



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **102884** (13) **C2**
(51) МПК (2013.01)
A61K 36/00
A61K 31/33 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки:	a 2011 10544	(72) Винахідник(и):	Дем'яненко Дмитро Вікторович (UA)
(22) Дата подання заявки:	31.08.2011	(73) Власник(и):	НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	27.08.2013		вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)
(41) Публікація відомостей про заявку:	11.03.2013, Бюл.№ 5	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	UA 18001 U, 16.10.2006. RU 2141837 C1, 27.11.1999. RU 2214261 C2, 20.10.2003. CN 101269132 A, 24.09.2008. KR 100302487 B1, 03.07.2001. WO 0162761 A1, 30.08.2001. RU 96119790 A, 20.12.1998. US 5750709 A, 12.05.1998. PL 158227 B1, 31.08.1992. US 3541105, 17.11.1970. EP 0331404 A2, 06.09.1989. CN 101791335 A, 04.08.2010. CN 101695311 A, 21.04.2010. Степневська Я.В. Фізико-хімічні методи виділення та визначення суми алкалоїдів "чистотілу великого". Автореф. дис...канд.хім.наук. Одеса, 2004, 19 с.
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	27.08.2013, Бюл.№ 16		

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ АЛКАЛОЇДІВ З РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

(57) Реферат:

Винахід належить до фармацевтичної промисловості та може бути використаний при виділенні алкалоїдів з лікарської рослинної сировини з метою створення на їх основі готових лікарських засобів. Спосіб одержання алкалоїдів з рослинної сировини передбачає видалення ліпофільних сполук з повітряно-сухої рослинної сировини за допомогою докритичного зрідженого газу із групи алканів або їх фтор- або фторхлорпохідних, переважно ізобутану або дифторхлорметану, як полярний співрозчинник для одержання первинного екстракту використовують зріджений аміак або алкіл аміни, або їх суміші з диметилловим ефіром в кількості 1-50% (мас.), переважно 10-15 % (мас.), від загальної маси екстрагента, перший ступінь очистки первинного екстракту проводять у системі рідина-рідина, однією з фаз якої є докритичний зріджений газ, а іншою - 5-10%-ний водний розчин сірчаної або хлористоводневої, або фосфатної кислоти, причому кислотна водна фаза є цільовою, фільтрацію цільової рідинної фази в сепараторі здійснюють під тиском насиченої пари докритичного зрідженого газу, другий ступінь очистки проводять у сепараторі(ах) шляхом екстракції у системі рідина-рідина з одночасною нейтралізацією кислого середовища, з використанням суміші докритичних розчинників, переважно фторзаміщених алканів з ряду C₁-C₄ або їх азеотропних сумішей, зі зрідженим аміаком, взятим у кількості, достатній для створення лужного середовища з рН не менше 9,0. Спосіб можна застосовувати для одержання алкалоїдів ізохінолінового класу, переважно протоберберинового ряду, а

UA 102884 C2

сировиною можуть бути корені та/або кора, та/або листя рослин роду *Berberis*, переважно виду *Berberis vulgaris*.

Винахід стосується фармацевтичної промисловості та може бути використаний при виділенні алкалоїдів з лікарської рослинної сировини (далі - ЛРС) з метою створення на їх основі готових лікарських засобів.

Відомий спосіб одержання екстракту беладони [1], яким передбачено використання для екстракції сировини спочатку зрідженого CO₂ в докритичних умовах з метою видалення ліпофільних сполук, а потім - одержання зі знежиреного шроту суми алкалоїдів екстракцією водно-спиртовими сумішами.

Недоліками даного методу є високий робочий тиск в апаратурі на стадії вуглекислотної екстракції та значна кількість супутніх гідрофільних речовин, які звичайно потрапляють у водно-спиртові витяги, і, як наслідок, необхідність їх подальшої багатостадійної очистки.

Відомий спосіб одержання сангвіритрину [2], який відноситься до ізохінолінових алкалоїдів. Згідно даного способу подрібнену надземну частину маклеї екстрагують етилацетатом або дихлоретаном у присутності лужного агента, потім осаджують бісульфати алкалоїдів, переводять їх водним розчином аміаку або калію карбонату в основи, які далі екстрагують етилацетатом або толуолом при температурі 50-60 °C; одержані органічні фази фільтрують, обробляють розчином сірчаної кислоти, солі, що утворилися, промивають ацетоном.

Проте відомий спосіб є досить багатостадійним, вимагає використання токсичних і легкозаймистих органічних розчинників, які потребують ретельного випарювання з кінцевого продукту. Все це є небажаним для сучасного фітохімічного виробництва.

Відомий також спосіб одержання біоактивного екстракту з *Macleaya microcarpa* [3], згідно якого висушену та подрібнену сировину екстрагують надкритичним діоксидом вуглецю (далі - НК-CO₂) при температурі 40-70 °C та тиску 250-300 атм.

