

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(21) Paraiškos numeris: **2020 561**
(22) Paraiškos padavimo data: **2020-12-04**
(41) Paraiškos paskelbimo data: **2022-06-10**
(45) Patento paskelbimo data: **2022-07-11**

(73) Patento savininkas:
Vytauto Didžiojo universitetas, K. Donelaičio g. 58, 44248 Kaunas, LT
(72) Išradėjas:
Rasa ŽUKIENĖ, LT
Vida MILDAŽIENĖ, LT
Zita NAUCIENĖ, LT
(74) Patentinis patikėtinis/atstovas:
Gediminas PRANEVIČIUS, 54, Advokatų profesinė bendrija IP FORMA, Užupio g. 30, LT-01203 Vilnius, LT

LT 6924 B

(54) Pavadinimas:
Nepsichotropinių kanabonoidų pluoštinės kanapės (*Cannabis sativa*) augalų lapuose ir žiedynuose padidinimo būdas, taikant sėklų apdorojimą vakuumu prieš sėją

(57) Referatas:

Išradime aprašytas nepsichotropinių fitokanabinoidų kanabidiolio rūgšties (CBDA) ir jos darinio kanabidiolio (CBD) kiekio padidinimo pluoštinės kanapės (*Cannabis sativa*) žiedynuose būdas, taikant sėklų apdorojimą vakuumu prieš sėją. Sėklos supilamos vienu sluoksniu į sterilią stiklinę 10 cm diametro Petri lėkštelę, kuri patalpinama hermetiškoje 0,05 m³ tūrio nerūdijančio plieno kameroje. Kameroje sukuriamas 100-200 Pa vakuumas, darbinės dujos – likutinis oras. Kameroje esančios sėklos vakuumu apdorojamos 3-7 min. Apdorotos sėklos laikomos 20-25°C temperatūroje tamsoje 4 dienas, po to sėjamos ir augalai auginami įprastomis sąlygomis. Panaudojant aprašytą technologiją – trumpalaikį pluoštinės kanapės sėklų apdorojimą vakuumu – galima ženkliai iki 20-25% padidinti neprichotropinių kanabinoidų kiekį moteriškų augalų žiedynuose.

TECHNIKOS SRITIS

Išradimas skirtas nepsichotropinių kanabonoidų pluoštinės kanapės (*Cannabis sativa*) augalų lapuose ir žiedynuose padidinimo būdai, taikant sėklų apdorojimą vakuumu prieš sėją.

TECHNIKOS LYGIS

Daugumos sėjamųjų kanapių veislių pagrindiniai fitokanabinoidai yra kanabidiolio rūgštis (CBDA) ir jos darinys kanabidiolis (CBD). Šie junginiai vertinami kaip nepsichotropinės medžiagos, taikomos slopinti traukulius, spazmas, nerimą ir pykinimą, reumatinius uždegimus ir apsaugoti nervų sistemą. Šių produktų paklausa nuolat didėja, todėl įvairiais būdais siekiama didinti jų išeigą, todėl techniškai paprastas ir aplinkai draugiškas būdas skatinti kanapių antrinių metabolitų biosintezę būtų ekonomiškai naudingas.

Vienas iš CBD kiekio pluoštinėse kanapėse padidinimo ir optimizavimo būdų yra aprašytas Kinijos patento paraiškoje Nr. CN110511120. Siekiant padidinti CBD kiekį, naudojama džiovinimo aukštoje temperatūroje konversija, atsižvelgiant į temperatūros ir laiko parametrų įtaką CBD kiekiui žaliavoje, siekiant nustatyti optimalias aukštos temperatūros konversijos sąlygas: džiovinimas atliekamas 100–150°C temperatūroje ir trunka 1–5 val., po džiovinimo konversijos CBD kiekis pluoštinės kanapės žaliavoje padidėja ir vidutiniškai siekia 1,7–3,9%, t.y. padidėja iki 3 kartų.

Be aprašytojo aukščiau, taip pat taikomi šie būdai fitokanabinoidų biosintezei didinti pluoštinės kanapės augaluose:

- Pluoštinės kanapės selekcija, veislių ir chemotipų atranka;
- ląstelių kultūrų taikymas kanabinoidams išgauti;
- auginimo sąlygų parinkimas (dienos ilgumas, drėgmė, temperatūra, dirvožemio sudėtis);
- tręšimas, įskaitant mikroorganizmų naudojimą;
- kanabinoidų ekstrakcijos iš augalinės žaliavos metodų tobulinimas.

