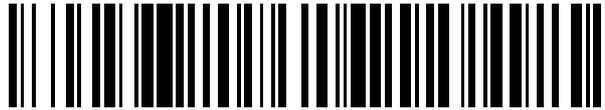


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 565 186**

51 Int. Cl.:

C07D 311/26 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2009 E 09772614 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.12.2015 EP 2310379**

54 Título: **Método para el fraccionamiento de extracto de madera nudosa y uso de una extracción líquido-líquido para la purificación de extracto de madera nudosa**

30 Prioridad:

01.07.2008 FI 20085681

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

01.04.2016

73 Titular/es:

**UPM-KYMMENE OYJ (100.0%)
Alvar Aallon katu 1
00100 Helsinki, FI**

72 Inventor/es:

**PIETARINEN, SUVI y
HOTANEN, ULF**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 565 186 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para el fraccionamiento de extracto de madera nudosa y uso de una extracción líquido-líquido para la purificación de extracto de madera nudosa

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a un método para el fraccionamiento de extracto de madera nudosa, que ha sido obtenido por extracción de madera nudosa con un disolvente hidrófilo. La invención también se refiere al uso de una extracción líquido-líquido para la purificación de extracto de madera nudosa hidrófilo. El presente procedimiento proporciona un extracto de madera nudosa purificado, que contiene más que 90 % de lignanos, flavonoides y estilbenos, y menos que 10 % de impurezas seleccionadas de ácidos de resina, ácidos grasos, esteroides, juvabionas, triglicéridos y combinaciones de los mismos, especialmente derivados de ácido abiético (neobietina, abietina, dehidroabietina) y ácido pimárico.

Antecedentes de la invención

15 La madera nudosa, es decir, los extremos interiores de las ramas insertados dentro del árbol, contiene una abundancia de sustancias extractivas, cuya utilidad ha sido estudiada intensivamente. Entre estos compuestos, especialmente los lignanos de árboles coníferos tales como picea, pino y abeto se han hecho conocidos como compuestos anticáncer hormonal.

20 El duramen, así como la madera nudosa de los árboles coníferos, contiene grandes cantidades de alquitrán, que consiste principalmente en ácidos de resina y rosina y terpenos. La madera nudosa y el duramen contienen adicionalmente compuestos fenólicos, los más abundante de los cuales son los lignanos mencionados anteriormente, así como pinosilvina y su éter monometílico.

Se sabe que los extractos fenólicos de la madera nudosa son potentes antioxidantes, y se pueden usar como sustitutos para antioxidantes sintéticos, por ejemplo, en productos alimenticios, cosméticos, productos farmacéuticos, etc.

25 En la técnica anterior, los componentes deseados del duramen y especialmente de la madera nudosa han sido extraídos típicamente con un disolvente hidrófilo tal como etanol.

30 La solicitud de patente internacional WO 02/098830 (Holmbom et al.) describe un método para aislar sustancias fenólicas o juvabionas de madera nudosa extrayendo la madera nudosa con un disolvente polar que tiene una constante dieléctrica mayor que 3 a 25 °C. Los disolventes mencionados en el documento son disolventes hidrófilos tales como agua o una mezcla de agua y un alcohol o acetona. El disolvente hidrófilo preferido es agua y etanol. El documento también menciona una extracción secuencial, de tal modo que los extractivos lipófilos son extraídos primero de la madera nudosa con hexano y después los extractivos hidrófilos remanentes son extraídos de la madera con acetona/agua. Se proporciona en el documento un informe sobre los extractivos hidrófilos.

35 La solicitud de patente internacional WO 2005/047423 (Arbonova) se refiere al uso de un extracto hidrófilo de madera nudosa como agente antioxidativo. El disolvente polar comprende agua o una mezcla de agua y alcohol o acetona. Se puede usar una extracción secuencial con un disolvente lipófilo y después uno hidrófilo para la extracción selectiva de los componentes hidrófilos. El extracto hidrófilo puede ser purificado por cromatografía o cristalización. Según el documento, también es posible retirar los extractivos lipófilos de un extracto de acetona llevando a reflujo el extracto de acetona seco con hexano.

40 El procedimiento de la técnica anterior para extraer los compuestos hidrófilos deseados de la madera nudosa no es totalmente satisfactorio. La extracción hidrófila se realiza típicamente con etanol/agua, y el extracto resultante contiene también componentes del alquitrán lipófilos además de los componentes hidrófilos deseados. Las impurezas lipófilas perjudican la calidad del extracto hidrófilo. A veces las impurezas pueden incluso prohibir el uso del extracto para un fin pretendido. Se ha apuntado, por ejemplo, que los ácidos de resina de pino son potentes alérgenos, y su presencia en un extracto de pino prohíbe el uso del extracto en la industria de los cosméticos. Las juvabionas lipófilas contenidas en el extracto de abeto hidrófilo son fitoestrógenos, y por tanto su presencia limita el uso del extracto. Por otra parte, las juvabionas se pueden usar en preparaciones para el control de insectos.

