



УКРАЇНА

(19) UA (11) 81085 (13) C2

(51) МПК (2006)  
C07D 519/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

## (54) СПОСІБ ВИДІЛЕННЯ АЛКАЛОЇДІВ РІЖКІВ З РІЖКІВ (ВАРІАНТИ)

1

(21) а200610038

(22) 17.02.2005

(24) 26.11.2007

(86) PCT/US2005/005059, 17.02.2005

(31) 60/546,561

(32) 20.02.2004

(33) US

(72) ЦВАК ЛАДІСЛАВ, ГОЛАН ІРЖІ, РОДЕР  
ЛЮБОМІР

(73) ІВАКС ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ С.Р.О.

(56) SU 110750, A1, 01.01.1957

EP 0 022 418, A, 14.01.1981

GB 1 299 557, A, 13.12.1972

GB 809 912, A, 04.03.1959

(57) 1. Спосіб виділення алкалоїду ріжків з ріжків, який включає екстракцію ріжків за допомогою суміші, що містить толуол і етанол, з одержанням первинного екстракту.

2. Спосіб за п. 1, де суміш містить толуол і близько 5-30 % (об./об.) етанолу.

3. Спосіб за п. 2, де суміш містить толуол і близько 10-20 % (об./об.) етанолу.

4. Спосіб за п. 2, де екстракцію здійснюють при температурі близько 20-50° С.

5. Спосіб за п. 4, де екстракцію здійснюють при температурі навколишнього середовища.

6. Спосіб за п. 2, де екстракцію здійснюють протитечійним способом на батареї перколяторів або на екстракторі безперервної дії.

7. Спосіб за п. 2, який додатково включає екстракцію первинного екстракту водним розчином кислоти для перенесення алкалоїду ріжків з первинного екстракту у водний екстракт.

8. Спосіб за п. 7, де водний розчин кислоти являє собою водний розчин хлористоводневої кислоти.

9. Спосіб за п. 8, де водний розчин хлористоводневої кислоти містить близько 30-60 % (об./об.) води, близько 70-40 % (об./об.) етанолу і близько 0,05-1,0 % (мас./мас.) HCl.

10. Спосіб за п. 9, де водний розчин хлористоводневої кислоти містить близько 40-50 % (об./об.) води, близько 60-50 % (об./об.) етанолу і близько 0,1-0,3 % (мас./мас.) HCl.

11. Спосіб за п. 8, який додатково включає збільшення рН водного екстракту до величини більше 7,0.

2

12. Спосіб за п. 11, де збільшення здійснюють додаванням водного розчину гідроксиду натрію (мас./мас.).

13. Спосіб за п. 12, де збільшення здійснюють додаванням 5 % водного розчину гідроксиду натрію (мас./мас.).

14. Спосіб за п. 11, який додатково включає екстракцію водного екстракту з рН понад 7,0 толуолом для перенесення алкалоїду ріжків з водного розчину і одержання очищеного толуольного екстракту.

15. Спосіб за п. 14, який додатково включає часткове випарювання розчинника з очищеного толуольного екстракту для одержання кристалічного алкалоїду ріжків.

16. Спосіб за п. 15, який додатково включає відділення кристалічного алкалоїду ріжків від залишкового толуолу.

17. Спосіб за п. 15, який додатково включає додавання одного або більше аліфатичних C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>-вуглеводнів до концентрату після часткового випарювання толуолу, що сприяє кристалізації алкалоїду ріжків.18. Спосіб за п. 17, де один або більше аліфатичних C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>-вуглеводнів вибирають з гексану і гептану.19. Спосіб за п. 18, де один або більше аліфатичних C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>-вуглеводнів являють собою гексан.

20. Спосіб за п. 17, який додатково включає відділення кристалічного алкалоїду ріжків від суміші толуол/аліфатичний вуглеводень.

21. Спосіб за п. 20, який включає виділення кристалічного алкалоїду ріжків з чистотою понад 90 %.