Šių metodų trūkumai: reikalauja daug laiko sąnaudų (selekcija), yra brangūs

(ląstelių kultūros, ekstrakcijos metodai) arba taršūs (tręšimas), auginimo sąlygos, priklausančios nuo klimato, nėra lengvai modifikuojamos. Didžiausiais šių metodų veiksmingumas – 5-10 %.

Galimas alternatyvus metodas fitokanabinoidams gauti yra cheminė fitokanabinoidų sintezė, tačiau šiam būdui reikia specialios infrastruktūros, jis yra brangus ir susijęs su aplinkos tarša.

IŠRADIMO ESME

Panaudojant šiame išradime aprašomą technologiją – trumpalaikį (3-7 min.) pluoštinės kanapės sėklų apdorojimą vakuumu hermetiškoje kameroje, galima 20-25% padidinti CBDA ir CBD kiekį kanapių žaliavoje. Išradimo tikslas – pasiūlyti naują netaršų metodą paskatinti pluoštinės kanapės nepsichotropinių kanabinoidų biosintezę, prieš sėją sėklas trumpą laiką (3-7 min) apdorojant vakuumu, esant 100-200 Pa slėgiui. Panaudojant šiame išradime aprašomą nesudėtingą technologiją, galima ženkliai – iki 20-25% – padidinti atskirų kanabonoidų ir bendrą jų kiekį moteriškų augalų žiedynuose, kurie yra pagrindinis fitokanabinoidų išgavimo šaltinis. Sutrumpinus ar pailginus poveikio laiką, palyginus su siūlomu 3-7 min apdorojimu, padidinti fitokanabinoidų CBDA+CBD kiekį pluoštinės kanapės audiniuose nepavyksta.

IŠRADIMO PAVEIKSLŲ APRAŠYMAS

1 pav. pateikta šio išradimo būdo, skirto nepsichotropinių kanabonoidų pluoštinės kanapės moteriškų augalų žiedynuose padidinimui, technologinio proceso schema;

2 pav. grafiškai vaizduoja nepsichotropinių kanabinoidų kanabidiolio rūgšties (CBDA) kanabidiolio (CBD) kiekio ir bendro jų kiekio (CBDA+CBD) pokyčius pluoštinės kanapės moteriškų augalų žiedynuose po 7 min. sėklų veikimo vakuumu, esant 200 Pa slėgiui.

IŠRADIMO REALIZAVIMO APRAŠYMAS

Žemiau pateikiamas detalus proceso eigos aprašas pagal 1 pav. technologinio proceso

schema:

1. Pluoštinės kanapės sėklos supilamos vienu sluoksniu į sterilią stiklinę 10 cm skersmens Petri lėkštelę, kuri patalpinama hermetiškoje 0,05 m³ tūrio nerūdijančio plieno kameroje;

2. Iš kameros siurbiant orą, joje sukuriamas 100-200 Pa vakuumas ir sėklos laikomos vakuume 3-7 min.;

3. Įleidus oro, kamera atidaroma, sėklos išimamos, supilamos į polietileno maišelį ir laikomos 20-25°C temperatūroje tamsoje 4 dienas;

4. Praėjus šiam laikotarpiui, sėklos sėjamos ir augalai auginami įprastomis sąlygomis.

5. Lauko sąlygomis augalai auginami 4 mėn., tada nupjaunami, standartiniu būdu parengiami jų žiedynų ekstraktai, kuriuose efektyviosios skysčių chromatografijos metodu nustatomas CBDA ir CBD kiekis. Vakuuminės kameros tūrį ir apdorojamų sėklų skaičių galima didinti, tačiau sėklos kameroje turi būti išdėstytos vienu sluoksniu. 2 pav. grafiškai atvaizduoti nepsichotropinių kanabinoidų kanabidiolio rūgšties

(CBDA) kanabidiolio (CBD) kiekio ir bendro jų kiekio (CBDA+CBD) pokyčiai pluoštinės kanapės (*Cannabis sativa*) moteriškų augalų žiedynuose po 7 min. sėklų veikimo vakuumu ($n = 3$, vidurkis $\pm$ standartinė paklaida), esant 200 Pa slėgiui. Dėl poveikio vakuumu gauti kiekių skirtumai yra statistiškai patikimi, vertinant Stjudento testu, $p < 0,05$.

