



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **126811** (13) **C2**
(51) МПК (2023.01)

C07C 37/00

C07C 37/70 (2006.01)

C07C 37/82 (2006.01)

C07C 39/23 (2006.01)

C07D 311/80 (2006.01)

B01D 11/04 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

<p>(21) Номер заявки: a 2020 00718</p> <p>(22) Дата подання заявки: 26.07.2018</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 09.02.2023</p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 102017000085508</p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 26.07.2017</p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: IT</p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: 27.04.2020, Бюл.№ 8</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 08.02.2023, Бюл.№ 6</p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/EP2018/070275, 26.07.2018</p>	<p>(72) Винахідник(и): Чіполлетті Джованні (IT), Ваньолі Луана (IT), Матулли Маріна (IT), Фебруарі Барбара (IT), Чіні Якопо (IT)</p> <p>(73) Володілець (володільці): ІНАЛКО С.Р.Л., Via A. Calabiana, 18, 20139, Milano, Italy (IT)</p> <p>(74) Представник: Шляховецький Ілля Олександрович, реєстр. №190</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: US 2006/167283 A1, 27.07.2006 US 2017/022132 A1, 26.01.2017 US 2016/214920 A1, 28.07.2016 WO 2016/153347 A1, 29.09.2016</p>
---	--

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ КАНАБІНОЇДІВ З КОНОПЛІ ДЕЯКИХ ПРОМИСЛОВИХ СОРТІВ

(57) Реферат:

Винахід розкриває спосіб одержання (-)-канабідіолу (CBD) з використовуваних в промислових цілях конопель шляхом екстракції за такими двома альтернативними робочими способами: спосіб А, який пропонує екстракцію розчинниками спочатку при лужному рН, а потім при кислому рН для виділення карбоксильної форми CBD, яку потім піддають декарбоксилуванню, і спосіб В, який пропонує видалення восків і смол, з подальшим хроматографічним очищенням. В кінці обох альтернативних робочих процесів CBD кристалізують для одержання у кристалічній формі високої чистоти.

UA 126811 C2

Галузь техніки

Цей винахід має відношення до екстрагування канабіноїдів з рослинної матриці; зокрема, він стосується екстрагування (-)-канабідіолу (CBD) та його одержання з конопель у вигляді кристалів високої чистоти.

5 Передумови створення винаходу

Канабіноїди або канабіноли являють собою хімічні речовини природного походження, і біохімічно класифікуються як терпенофеноли. Вони є сполуками, які об'єднані здатністю взаємодіяти з канабіноїдними рецепторами.

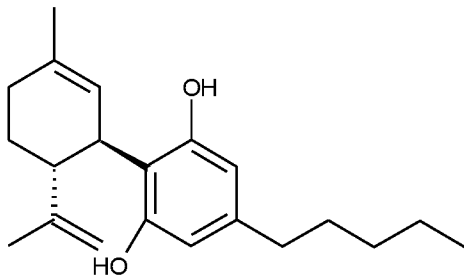
10 Терміном канабіноїди зазвичай визначають сімейство хімічних сполук, наявних у *Cannabis sativa*.

Наразі ідентифіковано близько сімдесяти таких сполук, серед яких найважливішими є:

тетрагідроканабінол (THC, Δ^9 -THC), канабідіол (CBD), тетрагідроканабіварин (THCV), канабінол (CBN), канабіхромен (CBC), канабіциклол (CBL), канабіелзоін (CBE), канабігерол (CBG), канабінодіол (CBND), канабітриол (CBT), канабіварин (CBV), канабідиварин (CBDV), канабіхромоварин (CBCV), канабігероварин (CBGV) і моноетиловий простий ефір канабігеролу (CBGM).

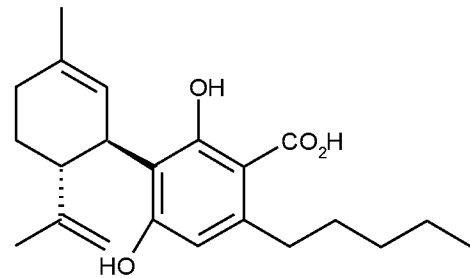
Нещодавно на ринок був введений Сатівекс (Sativex), лікарський засіб, екстрагований з *Cannabis sativa*, зі стандартизованим вмістом канабіноїдів (THC та CBD).

20 Канабіноїди наявні в рослині коноплі *Cannabis sativa* у вигляді їх карбоксильних похідних, канабіноїдкарбонових кислот, з яких шляхом декарбоксилювання, тобто видалення CO₂, одержують так звані "нейтральні канабіноїди". Так, наприклад, канабідіол (CBD) утворюється шляхом декарбоксилювання канабідіолової кислоти (CBDA).