22. Спосіб виділення алкалоїду ріжків з ріжків, який включає:

а) екстракцію ріжків сумішшю, яка містить толуол і етанол, з одержанням первинного екстракту, де суміш включає толуол і близько 5-30 % (об./об.) етанолу;

б) екстракцію первинного екстракту водним розчином кислоти для перенесення алкалоїду ріжків з первинного екстракту у водний екстракт;

с) збільшення рН водного екстракту до величини більше 7,0;

д) екстракцію водного екстракту з рН понад 7,0 толуолом для перенесення алкалоїду ріжків з

(13) C2

(11) 81085

(19) UA

водного розчину і одержання очищеного толуольного екстракту;

е) часткове випарювання розчинника з очищеного толуольного екстракту з метою одержання кристалічного алкалоїду ріжків, і

ф) відділення алкалоїду ріжків від залишкового толуолу.

23. Спосіб виділення алкалоїду ріжків з ріжків, який включає:

а) екстракцію ріжків сумішшю, яка містить толуол і етанол, з одержанням первинного екстракту, де суміш включає толуол і близько 5-30 % (об./об.) етанолу;

б) екстракцію первинного екстракту водним розчином кислоти для перенесення алкалоїду ріжків з первинного екстракту у водний екстракт;

с) збільшення рН водного екстракту до величини більше 7,0;

д) екстракцію водного екстракту з рН більше 7,0 толуолом для перенесення алкалоїду ріжків з водного розчину і одержання очищеного толуольного екстракту;

е) часткове випарювання розчинника з очищеного толуольного екстракту з метою одержання кристалічного алкалоїду ріжків;

ф) додавання одного або більше аліфатичних C<sub>5</sub>-C<sub>8</sub>-вуглеводнів до концентрату після часткового випарювання толуолу, що сприяє кристалізації алкалоїду ріжків, і

г) виділення кристалічного алкалоїду ріжків з суміші толуол/аліфатичний вуглеводень.

Пептидні алкалоїди ріжків, що називаються також ергопептини, є природними продуктами, що використовуються для одержання лікарських засобів. Відомо, що ергопептини мають лікувальну дію самі по собі (наприклад ерготамін) або в гідратованій формі, такий як дигідропохідні, наприклад, дигідроерготамін, дигідроергокрисин і ін. Крім того, вказані ергопептини відомі як вихідні сполуки для часткового синтезу деяких напівсинтетичних лікарських засобів, такі як асніцерголін, перголід і т.д.

Алкалоїди ріжків пептидного типу виробляються грибом *Claviceps purpurea*, який можна вирощувати в паразитарних умовах (вирощування на полях з використанням жита як рослини-хазяїна) або в сапрофітних умовах (тобто, ферментації). Хоча способи, що використовуються для виділення ергопептинів з польових ріжків і ферментативного бульйону, мають загальні характерні особливості (тобто, схожі розчинники і способи очищення), ці способи істотно розрізняються за природою вихідного матеріалу.

Деякі способи екстракції ріжків були описані раніше. Окремі способи, в основному, використовували для виділення алкалоїдів ріжків в промислових масштабах, розрізняються використовуваними розчинниками. Наприклад, в цих відомих способах використовували водний етанол або метанол [див. DP 47315 і DP 697760], в більш недавніх способах використовували хлоровані вуглеводні [див. DE 2113281, DE 2637764 і DD 10059], діетиловий ефір [див., CS 264880 і CS 264881], ацетон (див., DE 1695986), метилізобутилкетон [див., BE 891421] або етилацетат [див., DE 2949593 і EP 22418]. Деякі з вказаних розчинників, однак, в цей час не прийнятні для великомасштабного способу з міркувань безпеки і екології (наприклад, діетиловий ефір і хлоровані вуглеводні). Крім того, деякі з цих розчинників недостатньо селективні для одержання алкалоїдів ріжків з чистотою, придатною для практичної реалізації виробництва, наприклад, водний метанол, водний етанол і ацетон.