45 El extracto hidrófilo puede ser purificado por medios técnicos tales como cromatografía o cristalización, y la cantidad de extractivos lipófilos puede ser reducida mediante una extracción lipófila/hidrófila secuencial del material de madera nudosa. Sin embargo, hay aún una necesidad de una manera simple y económicamente rentable de aumentar la pureza del extracto de madera nudosa hidrófilo. Hay también una necesidad de proporcionar un extracto lipófilo para uso en aplicaciones industriales. La presente invención pretende satisfacer estas necesidades y proporcionar un nuevo procedimiento para purificar extracto de madera nudosa.

Compendio de la invención

La presente invención se refiere a un método para el fraccionamiento de extracto de madera nudosa, en donde la

madera nudosa se extrae con un disolvente hidrófilo, el extracto de madera nudosa resultante se extrae con un disolvente lipófilo, y al menos una fracción del extracto de madera nudosa se recupera.

5 La primera extracción proporciona un extracto hidrófilo bruto. La segunda extracción o fraccionamiento proporciona un extracto hidrófilo purificado y un extracto lipófilo. El fraccionamiento se realiza preferiblemente como una extracción líquido-líquido del extracto hidrófilo bruto con un disolvente lipófilo.

El disolvente lipófilo comprende típicamente un disolvente no polar o una mezcla de disolventes no polares que tienen una constante dieléctrica por debajo de 3, determinada a 25 °C, mientras que el disolvente hidrófilo comprende un disolvente polar o una mezcla de disolventes polares que tienen una constante dieléctrica mayor que 3, y preferiblemente mayor que 15, determinada a 25 °C.

10 La madera nudosa usada en el método según la invención puede proceder de diferentes especies de madera que contienen extractivos hidrófilos y lipófilos. Sin embargo, la madera nudosa comprende típicamente nudos de madera conífera, preferiblemente madera seleccionada de pino (*Pinus*), píceo (*Picea*), abeto (*Abies*) y combinaciones de los mismos.

15 La presente invención también se refiere al uso de una extracción líquido-líquido lipófila para la purificación de extracto de madera nudosa hidrófilo. La purificación según la invención retira impurezas lipófilas de un extracto de madera nudosa hidrófilo. El grado al que las impurezas lipófilas son retiradas depende de las condiciones y secuencias del fraccionamiento. El fraccionamiento retira típicamente componentes de resina tales como ácido abiético y sus derivados, y ácido pimárico.

20 En una realización de la invención, el fraccionamiento proporciona un extracto de madera nudosa que tiene menos que 25 %, preferiblemente menos que 10 % y lo más preferiblemente menos que 5 % de impurezas seleccionadas del grupo que consiste en ácidos de resina, ácidos grasos, esteroides, jувabionas, triglicéridos y combinaciones de los mismos. En una realización preferida, dicho extracto contiene menos que 10 % y preferiblemente menos que 5 % de ácidos de resina, que se seleccionan del grupo que consiste en ácido neoabiético, ácido abiético, ácido dehidroabiético, ácido pimárico, ácido isopimárico, ácido palústrico y combinaciones de los mismos.

25 La presente invención proporciona típicamente un extracto de madera nudosa hidrófilo purificado, que contiene más que 90 %, preferiblemente más que 95 % y lo más preferiblemente más que 99 % de componentes seleccionados de lignano(s), flavonoide(s), estilbeno(s) y combinaciones de los mismos, y menos que 10 %, preferiblemente menos que 5 % y lo más preferiblemente menos que 1 % de impurezas seleccionadas de ácidos de resina, ácidos grasos, esteroides, jувabionas, triglicéridos y combinaciones de los mismos.

30 **Breve descripción de los dibujos**

La Fig. 1 muestra la influencia de extracciones líquido-líquido lipófilas repetidas sobre el contenido de ácido de resina de un extracto de madera nudosa hidrófilo.

Descripción detallada de la invención

35 La presente invención está basada en la comprensión de que la calidad del extracto de madera nudosa hidrófilo tradicional puede ser mejorada realizando un fraccionamiento líquido-líquido lipófilo del extracto de madera nudosa hidrófilo. La purificación del extracto de madera nudosa facilita su comercialización y hace disponibles alternativas nuevas y mejoradas para el fraccionamiento y purificación de extractos de diversas especies de madera. La invención también permite la producción de un extracto de madera nudosa lipófilo a partir del que se pueden recuperar ácidos de resina y otros componentes de alquitrán.

40 En el método según la invención, la madera nudosa se extrae con un disolvente hidrófilo para proporcionar un extracto de madera nudosa hidrófilo bruto. El extracto hidrófilo bruto se extrae con un disolvente lipófilo para proporcionar un extracto hidrófilo purificado y un extracto lipófilo. Uno o ambos de los extractos resultantes pueden ser recuperados. Los extractos se pueden usar como tales o pueden ser tratados adicionalmente por aislamiento de componentes únicos o grupos de componentes.

45 El extracto hidrófilo bruto puede ser concentrado, purificado o fraccionado antes de la extracción lipófila mediante la retirada de uno o más componentes. Si se proporcionan dos fracciones hidrófilas, la extracción líquido-líquido de la presente invención puede ser aplicada a una cualquiera o ambas de las fracciones así obtenidas para retirar componentes lipófilos de las mismas.

