

## EXTRAKTY AKO MODERNÁ LIEKOVÁ FORMA PRE PRÍRODNÉ LIEČIVÁ

SLAVOMÍR KURHAJEC<sup>a,b</sup>, DANA SABADKOVÁ<sup>b</sup>,  
ALEŠ FRANC<sup>b</sup> a DAVID VETCHÝ<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Katedra farmakognózie a botaniky, Univerzita veterinárneho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika, <sup>b</sup> Ústav technológie liek, Farmaceutická fakulta, Veterinárni a farmaceutická univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Česká republika  
slavomir.kurhajec@uvlf.sk, vetchyd@vfu.cz

Došlo 13.4.16, prijaté 2.9.16.

Kľúčové slová: rastlinné extrakty, extrakčné metódy, prírodné látky

### Obsah

1. Úvod
2. Rastlinné extrakty a ich rozdelenie
3. Prehľad extrakčných metód
  - 3.1. Soxhletova extrakcia
  - 3.2. Ultrazvukom urýchlená extrakcia
  - 3.3. Extrakcia plynnou fázou
  - 3.4. Extrakcia nadkritickými kvapalinami
  - 3.5. Tlakom urýchlená kvapalinová extrakcia
  - 3.6. Mikrovlňná extrakcia
  - 3.7. Mikroextrakcia tuhú fázou
  - 3.8. Extrakcia sorpcnými miešadielkami
  - 3.9. Disperzia matrice na tuhej fáze
  - 3.10. Extrakcia kvapalinou doplnená o extrakciu tuhú fázou
4. Budúce trendy extrakčných metód

### 1. Úvod

Rastlinné extrakty patria medzi historicky najstaršie liekové formy. Ich príprava pôvodne vychádzala z empirických postupov, ktoré boli súčasťou ľudových receptárov. S rozvojom lekárenstva sa extrakty stávali súčasťou liekopisov a väčšina lekární využívala k ich príprave rôzne individuálne metódy. S rozvojom priemyslu sa produkcia extraktov stala predovšetkým súčasťou industriálnej výroby a magistraliter príprava sa z lekární prakticky vytratila. Súčasný trend uprednostňujúci prírodné liečivá však pozvoľna vedie k ich renesancii a rastlinné extrakty a ich metódy prípravy zostávajú stále neoddeliteľnou

súčasťou liekopisov. Cieľom tohto článku je vymedziť súčasnú podobu klasifikácie rastlinných extraktov v súlade s liekopismi a zdokumentovať metódy prípravy najdôležitejších priemyselných aj lekárenských princípov.

### 2. Rastlinné extrakty a ich rozdelenie

Extrakty sú prípravky tekutej, polotuhej alebo tuhej konzistencie získané extrakčnými metódami zvyčajne zo sušených rastlinných drog alebo zo živočíšneho materiálu<sup>1</sup>. Droga je konzervovaná, upravená alebo neupravená rastlina, jej časť, prípadne produkt, slúžiaci k výrobe liečiv, technicky dôležitých látok alebo priamo používaný k liečivým, technickým alebo iným účelom<sup>2</sup>. Extrakcii sa môžu podrobiť jednotlivé rastlinné či živočíšne drogy, prípadne ich zmesi. Samotnej príprave extraktov obvykle predchádza úprava použitého materiálu napríklad odtučnením či inaktívaním enzýmov. Medzi najčastejšie používané extrahovadlá patria voda, etanol, propylénglykol, glycerol alebo ich zmesi<sup>3</sup>. Liekopis rozlišuje dva základné druhy extraktov. Patria sem štandardizované extrakty, ktoré sa upravujú pomocou inertných prísad na požadovaný obsah látok so známym liečebným účinkom a kvantifikované extrakty, ktoré sa pripravujú zmiešaním extraktov rôznych šarží na požadovaný obsah uvažovaných látok<sup>1</sup>. Ostatné extrakty sú definované výrobným postupom a svojimi vlastnosťami.

### 3. Prehľad extrakčných metód

Extrakčné metódy možno rozdeliť na tradičné a moderné (tab. I). Tradičné techniky využívajú jednoduché a nenáročné zariadenia, no mnohokrát bývajú zdĺhavé a vyžadujú použitie väčšieho množstva rozpúšťadla. Pojmom moderné extrakčné metódy sú označované procesy, ktoré vznikli v posledných 20 rokoch so zámerom ušetriť čas a množstvo rozpúšťadla potrebného pre extrakciu so zachovaním rovnakej, prípadne väčšej efektívnosti procesu<sup>4</sup>. Podľa typu procesu sa rozdeľujú na periodické, kontinuálne a polokontinuálne. V periodických metódach sa násada drogy a vyluhovadla vkladá do extrakčného systému jednorázovo a extrakcia prebieha v uzavretom okruhu do rovnovážneho stavu. Medzi takéto metódy patrí macerácia, ktorá môže prebiehať pri izbovej ako aj pri zvýšenej teplote krátkodobo (30 min) alebo dlhodobo (po dobu 3 až 7 dní)<sup>5</sup>. Ďalej sú to infúzia a dekokcia, ktoré sa používajú hlavne na prípravu extraktov z liečivých drog alebo čajových zmesí na okamžitú spotrebu. Pri infúzii sa droga zahrieva na vriacom vodnom kúpeli spravidla 5 min a slúži na extrakciu látok z mäkkých častí rastlín (vňate,