Недоліком цього способу є те, що НК-CO₂ за відсутності спів розчинника екстрагує переважно гідрофобні речовини. Оскільки алкалоїди у кислому середовищі знаходяться у сольовій формі, розчинній переважно у полярних екстрагентах, то вихід даних біологічно активних речовин (далі - БАР) в умовах, зазначених вище, буде низьким. Крім того, використання даного способу у промисловому масштабі вимагає дуже дорогого обладнання, що призводить до зростання собівартості кінцевого продукту.

Відомий спосіб екстрагування суми алкалоїдів з листя та коренів *Coptis chinensis* [4], які за складом близькі до аналогічних БАР більшості видів *Berberis*. Вказаний спосіб передбачає замочування сировини у 0,01-10 % розчині сірчаної кислоти, чотириразову екстракцію при нагріванні, концентрування витягів та осаджування суми алкалоїдів натрію хлоридом і солями багатовалентних металів.

Проте, застосовуваний у способі [4] екстрагент не є селективним, особливо при підвищеній температурі, та витягає значну кількість супутніх речовин, зокрема протеїнів, полісахаридів, дубильних речовин тощо, котрі можуть осаджуватися разом із цільовими алкалоїдами, що значно ускладнює подальшу очистку останніх. Крім того, використання солей важких металів є небажаним внаслідок їх токсичності.

Відомий також спосіб екстракції та очистки берберину [5], який включає наступні стадії: екстрагування ЛРС водою при нагріванні, хроматографічне очищення витягів шляхом їх послідовного пропущення через колонки з Diaion-HP-20 і целюлозою та елюювання метанолом, наступне очищення елюатів на колонці Sephadex D-10, ліофільну сушку, кристалізацію готового продукту в метанолі при температурі +4 °C.

Даний спосіб є багатостадійним, передбачає досить дорогий і тривалий процес хроматографічної очистки, а також застосування високотоксичного розчинника - метанолу.

Відомий спосіб одержання алкалоїдів тропанової та ефедринової групи з лікарських рослин [6], який передбачає екстракцію ЛРС НК-CO₂ з додаванням від 1 до 20 % комплексного співрозчинника у вигляді метанолу, етанолу, води та їх сумішей, які містять від 2 до 18 % ді- або триетиламіну. Недоліком даного способу є високі температури (70-90 °C) та тиск (270-400 атмосфер) процесу, що помітно збільшує вартість обладнання та накладає певні технічні обмеження на місткість реакторів. Крім того, НК-CO₂ в присутності вологи здатен вступати в реакцію нейтралізації з ді- або триетиламіном, які згідно винаходу застосовуються для перетворення сольових форм алкалоїдів на основи.

Відомий також спосіб екстрагування розчинником композицій, що містять такі БАР, як пеніциліни, алкалоїди, паклітаксел, монензин або цитохалазин [7]. Згідно даного способу композиція екстрагується фторпохідними вуглеводнів (фреонами) з ряду C₁-C₄. Крім того, передбачається додавання до вказаних екстрагентів співрозчинників у вигляді C₂-C₆-алканів або діалкілового ефіру або їх сумішей.

Проте, цілком очевидно для спеціалістів фітохімічної галузі, що зазначені у способі [7] екстрагенти не здатні витягувати сольові форми алкалоїдів із сировини, де панує зазвичай

кисле середовище. Та навіть при наявності в деяких видах ЛРС певних азотовмісних сполук з ізоелектричною точкою $P_i < 7$, цільові компоненти можуть бути забруднені значною кількістю супутніх ліпофільних сполук.

Найбільш близьким за технічним рішенням є спосіб для виділення із сировини БАР [8], переважно протипухлинної дії, зокрема алкалоїдів з *Catharantus roseus* - вінкристину та вінбластину. Вказаний спосіб передбачає використання як екстрагентів при виділенні первинних екстрактів та мобільних фаз при хроматографічному очищенні напівпродуктів діоксиду вуглецю, геміоксиду азоту N_2O , пропану, етану та дифторхлорметану (фреону-22) в докритичному, критичному або надкритичному станах (далі ДК/К/НК - флюїди). Крім того, на стадіях екстракції БАР із сировини та їх подальшої очистки згідно заявленого способу застосовуються органічні розчинники: аліфатичні спирти C_1-C_4 , переважно метанол; ацетон, гексан, метиленхлорид, як у сумішах один з одним, так і з ДК/К/НК - флюїдами, виконуючи роль співрозчинника. Відповідно до заявленого способу на першій стадії технологічного процесу здійснюється видалення ліпофільних баластних речовин за допомогою неполярних ДК/К/НК - флюїдів. Далі цільові БАР разом із супутніми речовинами екстрагуються зі шроту, одержаного на попередній стадії, сумішами ДК/К/НК - флюїду з полярним(и) співрозчинником(ами). Одержані витяги після видалення вищевказаного екстрагента підлягають подальшому хроматографічному очищенню на серії послідовних колонок з використанням як елюентів сумішей ДК/К/НК - флюїду з різними видами та концентраціями співрозчинників.

