



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

219418
(11) (B1)

(51) Int. Cl.³
C 07 G 5/00
C 07 D 457/00

(22) Přihlášeno 23 02 79
(21) (PV 1229-79)

(40) Zveřejněno

(45) Vydáno 15 08 85

(75)

Autor vynálezu

STUHLÍK JOSEF ing., HRABYNĚ, KRAJÍČEK ALOIS PhMr., SPÁČIL JIŘÍ
PhMr., OPAVA

(54) Způsob izolace ergokryptinů s žádaným poměrem α a β složky

1

2

Způsob izolace ergokryptinů s žádaným poměrem α a β složky 1 : 1 až 2,5 : 1 vyznačený tím, že se surová směs alkaloidů po přečištění krystalizací a úpravě poměru ergotoxinových složek na žádaný poměr, obvykle ergokornin : ergokryptin : ergokristin 1 : 1 : 1, chromatografuje na sloupci sílikagelu za použití eluční směsi chlorovaných uhlovodíků methanu nebo ethanu v poměru 1 : 2 až 2 : 1 s benzenem nebo diethyletherem, nebo se zpracuje na čistou směs α a β ergokryptinů, která se krystaluje z methanolu nebo ethanolu, ethylacetátu, dioxanu, benzenu, směsi methanol nebo ethanol — voda 8 : 2, nejvýhodněji ze směsi ethylacetát, methanol, voda 10 : 1 : 2, případně se čistá směs α a β ergokryptinů po hydrogenaci vazby 9,10-kyseliny lysergové, krystaluje z dioxanu, nebo ethylacetátu, butylacetátu nebo vodného alifatického alkoholu C_1 až C_3 (8 : 2).

Vynález se týká způsobu přípravy α a β ergokryptinu v žádaném poměru, izolaci ze surové směsi alkaloidů ergotoxinové skupiny ergokristinu, ergokorninu, α a β ergokryptinu a jejich směsí, provázených omezeným množstvím alkaloidů skupiny ergotaminu (ergotamin, α a β ergosin) ve formě levo i pravotočivých enantiomerů a další skupinou peptidických alkaloidů necyklolové struktury [např. N-[N-(d-Lysergyl)-L-valyl]-L-fenyl-alanyl-D-prolin laktam, N-[N-(d-Lysergyl)-L-valyl]-L-leucyl-D-prolin laktam a N-[N-(d-Lysergyl)-L-valyl]-L-valyl-D-prolin laktam], jejich štěpných produktů a balastních látek.

Postup izolace alkaloidů dále popisovaný umožňuje nastavení žádaného poměru jednotlivých ergotoxinových alkaloidů poměru α a β ergokryptinu, spolehlivě odděluje ostatní doprovodné alkaloidy a řeší odstranění laktamových alkaloidů.

V poslední době je do terapie prosazován dihydroergotoxin a jeho soli v přesně definovaném složení, prakticky odpovídajícím zastoupení dihydroergokristinu, dihydroergokorninu a dihydroergokryptinu 33,3 % hmot. ± 10 %, s tím, že optimálních farmakologických účinků je dosaženo u substance a z ní připravovaných lékových forem, v jejímž dihydroergokryptinovém podílu jsou α -dihydroergokryptin a β -dihydroergokryptin zastoupeny v poměru 1,5 : 1 až 2,5 : 1.

První zmínka o alkaloidu s velmi blízkými vlastnostmi ergokryptinu s pracovním označením EK 115 byla publikována Beranem a Semonským Čs. farmacie 11. (1962). V roce 1968 Schlientz a spol. Pharm. Acta Helvetiae 43,497 (1968) popsali izolaci, fyzikální, chemické i farmakologické vlastnosti β -ergokryptinu. Surová směs alkaloidů získána extrakcí švýcarského námele, po oddělení hlavní části ergokorninu obsahující převahu ergokryptinu byla převedena na adiční sůl s kyselinou di-p-toluyl-D-vinnou a opakovaně krystalována z vodného methanolu. V matečných louskách zkoncentrovaný β -ergokryptin po přečištění chromatografií na sloupci silikagelu byl překrystalován z benzenu. Frakční krystalizace směsi provedená popsáním způsobem je náročná surovinově (nutná příprava opticky aktivní substituované kyseliny vinné) i pracnosti a je spíše použitelná pro laboratorní účely než průmyslovou výrobu.