Ріжки також містять до 30% олії і інших ліпідів. Попередні способи, в яких використовувалися розчинники, які екстрагують інші компоненти ріжків, в основному олію, обов'язково вимагали операції по відділенню алкалоїдів від супутніх ліпідів. Однак, не всі відомі розчинники придатні для безпосереднього видалення ліпідів шляхом рідинно-рідинної екстракції, і тому процедури виділення, що включають концентрацію первинних екстрактів шляхом упарювання і розчинення залишку в іншому розчиннику, додатково ускладнювали спосіб. До того ж, упарювання первинного екстракту, що містить олію і інші баластні компоненти, небезпечно для екстрагованих алкалоїдів.

Природні ергопептини є похідними лізергінової кислоти і легко ізомеризуються до похідних ізолізергінової кислоти, так званих, ергопептинінів. Ця обставина звичайно ускладнює виділення ергопептинів, оскільки первинні екстракти, одержані з ріжків, завжди містять суміші ергопептинів і ергопептинінів, що ускладнює одержання кристалічного продукту, таким чином, виключаючи прийоми кристалізації, які в інших випадках є ефективними способами очищення. Таким чином, залишається потреба в способах великомасштабного виділення алкалоїдів ріжків, заснованих на застосуванні безпечних і нешкідливих для навколишнього середовища розчинників і простих і ефективних операцій очищення (наприклад кристалізації).

Даний винахід стосується нового способу екстракції алкалоїдів ріжків з ріжків.

Представлений спосіб також являє собою новий спосіб очищення екстракту ріжків, що приводить до одержання алкалоїдів ріжків з високим виходом і якістю.

Ці і інші переваги, які стануть очевидними з наступного докладного опису, були досягнуті завдяки зробленому заявниками відкриттю, що ріжки можуть бути екстраговані з високим виходом сумішшю толуолу і етанолу. Додаткові переваги включають, але не обмежуються перерахованим, можливість очищення екстракту ріжків із застосуванням порівняно безпечних розчинників і цей порівняно простий спосіб згідно з даним

винаходом може бути доведений до промислового масштабу.

Даний винахід стосується виділення алкалоїдів ріжків з ріжків, тобто, *Claviceps purpurea*, шляхом простого, ефективного способу екстракції із застосуванням порівняно безпечних і прийнятних для навколишнього середовища розчинників. За одним з варіантів здійснення даного винаходу, ріжки екстрагують сумішшю толуол/етанол, одержуючи первинний екстракт. Цей первинний екстракт може бути додатково підданий рідинно-рідинним екстракціям для подальшого розділення і очищення алкалоїдів ріжків, одержаних в первинному екстракті.

Переважає, щоб екстракційна суміш толуол/етанол містила близько 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 до 30% етанолу (об./об.). Якщо концентрація етанолу нижче 5%, то екстракція алкалоїдів ріжків з ріжків не так ефективна. Верхня межа кількості етанолу, що використовується, заснована на заданій селективності екстракції. Наприклад, чим більше присутній етанол, тим більше полярних баластних компонентів екстрагується, і тим більше ускладнена подальша обробка первинного екстракту. Більш переважно, щоб в екстракційній суміші було присутньо 10-20% етанолу (об./об.).

Температура процесу екстракції переважно не обмежена, оскільки звичайно небажана ізомеризація ергопептинів, яка може виникати при високій температурі, не заважає кристалізації необхідного продукту. Проте, температура вище приблизно 50°C не доцільна. У переважному варіанті здійснення, ріжки екстрагують сумішшю толуол/етанол в межах температур приблизно від 20, 25, 30, 35, 40, 45 до 50°C, при цьому температура навколишнього середовища є переважною.