Недоліками даного способу є багатостадійність процесу, необхідність використання значних кількостей співрозчинників, які треба постійно регенерувати з метою підтримання постійного складу екстрагенту або елюенту, що є технічно складною задачею, зважаючи на значні різниці температур кипіння ДК/К/НК - флюїдів та співрозчинників. Крім того, після завершальної стадії хроматографічного очищення БАР, на якій передбачено застосування метанолу, ацетону, ацетонітрилу, етилацетату, гексану, метиленхлориду або їх сумішей як елюентів, виникає необхідність ретельного видалення зазначених токсичних розчинників з кінцевого продукту.

В основу винаходу поставлено задачу розробки способу одержання алкалоїдів з рослинної сировини, переважно ізохінолінового класу, шляхом поетапної екстракції ЛРС та очистки витягів в системі рідина - рідина з використанням розчинників різної полярності, які являють собою докритичні зріджені гази або їх суміші з додаванням співрозчинників або без них в залежності від стадії технологічного процесу, при заданих параметрах здійснення способу, що дозволяє зберегти діючі речовини у незмінному вигляді, досягти їх достатнього для промислового виробництва виходу та одержувати кінцевий продукт, вільний від залишків токсичних органічних розчинників.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі одержання алкалоїдів з рослинної сировини шляхом видалення ліпофільних сполук з повітряно-сухої сировини докритичним зрідженим газом, екстракції знежиреного шроту сумішшю докритичного зрідженого газу з полярним співрозчинником, видалення суміші розчинників з одержаного екстракту, багатоступеневої очистки екстракту, фільтрації цільової рідинної фази та подальшого видалення розчинника з кінцевого продукту, винаходом передбачено, що для видалення ліпофільних сполук з повітряно-сухої рослинної сировини та екстракції знежиреного шроту використовують докритичний зріджений газ із групи алканів або їх фтор- або фторхлорпохідних, як полярний співрозчинник використовують зріджений аміак або алкіламіни або їх суміші з диметилловим ефіром у кількості 1-50 мас. %, переважно 10-15 мас. %, від загальної маси екстрагента, перший ступінь очистки екстракту проводять у системі рідина-рідина, однією з фаз якої є докритичний зріджений газ, а іншою - 5-10 %-ний водний розчин сірчаної або хлористоводневої або фосфатної кислоти, причому кислотна водна фаза є цільовою, фільтрацію якої здійснюють під тиском насиченої пари докритичного зрідженого газу, другий ступінь очистки проводять у системі рідина-рідина з одночасною нейтралізацією кислого середовища, використовуючи суміші докритичних розчинників, переважно фторзаміщених алканів з ряду C_1-C_4 або їх азеотропних сумішей, зі зрідженим аміаком, взятим у кількості, достатній для створення лужного середовища з рН не менше 9,0.

У відповідності з винаходом рослинною сировиною можуть бути корені та/або кора та/або листя рослин роду *Berberis*, переважно виду *Berberis vulgaris*, з одержанням в результаті алкалоїдів ізохінолінового класу.

Заявлений спосіб дозволяє одержувати суму алкалоїдів з достатнім для промислового виробництва виходом по відношенню до маси сировини, досягати високого вмісту БАР в кінцевому продукті та зберігати активні речовини в нативному (незмінному) стані. Крім того, спосіб дає можливість проводити процес технологічно, послідовно застосовуючи екстрагенти з

різною полярністю, уникаючи використання токсичних та легкозаймистих традиційних органічних розчинників, що позитивно впливає на якість кінцевого продукту.

Всі параметри заявленого способу визначені експериментально.

Вибір докритичних зріджених газів з групи алканів або їх фтор- або фторхлорпохідних на стадії видалення ліпофільних сполук з повітряно-сухої ЛРС обумовлений тим, що зазначені зріджені гази мають високу розчинювальну та екстрагувальну здатність щодо супутніх ліпофільних сполук, що можуть перешкоджати одержання цільових БАР, та при цьому за певних умов не здатні екстрагувати алкалоїди у сольових формах, в яких ці БАР знаходяться у нативній сировині. Найбільш придатними є ізобутан та дифторхлорметан (фреон-22) зважаючи на їх доступність, екологічну безпеку та низьку токсичність.

Вибір зрідженого аміаку або алкіламінів або їх сумішей з диметилловим ефіром як співрозчинників на стадії екстрагування алкалоїдів зі знежиреного шроту ЛРС пов'язаний з тим, що дані співрозчинники є полярними і необхідними для перетворення сольових форм алкалоїдів на основи та, що найбільш важливо, необмежено змішуються з більшістю докритичних зріджених газів, особливо з фреонами.