(-)-CBD

2-((1R,6R)-3-метил-6-(проп-1-ен-2-іл)циклогекс-2-еніл)-5-пентилбензол-1,3-діол



Канабідіолова кислота (CBDA)

2,4-дигідрокси-3-((1R,6R)-3-метил-6-(проп-1-ен-2-іл)-циклогекс-2-еніл)-6-пентилбензойна кислота

25 (-)-канабідіол (CBD) можна знайти в рослині як у його кислотному (CBDA), так і в декарбоксилюваному (CBD) вигляді. Більша чи менша наявність тієї чи іншої форми канабіноїду в біомасі може залежати як від умов вирощування рослин, і відповідно від параметрів навколишнього середовища, так і від умов, які застосовують для подальших етапів переробки та зберігання. У процесах обробки використовуваних в промислових цілях конопель біомаса по суті може піддаватися фазі сушіння, яке може призвести, внаслідок нагрівання, до декарбоксилювання кислотної форми канабіноїду (CBDA) у його декарбоксилювану форму (CBD). Цей процес декарбоксилювання може відбуватись навіть при низькій температурі (кімнатна температура, RT), якщо біомасу зберігають протягом тривалого часу до її використання.

35 Способи виділення нейтральних канабіноїдів, зокрема CBD, відомі в цій галузі (дивись, наприклад, ті, що описані в US2015/0038567), є досить трудомісткими, і згадані нейтральні канабіноїди не завжди можливо отримати з високою чистотою за допомогою способів, які можна було б легко використовувати в промислових масштабах.

40 Предметом цього винаходу є надання способу одержання CBD або інших нейтральних канабіноїдів у кристалічній формі високої чистоти з коноплі деяких промислових сортів.

Суть винаходу

Цей винахід вирішує вищевказані проблеми за допомогою способу одержання CBD або іншого нейтрального канабіноїду, й при цьому згаданий спосіб включає:

45 і) контактування біомаси, яка містить CBD та/або CBDA або згаданий інший нейтральний канабіноїд, або канабіноїд у формі карбонової кислоти, з екстракційним розчинником протягом щонайменше 10 хв при температурі від 0 °C до температури кипіння розчинника для одержання після видалення біомаси екстракційного розчину; згаданий екстракційний розчинник вибирають

з групи, яку складають пентан, гексан, гептан, октан, метилциклогексан, ацетон, пропанол, етанол, метанол, етилацетат, толуол, хлорид метилен та їх суміші;

з продовженням за процесом (А), що включає:

5 ii-a) контактування екстракційного розчину з водно-спиртовим розчином, і доведення рН до 7,5-12,5 прийнятним лужним розчином, для одержання після відокремлення фаз першої водно-спиртової фази та першої органічної фази; у випадку, коли екстракційний розчинник являє собою розчинник, здатний змішуватися з водою, додають також перший розчинник, нездатний змішуватися з водою, який вибирають з групи, яку складають пентан, гексан, гептан, метилциклогексан та їх суміші;

10 iii-a) контактування першої водно-спиртової фази з другим розчинником, нездатним змішуватися з водою, і розчином кислоти, придатним для доведення рН до 2,0-6,5, для одержання другої органічної фази та другої водно-спиртової фази; згаданий другий розчинник, нездатний змішуватися з водою, вибирають з групи, яку складають пентан, гексан, гептан, метилциклогексан та їх суміші;

15 iv-a) концентрування другої органічної фази, і піддавання одержаної олії нагріванню при температурі від 65 °С до 180 °С протягом проміжку часу тривалістю щонайменше 10 хв для здійснення декарбоксілювання CBDA до CBD;

або з продовженням за процесом (В), що включає:

20 ii-b) концентрування екстракційного розчину до одержання екстракційної олії, та контактування екстракційної олії зі спиртом при температурі нижче 20 °С протягом щонайменше 10 хв для одержання суспензії екстракту та восків, де згаданий спирт вибирають з групи, яку складають метанол, етанол, пропанол та їх суміші;

25 iii-b) фільтрування та концентрування згаданої суспензії для одержання екстракційної олії, яка не містить восків, та контактування цієї екстракційної олії, яка не містить восків, з органічним розчинником, нездатним змішуватися з водою, та водно-спиртовим розчином для одержання органічної фази, яка містить екстракт без восків та смол, і водно-спиртової фази, яка містить смоли;

30 iv-b) концентрування органічної фази, яка містить екстракт без восків та смол, піддавання хроматографії на силікагелі із застосуванням відповідної фази для елюювання, та збирання фракцій, які містять CBD або згаданий інший нейтральний канабіноїд;

і на завершення

35 v) кристалізація CBD або згаданого іншого нейтрального канабіноїда з третього розчинника, нездатного змішуватися з водою, вибраного з групи, яку складають пентан, гексан, гептан, октан, метилциклогексан та їх суміші.