За іншим варіантом здійснення, первинний екстракт піддають рідинно-рідинній екстракції, використовуючи водний розчин кислоти. Така рідинно-рідинна екстракція первинного екстракту дозволяє відділяти загалом більш полярні і гідрофільні алкалоїди від менш полярних гідрофобних олій і ліпідів. Таким чином, рідинно-рідинна екстракція первинного екстракту водним розчином, що містить кислоту, приводить до перенесення алкалоїдів ріжків у водний розчин, залишаючи при цьому олію в первинному екстракті. Одержаний при цьому водний екстракт, що містить алкалоїди, може бути потім легко відділений від первинного екстракту і надалі полегшує виділення і очищення алкалоїдів. Будь-яка кислота може бути використана з водним розчином. Хлористоводнева кислота переважна внаслідок високої розчинності гідрохлоридів ергопептинів у водних розчинах хлористоводневої кислоти.

За ще одним варіантом здійснення, до водного розчину може бути доданий спирт для запобігання або зниження утворення емульсії. Встановлено, що в певних умовах водний розчин може утворювати емульсію, яка знижує можливість виділення алкалоїдів. Таким чином, інгібуюче утворення емульсії кількість спирту або подібним

чином діючого розчинника може бути додана до водного розчину для поліпшення результатів. Наприклад, етанол може бути доданий до водного розчину, що містить хлористоводневу кислоту, що використовується для екстракції алкалоїдів з первинного екстракту. Концентрація кислоти у водному розчині не має вирішального значення, але переважно розчин містить щонайменше один еквівалент кислоти, для кількісної екстракції алкалоїдів з первинного екстракту. Наприклад, водний розчин кислоти переважно містить приблизно від 30% до 60% (об./об.) води, приблизно від 70 до 40% (об./об.) етанолу і приблизно від 0,05 до 1,0% (мас./мас.) кислоти. Водний розчин кислоти, більш переважно, містить приблизно 40-50% (об./об.) води, приблизно 60-50% (об./об.) етанолу і приблизно 0,1-0,3% (мас./мас.) кислоти. Ще більш переважно, водний розчин кислоти містить близько 50% (об./об.) води, близько 50% (об./об.) етанолу і близько 0,2% (мас./мас.) кислоти, або близько 40% (об./об.) води, близько 60% (об./об.) етанолу і близько 0,2% (мас./мас.) кислоти.

За іншим варіантом здійснення, одержаний водний екстракт підлугують (наприклад pH>7,0), що сприяє переходу алкалоїду в органічний розчинник під час іншої рідинно-рідинної екстракції. Це може бути виконано за допомогою будь-якого водного розчину лугу, як, наприклад, за допомогою водного розчину гідроксиду натрію, більш переважно 5% водного гідроксиду натрію (мас./мас.).

Згідно з іншим варіантом здійснення, водний екстракт, після збільшення лужності понад 7,0, піддають рідинно-рідинній екстракції толуолом. Толуольний екстракт, одержаний на цій стадії рідинно-рідинної екстракції, містить фактично тільки алкалоїди ріжків, і тому може бути названий очищеним толуольним екстрактом.

Згідно з іншим варіантом здійснення, очищений толуольний екстракт частково упарюють. Передбачається, що таке часткове упарювання спричиняє утворення кристалічного продукту. Встановлено, що деякі алкалоїди, а саме, ерготамін і ергокрисин, можуть бути одержані у вигляді кристалічних продуктів просто шляхом упарювання толуольного екстракту. Той факт, що органічний розчинник може містити суміш ергопептину і ергопептиніну не впливає негативним чином на кристалізацію цих продуктів, оскільки утворюється кристалічна суміш відповідного ергопептину і ергопептиніну, наприклад, суміш ерготаміну і ерготамініну або суміш ергокрисину і ергокрисиніну. Не вдаючись в теорію, вважається, що способи екстракції і очищення згідно з даним винаходом приводять до виділення алкалоїдів ріжків, по суті, в чистій формі і без інгібуючих кристалізацію домішок. Таким чином, навіть коли існує суміш алкалоїдів, що екстрагуються, кристалічний продукт може бути одержаний після часткового випарювання розчинника. Крім того, можливі перетворення алкалоїдів ріжків, такі як ізомеризація алкалоїдів ріжків, яка може бути викликана високою температурою, мабуть, не впливають на виділення і кристалізацію продуктів, одержаних після