Вміст співрозчинників в екстрагенті менше 1 % (мас.) призводить до дуже тривалого перетворення солей алкалоїдів на основи, що супроводжується значною витратою екстрагента відносно маси сировини. При збільшенні вмісту співрозчинників понад 50 % (мас.) в первинний екстракт переходить значна кількість супутніх гідрофільних речовин, що ускладнює подальшу очистку. Найоптимальнішим є застосування екстрагента з додаванням 10-15 % (мас.) співрозчинника.

Вибір кислот з ряду сірчаної, хлористоводневої та фосфатної на першому ступені очистки первинного екстракту базується на дешевизні вказаних реактивів, а також на утворенні водорозчинних солей більшості алкалоїдів саме з цими кислотами, причому їх вибір залежить від хімічної будови певного алкалоїду, що екстрагується.

Найбільш оптимальною концентрацією водного розчину будь-якої з цих кислот 5-10 % (м/о). Зниження концентрації менше 5 % може бути недостатнім для нейтралізації залишкового аміаку або алкіламіну в первинному екстракті та створення необхідного рН середовища. Підвищення концентрації кислоти понад 10 % є економічно недоцільним і крім того, вимагає додаткових витрат аміаку на наступному ступені очистки.

Вибір сумішей зріджених газів з аміаком на другому ступені очистки викликаний тим, що вони здатні змішуватися один з одним у будь-яких співвідношеннях, мають температуру кипіння нижче 0 °С, разом випаровуються з кінцевого продукту та регенеруються у конденсаторі, здатні швидко екстрагувати з водної фази основи алкалоїдів з мінімальною кількістю супутніх речовин.

Подрібнення сухої сировини до розмірів 0,3-3,0 мм є достатнім для даного способу. Більш тонке подрібнення не є технологічним, бо спричиняє забивання фільтрів обладнання, прискорює зношення подрібнювальних механізмів та вимагає додаткових енергетичних затрат. Збільшення розмірів часток сировини понад 3,0 мм уповільнює процес екстракції, призводить до збільшення витрат екстрагенту та/або зниження виходу готової продукції. Найбільш оптимальним є подрібнення сировини до розмірів 0,5-1,4 мм.

Вологість сировини, що використовується в заявленому способі не повинна перевищувати 14 %. При збільшенні вологості понад 14 % погіршується змочуваність сировини екстрагентом на стадії видалення ліпофільних сполук. Найбільш оптимальною є вологість 5-11 %.

Сукупність ознак заявленого способу невідома з джерел інформації, що дозволяє зробити висновок про його відповідність критерію новизни.

При здійсненні заявленого способу за п. 3 одержують очищену субстанцію суми алкалоїдів протоберберинового ряду, яка являє собою кристалічний порошок, що має колір від темно-оранжевого до червоно-коричневого, є гірким на смак, помірно розчинний в етанолі, метанолі, хлороформі, ацетоні з утворенням оранжевих розчинів, малорозчинний у воді, розчинний в льодяній оцтовій кислоті, у водних та спиртових розчинах сірчаної та хлороводневої кислот з утворенням жовтих розчинів.

Ступінь витягання суми алкалоїдів згідно із заявленим способом складає 85-93 % від їх початкового вмісту у вихідній сировині, вміст суми алкалоїдів в кінцевому продукті (ступінь чистоти кінцевого продукту) - 70-95 %.

Винахід здійснюється таким чином:

Приклад 1

Заявлений спосіб здійснюється за наступних вихідних умов: вологість сировини - 11 %, ступінь подрібненості - 0,5-1,4 мм, докритичний зріджений газ, що використовується на стадії видалення ліпофільних сполук із сировини - тетрафторетан; докритичний зріджений газ на стадії одержання первинного екстракту - дифторметан (фреон-32), співрозчинником є

діетиламін у кількості 10 % від загальної маси екстрагента; очистка первинного екстракту на першому ступені здійснюється 5 % водним розчином сірчаної кислоти, на другому ступені - сумішшю дифторметану з 10 мас. % зрідженого аміаку; перемішування рідинних фаз проводиться за рахунок створення градієнтів температур та тисків у відповідних сепараторах.

5 У проточний екстрактор завантажували 100 г подрібнених коренів барбарису і заповнювали тетрафторетаном з напірної ємкості. Екстракцію ліпофільних сполук проводили при температурі 20 °С в 4 етапи по 120 хвилин кожний. В результаті було виділено 0,429 г екстракту, який містив 0,054 г суми алкалоїдів. Потім шрот настоювали зі сумішшю дифторметану з 10 мас. % діетиламіну протягом 2 годин з наступною перколяцією зазначеним екстрагентом протягом 2
10 годин. Вказані технологічні операції повторювали 3 рази. Витяги зливали у збірник, де після видалення залишків розчинника одержували 2,179 г первинного екстракту, який містив 66,9 % суми алкалоїдів. Ступінь витягу алкалоїдів становив 85 % відносно їх вмісту у сировині. Далі первинний екстракт поміщали у два сепаратори I, додавали туди по 1 л 5 % водного розчину сірчаної кислоти, герметично закупорювали, вакуумували, заповнювали зрідженим
15 дифторхлорметаном. Перемішування фаз здійснювали шляхом створення перемінного (за часом) градієнту температури в оболонках реакторів.