Несподівано було встановлено, що спосіб екстракції та виділення (-)-канабідіолу (CBD), розкритий у цьому описі, може бути застосований до "біомас", які мають будь-яке співвідношення кислотної (CBDA) і декарбоксілюваної (CBD) форм, із застосуванням будь-якого одного з двох процесів, визначених у цьому описі як Спосіб А і Спосіб В.

40 Слід зазначити, що, завдяки своїй надзвичайній простоті, спосіб А є придатним для технологічних процесів у фармацевтичній галузі, на яку поширюються більш обмежувальні норми.

Окрім виділення CBD, спосіб В застосовується також і для одержання інших канабіноїдів (наприклад, CBG, CBN тощо).

Докладний опис винаходу

45 За цим винаходом розчинники пентан, гексан, гептан та октан означають н-пентан, и-гексан, н-гептан, н-октан або суміші їх ізомерів. За цим винаходом сировиною (тобто біомасою), яка використовується, переважно є використовувана в промислових цілях конопля (вид *Cannabis sativa*; підвид *Sativa*). Як альтернативні і такі, яким однаковою мірою віддають перевагу, можуть бути використані деякі промислові сорти коноплі, наприклад: Antal, Armanca, Beniko, Bialobrzeshire, Cannakomp, Carma, Carmagnola, Carmaleonte, Chamaeleon, Codimoro, CS, Dacia Sacuieni, Delta-Ilosa, Delta-405, Denise, Diana, Dioica 88, Eletta Campana, Epsilon 68, Fedora 17, Felina 32, Ferimon, Fibranova, Fibrol, Finola, Futura 75, Ivory, KC Bonusz, KC Dora, KC Virtus, KC Zuzuna, Kompolti, KompoltiHibrid TC, Lipko, Lovrin 110, Marcello, Markant, Monica, Rajan, Ratza, Santhica 23, Santhica 27, Santhica 70, SecuieniJubileu, Silvana, Szarvasi, Tiborszallasi, Tisza, Tygra, 50 Uniko B, Uso-31, Wielkopolkie, Wojko, Zenit.

55 За варіантом, якому віддають перевагу, біомасу тонко подрібнюють перед тим, як піддавати екстракції розчинником за цим винаходом.

Спосіб А:

60 Екстрагування CBDA та CBD переважно відбувається шляхом утримування коноплі у контакті з розчинником, який за варіантом, якому віддають перевагу, вибирають з групи, яку

складають пентан, гексан, гептан, октан, метилциклогексан та їх суміші; за варіантом, якому віддають більшу перевагу, як екстракційний розчинник використовують гексан (н-гексан або суміш ізомерів).

5 Екстракція за способом А переважно проводиться при температурі від 0 °С до 35 °С, за варіантом, якому віддають більшу перевагу, від 10 °С до 25 °С, протягом проміжку часу тривалістю щонайменше 10 хв.

Відповідно до процесу А за цим винаходом кислотну форму (CBDA) відокремлюють від декарбоксильованої форми (CBD) і від домішок додаванням водно-спиртового розчину, в якому спирт, зазвичай вибирають із групи, яку складають етанол та метанол, переважно - метанол. 10 Розділення відбувається додаванням при перемішуванні прийняттого лужного розчину, переважно 30 % розчину NaOH, доводячи рН до значення від 7,5 до 12,5, за варіантом, якому віддають більшу перевагу, від 8,0 до 8,5, і за варіантом, якому віддають ще більшу перевагу, від 8,2 до 8,3. Було помічено, що рН 8,2-8,3 має особливі переваги для того, щоб унеможливити екстрагування в водно-спиртову фазу також жирних кислот, таких як омега-3 або омега-6, які 15 іноді наявні, навіть у значних кількостях, у вихідній біомасі.

Першу водно-спиртову фазу виділяють, і CBDA екстрагують додаванням при перемішуванні другого більш-менш неполярного розчинника, нездатного змішуватися з водою, переважно використовують гексан (н-гексан або суміш ізомерів), та розчину кислоти, переважно використовують розчин оцтової кислоти, доводячи рН до значень від 6,5 до 2,0, переважно від 20 4,5 до 5,5, й за варіантом, якому віддають ще більшу перевагу, від 4,8 до 5,2.

Другу органічну фазу концентрують до олії, а CBDA, що міститься в ній, декарбоксилують до CBD, витримуючи масло при температурі від 65 °С до 180 °С протягом проміжку часу тривалістю щонайменше 10 хв.

Потім CBD кристалізують.

25 Спосіб В

Екстрагування CBDA та CBD відбувається шляхом утримання коноплі у контакті з розчинником, який переважно вибирають з групи, яка складають ацетон, пропанол, етанол, метанол, етилацетат, толуол, н-гексан або суміш ізомерів гексан; за варіантом, якому віддають 30 більшу перевагу, з метанолом, при температурі кипіння розчинника протягом проміжку часу тривалістю щонайменше 10 хв. При необхідності суспензію витримують при перемішуванні до повного декарбоксилування CBDA до CBD.