Tabuľka I  
Tradičné a moderné extrakčné metódy

Metódy	Výhody	Nevýhody	Lit.
<i>Tradičné extrakčné metódy</i>			
Macerácia	jednoduchá, lacná, bez zložitého technického zariadenia	časová náročnosť	4
Perkolácia	jednoduchá, rýchla, kontinuálna metóda, vysoká výťažnosť	veľké množstvo rozpúšťadla, riziko upchatia perkolátora	4
Infúzia/ dekokcia	jednoduchá, lacná, krátky extrakčný čas	možnosť termickej degradácie	4
Destilácia	selektívna metóda na extrakciu silíc	možnosť termickej degradácie	
Soxhletova extrakcia	nenáročná na čas a rozpúšťadlá, odpadá filtrácia	riziko tepelnej degradácie, tvorba zrazenín v extrakte, nemožnosť miešania	4
Ultrazvukom urýchlená extrakcia (UAE)	vysoká účinnosť, krátky extrakčný čas	riziko degradácie izolovaných látok, zlá automatizácia	7
Extrakcia plynnou fázou	selektívna extrakcia prchavých látok	selektívna adsorpcia a desorpcia širokej skupiny látok	13
<i>Moderné extrakčné metódy</i>			
Extrakcia nadkritickými kvapalinami (SFE)	rýchla, ekologická, v extrakte chýbajú rezíduá rozpúšťadiel	vysoká cena, nutnosť upraviť vzorku (dehydratovaním)	15
Tlakom urýchlená kvapalinová extrakcia (PLE)	vhodná na veľké množstvo vzoriek, vysoká výťažnosť, nenáročná na rozpúšťadlá	možnosť termickej degradácie	10
Mikrovlnná extrakcia (MAE)	rýchla, vysokoúčinná, na rozpúšťadlá nenáročná, možnosť automatizácie	len pre polárne rozpúšťadlá, degradácia niektorých látok	26
Mikroextrakcia tuhou fázou (SPME)	možnosť automatizácie selektívna na prchavé látky, nenáročná na rozpúšťadlá	stacionárna fáza je krehká a je komerčne ťažšie dostupná	33
Extrakcia sorpčnými miešadielkami (SBSE)	vyššia výťažnosť než SPME	veľké množstvo extrakčnej fázy	35
Disperzia matrice na tuhej fáze (MSPD)	rýchla, lacná, vhodná pre nestabilné látky na rozpúšťadlá nenáročná,	absencia automatizácie	4
Extrakcia kvapalinou doplnená o extrakciu tuhú fázou (QuEChERS)	rýchla, jednoduchá metóda, nízke nároky na rozpúšťadlá a technické vybavenie	niekedy je nutná úprava vzorky (zahustením)	4

listy, kvety), zatiaľ čo pri dekokcii trvajúcej obvykle 30 min sa extrahujú tvrdé časti rastlín – kôra, korene, kožovité listy a niektoré plody<sup>5</sup>. Medzi periodické extrakčné metódy patrí aj destilácia, pri ktorej sa samotná droga podrobí priamemu pôsobeniu vodnej pary. Tá so sebou strháva napr. lipofilné terpenické silice, ktoré sa zachytávajú v separátore a dajú sa od vody pomerne ľahko izolovať<sup>6</sup>. Metódy kontinuálne sú charakterizované ustáleným priebehom a droga s vylúhovadlom sa do systému privádzajú plynulo a plynulý je taktiež aj zber extraktu. Polokontinuálne metódy sú kombináciou predchádzajúcich dvoch kategórií. Prísun extrahovaného materiálu je jednorazový, prítok vylúhovadla a výtok extraktu je plynulý. Príkladom polokontinuálnej extrakčnej metódy je perkolácia. Tá sa

uskutočňuje pri laboratórnej alebo zvýšenej teplote v špeciálnych zariadeniach – perkolátoroch. Princíp perkolácie spočíva v tom, že čisté rozpúšťadlo extrahuje najviac vylúhovanú drogu a nevylúhovaná droga je obmývaná postupne sa koncentrujúcim rozpúšťadlom. Vysoká výťažnosť metódy sa vysvetľuje priaznivým koncentračným spádom vďaka stále pritekajúcemu čerstvému vylúhovadlu<sup>5</sup>.

### 3.1. Soxhletova extrakcia

Soxhletov extraktor je jedným z najstarších polokontinuálnych systémov. Práškovany rastlinný materiál je uložený v celulózovej patrône extrakčného nástavca prí-

