулина, равной 97%, после чего для осаждения инулина к элюату вновь добавляют трехкратное количество 95%-ного этанола при перемешивании, охлаждая в морозильной камере при температуре -18°C в течение 1 часа, затем проводят фильтрование осадка через предварительно высушенный беззольный бумажный фильтр под вакуумом при остаточном давлении 0,4-0,8 атм.

Измельченность сырья, мм	0,2-0,5	0,5-1,0	1,0-2,0
Температура, °С			
60	12,56±0,24	9,91±0,16	7,89±0,17
70	16,03±0,35	14,63±0,30	11,60±0,30
80	22,36±0,26	19,20±0,25	14,05±0,28

Фиг. 1

Кратность экстракции	1	2	3
Длительность экстракций, мин.			
30	8,45±0,17	13,04±0,36	16,79±0,22
40	11,58±0,31	16,02±0,18	22,36±0,26
50	12,00±0,28	16,28±0,31	20,04±0,30

Фиг. 2

Частота ультразвука, кГц	15	25	35
Соотношение сырья и экстрагента (г:мл)			
1:5	7,34±0,27	9,10±0,30	10,53±0,32
1:10	14,39±0,23	18,32±0,20	22,36±0,26
1:15	15,67±0,20	16,64±0,23	19,41±0,30

Фиг. 3