Після 10 циклів перемішування рідини відстоювали до повного розділення, нижню органічну фазу зливали у випарник, спостерігаючи за межею розділу через показники рівню, відганяли фреон у конденсатор; водну фазу фільтрували у 2 сепаратори II, в які потім додавали по 1 л суміші дифторметану з 10 мас. % зрідженого аміаку. Перемішування здійснювали, як і на
20 першому ступені очистки. Після відстоювання рідин нижню водну фазу передавлювали в один із сепараторів II, контролюючи межу розділу за допомогою показників рівню, фреоно-аміачний розчин основ алкалоїдів фільтрували у випарник, де в подальшому відганяли розчинник у конденсатор і виділяли очищену суміш алкалоїдів. Операцію очистки водних фаз повторювали
25 тричі у спосіб, описаний вище.

В результаті одержували 1,815 г кінцевого продукту, який містив 77,6 % суми алкалоїдів. Втрати алкалоїдів на стадіях очистки складали 3,4 %.

Приклад 2

30 При здійсненні заявленого способу вихідні умови є аналогічними прикладу 1 за наступними виключеннями: докритичний зріджений газ, що використовується на стадії видалення ліпофільних сполук із сировини - ізобутан; співрозчинником на стадії одержання первинного екстракту є зріджений аміак у кількості 50 % від загальної маси екстрагента.

У проточний екстрактор завантажували 100 г подрібнених коренів барбарису і заповнювали ізобутаном з напірної ємкості. Екстракцію ліпофільних сполук проводили при температурі 20 °С в 4 етапи по 120 хвилин кожний. В результаті було виділено 0,532 г екстракту, який зовсім не містив алкалоїдів. Потім шрот настоювали зі сумішшю дифторметану з 50 мас. % зрідженого аміаку протягом 2 годин з наступною перколяцією зазначеним екстрагентом протягом 2 годин. Вказані технологічні операції повторювали 3 рази. Витяги зливали у збірник, де після видалення залишків розчинника одержували 4,641 г первинного екстракту, який містив 34,5 % суми
40 алкалоїдів. Ступінь витягу алкалоїдів становив 93,2 % відносно їх вмісту у сировині. Далі первинний екстракт поміщали у два сепаратори I, додавали туди по 1 л 5 % водного розчину сірчаної кислоти, герметично закупорювали, вакуумували, заповнювали зрідженим дифторхлорметаном. Перемішування рідинних фаз проводили за рахунок створення градієнтів температур та тисків у відповідних сепараторах.

45 Після 10 циклів перемішування рідини відстоювали до повного розділення, нижню органічну фазу зливали у випарник, спостерігаючи за межею розділу через показники рівню, відганяли фреон у конденсатор; водну фазу фільтрували у 2 сепаратори II, в які потім додавали по 1 л суміші дифторметану з 10 % (мас.) зрідженого аміаку. Перемішування здійснювали, як і на першому ступені очистки. Після відстоювання рідин нижню водну фазу передавлювали в один із сепараторів II, контролюючи межу розділу за допомогою показників рівню, фреоно-аміачний розчин основ алкалоїдів фільтрували у випарник, де в подальшому відганяли розчинник у конденсатор і виділяли очищену суміш алкалоїдів. Операцію очистки водних фаз повторювали
50 тричі у спосіб, описаний вище.

В результаті одержували 1,983 г кінцевого продукту, який містив 70,1 % суми алкалоїдів. Втрати алкалоїдів на стадіях очистки складали 13,2 %.

Приклад 3

При здійсненні заявленого способу вихідні умови є аналогічними прикладу 2 за наступним виключенням: співрозчинником на стадії одержання первинного екстракту є зріджений аміак у кількості 12 % від загальної маси екстрагента.

У проточний екстрактор завантажували 100 г подрібнених коренів барбарису і заповнювали ізобутаном з напірної ємкості. Екстракцію ліпофільних сполук проводили при температурі 20 °С в 4 етапи по 120 хвилин кожний. В результаті було виділено 0,527 г екстракту, який зовсім не містив алкалоїдів. Потім шрот настоювали зі сумішшю дифторметану з 12 мас. % зрідженого аміаку протягом 2 годин з наступною перколяцією зазначеним екстрагентом протягом 2 годин. Вказані технологічні операції повторювали 3 рази. Витяги зливали у збірник, де після видалення залишків розчинника одержували 1,924 г первинного екстракту, який містив 82,6 % суми алкалоїдів. Ступінь витягу алкалоїдів становив 92,5 % відносно їх вмісту у сировині. Далі первинний екстракт поміщали у два сепаратори I, додавали туди по 1 л 5 % водного розчину сірчаної кислоти, герметично закупорювали, вакуумували, заповнювали зрідженим дифторхлорметаном. Перемішування рідинних фаз проводили за рахунок створення градієнтів температур та тисків у відповідних сепараторах. Після 10 циклів перемішування рідини відстоювали до повного розділення, нижню органічну фазу зливали у випарник, спостерігаючи за межею розділу через покажчики рівню, відганяли фреон у конденсатор; водну фазу фільтрували у 2 сепаратори II, в які потім додавали по 1 л суміші дифторметану з 10 мас. % зрідженого аміаку. Перемішування здійснювали, як і на першому ступені очистки. Після відстоювання рідин нижню водну фазу передавлювали в один із сепараторів II, контролюючи межу розділу за допомогою покажчиків рівню, фреоно-аміачний розчин основ алкалоїдів фільтрували у випарник, де в подальшому відганяли розчинник у конденсатор і виділяли очищену суміш алкалоїдів. Операцію очистки водних фаз повторювали тричі у спосіб, описаний вище.