stroja, ktorý je umiestnený na vrchu zbernej banky pod spätným chladičom. Extrakčné rozpúšťadlo je v banke zahrievané, jeho výpary kondenzujú v chladiči a kvapkajú do patróny obsahujúcej drogu, ktorá je postupne extrahovaná. Po dosiahnutí určitej hladiny je rozpúšťadlo z patróny odvedené trubičkou extrakčného nástavca späť do banky. Následne sa celý proces opakuje s čerstvým rozpúšťadlom až do dosiahnutia kompletnej extrakcie<sup>7</sup>. Napriek niekoľkým nevýhodám (absencia miešania, časová náročnosť, neselektivita a možná termická degradácia) je kvôli svojej finančnej nenáročnosti a jednoduchosti Soxhletova extrakcia stále obľúbená<sup>4</sup>. Pomocou nej sa dajú získať alkaloidy či oleje z rôznych rastlinných semien alebo kantaridín z hmyzu rodu *Cantharis*<sup>8</sup>, ktorý sa najnovšie využíva pri odstránení bradavíc a pri terapii hepatálneho či ezofageálneho karcinómu<sup>9</sup>. Čoraz častejšie sa proces Soxhletovej extrakcie zvykne modifikovať s cieľom automatizácie a skrátenia času extrakcie s využitím vysokého tlaku, ultrazvuku či mikrovlnami<sup>5</sup>.

### 3.2. Ultrazvukom urýchlená extrakcia

Ultrazvukom urýchlená extrakcia (angl. ultrasound assisted extraction, UAE) je modifikovanou periodickou extrakčnou metódou, kedy sa vzorka vo vodnom kúpeli vystaví vplyvu ultrazvuku s frekvenciou pulzov nad 20 kHz. Vibrácie sú prenášané vodným prostredím za tvorby bublín s negatívnym tlakom (kavitáciou), ktorých implózia v systéme vyvolá lokálne vysoký tlak a teplotu. Tieto mechanické účinky vyvolávajú väčší prienik rozpúšťadla do rastlinného materiálu mechanizmom rozbitia časticových agregátov a narušením bunkovej steny<sup>10</sup>. Prakticky sa využíva ultrazvuk vo forme kúpeľa alebo sondy. Ultrazvukový kúpeľ má širšie využitie, no jeho nevýhodou je nerovnomerná distribúcia ultrazvukovej energie a pokles výkonu v priebehu procesu. Ultrazvukové sondy zabezpečujú zameranie energie priamo na vzorku, čím sa zvyšuje účinnosť extrakcie. Táto účinnosť závisí aj od frekvencie ultrazvuku, doby trvania a teploty<sup>7</sup>. Pri UAE sa generuje veľké množstvo tepla a aby sa predišlo stratám prchavých látok, je väčšinou nutné chladiť extrakčnú nádobu<sup>4</sup>. UAE je považovaná za výhodnú metódu na extrakciu kyseliny karnózovej z rozmarínu (*Rosmarinus officinalis* L. z čeľade *Lamiaceae*)<sup>11</sup>. Kyselina karnózová je fenolový diterpén známy svojimi antioxidantnými a antibakteriálnymi vlastnosťami, pre ktoré nachádza uplatnenie v potravinárstve, kozmetike či výživových doplnkoch<sup>12</sup>.

### 3.3. Extrakcia plynnou fázou

Extrakcia plynnou fázou (angl. headspace extrakcia) je základnou a často používanou metódou pre extrakciu prchavých látok. Extrahovaná vzorka je v kvapalnom alebo pevnom stave umiestnená v nádobe tak, aby bol nad ňou voľný priestor – headspace s obsahom plynu. Metóda je založená na rozdelení izolovaných látok medzi neprchavú kvapalinu príp. pevnú fázu a plynnú fázu, ktorá bola

v kontakte s extrahovaným materiálom. Pokiaľ je vzorka v rovnovážnom stave s plynnou fázou v uzavretom priestore, ide o statickú extrakciu. Ak nosný plyn prúdi nad hladinou vzorky alebo vzorkou prebubláva, tento postup sa označuje ako dynamická extrakcia. Extrahované látky sa následne zachytávajú v kryogénnej alebo sorpčnej pasci<sup>13</sup>. Metodika dynamickej extrakcie bola použitá napr. pri extrakcii a následnej detekcii butyltinových kontaminantov vo víne. Tieto látky sa používajú v poľnohospodárstve pre biocídne vlastnosti a nachádzajú uplatnenie aj pri výrobe plastov (zlepšujú stabilitu PVC pred pôsobením tepla a svetla)<sup>14</sup>.