Суспензія може підтримуватись у киплячому стані зі зворотним холодильником протягом проміжку часу тривалістю навіть 60 год. і більше.

35 Біомасу відокремлюють фільтруванням або центрифугуванням, і розчин, який містить CBD, концентрують до олії.

Воски, наявні в екстракційному розчині, видаляють додаванням спирту, переважно використовують метанол, підтримуючи температуру нижче 20 °С, переважно 4-10 °С, за варіантом, якому віддають більшу перевагу, на рівні 4 °С, протягом проміжку часу тривалістю щонайменше 10 хв. Суспензію фільтрують, і розчин без воску концентрують до олії.

40 Смоли видаляють з олії додаванням при перемішуванні прийняттого розчинника, вибраного з групи, яку складають толуол, пентан, гексан, гептан, октан та їх суміші; переважно використовують гексан (н-гексан або суміш ізомерів); і водно-спиртового розчину, в якому спирт відповідно вибраний з групи, яку складають етанол та метанол; переважно використовують метанол.

45 Гексанову фазу концентрують до олії, і завантажують на колонку з силікагелем, використовуючи як елюювальну фазу переважно суміш гексану (н-гексан або суміш ізомерів) та етилацетату, переважно у співвідношенні між 20:1 і 5:1, а за варіантом, якому віддають більшу перевагу, - 10:1.

50 Фракції, які містять очищений CBD, об'єднують, і концентрують до олії, а CBD, який міститься в ній, кристалізують.

Кристалізація

Кристалізація CBD, незалежно від того, одержаний він за способом А чи за способом В, здійснюється додаванням при перемішуванні 0,3-3 об'ємів, переважно 0,5-1 об'єму, за варіантом, якому віддають ще більшу перевагу, 0,6 об'ємів розчинника по відношенню до маси олії. Розчинник, зазвичай вибраний із групи, яку складають пентан, гексан, гептан, октан та метилциклогексан, переважно гексан чи гептан (або суміші їх ізомерів) або метилциклогексан, при температурі нижче 30 °С протягом проміжку часу тривалістю щонайменше 10 хв 55 використовується як розчинник для кристалізації. Процес кристалізації факультативно ініціюється додаванням мінімальної кількості кристалічного CBD.

Цей етап кристалізації факультативно можна повторити вдруге, щоб одержати продукт з ще більш високою чистотою, додаючи при перемішуванні 0,3-3 об'єми, переважно 0,5-2,5 об'єми, за варіантом, якому віддають ще більшу перевагу, 2 об'єми розчинника по відношенню до маси олії.

5 Один з аспектів цього винаходу, який надає певні переваги, полягає у тому, що процеси А і В можуть бути інтегровані, тому що етапи способу від ii-b до iv-b можуть бути застосовані до першої органічної фази, одержаної на етапі ii-a процесу А, для виділення CBD або іншого нейтрального канабіноїду, який міститься в ній.

Цей винахід можна краще зрозуміти у світлі наведених нижче варіантів здійснення.

10 Короткий опис фігур

На Фіг. показані одержані із застосуванням високоефективної рідинної хроматографії хроматограми двох екстрактів конопель з різним співвідношенням між CBDA і CBD з відповідним RT.

15 Експериментальна частина Матеріали та методи

ВЕРХ

Колонка = Thermo Accucore C18 (100×4,6 мм; 2,6 мкм).

Температура = 50 °С.

Елюювальна фаза = градієнт - вода (H₃PO₄ 0,05 %)/ацетонітрил.

20 Детектор = УФ (200-210 нм).

RT (CBDA) = приблизно 4 хв

RT (CBD) = приблизно 5 хв

Приклад 1: Одержання CBD з конопель, які мають співвідношення CBDA/CBD приблизно 70/30, екстрагуванням та відокремленням його кислотної форми (CBDA) (спосіб А) (тести Q207D/394 та Q207D/396).

25 Гексанова екстракція біомаси ("тест Q207D/394):

В 250-літровий сталевий реактор з сорочкою, споряджений валом з мішалкою, завантажували 132 кг гексану та 40 кг тонкоподрібнених конопель, і протягом 4 год. перемішували при температурі 20 °С.

30 Після закінчення цього часу суспензію вивантажували з реактора, і фільтрували під вакуумом двома аліквотами. Біомасу, що залишається на фільтрі у кожній аліквоті, промивали 10 л гексану.

Відфільтрований розчин повторно завантажували в реактор, і концентрували під вакуумом при температурі <35 °С до мінімально можливого об'єму. Було одержано 7,48 кг концентрованого розчину, який містив 508,64 г CBDA+125,7 г CBD (значення одержані із застосуванням кількісного аналізу методом ВЕРХ).

35 Концентрований розчин зберігали при температурі <30 °С для подальших фаз.