50 En la técnica anterior se ha sugerido una combinación de un disolvente hidrófilo y uno lipófilo en la extracción de madera nudosa. La extracción se ha realizado como una extracción secuencial extrayendo primero la madera nudosa con hexano para retirar extractivos lipófilos del material de madera. Después el material de madera extraído una vez se ha sometido a una segunda extracción con un disolvente hidrófilo tal como una mezcla de acetona y agua. Sin embargo, esta extracción secuencial tiene ciertos inconvenientes, que son evitados por la presente invención.

- Así, para la extracción con un disolvente lipófilo, el material de madera debe estar seco, de tal modo que el disolvente lipófilo pueda penetrar en la madera. Secar el material de madera consume mucho tiempo y energía. Cuando el material de madera es extraído con un disolvente hidrófilo tal como agua, etanol o acetona, el material de madera no necesita ser secado antes de la extracción. Al contrario, el agua es típicamente un componente del disolvente en sí. Como consecuencia, la planta extractora de madera puede ser más pequeña y más fácil de hacer funcionar, y requiere menos energía que si la madera es extraída con un disolvente lipófilo.
- 5
- Cuando la extracción inicial del material de madera se realiza con un disolvente hidrófilo, el extracto hidrófilo puede ser concentrado antes de la extracción líquido-líquido lipófila para reducir el volumen del extracto hidrófilo. Esto reduce el volumen de disolvente lipófilo requerido en comparación con una situación en donde se realiza la extracción lipófila sobre el material de madera. Reducir la cantidad de disolvente también mejora la seguridad del procedimiento.
- 10
- Cuando el material de madera es extraído inicialmente con un disolvente lipófilo, como en la técnica anterior, parte de los componentes hidrófilos deseados también serán transferidos al disolvente lipófilo extractante. Esto reduce el rendimiento del extracto hidrófilo obtenible en la secuencia de extracción hidrófila posterior.
- 15
- Cuando la madera es extraída con un disolvente hidrófilo, una gran porción de los ácidos de resina y grasos queda sin extraer en el material de madera. Dado que estos componentes típicamente no se desean, es ventajoso dejarlos en la madera. El extracto hidrófilo contendrá sólo una porción menor de los ácidos de resina y grasos de la madera, y, por consiguiente, la contaminación del disolvente lipófilo con ácidos de resina y grasos es más pequeña, lo que facilita la purificación y reciclado del disolvente lipófilo y reduce el tamaño del procedimiento de recuperación.
- 20
- La técnica anterior también ha sugerido extraer estilbenos de madera nudosa con acetona y retirar los extractivos lipófilos llevando a reflujo el extracto de acetona secado con hexano. Sin embargo, este método requiere secar primero el extracto de acetona obtenido y lixiviar después el extracto sólido con hexano. Para obtener suficiente extracción por lixiviación, tiene que haber un contacto completo entre el extracto de acetona sólido y el hexano líquido. Aunque tal procedimiento puede funcionar en un laboratorio, no es adecuado para la operación en una escala industrial.
- 25
- El disolvente hidrófilo usado en la técnica anterior para extraer madera nudosa ha sido definido como un disolvente polar o una mezcla de disolventes polares que tienen una constante dieléctrica mayor que 3. Sin embargo, no se ha mostrado ningún disolvente con una constante dieléctrica por debajo de 15 que funcione como disolvente polar de la manera deseada. Los disolventes usados típicamente en la técnica anterior incluyen agua, alcohol, acetona y mezclas de los mismos. La constante dieléctrica del agua es aproximadamente 80, la del etanol es aproximadamente 25 y la de la acetona es aproximadamente 20.
- 30
- El disolvente usado según la presente invención para la extracción líquido-líquido es un disolvente no polar, que preferiblemente no es miscible con el disolvente polar o sólo miscible hasta un grado muy pequeño con el disolvente polar usado en la extracción hidrófila.
- 35
- El disolvente no polar o mezcla de disolventes no polares preferidos tiene una constante dieléctrica por debajo de 3, determinada a 25 °C. Tales disolventes incluyen, pero no se limitan a, hexano, heptano, benceno, tolueno, ciclohexano, ciclopentano y mezclas de los mismos. La constante dieléctrica aproximada del hexano es 2,0, heptano 1,9, benceno 2,3, tolueno 2,4, ciclohexano 2,0 y ciclopentano 2,0.
- 40
- El experto puede seleccionar otros disolventes hidrófilos y lipófilos adecuados en base a su conocimiento de sus polaridades y otras propiedades.
- En el método según la invención, la extracción con un disolvente hidrófilo se realiza típicamente sobre madera no secada o secada sólo ligeramente, dado que el agua en sí es un disolvente polar para los extractivos hidrófilos deseados. Preferiblemente el material de madera tiene un contenido de sólidos secos de 60 a 95 %, preferiblemente 70 a 90 %.
- 45
- La extracción líquido-líquido según la presente invención es facilitada por la presencia de agua en el extracto hidrófilo. El disolvente hidrófilo usado para la extracción de la madera nudosa contiene típicamente agua. Para facilitar la separación de fases de dicha extracción con disolvente lipófilo, la cantidad de agua en dicho disolvente hidrófilo y/o en el extracto hidrófilo bruto resultante puede ser ajustada. El agua también puede ser añadida con el disolvente lipófilo.
- 50
- En una realización de la invención, el disolvente hidrófilo comprende etanol y el disolvente lipófilo comprende heptano, y el contenido de agua del extracto hidrófilo sometido a la extracción líquido-líquido es 10 % o más. Preferiblemente, el contenido de agua está entre 10 y 30 % en una base de volumen/volumen. El agua en mezcla con el etanol disminuye la solubilidad de los extractivos lipófilos en el etanol. Sin embargo, el contenido de agua total del etanol durante la extracción de la madera no debe aumentar por encima de 50 %, porque esto reduce el rendimiento de los extractivos hidrófilos deseados en el disolvente.
- 55
- A fin de mejorar la purificación del extracto hidrófilo y retirar más de los extractivos lipófilos, la extracción con un

disolvente lipófilo es repetida al menos una vez. Preferiblemente la extracción líquido-líquido es repetida dos veces.