### 3.4. Extrakcia nadkritickými kvapalinami

Pri extrakcii nadkritickými kvapalinami (angl. supercritical fluid extraction, SFE) sa rastlinný materiál vkladá do extrakčnej nádoby vybavenej regulátorom tepla, vstupným a výstupným tlakovým ventilom. Tlak v extrakčnej nádobe je udržiavaný pomocou kvapalinového čerpadla. Kvapalina sa spolu s rozpustenými zlúčeninami presúva do separátora, kde sa znižuje jej rozpúšťacia schopnosť znížením tlaku, alebo zvýšením teploty. Produkt sa odoberá pomocou ventilu, ktorý je umiestnený v dolnej časti separátora. Kvapalina je ďalej recyklovaná a vracia sa do obehu<sup>15,16</sup>. Špecifikom SFE je používanie rozpúšťadiel v nadkritickom stave, kedy sú teplota a tlak rozpúšťadla zvýšené nad kritické hodnoty. Na extrakciu nepolárnych zlúčenín sa najčastejšie využíva kvapalný oxid uhličitý a na extrakciu polárnych zlúčenín je vhodný chlórfluórmetán (freón 22) prípadne oxid dusný. Nadkritické kvapaliny majú vlastnosti kvapalín aj plynov. K ich výhodám oproti konvenčne používaným rozpúšťadlami patrí vysoký difúzny koeficient, nízka viskozita a povrchové napätie prípadne jednoduchosť ovplyvnenia rozpúšťacej schopnosti zmenou tlaku a/ alebo teploty<sup>15</sup>. Výrazné zlepšenie rozpustnosti polárnych zlúčenín možno doceliť pridaním kosolventu napr. metanolu, etanolu alebo acetonitrilu<sup>16</sup>. Svojmu využitiu vďaka SFE hlavne relatívne nízkej cene a obmedzeniam týkajúcich sa ostatných organických rozpúšťadiel. SFE sa používa na dekofeinizáciu kávy a čaju, pri extrakcii chmeľu, ale aj na odstránenie pesticídov zo ženšenu<sup>3</sup>. Táto technika bola tiež použitá na extrakciu silíc, terpenických prchavých látok, z borievky červeno-plodej (*Juniperus oxycedrus* L. z čeľade *Cupressaceae*)<sup>17</sup> alebo flavonoidu – naringínu z grapefruitu (*Citrus paradisi* Macf. z čeľade *Rutaceae*)<sup>18</sup>, ktorý má schopnosť inhibovať rast nádorov a okrem antiflogistických účinkov disponuje aj schopnosťou znižovať poškodenie pokožky pri jej vystavení UVB žiareniu<sup>19</sup>. Ďalšie príklady využitia SFE sú uvedené v tab. II (modifikované podľa cit.<sup>20</sup>).

### 3.5. Tlakom urýchlená kvapalinová extrakcia

Limity na mnohé nadkritické rozpúšťadlá používané pri SFE viedli k vývoju tlakom urýchlenej kvapalinovej extrakcie (z angl. pressurized liquid extraction, PLE), ktorá prebieha pri vysokej teplote s použitím klasických organic-

Tabuľka II  
Príklady SFE pri extrakcii rastlinných látok (modifikované podľa cit.<sup>20</sup>)

Liečivá látka	Rastlina (čeľaď)	Extrakčné podmienky a poznámka
Taxány (Taxol)	Tis obyčajný – ihličie <i>Taxus baccata</i> L. ( <i>Taxaceae</i> )	CO <sub>2</sub> s metanolom; 50 °C; 40,5 MPa; 100 min. Výtťažnosť je porovnateľná s LCS.
Prchavé látky	Evodia rutoplodá – plody <i>Evodia rutaecarpa</i> Benth. ( <i>Rutaceae</i> )	CO <sub>2</sub> ; 20 MPa ; 50 °C; 40 min. Dobrá výtťažnosť pre vysokomolekulárne oxygenované zložky.
Diosgenín	Smldinec nipónsky – hľuzy <i>Dioscorea nipponica</i> Makino ( <i>Dioscoreaceae</i> )	CO <sub>2</sub> ; 21,5 MPa; 44 °C; 70 min vedie k najvyššiemu výtťažku.
Taxol, Bocatin III	Tis japonský – ihličie <i>Taxus cuspidata</i> Sieb. et Zucc. ( <i>Taxaceae</i> )	CO <sub>2</sub> s etanolom; 40 °C; 30 MPa; metóda prietokovej cely.
Silice	Rimbaba obyčajná – kvety <i>Tanacetum parthenium</i> L. ( <i>Asteraceae</i> )  Vratič obyčajný – kvety <i>Tanacetum vulgare</i> L. ( <i>Asteraceae</i> )  Rumanček kamilkový – kvety <i>Matricaria recutita</i> L. ( <i>Asteraceae</i> )	CO <sub>2</sub> ; 450 °C; 25 MPa; čas neuvedený. Na rozlíšenie zložiek jednotlivých rastlín je možné využiť chromatogram.
Oxindolové alkaloidy	Mačací pazúr – koreň <i>Uncaria tormentosa</i> Willd. ( <i>Rubiaceae</i> )	CO <sub>2</sub> samostatne, ale aj s metanolom; 60 °C; 25,5–45,5 MPa; 60 min. Pre maximálnu výtťažnosť je možné pre ďalšiu extrakciu (4 hodiny) použiť čistý CO <sub>2</sub> .
Flavokawainy	Piepor opojný – koreň <i>Piper methysticum</i> Forst. ( <i>Piperaceae</i> )	CO <sub>2</sub> samostatne, ale aj s metanolom; 60 °C; 25,5 MPa; 30–60 min.
Tanšínón II A	Šalvia červenokoreenná – koreň, podzemok <i>Salvia miltiorrhiza</i> Bge. ( <i>Lamiaceae</i> )	CO <sub>2</sub> ; 60 °C; 15 MPa; 30 min; na rozlíšenie jednotlivých druhov je možné využiť GC.
Flavanóny a Xantóny	Maklura oranžová – koreň, kôra <i>Maclura pomifera</i> Raf. ( <i>Moraceae</i> )	CO <sub>2</sub> samostatne a s etanolom; 40–100 °C; 40,5 MPa; 45 min; prísada metanolu k CO <sub>2</sub> zvyšuje výtťažnosť.
Flavonoidy	Šišiak bajkalský – koreň <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi. ( <i>Lamiaceae</i> )	CO <sub>2</sub> s metanolom a vodou (20:2,1:0,9); 50 °C; 20 MPa; (čas neuvedený).