В результаті одержували 1,618 г кінцевого продукту, який містив 94,8 % суми алкалоїдів. Втрати алкалоїдів на стадіях очистки складали 3,5 %.

Приклад 4

При здійсненні заявленого способу вихідні умови є аналогічними прикладу 1 за наступними виключеннями: докритичний зріджений газ, що використовується на стадії видалення ліпофільних сполук із сировини - дифторхлорметан (фреон-22); докритичний зріджений газ на стадії одержання первинного екстракту - дифторхлорметан, співрозчинником є зріджений аміак у кількості 1 % від загальної маси екстрагента.

У проточний екстрактор завантажували 100 г подрібнених коренів барбарису і заповнювали дифторхлорметаном з напірної ємкості. Екстракцію ліпофільних сполук проводили при температурі 10 °С в 4 етапи по 120 хвилин кожний. В результаті було виділено 0,422 г екстракту, який містив 0,017 г алкалоїдів. Потім шрот настоювали зі сумішшю дифторхлорметану з 1 мас. % зрідженого аміаку протягом 2 годин з наступною перколяцією зазначеним екстрагентом протягом 2 годин. Вказані технологічні операції повторювали 3 рази. Витяги зливали у збірник, де після видалення залишків розчинника одержували 1,829 г первинного екстракту, який містив 79,5 % суми алкалоїдів. Ступінь витягу алкалоїдів становив 84,7 % відносно їх вмісту у сировині. Далі первинний екстракт поміщали у два сепаратори I, додавали туди по 1 л 5 % водного розчину сірчаної кислоти, герметично закупорювали, вакуумували, заповнювали зрідженим дифторхлорметаном. Перемішування рідинних фаз проводили за рахунок створення градієнтів температур та тисків у відповідних сепараторах. Після 10 циклів перемішування рідини відстоювали до повного розділення, нижню органічну фазу зливали у випарник, спостерігаючи за межею розділу через покажчики рівню, відганяли фреон у конденсатор; водну фазу фільтрували у 2 сепаратори II, в які потім додавали по 1 л суміші дифторметану з 10 мас. % зрідженого аміаку. Перемішування здійснювали, як і на першому ступені очистки. Після відстоювання рідин нижню водну фазу передавлювали в один із сепараторів II, контролюючи межу розділу за допомогою покажчиків рівню, фреоно-аміачний розчин основ алкалоїдів фільтрували у випарник, де в подальшому відганяли розчинник у конденсатор і виділяли очищену суміш алкалоїдів. Операцію очистки водних фаз повторювали тричі у спосіб, описаний вище.

В результаті одержували 1,515 г кінцевого продукту, який містив 92,5 % суми алкалоїдів. Втрати алкалоїдів на стадіях очистки складали 3,6 %.

Приклад 5

При здійсненні заявленого способу вихідні умови є аналогічними прикладу 1 за наступними виключеннями: докритичний зріджений газ, що використовується на стадії видалення ліпофільних сполук із сировини - дифторметан (фреон-32); співрозчинником на стадії одержання первинного екстракту є зріджений аміак у кількості 1 % від загальної маси екстрагента.

У проточний екстрактор завантажували 100 г подрібнених коренів барбарису і заповнювали дифторметаном з напірної ємкості. Екстракцію ліпофільних сполук проводили при температурі