Відокремлення CBDA від СВР (тест Q207D/396):

40 У 3-літрову чотиригорлу скляну колбу, споряджену валом з мішалкою, вміщували 1001,0 г згаданого концентрованого розчину (містив 77,7 г CBDA+16,8 г CBD), 540 мл метанолу, 810 мл демінералізованої води та 5 г бісульфіту натрію. рН коригували до 12,0 додаванням 30 % розчину NaOH (приблизно 125 мл) при перемішуванні. Весь вміст переносили у ділильну лійку для відділення верхньої гексанової фази (1) від нижньої метанол-водної фази (1).

45 Ділильну лійку розвантажували, зберігаючи дві фази окремо, і верхню гексанову фазу (1) переносили назад у згадану чотиригорлу колбу, у яку при перемішуванні додавали 160 мл метанолу, 240 мл демінералізованої води та 5 г бісульфіту натрію. рН доводили до 12,5 додаванням 30 % розчину NaOH.

Весь вміст переносили у ділильну лійку для відділення верхньої гексанової фази (2) від нижньої метанол-водної фази (2).

50 Дві метанол-водні фази (1) і (2) об'єднували в чотиригорлій колбі, в яку додавали 400 мл гексану. Значення рН знижували при перемішуванні до 5,5 додаванням льодяної оцтової кислоти, і весь вміст переносили у ділильну лійку для відділення верхньої гексанової фази (3) від нижньої метанол-водної фази (3).

55 Гексанову фазу (2) переносили в згадану 4-горлу колбу, і до неї додавали такий самий об'єм демінералізованої води. рН зменшували при перемішуванні до 5,5 додаванням льодяної оцтової кислоти, і весь вміст переносили у ділильну лійку для відділення верхньої гексанової фази (4) від нижньої водної фази (4).

Результати (кількісний аналіз методом ВЕРХ):

Зразок	Маса (грами)	CBDA (грами)	CBD (грами)
Гексанова фаза (3)	89,7	75,1	1,80
Гексанова фаза (4)	1156,6	4,27	18,56

Декарбоксілювання CBDA, що міститься в гексановій фазі (3):

5 Гексанову фазу (3) вміщували у 500 мл 4-горлу колбу, споряджену валом з мішалкою та зворотним холодильником для повернення дистильованого гексану, і піддавали декарбоксілюванню у гліцериновій ванні, яка була нагріта до температури 120 °С, при перемішуванні протягом приблизно 7 год. Розчин, сконцентрований до олії, охолоджували до кімнатної температури, розбавляли 150 мл гексану, і фільтрували під вакуумом через шар кізельгуру.

10 Після цього відфільтрований розчин повторно концентрували із застосуванням роторного випарника при температурі 45 °С, і одержували 77,7 г олії (яка містить 65,9 г CBD).

Кристалізація CBD:

15 77,7 г олії переносили у 250 мл 4-горлу скляну колбу, споряджену валом з мішалкою, і додавали 77 мл гексану. Весь вміст перемішували протягом 3 год. у холодному приміщенні при температурі 4 °С. Після закінчення цього часу кристалічну тверду речовину відфільтровували (завжди в холодному приміщенні при температурі 4 °С) на Gouch (G3), і промивали двома аліквотами холодного гексану (кожна по 25 мл). Були одержані 46,5 г кристалічної речовини з 98,9 % чистотою за даними ВЕРХ.

Виділення CBD з кристалізаційних маточних розчинів:

20 Маточні розчини, одержані на попередньому етапі кристалізації, концентрували із застосуванням роторного випарника при температурі 45 °С, і одержували 31 г олії, яку переносили в 100 мл 4-горлу колбу (споряджену валом з мішалкою) в холодному приміщенні при температурі 4 °С. До згаданої олії додавали 15 мл гексану. Вміст в повному об'ємі перемішували протягом 6 год. Після закінчення цього часу кристалічну тверду речовину відфільтровували (завжди в холодному приміщенні при температурі 4 °С) на Gouch (G3), і промивали трьома аліквотами холодного гексану кожна по 5 мл. Були одержані 6,0 г кристалічної речовини з 97,9 % чистотою за даними ВЕРХ.

Приклад 2: Виділення CBD та CBDA, наявних у першій гексановій фазі (спосіб А), із застосуванням хроматографії (спосіб В) Тест № Q207F/594.

30 Видалення восків:

87,7 г першої гексанової фази, одержаної за способом (А), яка містить 1,98 г CBD і 0,48 г CBDA, концентрували до олії під вакуумом із застосуванням роторного випарника при температурі 50 °С. До згаданої олії додавали 50 мл метанолу, і весь вміст витримували при температурі -20 °С протягом однієї ночі.

35 Суспензію фільтрували під вакуумом на Gouch (G3), а воски, затримані фільтром, промивали двома аліквотами холодного метанолу по 50 мл. Відфільтрований продукт концентрували під вакуумом із застосуванням роторного випарника при температурі 50 °С, і одержували 8,1 г олії, яка містить 1,60 г CBD і 0,31 г CBDA.