kých rozpúšťadiel. Pevná alebo polotuhá vzorka sa pri nej umiestňuje do uzavretej extrakčnej komory, ktorá je naplnená rozpúšťadlom a zahriata v piecke na 50–200 °C. Ohrievanie spôsobuje expanziu rozpúšťadla a tým aj zvýšenie tlaku v komore. Ventil komory sa v pulzoch automaticky otvára a zatvára. Rozpúšťadlo, ktoré cez neho unikne, je zhromažďované v ampulke. Fáza statickej extrakcie trvá 5–10 min a pokračuje pumpovaním čerstvého rozpúšťadla za účelom prepláchnutia vzorky a hadičiek. Rozpúšťadlo prítomné v systéme sa neskôr vytlačí stlačeným ply-

nom, najčastejšie dusíkom, a zhromaždí taktiež v ampulke<sup>21</sup>. Metóda PLE je vhodná na rýchlu a opakovateľnú extrakciu veľkého množstva vzoriek. Extrakčná výtťažnosť je vyššia príp. porovnateľná s tradičnými technikami. Vyznačuje sa časovou nenáročnosťou a nízkou spotrebou rozpúšťadiel, no existuje tu riziko degradácie termolabilných zložiek v dôsledku vysokých pracovných teplôt<sup>10</sup>. Pomocou PLE sa extrahovali saponíny zo semien pagaštanu konského (*Aesculus hippocastanum* L. z čeľade *Sapindaceae*). Extrakty pagaštanu sa často indikujú

pri chronických venózných ochoreniach<sup>22</sup>. Metóda PLE môže byť použitá na extrakciu xantónov a flavanónov z kôry mackuľy oranžovej (*Maclura pomifera* Raf. z čeľade *Moraceae*)<sup>23</sup>, ktoré v sebe skrývajú antiflogistické, analgetické, antibakteriálne a antioxidantné účinky<sup>24</sup>. Pomerne dobrú výťažnosť zaznamenala metodika PLE pri extrakcii známeho lokálneho anestetika – kokainu, z listov kokainovníka pravého (*Erythroxylum coca* Lam. z čeľade *Erythroxylaceae*)<sup>25</sup>.

### 3.6. Mikrovlnná extrakcia

Vyššia účinnosť mikrovlnnej extrakcie (angl. microwave assisted extraction, MAE) je spôsobená ohrevom rozpúšťadla účinkom mikrovln s frekvenciou od 0,3 do 300 GHz (v praxi sa najčastejšie používa frekvencia 2,45 GHz)<sup>15</sup>. Na absorpciu mikrovlnného žiarenia je potrebná prítomnosť polárnej látky, ktorou je okrem rozpúšťadla aj vlhkosť (voda) prirodzene obsiahnutá v droge. Krátky extrakčný čas a veľká výťažnosť sú zapríčinené rovnakým smerom pôsobenia teplotného a koncentračného gradientu. Pri klasických extrakciách totiž koncentračný gradient smeruje z extrahovaného materiálu smerom do rozpúšťadla, ale teplotný gradient smeruje od zdroja tepla cez rozpúšťadlo do vnútra substrátu<sup>26</sup>. Komerčne sú dostupné mikrovlnné extraktory pracujúce s otvoreným systémom. Extrakcia sa v nich uskutočňuje pri atmosférickom tlaku s rozpúšťadlami o nízkej hodnote dielektrickej konštanty. Pri tejto metóde nevzniká veľmi vysoká teplota, a preto je vhodná aj na extrakciu niektorých termolabilných látok. V otvorenom systéme je napr. možné zo semien lupiny menlivej (*Lupinus mutabilis* Sweet z čeľade *Fabaceae*) extrahovať chinolizidínový alkaloid sparteín<sup>27</sup>, ktorý disponuje antiarytmickým a potenciálne aj spazmolytickým účinkom<sup>28</sup>. Ďalším príkladom je izolácia fenolického derivátu gossypolu z bavlníkových semien (*r. Gossypium* z čeľade *Malvaceae*)<sup>29</sup>, u ktorého boli pozorované antivirotické a antitumorózne účinky<sup>30</sup>.

Extraktory pracujúce s uzavretým systémom majú kontrovanú teplotu a tlak. Prednostne sa u nich používajú rozpúšťadlá s vysokou hodnotou dielektrickej konštanty. Droga je teda vystavená pôsobeniu vysokej teploty a tlaku podobne ako v PLE<sup>15</sup>.

Uzavretý systém bol použitý pri extrakcii karotenoidov z mletej papriky (*Capsicum annuum* L. z čeľade *Solanaceae*)<sup>31</sup>. Takto získané karotenoidy ( $\beta$ -karotén,  $\alpha$ -karotén,  $\beta$ -kryptoxantín) môžu slúžiť ako zdroje vitamínu A a makulárnych pigmentov (luteín, zeaxantín) potrebných pre správnu funkciu oka<sup>32</sup>.