5 El extracto hidrófilo (purificado) extraído una vez puede ser tratado por otros medios entre extracciones lipófilas consecutivas. Así, por ejemplo, el contenido de agua del extracto puede ser ajustado, el volumen del extracto puede ser reducido o aumentado y los componentes pueden ser retirados por cristalización u otros medios entre etapas de extracción. También se puede realizar una extracción intermedia y/o final con un disolvente lipófilo diferente del disolvente lipófilo usado en la primera extracción líquido-líquido lipófila. Aunque ajustar el contenido de agua y/o cambiar el disolvente puede complicar el procedimiento de extracción, se pueden obtener ventajas en el perfil y pureza del producto, lo que puede justificar en ciertos casos tales etapas extra.

10 En la operación típica del procedimiento según la invención, el extracto hidrófilo es sometido a tres extracciones líquido-líquido consecutivas, usándose el mismo disolvente lipófilo en todas las etapas de extracción. Después de cada extracción, el disolvente lipófilo es recuperado y recirculado a una extracción lipófila posterior. La recuperación del disolvente se hace típicamente por evaporación. Ciertas impurezas, tales como terpenos, son difíciles de retirar del disolvente lipófilo, y el disolvente necesita ser purificado o se necesita añadir disolvente fresco de reconstitución a la circulación del disolvente de vez en cuando para impedir la acumulación de altas cantidades de impurezas.

15 El disolvente hidrófilo usado en la extracción con disolvente hidrófilo también puede ser recuperado del extracto hidrófilo purificado. El disolvente hidrófilo se recupera preferiblemente por evaporación, y se recicla a una etapa de extracción hidrófila posterior.

20 El método según la invención permite la recuperación tanto de fracciones de extracto lipófilo como fracciones de extracto hidrófilo. Cuando la fracción del extracto de madera nudosa recuperada comprende una o más fracciones lipófilas, el disolvente lipófilo se retira típicamente por evaporación, y la resina lipófila resultante se recupera. Las fracciones lipófilas se combinan típicamente antes de la evaporación.

25 Cuando la fracción del extracto de madera nudosa recuperada comprende una o más fracciones hidrófilas, el disolvente hidrófilo se retira típicamente por evaporación y se recupera un extracto hidrófilo purificado. La fracción purificada o las fracciones combinadas pueden ser tratadas adicionalmente de una manera conocida *per se* para liberar componente(s) específico(s) de las mismas. La fracción purificada también puede ser purificada adicionalmente por cromatografía, cristalización o similares.

30 Aunque la mayoría de los árboles y muchas otras plantas contienen lignanos, se sabe que las especies de madera conífera son excepcionalmente ricas en lignanos que tienen propiedades deseadas. Así, la madera nudosa preferida usada en la presente invención comprende nudos de madera conífera, y los más preferiblemente madera nudosa seleccionada de pino (*Pinus*), picea (*Picea*), abeto (*Abies*) y combinaciones de los mismos.

El extracto hidrófilo bruto obtenido por extracción hidrófila de tal madera nudosa conífera contiene componentes seleccionados del grupo que consiste en lignano(s), flavonoide(s), estilbeno(s), jувabiona(s), ácido(s) graso(s), ácido(s) de resina, esterol(es), triglicérido(s) y combinaciones de los mismos.

35 La extracción con un disolvente lipófilo retira ácidos de resina, ácidos grasos, esteroides, jувabionas y triglicéridos de tal modo que el extracto hidrófilo purificado obtenido por la extracción lipófila según la invención contiene principalmente componentes seleccionados del grupo que consiste en lignano(s), flavonoide(s), estilbeno(s) y combinaciones de los mismos. La cantidad de dichos componentes es típicamente más que 90% del contenido de sólidos secos.

40 Los lignanos se seleccionan típicamente de alo-hidroximatairesinol, (-)-hidroximatairesinol, secoisolariciresinol, conidendrina, ácido conidéndrico, todolactol, isoliovilol, lariciresinol, lignano A, matairesinol, oligolignanos, nortrachelogenina y pinosinol. Los estilbenos se seleccionan típicamente de pinosilvina y éter metílico de pinosilvina.

45 La extracción con un disolvente lipófilo según la invención proporciona un extracto lipófilo, que incluye componentes seleccionados de ácidos de resina, ácidos grasos, esteroides, jувabionas y triglicéridos. Los componentes de resina más abundantes del extracto de madera nudosa conífera se seleccionan del grupo que consiste en neoabietina, abietina, dehidroabietina, ácido palústrico, ácido pimárico y ácido isopimárico.