випарювання розчинника. Отже, екстракція при високих температурах не впливає негативно на даний спосіб. Кристалізація алкалоїдів з толуолу несподівано дала продукти високої чистоти, як наочно показано на прикладах 1 і 2 шляхом порівняння алкалоїдів першого і другого зборів.

Встановлено, що при деяких умовах толуольний екстракт може містити суміш алкалоїдів, наприклад суміш алкалоїдів ерготоксину, що обмежує здатність вказаних алкалоїдів до кристалізації. Алкалоїдний склад толуольного екстракту відповідає спектру алкалоїдів, виникаючих при використанні штаму ріжків. Коли така суміш алкалоїдів ерготоксину присутня в толуольному екстракті, безпосередньо з толуолу може бути одержана незначна кількість кристалічного продукту або він не може бути одержаний зовсім. Згідно з іншим варіантом здійснення даного винаходу, це обмеження долають, додаючи до розчину один або більше аліфатичних вуглеводнів, наприклад,  $C_5$ - $C_8$ -вуглеводень, такий як гексан або гептан. Гексан є більш переважним вуглеводнем. Такий прийом кристалізації не впливає на алкалоїдний склад, але може все ж приводити до кристалічного продукту, вільного від баластних компонентів і зручного для подальшого застосування, як показано в прикладі 3.

Інші характерні особливості винаходу стануть очевидними з подальших описів характерних варіантів здійснення, наведених з метою ілюстрації винаходу і прикладів, що не розглядаються як обмежувачі винахід.

#### Приклад 1

Близько 20,000кг ріжків (штам ергокрістину GAL 130) екстрагують в умовах протитоку за допомогою суміші толуолу і етанолу 87:13(об./об.) на екстракторі безперервної дії карусельного типу. Одержують близько 64м<sup>3</sup> первинного екстракту. Потім первинний екстракт екстрагують на екстракторі безперервної дії Westfalia за допомогою суміші етанолу і води 1:1(об./об.), що містить 0,2% (мас./мас.) хлориду водню. Утворюється близько 28м<sup>3</sup> водного екстракту. Водний екстракт підлюговують приблизно до pH7,3 за допомогою 5% (мас./мас.) водного розчину гідроксиду натрію і екстрагують толуолом на екстракторі безперервної дії Westfalia. Одержують близько 16м<sup>3</sup> толуольного екстракту. Толуольний екстракт упарюють приблизно до 1000кг, і кристалічний продукт, що утворюється, відділяють фільтруванням, промивають толуолом і сушать протягом 3 годин на вакуумній сушарці при 60°C і 50мбар, одержуючи 152кг першого збору сирого ергокрістину. Маточні рідини упарюють приблизно до 400кг і додають 1500л технічного гексану. Осаджений кристалічний продукт відділяють фільтруванням, промивають технічним гексаном і сушать, одержуючи 89кг другого збору сирого ергокрістину.