### 3.7. Mikroextrakcia tuhou fázou

Mikroextrakcia tuhou fázou (angl. solid phase micro-extraction, SPME) patrí medzi periodické metódy využívajúce pasívnu difúziu. Kremenné vlákno pokryté vrstvou sorpčného materiálu, ktorý predstavuje stacionárnu fázu, je vložené do kvapalnej alebo plynnej vzorky prípadne prie-

storu nad vzorkou. Obsahové látky sa následne rozdeľujú medzi vzorku a tuhú fázu až do vzniku rovnováhy. Výťažok SPME je určený rozdeľovacím koeficientom vlákna a vzoriek. SPME prebieha bez použitia rozpúšťadla, čím zabezpečuje vyššiu senzitivitu, nakoľko nedochádza k riedeniu obsahových látok rozpúšťadlom<sup>33</sup>. Pomocou SPME boli s úspechom izolované prchavé zložky (prevažne terpény) rozličných rastlín z oblasti Auvergne vo Francúzsku<sup>34</sup>.

### 3.8. Extrakcia sorpčnými miešadielkami

Medzi periodické metódy patrí aj extrakcia sorpčnými miešadielkami (angl. stir bar sorptive extraction, SBSE). Miešadlá pokryté polymérom (najčastejšie polydimetylsiloxán) sú umiestnené do kvapalnej vzorky a obsahové látky sa následne prerazujú medzi fázami<sup>35</sup>. Sorpcia môže prebiehať aj v priestore nad vzorkou, kedy je do vzorky umiestnené miešadlo a do priestoru nad vzorkou vlákno pokryté adsorpčným polymérom. Tento postup sa aplikuje najmä na stanovovanie prchavých látok. V porovnaní so SPME využíva SBSE väčší objem fáz, čo má za následok vyššiu výťažnosť procesu. SBSE bola využitá pri extrakcii látok zodpovedných za vôňu rozličných rastlín. Touto metódou sa z hrozna pomerne ľahko izolujú oxidačné produkty citronellolu<sup>36</sup>. Tie vďaka vôni pripomínajúcej ruže predstavujú zaujímavú surovinu pre parfumériu<sup>37</sup>.

### 3.9. Disperzia matrice na tuhej fáze

Disperzia matrice na tuhej fáze (angl. matrix solid phase dispersion, MSPD) je patentovaný proces na rozdrobovanie a extrakciu pevných, polotuhých a viskózných vzoriek<sup>38</sup>. Pri tejto technológii sa látka mechanicky rozťiera s pevným, abrazívnym sorbentom, čo vedie k porušeniu bunkových membrán rastlinného materiálu a uvoľneniu extrahovaných látok, ktoré sa čiastočne rozpustia a následne adsorbujú na povrch sorbentu, čo nazývame extrakcia tuhou fázou (SPE). Obsahové látky sa zo sorbentu eluujú vhodným rozpúšťadlom. Výťažnosť MSPD závisí od typu a množstva pevného nosiča, množstva vzorky, eluotropickej sily a množstva rozpúšťadla. Ako nosič sa často používajú modifikované silikagély, najmä s naviazaným oktadecylovým reťazcom<sup>4</sup>. MSPD je rýchla, jednoduchá, flexibilná a na množstvo rozpúšťadla nenáročná metóda, ktorá však na druhej strane vyžaduje manuálne zmiešanie drogy a pevného nosiča v mažiari a práve preto nie je plne automatizovaná<sup>4</sup>. Je možné ju uplatniť pri extrakcii xantónov a flavanónov z koreňa mackuľy oranžovej (*Maclura pomifera* Raf. z čeľade *Moraceae*)<sup>39</sup> s miernou anti-HIV aktivitou<sup>40</sup> ako aj na formuláciu moderných výživových doplnkov s antioxidantným účinkom na báze chlorofylu<sup>41</sup>. Pri jeho extrakcii sa rovnako ako v prípade iných polárnych rastlinných látok využívajú polárne nosiče, napr. Florisil<sup>®</sup> alebo oxid hliníty<sup>42</sup>.

### 3.10. Extrakcia kvapalinou doplnená o extrakciu tuhou fázou

Táto metóda bola primárne publikovaná ako metóda pre extrakciu pesticídov z ovocia a zeleniny<sup>43</sup>. V skutočnosti ide o proces, ktorý zahŕňa niekoľko fáz úpravy vzorky založených na mikroextrakcii organickým rozpúšťadlom (acetonitril) s následným prečistením pomocou disperznej SPE. Označuje sa tiež ako rýchla, ľahká, lacná, robustná, efektívna a bezpečná extrakcia (angl. quick, easy, cheap, rugged, effective, and safe, QuEChERS). Vzorka sa pretrepáva s rozpúšťadlom a na odstránenie vody z organickej frakcie slúži bezvodý síran horečnatý. Prídavok primárneho a sekundárneho aminu zabezpečuje oddelenie polárnych rastlinných zložiek (organické kyseliny, cukry). Na odstránenie sterolov a pigmentov možno použiť grafitovaný uhlík<sup>4</sup>. Nevýhodou metódy je nemožnosť automatizácie, no vďaka svojej jednoduchosťi a rýchlosti sa po doplnení o GC-MS alebo LC-MS analýzu často využíva na stanovenie rezíduí rôznych chemických látok v jedle či rastlinných produktoch. Metóda QuEChERS je často súčasťou detekcie pesticídov a herbicídov (organofosfáty, organochloridy a triazíny) v olivách a olivovom oleji<sup>44</sup>.