50 La presente invención proporciona un nuevo uso de una extracción líquido-líquido lipófila para la purificación de extracto de madera nudosa hidrófilo. Mediante la repetición de la secuencia de extracción líquido-líquido, son obtenibles cantidades muy bajas de impurezas. Según una realización de la invención, el uso de la extracción líquido-líquido proporciona un extracto de madera nudosa hidrófilo purificado que tiene menos que 25 %, preferiblemente menos que 10 % y lo más preferiblemente menos que 5 % de impurezas seleccionadas del grupo que consiste en ácidos de resina, ácidos grasos, esteroides, jувabionas, triglicéridos y combinaciones de los mismos. Dichas impurezas se seleccionan típicamente del grupo que consiste en ácido neoabiético, ácido abiético, ácido dehidroabiético, ácido pimárico, ácido isopimárico, ácido palústrico y combinaciones de los mismos.

55 Según una realización de la invención, el fraccionamiento purificador proporciona un extracto hidrófilo purificado producto, que contiene más que 90 %, preferiblemente más que 95 % y lo más preferiblemente más que 99 % de

componentes seleccionados de lignano(s), flavonoide(s), estilbeno(s) y combinaciones de los mismos y menos que 10 %, preferiblemente menos que 5 % y lo más preferiblemente menos que 1 % de impurezas seleccionadas de ácidos de resina, ácidos grasos, esteroides, juvabionas, triglicéridos y combinaciones de los mismos.

5 El extracto purificado típicamente consiste esencialmente en 55-75 % de lignanos, 20-40 % de estilbenos y 1 a 5 % de dichas impurezas.

Los lignanos se seleccionan de alo-hidroximatairesinol, (-)-hidroximatairesinol, secoisolariciresinol, conidendrina, ácido conidéndrico, todolactol, isoliovilol, lariciresinol, lignano A, matairesinol, oligolignanos, nortrachelogenina y pinosresinol, y los estilbenos se seleccionan de pinosilvina y éter metílico de pinosilvina. Se pueden aislar de dicho extracto uno o más de dichos compuestos.

10 Entre las impurezas los ácidos grasos con 18 átomos de carbono (C18:0 y C18:2), ácido pimárico, ácido isopimárico, ácido palústrico, ácido dehidroabiético, ácido abiético y ácido neoabiético son los más abundantes.

15 En una realización de la invención, el extracto de madera nudosa purificado consiste esencialmente en 20-40 % de los sólidos secos de estilbenos seleccionados de pinosilvina y éter monometílico de pinosilvina, 55-75 % de los sólidos secos de lignanos seleccionados de alo-hidroximatairesinol, (-)-hidroximatairesinol, secoisolariciresinol, conidendrina, ácido conidéndrico, todolactol, isoliovilol, lariciresinol, lignano A, matairesinol, oligolignanos, nortrachelogenina y pinosresinol, y 1 a 5 % de los sólidos secos de impurezas seleccionadas de ácidos grasos C18, ácido neoabiético, ácido abiético, ácido dehidroabiético, ácido pimárico, ácido isopimárico y ácido palústrico.

20 En la presente memoria descriptiva y reivindicaciones, los porcentajes de los componentes en los extractos se calculan en el contenido de sólidos secos a menos que se especifique de otro modo, y los siguientes términos tienen los significados definidos a continuación.

El término "madera nudosa" se refiere a material de madera que incluye nudos, es decir, ramas y especialmente las extensiones interiores de las ramas dentro del tallo de un árbol. La madera nudosa es más dura que el resto de la madera, y se obtiene típicamente por selección de astillas de tamaño grande en la producción de astillas para procedimientos de pulpa y papel.

25 El término "extracción líquido-líquido" se refiere a un procedimiento de extracción que usa dos disolventes, que están ambos en fase líquida, es decir, a una temperatura por debajo de sus puntos de ebullición. Los dos disolventes son inmiscibles uno con el otro, en el sentido de que pueden ser separados después del procedimiento de extracción. La extracción líquido-líquido también se conoce como "extracción de disolventes". El objetivo es separar compuestos en base a sus solubilidades relativas en los dos diferentes disolventes. El procedimiento extrae uno o más sustancias de una fase líquida a otra fase líquida.

El término "extracto de madera nudosa" se refiere a un extracto de madera nudosa obtenido cuando se ha extraído madera nudosa con un disolvente. El extracto está inicialmente en una forma líquida en el medio disolvente extractor, y el extracto sólido se obtiene típicamente por evaporación del disolvente.

35 El término "fracción de extracto de madera nudosa" se refiere a una fracción obtenida después de que se ha realizado una extracción líquido-líquido sobre un extracto de madera nudosa para fraccionar el mismo. La fracción del extracto de madera nudosa en cuestión puede ser hidrófila o lipófila.

El término "extracto hidrófilo bruto" se refiere a un extracto obtenido cuando se extrae inicialmente madera nudosa con un disolvente hidrófilo. La extracción hidrófila de la madera nudosa puede ser realizada varias veces, en cuyo caso los extractos obtenidos típicamente se combinan.

40 El término "extracto hidrófilo purificado" se refiere a una fracción de extracto que ha sido obtenida sometiendo el extracto hidrófilo bruto o una forma purificada del mismo a extracción líquido-líquido de acuerdo con la presente invención.