Аналітичні результати:

П
е
р

Ш	и	й	з	б	і	р
А	н	а	л	і	з	9
т	3	и	т	1	р	%
у	в	а	н	н	я	м
Е	р	г	с	3	к	0
р	и	9	с	%	т	и
Е	р	г	с	5	р	9
и	и	с	3	%	и	н
и	и	и	и	и	и	и
а	-	е	р	г	2	с
к	4	р	%	и	п	т
и	и	и	и	и	и	и
с	3	-	и	9		

р%	
г	
с	
к	
р	
и	
п	
т	
и	
н	
і	
н	
с	
у	
м	
а	
і	
н	
ц	
и	2
х	,6
	а%
л	
к	
а	
л	
с	
ї	
д	
і	
в	

## Приклад 2

Близько 20,000кг ріжків (штам ерготаміну GAL 404) екстрагують в умовах протитоку за допомогою суміші толуолу і етанолу 84:16(об./об.) на екстракторі безперервної дії карусельного типу, і одержують 78м<sup>3</sup> первинного екстракту. Первинний екстракт екстрагують на екстракторі безперервної дії Westfalia за допомогою суміші етанолу і води 6:4(об./об.), що містить 0,2% (мас./мас.) хлориду водню, і одержують 18м<sup>3</sup> водного екстракту. Водний екстракт підлугуюють, підвищуючи рН до 7,3 шляхом додавання 5% (мас./мас.) водного гідроксиду натрію. Потім екстрагують толуолом на екстракторі безперервної дії Westfalia. Одержують 30м<sup>3</sup> толуольного екстракту. Толуольний екстракт упарюють приблизно до 1000кг, і кристалічний продукт, що утворюється, відділяють фільтруванням, промивають толуолом і сушать протягом 3 годин на вакуумній сушарці при 60°C і 50мбар, одержуючи близько 181кг першого збору сирого ерготаміну. Маточні рідини упарюють приблизно до 100кг, і кристалічний продукт відділяють фільтруванням, промивають толуолом і сушать, одержуючи 19кг другого збору сирого ерготаміну. Аналітичні результати:

П	
е	
р	
ш	
и	

А		
н		
а		
л		
і		
з		
т	9	
и	5	
т	,0	
р	%	
у		
в		
а		
н		
н		
я		
м		
Е		
р		
р	3	
г	0	
с	,9	
т	%	
а		
н		
і		
н		
Е		
р		
г		
с	5	
т	9	
а	,3	
н	%	
і		
н		
С		
у		
м		
а		
і		
н		
ц		
и	3	
х	,6	
	а%	
л		
к		
а		
л		
с		
ї		
д		
і		
в		

## Приклад 3

Близько 20,000кг ріжків (штам ерготоксину GAL 310) екстрагують в умовах протитоку за допомогою суміші толуолу і етанолу 87:13(об./об.) на екстракторі безперервної дії карусельного типу. Одержують близько 69м<sup>3</sup> первинного екстракту. Первинний екстракт екстрагують на екстракторі безперервної дії Westfalia за допомогою суміші етанолу і води 1:1(об./об.), що містить 0,2% (мас./мас.) хлориду водню, одержуючи 27м<sup>3</sup> водного екстракту. Водний екстракт підлугуюють, підвищуючи рН водного екстракту приблизно до 7,3 за допомогою 5% (мас./мас.) водного гідроксиду натрію. Потім екстрагують толуолом на екстракторі безперервної дії Westfalia, одержуючи близько 17м<sup>3</sup> толуольного екстракту. Толуольний екстракт упарюють приблизно до 800кг і додають 1800л технічного гексану. Осаджений кристалічний продукт відділяють фільтруванням, промивають технічним гексаном і сушать протягом 3 годин на вакуумній сушарці при 60°C і 50мбар, одержуючи 151кг сирого ерготоксину. Аналітичні результати:

Аналіз титруванням	94,4%
Ергокорнін	18,1%
Ергокорнінін	29,2%
α-ергокриптин	11,7%
α-ергокриптинін	18,5%
α-ергокриптин	6,3%
α-ергокриптинін	11,6%
Сума інших алкалоїдів	4,6%

У даному описі наведені тільки переважні варіанти здійснення винаходу і лише декілька прикладів, що відображають можливе різноманіття. Очевидно, що винахід застосовний для різних інших комбінацій і умов, і допустимі зміни або модифікації в рамках об'єму поняття винаходу наведені нижче.