## 4. Budúce trendy extrakčných metód

Environmentálne či ekonomické faktory ostanú aj naďalej dôležitým aspektom v problematike extrakčných procesov. Čoraz častejšie sa na úkor konvenčných organických rozpúšťadiel uplatňujú GRAS rozpúšťadlá (z angl. generally recognized as safe – všeobecne považované za bezpečné), ku ktorým patrí nadkritický oxid uhličitý, voda alebo polyetylén glykol<sup>45</sup>. Preferujú sa techniky s nízkou spotrebou energie (napr. MAE) a čoraz viac sa používajú nové pomocné technické látky zvyšujúce výťažnosť<sup>4</sup>. Jedná sa predovšetkým o enzýmy, ktoré sú pri extrakcii schopné rozrušiť bunkové steny a membrány spracovaného materiálu. Napríklad enzymatickým ošetrením kardamónových semien (*Elettaria cardamomum* Maton. z čeľade *Zingiberaceae*) je možné získať vyšší obsah silíc<sup>46</sup>. Blízka budúcnosť pravdepodobne zmení aj charakter extrahovaného materiálu, ktorý už aj dnes stále častejšie tvoria bunkové kultúry toho rastlinného orgánu, kde sú obsahové látky zastúpené najviac<sup>47</sup>.

### Zoznam skratiek

MAE	mikrovlnná extrakcia (microwave assisted extraction)
MSPD	disperzia matrice na tuhej fáze (matrix solid phase dispersion)
PLE	tlakom urýchlená kvapalinová extrakcia (pressurized liquid extraction)
QuEChERS	extrakcia kvapalinou doplnená o extrakciu tuhou fázou; rýchla, ľahká, lacná, robustná, efektívna a bezpečná extrakcia (quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe),

SBSE	extrakcia sorpčnými miešadielkami (stir bar sorptive extraction)
SFE	extrakcia nadkritickými kvapalinami (supercritical fluid extraction)
SPE	extrakcia tuhou fázou (solid phase extraction)
SPME	mikroextrakcia tuhou fázou (solid phase microextraction)
UAE	ultrazvukom urýchlená extrakcia (ultrasound assisted extraction)

### LITERATÚRA

1. Council of Europe: *European Pharmacopoeia, eighth edition*. Council of Europe, Strasbourg 2013.
2. Nagy M., Grančai D., Mučaji P.: *Farmakognózia: Biogénza prírodných látok*. Osveta, Bratislava 2011.
3. Raaman N.: *Phytochemical techniques*. New India Publishing, New Delhi 2006.
4. Hostettman K., Chen S., Marston A., Stuppner H.: *Handbook of Chemical and Biological Plant Analytical Methods, 3 Volume*. Set. John Wiley & Sons, Chichester 2014.
5. Komárek P., Rabišková M.: *Technologie léků*. Galén, Praha 2006.
6. Ormeño E., Goldstein A., Niinemets Ü.: *Trends Anal. Chem.* 30, 978 (2011).
7. Yeshak M. Y., Burman R., Eriksson C., Göransson U.: *Phytochem. Lett.* 5, 776 (2012).
8. Kasture A. V., Parakh S. R., Gokhale S. B., Hasan S. A.: *Pharmaceutics I, eighteenth edition*. Pragati Books, Pune 2012.
9. Rauh R., Kahl S., Boechzelt H., Bauer R., Kaina B., Effertth T.: *Chinese Med.* 8, 1 (2007).
10. Seidel V.: *Natural Products Isolation*. Humana Press, Totowa 2006.
11. Albu S., Joyce E., Paniwyk L., Lorimer J. P., Mason T. J.: *Ultrason. Sonochem.* 11, 261 (2004).
12. Birtic S., Dussort P., Pierre F. X., Bily A. C., Roller M.: *Phytochemistry* 115, 9 (2015).
13. Horák T., Čulík J., Jurková M., Čejka P., Kellner V., Dvořák J., Hašková D.: *Kvasny Prum.* 58, 2 (2012).
14. Azenha M., Vasconcelos M. T.: *Anal. Chim. Acta* 458, 231 (2002).
15. Wang L., Weller C. L.: *Trends Food Sci. Technol.* 17, 1963 (2006).
16. Lang Q., Wai C. M.: *Talanta* 53, 771 (2001).
17. Marongiu B., Porcedda S., Caredda A., De Gioannis B., Vargiu L., La Colla P.: *Flavour Frag. J.* 18, 390 (2003).
18. Giannuzzo A. N., Boggetti H. J., Nazreno M. A., Mishima H. T.: *Phytochem. Anal.* 14, 221 (2003).
19. Bianchi F., Careri M., Musci M.: *Food Chem.* 89, 527 (2005).
20. Huie C. W.: *Anal. Bioanal. Chem.* 373, 23 (2002).
21. Kaufmann B., Christen P.: *Phytochem. Anal.* 13, 105 (2002).