10 °C в 4 етапи по 120 хвилин кожний. В результаті було виділено 0,403 г екстракту, який містив 0,116 г алкалоїдів. Потім шрот настоювали зі сумішшю дифторметану з 1 мас. % зрідженого аміаку протягом 2 годин з наступною перколяцією зазначеним екстрагентом протягом 2 годин. Вказані технологічні операції повторювали 3 рази. Витяги зливали у збірник, де після видалення залишків розчинника одержували 1,882 г первинного екстракту, який містив 78,4 % суми алкалоїдів. Ступінь витягу алкалоїдів становив 85,9 % відносно їх вмісту у сировині. Далі первинний екстракт поміщали у два сепаратори I, додавали туди по 1 л 5 % водного розчину сірчаної кислоти, герметично закупорювали, вакуумували, заповнювали зрідженим дифторхлорметаном. Перемішування рідинних фаз проводили за рахунок створення градієнтів температур та тисків у відповідних сепараторах. Після 10 циклів перемішування рідини відстоювали до повного розділення, нижню органічну фазу зливали у випарник, спостерігаючи за межею розділу через показники рівню, відганяли фреон у конденсатор; водну фазу фільтрували у 2 сепаратори II, в які потім додавали по 1 л суміші дифторметану з 10 мас. % зрідженого аміаку. Перемішування здійснювали, як і на першому ступені очистки. Після відстоювання рідин нижню водну фазу передавлювали в один із сепараторів II, контролюючи межу розділу за допомогою показників рівню, фреоно-аміачний розчин основ алкалоїдів фільтрували у випарник, де в подальшому відганяли розчинник у конденсатор і виділяли очищену суміш алкалоїдів. Операцію очистки водних фаз повторювали тричі у спосіб, описаний вище.

В результаті одержували 1,572 г кінцевого продукту, який містив 81,4 % суми алкалоїдів. Втрати алкалоїдів на стадіях очистки складали 13,3 %.

Порівняльні дані з прикладів 1-5 наведені у таблиці.

Дані таблиці 1 свідчать про те, що спосіб за прикладами 1-5 забезпечує економічно доцільний ступінь вилучення із сировини суми алкалоїдів (85-93 %) та вміст суми алкалоїдів у кінцевому продукті (70-95 %).

Таблиця

Залежність виходу суми алкалоїдів та ступеня чистоти готового продукту від параметрів здійснення способу

Параметри способу	Приклади				
	1	2	3	4	5
Стадія видалення ліпофільних сполук із сировини:					
Докритичний зріджений газ	тетрафторетан	ізобутан	ізобутан	дифторхлорметан	дифторметан
Кількість видалених із сировини ліпофільних сполук, г	0,429	0,532	0,527	0,422	0,403
Кількість суми алкалоїдів в ліпофільному екстракті, г	0,054	0	0	0,017	0,116
Стадія одержання первинного екстракту:					
Докритичний зріджений газ	дифторметан	дифторметан	дифторметан	дифторхлорметан	дифторметан
Співрозчинник	10 % діетиламіну	50 % аміаку	12 % аміаку	1 % аміаку	1 % аміаку
Вихід первинного екстракту, г	2,179	4,641	1,924	1,829	1,882
Вміст суми алкалоїдів в первинному екстракті, %	66,9	34,5	82,6	79,5	78,4
Ступінь витягу алкалоїдів із сировини, %	84,87	93,21	92,52	84,65	85,90
Вміст суми алкалоїдів в кінцевому продукті, %	77,6	70,1	94,8	92,5	81,4

Спосіб за прикладом 1, де передбачено застосування тетрафторетану для видалення ліпофільних сполук із сировини та 10 % розчину діетиламіну в дифторметані як екстрагента цільових БАР, дає в результаті мінімальну заявлену ступінь витягу алкалоїдів із ЛРС (близько 85 %) та порівняно невисокий вміст алкалоїдів у кінцевому продукті (77,6 %), що можна пояснити частковою втратою даних БАР як на стадії видалення ліпофільних сполук із сировини, так і при очистці за граничних умов температурного режиму.

Спосіб за прикладом 2, в якому екстрагент містить максимальну заявлену кількість співрозчинника, дає найбільший ступінь витягання суми алкалоїдів (93,2 %), однак в кінцевому продукті вміст зазначених БАР знаходиться на мінімальній заявленій межі (70,1 %), що

пояснюється присутністю супутніх гідрофільних речовин, які є також добре розчинними у зріджених газах,

Реалізація способу за прикладами 4 і 5, в яких екстрагент містить мінімальну заявлену кількість співрозчинника, супроводжується зниженням ступеню витягання суми алкалоїдів із ЛРС до 85 %, причому у прикладі 5 спостерігаються більші втрати (до 13,3 %) вказаних БАР внаслідок мінімальних параметрів температурного режиму на стадії очистки первинного екстракту.

Як видно з таблиці, найдоцільнішим є реалізація способу за прикладом 3, що забезпечує ступінь витягу цільових БАР 92,5 % від їх початкового вмісту у сировині та чистоту кінцевого продукту близько 95 %.

Інші параметри винаходу не пов'язані безпосередньо з виходом діючих речовин із рослин, що містять алкалоїди, але у випадку їх недотримання вихід готового продукту може помітно знизитися внаслідок погіршення умов фільтрації, втрати екстрагенту, діючих компонентів, тощо.

Запропонований спосіб дозволяє одержувати алкалоїди з різних видів ЛРС, зокрема з коренів барбарису. Спосіб є технологічним, рентабельним, екологічно безпечним, реалізується на стандартному обладнанні, забезпечує належний рівень мікробіологічної чистоти готового продукту.

