

IZOLACE TRILOBOLIDU Z NATI TIMOJE TROJLALOČNÉHO

MARTIN GRBAVČIČ^a, MICHAL JURÁŠEK^b a PAVEL DRAŠAR^b

^a Seva Flora s.r.o., Mikulovská 366, 691 42 Valtice, ^b Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6-Dejvice, Česká republika
leciivky1@seznam.cz, jurasekm@vscht.cz, drasarp@vscht.cz

Došlo 24.4.24, přijato 7.5.24.

Izolace trilobolidu z nati timoje trojlaločného je jednoduchá a i přes nižší obsah látky se jeví jako ekonomická pro kvantum materiálu, který může být k dispozici i pro relativně jednoduchý postup.

Klíčová slova: timoj trojlaločný, trilobolid, superkritická extrakce

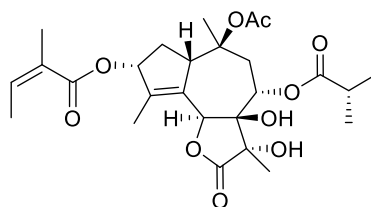
Obr. 1. Timoj trojlaločný¹

Timoj trojlaločný (*Laser trilobum* (L.) Borkh.; říše: *Plantae*, řád: *Apiales*, čeleď: *Apiaceae*) je vytrvalá bíle kvetoucí bylina z čeledě miříkovitých s krátkým podzemním oddenkem, tlustými kořeny a silnou přímou lodyhou 60 až 120 cm dlouhou, která roste divoce v ČR pouze v lese v Národní přírodní památce Kukla, v Diváckém lese mezi obcemi Diváky a Kurdějov nedaleko Hustopečí na jižní Moravě², a patří proto mezi kriticky ohrožené rostliny.

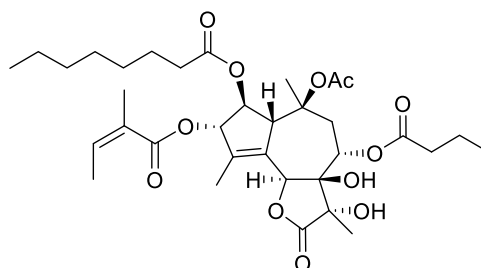
Pro účely projektu, který se zabýval obsahovou látkou z této byliny, trilobolidem³ (obr. 2) a jiným strukturně blízkým guaianolidem, thapsigarginem⁴ (obr. 3) (původně získávaným z tapsie gargánské, *Thapsia garganica* L.), na který lze trilobolid preparativně převést⁵, byl timoj rozpěstován na ploše ca 0,5 ha a postupně vytěžován pro přípravu větších množství trilobolidu, jenž byl použit pro další zkoumání a syntézu série derivátů^{6–10}, včetně klinicky zkoušeného¹¹ proléčiva mipsagarginu¹² (G-202) (obr. 4).

Jako vedlejší produkt této pěstitelské anabáze bylo dosaženo založení porostů timoje, dále probíhá šlechtění ověřených genotypů a připravuje se registrace odrůdy, včetně dodání osiva pro Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (ÚKZÚZ).

Porosty byly postupně zakládány z dostupných zdrojů, jednotlivé genotypy byly množeny v prostorové izolaci. Z potomstev genotypů byly založeny dva ca 0,25 ha porosty. Jeden je poloprovozní za účelem získání natě, semen a kořenů a získání pěstitelských zkušeností. Druhý porost je šlechtitelský dílec s cílem ověření agrotechnických opatření a zejména vyšlechtění genotypu – odrůdy – s nejlepším



Obr. 2. Trilobolid

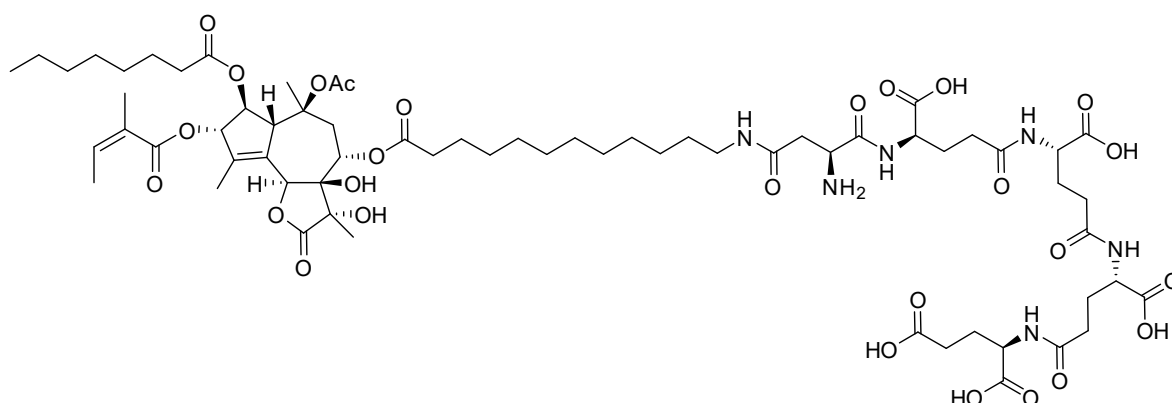


Obr. 3. Thapsigargin

obsahem účinných látek. Zakládání porostů je velmi specifické. Po zvládnutí této fáze je pěstování timoje již snadné. Rostlina velmi ochotně snáší pěstování v porostu, díky velmi rychlému jarnímu růstu a mohutnému habitu (obr. 5) dokáže vykonkurovat ostatní druhy rostlin, koncem května začíná kvést a v polovině srpna ukončí vegetaci. Je velmi vhodná pro pěstování v „bio“ podmínkách.