APIBRĖŽTIS

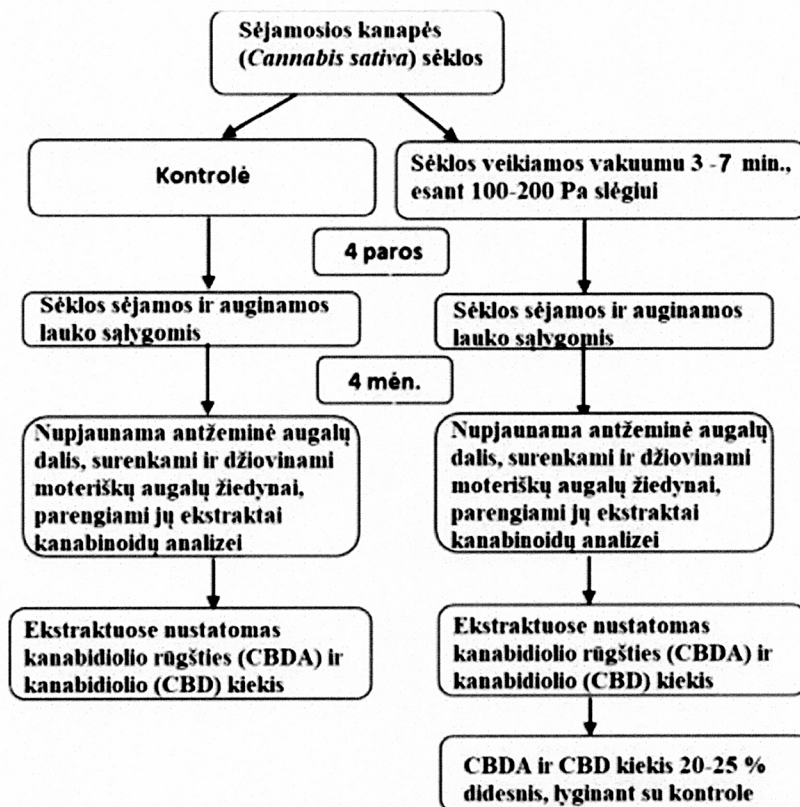
1. Nepsichotropinių kanabonoidų pluoštinės kanapės (*Cannabis sativa*) augalų lapuose ir žiedynuose padidavimo būdas, taikant sėklų apdorojimą prieš sėją, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad kanapių sėklas apdoroja vakuumu, taikant šiuos etapus ir parametrus:

a) pluoštinės kanapės sėklos vienu sluoksniu patalpinamos į vakuuminę kamerą, esant darbiniam slėgiui 100-200 Pa, kur darbinės dujos – likutinis oras, ir laikomos vakuume 3-7 minutes;

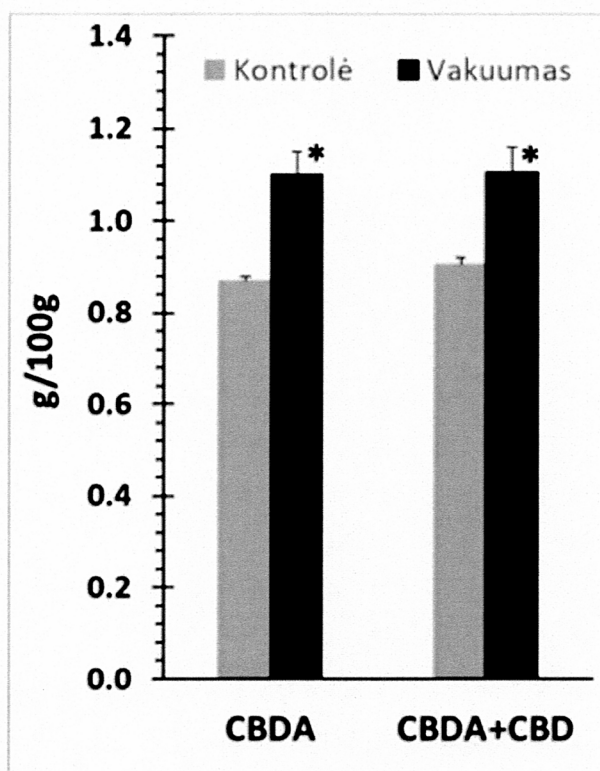
b) įleidžiama oro, vakuuminė kamera atidaroma, sėklos išimamos, supilamos į polietileno maišelį ir laikomos 20-25°C temperatūroje tamsoje 4 dienas;

c) praėjus šiam laikotarpiui, sėklos sėjamos ir augalai auginami įprastomis sąlygomis.

2. Būdas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad pluoštinės kanapės sėklos supilamos vienu sluoksniu į sterilią stiklinę 10 cm diametro Petri lėkštelę, kuri patalpinama hermetiškoje 0,05 m³ tūrio nerūdijančio plieno kameroje



1 pav.



2 pav.