Хроматографія на силікагелі:

40 У скляну колонку (діаметр 5 см×висота 20 см) набивали 100 г силікагелю, і врівноважували рівноважним потоком 250 мл рухомої фази (гексан-етилацетат 10:1). 8,1 г олії з попереднього етапу завантажували на колонку після її розбавлення приблизно 8 мл рухомої фази. Елюювання відбувалося під напором; збирали 12 фракцій по 22 г кожна. Фракції від № 4 до № 12 включно піддавали кількісному аналізу із застосуванням ВЕРХ для перевірки вмісту та відносної чистоти CBD.

45 Результати:

Фракція №	Вміст CBD (г/100 г)	Чистота CBD (% площі)
4	0,11	77,68
5	1,16	92,52
6	1,96	91,97
7	1,53	88,50
8	1,06	81,99
9	0,62	73,69
10	0,36	63,93
11	0,18	54,17
12	0,08	37,48

Був одержаний пул фракцій від № 4 до № 9 включно (фракції високої чистоти) із загальним вмістом CBD 1,41 г та пул фракцій від № 10 до № 12 включно (фракції нижче середньої чистоти) із загальним вмістом CBD 0,138 г.

5 Приклад 3: Одержання CBD у лабораторному масштабі з конопель, які мають співвідношення CBDA/CBD приблизно 90/10, екстракцією та відокремленням його кислотної форми (CBDA) (Спосіб А) (Тест Q207E/515).

2 кг тонкоподрібнених конопель та 10 л гексану завантажували в 15-літрову скляну колбу, споряджену валом з мішалкою. Весь вміст перемішували при кімнатній температурі протягом 4 год. Після закінчення цього часу суспензію відфільтровували на фільтрувальному папері на лійці Бюхнера під вакуумом шляхом промивання біомаси на фільтрі 6 л гексану. Відфільтрований продукт концентрували під вакуумом із застосуванням роторного випарника при температурі від 30 °С до об'єму 860 мл.

Відокремлення CBDA від CBD:

15 Відфільтрований розчин, який містив 21,23 г CBDA і 1,8 г CBD (значення, одержані кількісним аналізом за методом ВЕРХ), вміщували в 3-літрову 4-горлу скляну колбу, споряджену валом з мішалкою, і до нього додавали 478 мл метанолу та 360 мл демінералізованої води.

pH підвищували до 8,2 додаванням, при інтенсивному перемішуванні, приблизно 7 мл 30 % розчину NaOH.

20 Весь вміст переносили на ділильну лійку для відділення верхньої гексанової фази (1) від нижньої метанол-водної фази (1).

Метанол-водну фазу (1) переносили назад у згадану 4-горлу колбу, і при перемішуванні додавали 740 мл гексану (суміш ізомерів). pH доводили до 5,0 додаванням приблизно 20 мл льодяної оцтової кислоти.

25 Весь вміст переносили у ділильну лійку для відділення верхньої гексанової фази (2) від нижньої метанол-водної фази (2).

Зразок	Маса (грами)	CBDA (грами)	CBD (грами)
Гексанова фаза (1)	619,4	4,03	1,8
Гексанова фаза (2)	499,1	15,95	-

Декарбоксілювання CBDA, що міститься в гексановій фазі (2):

30 Гексанову фазу (2) поміщали в 1-літрову 4-горлу колбу, споряджену валом з мішалкою та зворотним холодильником для повернення дистильованого гексану, і піддавали декарбоксілюванню у гліцериновій ванні, яка була нагріта до температури 120 °С, при перемішуванні протягом приблизно 4 год.

Кристалізація CBD:

35 Розчин, який містив CBD, концентрували під вакуумом із застосуванням роторного випарника при температурі 50 °С, і одержували 24,3 г олії, яку розбавляли 14,5 мл гексану (суміш ізомерів), і поміщали в холодне приміщення при температурі 4 °С на ніч. Після закінчення цього часу суспензію фільтрували на Gouch (G3), і кристалічну речовину промивали 6 мл холодного гексану. Були одержані 10,1 г вологого кристалічного CBD з чистотою 99,6 % і 42,2 г маточного розчину, який містив 3,88 г CBP.

Приклад 4: Одержання в експериментальному масштабі CBP з конопель, які мають співвідношення CBDA/CBD приблизно 90/10, екстракцією та відокремленням його кислотної форми (CBDA) (Спосіб А) (Продукт P56/38/047).