45 El término "extracto lipófilo" se refiere a una fracción de extracto que ha sido obtenida sometiendo un extracto hidrófilo bruto o purificado a extracción líquido-líquido de tal modo que los componentes lipófilos de dicho extracto hidrófilo han sido transferidos al disolvente lipófilo.

El siguiente ejemplo se proporciona para ilustrar adicionalmente la invención, y no pretende limitar el alcance de la misma. En base a la descripción anterior, un experto en la técnica podrá modificar la invención de muchas maneras para proporcionar extractos hidrófilos y/o lipófilos purificados y componentes aislados de los mismos con un amplio intervalo de propiedades definidas.

50 Ejemplos

Ejemplo 1

Se mezcló madera nudosa molida de pino y píceas, y se extrajeron tres mezclas diferentes con etanol hirviendo que contenía 5 % de agua. El contenido de agua de las mezclas de madera nudosa fue aproximadamente 50 % del peso

total. La cantidad de etanol usado fue aproximadamente cuatro veces la de los nudos. La extracción hidrófila se continuó durante aproximadamente 3 horas a 80 °C.

Los extractos hidrófilos brutos resultantes fueron analizados, y se encontró que contenían aproximadamente 55 % de los sólidos secos de los extractivos hidrófilos deseados, a saber, lignanos y estilbenos.

5 Los extractos hidrófilos brutos en sus disolventes de etanol/agua respectivos fueron sometidos cada uno a tres extracciones líquido-líquido consecutivas con heptano en un equipo reactor a una temperatura de 50 °C. En cada extracción, se agitó primero el líquido y después se dejó separar durante una hora. La fase del disolvente hidrófilo se analizó para mostrar la cantidad de impurezas que quedaron en el extracto purificado.

10 Los resultados obtenidos por análisis cromatográfico de gases se indican gráficamente en la Fig. 1 y numéricamente en la Tabla 1.

Tabla 1: Concentraciones de los compuestos identificados

| | Extracto de etanol sin purificar | Extracto purificado una vez | Extracto purificado dos veces | Extracto de etanol sin purificar | Extracto purificado una vez | Extracto purificado dos veces | Extracto de etanol sin purificar | Extracto purificado una vez | Extracto purificado dos veces | Extracto de etanol sin purificar | Extracto purificado una vez | Extracto purificado dos veces |
|---|----------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| Éter monometílico de pinosilvina | 11 % | 21 % | 18 % | 11 % | 21 % | 17 % | 15 % | 18 % | 17 % | 15 % | 18 % | 17 % |
| Pinosilvina | 7 % | 8 % | 7 % | 6 % | 5 % | 6 % | 7 % | 6 % | 6 % | 7 % | 6 % | 6 % |
| ácido 18:0 y 18:2 | 4 % | 1 % | 1 % | 6 % | 2 % | 1 % | 7 % | 2 % | 1 % | 7 % | 2 % | 1 % |
| ácido pimárico | 4 % | 2 % | 0 % | 5 % | 3 % | 1 % | 4 % | 2 % | 1 % | 4 % | 2 % | 0 % |
| ácido isopimárico | 3 % | 0 % | 0 % | 0 % | 0 % | 0 % | 3 % | 0 % | 0 % | 3 % | 0 % | 0 % |
| ácido palústrico | 7 % | 0 % | 0 % | 6 % | 0 % | 0 % | 0 % | 0 % | 0 % | 0 % | 0 % | 0 % |
| ácido dehidroabiético | 7 % | 2 % | 1 % | 6 % | 6 % | 1 % | 9 % | 4 % | 1 % | 9 % | 4 % | 1 % |
| ácido abiético | 12 % | 3 % | 0 % | 17 % | 5 % | 1 % | 15 % | 3 % | 1 % | 15 % | 3 % | 0 % |
| ácido neoabiético | 7 % | 1 % | 0 % | 6 % | 0 % | 0 % | 6 % | 0 % | 0 % | 6 % | 0 % | 0 % |
| Ácidos de resina | 45 % | 9 % | 2 % | 46 % | 16 % | 4 % | 44 % | 11 % | 4 % | 44 % | 11 % | 3 % |
| Lignanos | 30 % | 48 % | 57 % | 29 % | 43 % | 57 % | 26 % | 51 % | 57 % | 26 % | 51 % | 57 % |
| dímeros | 5 % | 8 % | 12 % | 5 % | 14 % | 12 % | 4 % | 8 % | 12 % | 4 % | 8 % | 13 % |
| trímeros | 1 % | 4 % | 3 % | 2 % | 1 % | 3 % | 3 % | 3 % | 3 % | 3 % | 3 % | 3 % |
| tetrámeros | 1 % | 2 % | 2 % | 1 % | 0 % | 1 % | 2 % | 3 % | 1 % | 2 % | 3 % | 1 % |
| Oligolignanos | 7 % | 14 % | 17 % | 8 % | 16 % | 17 % | 9 % | 14 % | 17 % | 9 % | 14 % | 17 % |

Como se puede ver a partir de la Fig. 1 y la Tabla 1, la extracción líquido-líquido según la invención proporciona una excelente herramienta para purificar un extracto de madera nudosa hidrófila de impurezas lipófilas.