Parciální syntézou byl β -ergokryptin získán Stadlerem a spol., Helv. chem. Acta 52, 1563 (1969). Z reakční směsi byl získán přímou krystalizací z methanolu. Další podíl z matečných lousků byl izolován po chromatografii na sloupci kysličníku hlinitého a krystalizací ze směsi methylenchlorid — methanol.

Fyzikální i chemické vlastnosti β -ergokryptinu jsou velmi blízké vlastnostem ostatních ergotoxinových alkaloidů a zejména sa-

motnému α -ergokryptinu. Je známo, že při dosud používané technologii čištění ergotoxinových alkaloidů přesto dochází k částečnému oddělování β -ergokryptinu spolu s doprovodnými alkaloidy, štěpnými produkty a balastními látkami do matečných lousků. Proto byla nejdříve hledána metoda umožňující odstranění doprovodných alkaloidů tak, aby bylo možno alkaloidů včetně přítomného β -ergokryptinu efektivně využít.

Po odstranění doprovodných alkaloidů a balastních látek bylo přistoupeno k separaci jednotlivých ergotoxinových alkaloidů a poté k hledání postupů dělení α a β -ergokryptinu tak, aby bylo možno připravit bázi nebo adiční sůl dihydroergotoxinia s žádaným poměrem α a β -ergokryptinu a daným zastoupením jednotlivých ergotoxinových alkaloidů.

Autoři vynálezu zjistili, že částečného obohacení směsi o β -ergokryptin lze dosáhnout chromatografií na sloupci silikagelu za užití směsi chlorovaných uhlovodíků methanu nebo ethanu s aromatickým uhlovodíkem nebo diethyletherem jako elučním činidlem.

V prvních frakcích dochází ke zkoncentrování především pravotočivých enantiomerů, eluce dále pokračuje β -ergokryptinem, α -ergokryptinem, ergokorninem a ergokristinem. Získaného materiálu obohaceného β -ergokryptinem lze s výhodou použít ke korekci ergotoxinu na žádaný poměr složek.

Velmi významný dělicí efekt α a β -ergokryptinu vykazují nově vypracované krystalizační postupy v nehydrogenované i hydrogenované formě námelových alkaloidů. Určitého stupně oddělení β -ergokryptinu od α -ergokryptinu lze dosáhnout krystalizací z methanolu, ethanolu, benzenu, octanu ethylnatého, dioxanu jejich vzájemných směsí a směsí s vodou. Zvláště výhodnou se jeví krystalizace z vodného methanolu (90%) a směsí ethylacetátu, methanolu a vody.

α a β -dihydroergokryptin obsahující omezené množství ostatních ergotoxinových alkaloidů a dalších doprovodných alkaloidů lze rovněž rozdělit krystalizačními postupy užívanými jako krystalizační médium dioxan, směs methanolu nebo ethanolu s vodou; zvláště dobrých výsledků lze dosáhnout krystalizací z octanu ethylnatého. Podle vynálezu je možno zpracovat surovou alkaloidní směs obsahující mimo α a β -ergokryptin i ostatní ergotoxinové složky až 15 proc. alkaloidů skupiny ergotaminu, 15 % alkaloidů laktamové struktury, 5 % alkaloidů ergoxinové skupiny v levo i pravotočivých formách a až 30 % balastních látek nealkaloidního charakteru. Výše uvedené krystalizace je možno realizovat po izolaci čisté směsi α a β -ergokryptinu zbavené balastních látek i ostatních doprovodných alkaloidů.

Surová směs alkaloidů se převede na adiční sůl s kyselinou fosforečnou, uvolněné bá-

ze po chromatografii na silikagelu se krystalují z methanolu za účelem separace ergokorninu od ostatních ergotoxinových alkaloidů. V matečných loužích zkoncentrovaný α a β -ergokryptin po překrystalování z benzenu je žádané čistoty pro výše uvedené krystalizace k dělení α a β -ergokryptinu.

Tuto čistou směs obou isomerů ergokryptinu je možno po hydrogenování vazby Δ 9,10 dělit vpředu uvedenými krystalizacemi.