Гексанова екстракція біомаси:

45 150 кг тонкоподрібнених конопель і 700 літрів гексану (суміш ізомерів) були вміщені у сталевий фільтр-сушарку, споряджений системою перемішування. Весь вміст витримували з перемішуванням протягом 1 год. при кімнатній температурі. Після закінчення цього часу перемішування припиняли, і суспензію фільтрували під тиском азоту. Відфільтрований продукт, який містив CBDA, збирали в резервуар. Біомасу, затриману фільтром, промивали двома 450-літровими аліквотами гексану з одночасним перемішуванням вмісту при кімнатній температурі протягом однієї години, і фільтрат щоразу вивантажували у збірний резервуар із застосуванням азоту під тиском.

Вичерпану біомасу виводили із сушильного фільтра, в який завантажували додаткові 150 кг свіжих тонкоподрібнених конопель для другого екстрагування.

55 Підготовче концентрування:

Відфільтровані розчини, одержані в результаті двох екстракцій зі 150 кг коноплі кожна, об'єднували в сталевому реакторі з сорочкою, обладнаному системою перемішування та

зворотним холодильником, і концентрували під вакуумом при температурі 30 °С до об'єму приблизно 180 л.

Відокремлення CBDA від CBD:

180 л попередньо концентрованого розчину завантажували в 250-літровий сталевий реактор з сорочкою, споряджений валом з мішалкою та зворотним холодильником, і концентрували під вакуумом при температурі від 16 °С до 20 °С при кінцевому об'ємі приблизно 130 л. В реактор з 57 л метанолу завантажували 54 л питної води. рН доводили до 8,2 додаванням 30 % розчину гідроксиду натрію при перемішуванні. Весь вміст зберігали в стані спокою протягом 60 хв. Дві фази вивантажували окремо, в реактор повторно завантажували водно-спиртову фазу, і до неї додавали 76,6 кг гексану (суміш ізомерів). рН доводили при перемішуванні до 5,0 додаванням 3,75 л льодяної оцтової кислоти, і весь вміст зберігали в стані спокою протягом однієї години.

Нижню водно-спиртову фазу (115 кг) вивантажували в резервуар для утилізації, тоді як верхню гексанову фазу концентрували під вакуумом при температурі приблизно 50 °С, і одержували приблизно 27 кг кінцевої маси, яку використовували для подальшої фази декарбоксилювання.

Декарбоксилювання CBDA, що міститься в гексановій фазі (2):

4 гексанові фази з попередніх етапів, які містять 14,48 кг CBDA (за результатами кількісного аналізу методом ВЕРХ), об'єднували в 250-літровому сталевому реакторі з сорочкою, спорядженому валом для перемішування, і концентрували при температурі 50 °С до олії. Температуру доводили до приблизно 120 °С при перемішуванні протягом 4 год. Після закінчення цього часу в реактор додавали 13,6 кг гексану (суміш ізомерів), і 30,3 кг розчину вивантажували для подальшого етапу кристалізації.

Перша кристалізація CBD:

30,3 кг розчину CBD з попереднього етапу фільтрували на папері під вакуумом на фільтрувальній лійці Бюхнера, і завантажували в 25-літровий скляний реактор, споряджений валом з мішалкою. Розчин концентрували до олії під вакуумом при температурі 50 °С, і після його охолодження до температури 35 °С додавали 6 кг гексану (н-гексану). Розчин охолоджували до температури 20 °С, і кристалізацію ініціювали додаванням 20 г кристалічного CBD.

Через 30 хв температуру доводили до 4 °С, і витримували з перемішуванням протягом 12 год.

Суспензію фільтрували на папері під вакуумом на фільтрувальній лійці Бюхнера, і кристалічну речовину промивали 6 л холодного гексану (н-гексану). Було одержано 8,16 кг вологого кристалічного CBD з LOD (втрата маси при сушінні) 0,33 % та чистотою 98,6 %, і 12,65 кг маточного розчину, який містив 2,96 кг CBD.

Друга кристалізація CBD:

8,16 кг кристалічного CBD з попереднього етапу завантажували в 25-літровий скляний реактор, споряджений валом для перемішування, і об'єднували його з 8,48 кг гексану (н-гексану) при температурі 35 °С при перемішуванні до повної солюбілізації. Температуру доводили до 4 °С шляхом низхідного лінійного зниження, і підтримували її протягом 12 год.

Суспензію фільтрували на папері під вакуумом на фільтрувальній лійці Бюхнера, і кристалічну речовину промивали 6,7 л холодного гексану (н-гексану). Було одержано 6,94 кг вологої кристалічної речовини з чистотою 99,4 %, і 11,9 кг маточного розчину, який містив 625 г CBD.

Приклад 5: Одержання CBD хроматографією на силікагелі в промислових масштабах (Спосіб В).