5 La presente invención ha sido descrita en la presente memoria con referencia a realizaciones específicas. Es claro sin embargo para los expertos en la técnica que el (los) procedimiento(s) puede(n) ser variado(s) dentro de los límites de las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para el fraccionamiento de extracto de madera nudosa, **caracterizado** por que se extrae inicialmente madera nudosa con un disolvente hidrófilo, el extracto de madera nudosa resultante se extrae con un disolvente lipófilo, al menos una fracción del extracto de madera nudosa se recupera y dicho fraccionamiento se realiza como una extracción líquido-líquido.
2. El método según la reivindicación 1, en donde dicho disolvente lipófilo comprende un disolvente no polar o una mezcla de disolventes no polares que tienen una constante dieléctrica por debajo de 3, determinada a 25 °C.
3. El método según la reivindicación 2, en donde dicho disolvente lipófilo se selecciona del grupo que consiste en hexano, heptano, benceno, tolueno, ciclohexano, ciclopentano y mezclas de los mismos.
- 10 4. El método según la reivindicación 1, en donde dicho disolvente hidrófilo comprende un disolvente polar o una mezcla de disolventes polares que tienen una constante dieléctrica mayor que 3, y preferiblemente mayor que 15, determinada a 25 °C.
5. El método según la reivindicación 4, en donde dicho disolvente hidrófilo se selecciona del grupo que consiste en agua, alcohol, acetona y mezclas de los mismos.
- 15 6. El método según la reivindicación 1, en donde dicha extracción con un disolvente hidrófilo se realiza sobre material de madera nudosa no secado o parcialmente secado que tiene un contenido de sólidos secos de 60 a 95 %, preferiblemente 70 a 90 %.
7. El método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el disolvente hidrófilo usado para dicha extracción contiene agua.
- 20 8. El método según la reivindicación 7, en donde la cantidad de agua en dicho disolvente hidrófilo y/o en el extracto de madera nudosa hidrófilo resultante se ajusta para facilitar la separación de fases de dicha extracción con disolvente lipófilo, preferiblemente dicho disolvente hidrófilo comprende etanol, dicho disolvente lipófilo comprende heptano y dicho contenido de agua es 10 % o más.
9. El método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha extracción con un disolvente lipófilo es repetida al menos una vez.
- 25 10. El método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha fracción de extracto de madera nudosa recuperada comprende una o más fracciones lipófilas y dicho disolvente lipófilo se retira por evaporación, y en donde la resina lipófila resultante se recupera.
11. El método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha fracción de extracto de madera nudosa recuperada comprende una o más fracciones hidrófilas y dicho disolvente hidrófilo se retira por evaporación, y en donde se recupera un extracto hidrófilo purificado y se trata opcionalmente además para liberar componente(s) específico(s) del mismo.
- 30 12. El método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha madera nudosa comprende nudos de madera conífera, preferiblemente madera seleccionada de pino (*Pinus*), píceas (*Picea*), abeto (*Abies*) y combinaciones de los mismos.
- 35 13. El método según la reivindicación 12, en donde dicha extracción con un disolvente hidrófilo proporciona un extracto hidrófilo bruto que contiene componente(s) seleccionado(s) del grupo que consiste en lignano(s), flavonoide(s), estilbeno(s), jувabiona(s), ácido(s) graso(s), ácido(s) de resina, esteroles, triglicérido(s) y combinaciones de los mismos.
- 40 14. El método según la reivindicación 12, en donde dicha extracción con un disolvente lipófilo proporciona un extracto hidrófilo purificado que contiene más que 90 % de los sólidos secos de componente(s) seleccionado(s) del grupo que consiste en lignano(s), flavonoide(s), estilbeno(s) y combinaciones de los mismos.
15. El método según la reivindicación 14, en donde dichos lignanos se seleccionan de alo-hidroxitairesinol, (-)-hidroxitairesinol, secoisolariciresinol, conidendrina, ácido conidéndrico, todolactol, isoliovilol, lariciresinol, lignano A, matairesinol, oligolignanos, nortrachelogenina, pinoresinol y combinaciones de los mismos, y dichos estilbenos se seleccionan de pinosilvina, éter monometílico de pinosilvina y combinaciones de los mismos, y en donde uno o más de dichos compuestos es/son aislados de dicho extracto.
- 45 16. El método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho disolvente lipófilo se recupera después de dicha extracción y se recicla a una extracción lipófila posterior.
- 50 17. El método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha extracción con un disolvente lipófilo proporciona un extracto lipófilo, que incluye componentes seleccionados del grupo que consiste en ácido(s) de resina, ácido(s) graso(s), esteroles, jувabiona(s), triglicérido(s) y combinaciones de los mismos.