Nejstarší porost je starý 11 roků a rostliny ani kořeny nedegradují. Je ukázkou dlouhověkosti a odolnosti.

Orientační sklizně byly provedeny průběžně mezi třetím a desátým rokem pěstování. V průměru bylo sklize-



Obr. 4. Mipsagargin

no 0,5 až 2 kg semene z 1 aru a natě před květem ca 10 kg z 1 aru. Natě se poměrně nnesadno suší. Kořen se vyorává, čistí a suší velmi dobře, lze ho získat ca 3,5 kg z 1 aru.

Postupně byly vypracovány metody izolace preparativního množství trilobolidu ze sušených plodů, kde byl zjištěn izolovatelný výtěžek trilobolidu v množství až 0,7 % (cit.¹³), v sušených oddencích a kořenech až 0,1 %.

V tomto příspěvku popíšeme přípravu trilobolidu ze sušené nati timoje. Timoj byl pěstován, jak výše uvedeno, na poli v České republice (Jihomoravský kraj). Vzorek byl pod kódem 03013KBFR uložen v herbáři Katedry botaniky a fyziologie rostlin Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze a na Vysoké škole chemicko-technologické v Praze.

Sušená natě (120 kg) byla rozdrčena a extrahována superkritickým CO₂ při 63 °C po dobu 25 min při průtoku 600 kg CO₂ za hodinu, při tlaku 230 bar. Pro extrakci rostlinného materiálu superkritickým CO₂ byl použit extraktor NATEX (Ternitz, Rakousko) instalovaný ve firmě TRUMF International s.r.o., Dolní Újezd. Bylo získáno

361 g šedého prášku. Prášek (100 g) byl rozmíchán do 1 l methanolu a směs byla za laboratorní teploty míchána 3 dny. Poté byla zfiltrována papírovým filtrem a filtrát odpařen na vakuové rotační odparce. Odparek (17,5 g) byl nanesen na kolonu silikagelu (o objemu 1 l) a vymýván směsí cyklohexanu a ethyl-acetátu (poměr 1 : 10). Spojené frakce obsahující trilobolid byly odpařeny a odparek byl překrystalován ze směsi ethyl-acetát/cyklohexan. Bylo získáno 1,3 g trilobolidu (0,004 % z původní navážky nati) ve formě nažloutlých krystalů vlastností shodných s údaji v literatuře¹³.

Podle výtěžku je tedy zdánlivě nevýhodné izolovat trilobolid z nati timoje. Nevýhodnost není tak zřejmá, pokud vezmeme v potaz několik faktorů. Natě je obnovitelným zdrojem, její sklizeň může být nesrovnatelně větší než sklizeň plodů, oddenků a kořenů. Navíc izolace je relativně jednoduchá ve srovnání se zpracováním materiálu získaného superkritickou extrakcí CO₂ z kořenů, oddenků a plodů, kdy extrakt obsahuje velké množství olejů a vosků.



Obr. 5. Pole s timojem

LITERATURA

1. Sturm J.: *Flora von Deutschland*, K. G. Lutz, Stuttgart 1900–1906.
2. Portál Informačního systému ochrany přírody (ISOP); https://portal.nature.cz/cs/w/druh-37853?p_1_back_url=%2Fhledej%3Fq%3Dtimoj#/, staženo 17. 4. 2024.
3. PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Trilobolide>, staženo 16. 4. 2024.
4. PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/446378>, staženo 16. 4. 2024.
5. Zimmermann T., Drašar P., Rimpelová S., Christensen S. B., Khripach V. A., Jurásek M.: *Biomolecules* 10, 1640 (2020).
6. Jurásek M., Rimpelová S., Kmoníčková E., Drašar P., Ruml T.: *J. Med. Chem.* 57, 7947 (2014).

7. Tomanová P., Rimpelová S., Jurásek M., Buděšínský M., Vejvodová L., Ruml T., Kmoníčková E., Drašar P. B.: *Steroids* 97, 8 (2015).
8. Škorpilová L., Rimpelová S., Jurásek M., Buděšínský M., Lokajová J., Effenberg R., Slepíčka P., Ruml T., Kmoníčková E., Drašar P. B., Wimmer Z.: *Beilstein J. Org. Chem.* 13, 1316 (2017).
9. Huml L., Jurásek M., Mikšátková P., Zimmermann T., Tomanová P., Buděšínský M., Rottnerová Z., Šimková M., Harmatha J., Kmoníčková E., Lapčík O., Drašar P. B.: *Steroids* 117, 105 (2017).
10. Jurásek M. a 13 spoluautorů: *Steroids* 117, 97 (2017).
11. Mahalingam D., Peguero J., Cen P., Arora S. P., Sarantopoulos J., Rowe J., Allgood V., Tubb B., Campos L.: *Cancers (Basel)* 11, 833 (2019).
12. Isaacs J. T., Brennen W. N., Christensen S. B., Denmeade S. R.: *Molecules* 26, 7469 (2021).
13. Harmatha J., Buděšínský M., Jurásek M., Zimmermann T., Drašar P., Zídek Z., Kmoníčková E., Vejvodová L.: *Fitoterapia* 134, 88 (2019).

M. Grbavčić^a, M. Jurásek^b, and P. Drašar^b (^a *Seva Flora s.r.o., Valtice, Czech Republic*; ^b *Department of Chemistry of Natural Substances, University of Chemistry and Technology, Prague, Czech Republic*): **Isolation of Trilobolide from Stems and Leaves of the Horse Caraway**

Isolation of trilobolide from the stems and leaves of horse caraway is simple and, despite the lower content of the substance, appears to be economical due to the quantity of material that can be available and thanks to a relatively simple procedure.

Full text English translation is available in the on-line version.

Keywords: horse caraway cultivation, trilobolide, supercritical extraction



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoliv média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.