Popsanými postupy lze dosáhnout posunu poměru α : β -ergokryptinu až na 20 : 1 v krystalu a až 1 : 1 v matečných loužích. Takto získané koncentráty lze po homogenizaci s bází ergokristinu a ergokorninu použít k přípravě terapeuticky účinných solí ergotoxinia s daným poměrem ergotoxinových složek i poměru α a β -ergokryptinu. Koncentrát α a β -ergokryptinu lze použít i pro přípravu parciálně-syntetických derivátů těchto alkaloidů.

Způsob podle vynálezu je v následujících příkladech blíže popsán přičemž uvedené příklady neomezují rozsah vynálezu.

Příklad 1

10 g surové směsi alkaloidů s poměrem α : β ergokryptinu 4 : 1 po převedení v hydrofosforečnan a opětovné uvolnění báze se krystaluje z octanu ethylnatého, přičemž zastoupení ergotoxinových složek (ergokristin, ergokornin, ergokryptin) se upraví na žádaný poměr přidánímází jednotlivých alkaloidů. Z ethylacetátu získaný krystal se chromatografuje na sloupci silikagelu (30-ti násobek vztaženo na hmotnost výchozí báze) ve směsi chloroform — diethylether 1 : 1. Na základě analýz tenkovrstevnou chromatografií se frakce spojují.

V tomto pokuse bylo získáno v prvních 250 ml eluátu 2,9 g chloroformového odpar-

ku ergotoxinu s poměrem α : β -ergokryptinu 2,5 : 1 a ze zbylých frakcí bylo získáno 3,7 gramu odparku s poměrem α : β ergokryptinu 8 : 1. Získané odparky byly použity po hydrogenování vazby 9, 10 pro přípravu methansulfonanu dihydroergotoxinia.

Příklad 2

20 g surové směsi alkaloidů (celkový obsah alkaloidů 83 %, ergokornin : ergokryptin 3 : 2, α : β -ergokryptin 3,8 : 1, ergotamin 5 %, laktamové alkaloidy 8 %) se převede v hydrofosforečnan a po uvolnění báze se chloroformový odparek chromatografuje na sloupci silikagelu (3násobek vztaženo na hmotnost výchozí báze) ve směsi chloroform — benzen 4 : 1.

K eluci se použije celkem 1200 ml uvedené směsi. Získaný chloroformový odparek (16 g) zbavený alkaloidů skupiny ergotaminu a částečně necyklolových alkaloidů se krystaluje z 50 ml methanolu. V matečných loužích zkoncentrovaný α a β -ergokryptin (6 g) se po krystalizaci z benzenu krystaluje ze směsi ethylacetát — methanol — voda (10 : 1 : 2). Získá se 2,3 g krystalu obsahujícího cca 90 % ergokryptinu s poměrem α : β 25 : 1 a 1,9 g matečných louhů s obsahem 60 % ergokryptinu s poměrem α : β 1 : 1 a 40 % ergokorninu.

Příklad 3

10 g benzenové báze ergokryptinu, získané stejným postupem jako v příkladu 2 se po hydrogenaci vazby Δ 9,10 katalytickou hydrogenací na Raneyově niklu podrobí krystalizaci ze 70 ml dioxanu. 4,1 g krystalu obsahuje 87 % ergokryptinu s poměrem α : β složky 35 : 1 v matečných loužích (5,6 gramu) je poměr α : β -ergokryptinu 1,5 : 1, 86 % ergokryptinu a 34 % ergokorninu.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob izolace ergokryptinů s žádaným poměrem α a β složky 1 : 1 až 2,5 : 1 vyznačený tím, že se surová směs alkaloidů po přečištění krystalizací a úpravě poměru ergotoxinových složek na žádaný poměr, obvykle ergokornin : ergokryptin : ergokristin 1 : 1 : 1, chromatografuje na sloupci silikagelu za použití eluční směsi chlorovaných uhlovodíků methanu nebo ethanu v poměru 1 : 2 až 2 : 1 s benzenem nebo diethyletherem, nebo se zpracuje na čistou směs

α a β -ergokryptinů, která se krystaluje z methanolu nebo ethanolu, ethylacetátu, dioxanu, benzenu, směsi methanol nebo ethanol — voda 8 : 2, nejvýhodněji ze směsi ethylacetát, methanol, voda 10 : 1 : 2, případně se čistá směs α a β -ergokryptinů po hydrogenování vazby 9,10-kyseliny lysergové, krystaluje z dioxanu, nebo ethylacetátu, butylacetátu nebo vodného alifatického alkoholu C_1 až C_3 (8 : 2).