18. Uso de una extracción líquido-líquido lipófila para la purificación de extracto de madera nudosa hidrófilo, en donde dicho extracto de madera nudosa hidrófilo se obtiene por una extracción inicial de madera nudosa con un disolvente hidrófilo.
- 5 19. El uso de la reivindicación 18, en donde dicha purificación proporciona un extracto de madera nudosa hidrófilo que tiene menos que 25 %, preferiblemente menos que 10 % y lo más preferiblemente menos que 5 % de los sólidos secos de impurezas seleccionadas del grupo que consiste en ácidos de resina, ácidos grasos, esteroides, jувabionas, triglicéridos y combinaciones de los mismos.
- 10 20. Un extracto de madera nudosa purificado obtenible por extracción líquido-líquido, **caracterizado** por que contiene más que 90 %, preferiblemente más que 95 % y lo más preferiblemente más que 99 % de los sólidos secos de componentes seleccionados de combinaciones de lignano(s), flavonoide(s) y/o estilbeno(s), y menos que 10 %, preferiblemente menos que 5 % y lo más preferiblemente menos que 1 % de los sólidos secos de impurezas seleccionadas de ácidos de resina, ácidos grasos, esteroides, jувabionas, triglicéridos y combinaciones de los mismos.
- 15 21. El extracto de madera nudosa purificado según la reivindicación 20, que consiste esencialmente en 20-40 % de los sólidos secos de estilbenos seleccionados de pinosilvina y éter monometílico de pinosilvina, 55-75 % de los sólidos secos de lignanos seleccionados de alo-hidroxi-matairesinol, (-)-hidroxi-matairesinol, secoisolariciresinol, conidendrina, ácido conidéndrico, todolactol, isoliovilol, lariciresinol, lignano A, matairesinol, oligolignanos, nortrachelogenina y pinoresinol, y 1 a 5 % de los sólidos secos de impurezas seleccionadas de ácidos grasos C18, ácido neoabiético, ácido abiético, ácido dehidroabiético, ácido pimárico, ácido isopimárico y ácido palústrico.
- 20

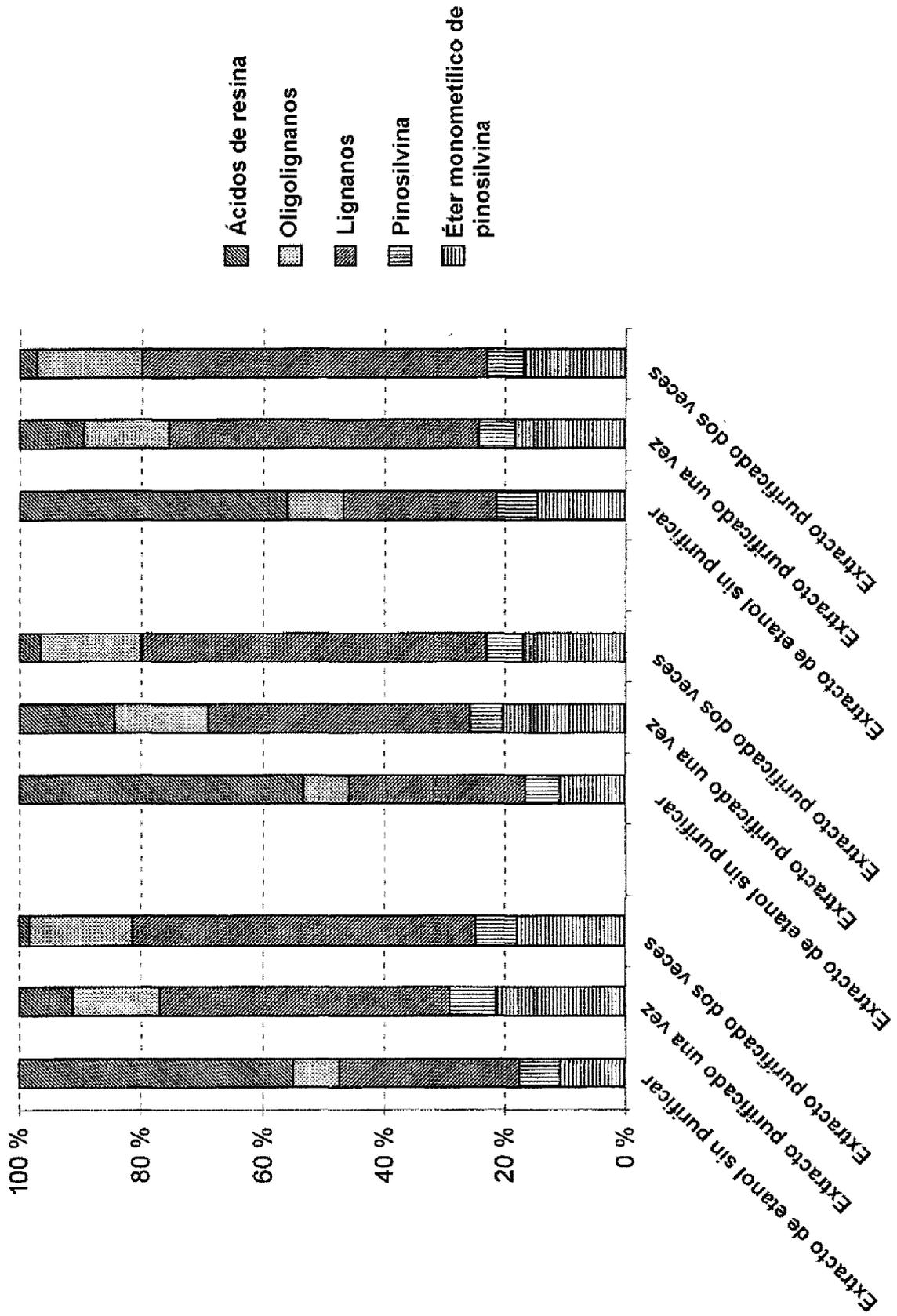


Fig. 1