Джерела інформації

1. Пат. України № 18001, МПК (2006) А61К 36/00, А23L 1/22. Спосіб одержання екстракту красавки (беладони) / В.Ю. Барштейн, С.В. Черняев, А.В. Таран (UA); В.Ю. Барштейн (UA). - Заявл. 06.05.2006; Опубл. 16.10.2006, Бюл. № 10. - 2 с.

2. Пат. Росії № 2141837, МПК 6 А61К 35/78, А61К 31/435. Способ получения сангвиритрина / А.А. Савина, О.Н. Толкачев, В.И. Глызин и др. (Россия); Научно-производственное объединение "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений" (Россия). - Заявл. 19.05.1997; Опубл. 27.11.1999.

3. Пат. Росії № 2214261, МПК 7 А61К 35/78, А61Р 21/00. Биоактивный экстракт из *Macleaya microcarpa* и способ его получения / К.М. Аверин, А.Р. Водяник, А.Г. Лепешков (Россия); Общество с ограниченной ответственностью Научно-исследовательский центр экологических ресурсов "Горо" (Россия). - Заявл. 09.11.2001; Опубл. 20.10.2003.

4. Pat. CN 101269132, IPC А61К36/718; А61Р31/04; А61Р31/10; C07D455/03. *Coptis chinensis* total alkaloid extracting technique / Xiaoli Ye, Xuegang Li, Lujiang Yuan (CN); Univ Southwest (CN). - N CN20081069671; appl. 14.05.2008; publ. 24.09.2008.

5. Pat. KR 100302487, IPC C07D491/14. Extraction and purification method of berberine / Ham Seung Si, Oh Deok Hwan, Yoo Jae Hong, Yoo Jin Yeong (KR); Ham Seung Si, Oh Deok Hwan, Yoo Jae Hong (KR). - N KR19980043012; appl. 14.10.1998; publ. 03.07.2001.

6. Pat. WO 0162761 (AI), IPC 7 C07D491/22. Method of preparing alkaloids using supercritical fluids from plants / Kim Jin Woong, Choi Young Hae, Yoo Ki Pung, Noh Min Jeong, Han Joo Hee (KR); Hanwha Chemical Corp(KR). - Appl. 25.02.2000; Publ. 30.08.2001.-17 p.

7. Заявка № 96119790 Росії, МПК 6 В01Д 11/02. Способ экстракции растворителем / Р.Л. Пауэлл, Т.Д. Нзоукс, П.Ф. Вильде (GB); Империял Кемикал Индастриз Плс (GB). - Заявл. 30.09.1996; Опубл. 20.12.1998.

8. Pat. US 5750709, IPC 6 А61К 31/337; А61К 36/00; А61К 36/18; А61Р 35/00; В01Д 11/00; В01Д 15/08; C07D 305/14; IPC1-7: C07D 207/06; C07D 211/70; C07D 409/00. Method and apparatus for isolating therapeutic compositions from source materials / Castor Trevor P. (US); Aphios Corp (US). - Appl. 31.01.1995; Publ. 12.05.1998. - 24 p.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб одержання алкалоїдів з рослинної сировини шляхом видалення ліпофільних сполук з повітряно-сухої сировини докритичним зрідженим газом, екстракції знежиреного шроту сумішшю докритичного зрідженого газу з полярним співрозчинником, видалення суміші розчинників з одержаного екстракту, багатоступеневої очистки екстракту, фільтрації цільової рідинної фази та подальшого видалення розчинника з кінцевого продукту, який **відрізняється** тим, що для видалення ліпофільних сполук з повітряно-сухої рослинної сировини та екстракції знежиреного шроту використовують докритичний зріджений газ із групи алканів або їх фтор- або фторхлорпохідних, як полярний співрозчинник використовують зріджений аміак або алкіл аміни, або їх суміші з диметилловим ефіром у кількості 1-50 мас. %, переважно 10-15 мас. %, від загальної маси екстрагента, перший ступінь очистки екстракту проводять у системі рідина-рідина, однією з фаз якої є докритичний зріджений газ, а іншою - 5-10%-ний водний розчин сірчаної або хлористоводневої, або фосфатної кислоти, причому кислотна водна фаза є

- цільовою, фільтрацію якої здійснюють під тиском насиченої пари докритичного зрідженого газу, другий ступінь очистки проводять у системі рідина-рідина з одночасною нейтралізацією кислого середовища, використовуючи суміші докритичних розчинників, переважно фторзаміщених алканів з ряду C_1 - C_4 або їх азеотропних сумішей, зі зрідженим аміаком, взятим у кількості, достатній для створення лужного середовища з рН не менше 9,0.
- 5 2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як рослинну сировину використовують корені та/або кору, та/або листя рослин роду *Berberis*, переважно виду *Berberis vulgaris*, з одержанням алкалоїдів ізохінолінового класу.

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601