22. Felipe M. B. M., de Carvalho F. M., Félix-Silva J., Fernandes-Pedrosa M. F., Scortecchi K. C., Agnez-Lima L. F., de Medeiros S. R. B.: *Biomed. Prev. Nutr.* **3**, 261 (2013).
  23. Da Costa C. T., Margolis S. A., Benner B. A. J., Horton D.: *J. Chromatogr. A.* **167**, 831 (1999).
  24. Kupeli E., Orhan I., Tokar G., Yesilada E.: *J. Ethnopharmacol.* **107**, 169 (2006).
  25. Brachet A., Rudaz S., Mateus L., Christen P., Veuthey J. L.: *J. Sep. Sci.* **24**, 865 (2001).
  26. Veggi P. C., Martinez J., Meireles M. A. A.: *Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds: Theory and Practice*. Springer Science, New York 2013.
  27. Darko Matovic M. D. (ed.): *Biomass Now – Sustainable Growth and Use*. Intech, Timisoara 2013.
  28. Villalpando-Vargas F., Medina-Ceja L.: *Brain Res.* **59**, 1624 (2015).
  29. Bahtiyorbekovich Y. A., Abdurakhmanov A. S., Pardayevich S. Q.: *AJTNS I*, 118 (2015).
  30. Wang X., Howell C. P., Chen F., Yin J., Jiang Y.: *Adv. Food Nutr. Res.* **58**, 215 (2009).
  31. Csiktusnádi Kiss G. A., Forgács E., Cserháti T., Mota T., Morais H., Ramos A.: *J. Chromatogr. A.* **41**, 889 (2000).
  32. Fraser P. D., Bramley P. M.: *Prog. Lipid Res.* **43**, 228 (2004).
  33. Kataoka H., Lord H. L., Pawliszyn J.: *J. Chromatogr. A.* **1**, 880 (2000).
  34. Cornu A., Carnat A., Martin B., Coulon J., Lamaison J., Berdaqué J.: *J. Agric. Food Chem.* **49**, 203 (2001).
  35. Prieto A., Basauri O., Rodil R., Usobiaga A., Fernández L. A., Etxebarria N., Zuloaga O.: *J. Chromatogr. A.* **2642**, 1217 (2010).
  36. Luan F., Mosandl A., Gubesch M., Wuest M.: *J. Chromatogr. A.* **369**, 1112 (2006).
  37. Maróstica M. R., Pastore G. M.: *Food Sci. Technol.* **26**, 690 (2006).
  38. Barker S. A.: *J. Biochem. Biophys. Methods* **70**, 151 (2007).
  39. Teixeira D. M., Da Costa C. T.: *J. Chromatogr. A* **175**, 1062 (2005).
  40. Groweiss A., Cardellina J. H., Boyd M. R.: *J. Nat. Prod.* **63**, 1537 (2000).
  41. Daood H. G.: *Chlorophyll. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. 2. vyd. Elsevier Publ. Comp, Amsterdam 2003.
  42. Abhilash P. C., Jamil S., Singh N.: *J. Chromatogr. A.* **43**, 1176 (2007).
  43. Anastassiades M., Lehotay S. J., Stajhbaheer D., Schenck F. J.: *J. AOAC Int.* **86**, 412 (2003).
  44. García-Reyes J. F., Ferrer C., Gómez-Ramos M. J., Fernández-Alba A. R., Molina-Díaz A.: *Trends Anal. Chem.* **26**, 239 (2007).
  45. Kerton F. M., Marriott R.: *Alternative Solvents for Green Chemistry*, Royal Society of Chemistry, Cambridge 2013.
  46. Baby K. C., Ranganathan T. V.: *Ind. Crops Prod.* **89**, 200 (2016).
  47. Sharangi A. B., Datta S.: *Value Addition of Horticultural Crops: Recent Trends and Future Direction*, Springer, London 2015.
- S. Kurhajec<sup>a,b</sup>, D. Sabadková<sup>b</sup>, A. Franc<sup>b</sup>, and D. Vetchý<sup>b</sup>** (<sup>a</sup> *Department of Pharmacognosy and Botany, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Košice, Slovakia*, <sup>b</sup> *Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Veterinary and Pharmaceutical University, Brno*): **Extract as a Modern Dosage Form for Natural Drugs**
- Plant extracts still constitute a part of commonly used dosage forms, but they can also be understood as raw materials for pharmaceutical industry. The production of extracts is based on the periodic, continuous and semi-continuous methods, which can also be classified as conventional extraction methods (maceration, percolation, infusion, decoction, distillation, Soxhlet extraction, ultrasound assisted extraction and headspace extraction) or modern extraction methods (supercritical fluid extraction, pressurized liquid extraction, microwave assisted extraction, solid phase micro extraction, stir bar sorptive extraction, matrix solid phase dispersion, quick easy cheap rugged effective and safe extraction). The extraction-method efficiency depends on the characteristics of the extracted material (e.g. particle size, ballast materials, thickness of the cell wall), physical factors (e.g. temperature, pressure, microwave, ultrasound), the extraction time, mixing (it influences the concentration gradient), solvent type and the presence of cosolvent. For environmental reasons, it is suitable to produce the extracts by using certain gases in supercritical conditions as solvents (e.g. carbon dioxide, nitrogen) or other generally recognized as safe solvents (e.g. water, propylene glycol) that provide a high yield at a correct methodology.