Метанолова екстракція CBD з біомаси (дивись FPL №2728PF_01_01):

У 6000-літровий сталевий реактор з сорочкою, споряджений валом з мішалкою, завантажували 3500 кг метанолу і з перемішуванням 1000 кг тонкоподрібненої біомаси. Температуру доводили до 63-67 °С, та кип'ятили зі зворотним холодильником. Весь вміст постійно перемішували, доки частка CBDA не досягла значення $\leq 7\%$ по відношенню до CBD (приблизно 60 год.). Після зниження внутрішньої температури реактора до 15-25 °С суспензію фільтрували центрифугуванням на полотні при 450-500 об/хв протягом 20-25 хв, промиваючи біомасу 3 рази метанолом (приблизно 20 кг) протягом 25-30 хв. Для видалення воскового компонента відфільтрований розчин повторно завантажували в реактор, і концентрували під вакуумом при температурі 50 °С до одержання розмішаного маслянистого залишку, до якого додавали 300 літрів метанолу. Температуру реактора доводили до 63-67 °С, і здійснювали відгонку під вакуумом при кипінні протягом 30 хв. Після закінчення цього часу температуру знижували до температури, яка становила від -5 °С до -10 °С, і суспензію повільно перемішували протягом проміжку часу тривалістю приблизно 12 год., після закінчення якого

температуру підвищували до 5-10 °С. При перемішуванні додавали 22 кг кізельгуру, і суспензію фільтрували центрифугуванням на полотні при 450-500 об/хв протягом 60 хв, виконуючи 3 промивання приблизно 40 кг холодного метанолу (5-10 °С) кожне протягом 35-40 хв.

Видалення смол (дивись FDL№2728PF_02_01):

- 5 Відфільтрований розчин завантажували знову в реактор, і концентрували під вакуумом при температурі 50 °С до одержання перемішаного маслянистого залишку, до якого додавали 400 л метанолу. Температуру реактора доводили до 63-67 °С, і здійснювали відгонку під вакуумом при кипінні протягом 30 хв. Після закінчення цього часу температуру знижували до 15-25 °С, і в реактор завантажували 150 кг гексану та 150 л демінералізованої води. Суміш перемішували
10 при температурі 15-25 °С протягом 30 хв, і витримували у стані спокою протягом додаткових 30 хв, щоб уможливити відокремлення нижньої метанол-водної фази (1) від верхньої гексанової фази (1). Згадану метанол-водну фазу (1) переносили у другий реактор, в який також вміщували 75 кг гексану. Суміш перемішували при температурі 15-25 °С протягом 30 хв, і витримували у стані спокою протягом додаткових 30 хв, щоб уможливити відокремлення нижньої метанол-водної фази (2) від верхньої гексанової фази (2). Згадану метанол-водну фазу (2) видаляли з реактора, в який вводили гексанову фазу (1). Дві гексанові фази, об'єднані таким чином, концентрували під вакуумом при температурі 50 °С, і одержували 43 кг концентрованого розчину. Для визначення вмісту CBD відбирали пробу концентрованого продукту.

Результати:

20 Суха маса = 43,9 кг

Загальний вміст CBD = 16,0 кг

Співвідношення CBD/суха маса×100 = 36,4 %

Хроматографія на силікагелі (дивись FLD № 2728PF_03A_01):

- 25 Сталеву колонку (діаметр 80 см×висота 200 см) набивали 400 кг силікагелю, і врівноважували рівноважним потоком 1000 л рухомої фази (гексан-етилацетат 10:1) при швидкості потоку 250-300 літрів на годину. 43,9 кг екстракту, який не містить смол, розбавляли гексаном (суміш ізомерів) до загальної маси 54 кг, і завантажували на колону. Елюювання відбувалося в рівноважному потоці з рухомою фазою (гексан-етилацетат 10:1) зі швидкістю потоку 250-300 літрів на годину. Збирали 11 фракцій по 100 кг кожна, які піддавали кількісному
30 аналізу методом ВЕРХ для перевірки вмісту CBD та відносної чистоти.

Результати

Фракція №	Вміст CBD (г/100 г)	Чистота CBD (% площі)
1	0,003	9,5
2	0,059	26,3
3	2,800	91,7
4	4,077	91,0
5	2,803	88,3
6	1,974	86,6
7	1,213	84,7
8	0,866	83,9
9	0,482	81,1
10	0,246	75,7
11	0,169	70,7

- 35 Фракції, які за даними ВЕРХ мали чистоту в діапазоні від 86,6 % до 91,7 % (пул фракцій високої чистоти), об'єднували для подальшого етапу кристалізації. Фракції, які мали чистоту від 81,1 % до 84,7 %, об'єднували (пули фракцій середньої чистоти), і знову очищали на колонці після об'єднання з іншими фракціями середньої чистоти, одержаних під час інших операцій хроматографії.

Перша кристалізація CBD (дивись FDL №2728PF_01_02):

- 40 69,5 кг пула фракцій високої чистоти, що надходили від двох різних очищень на силікагелі, та містили 25,27 кг CBD, збирали, фільтрували під вакуумом на полотні, завантажували у 250-літровий сталевий реактор з сорочкою, споряджений валом з мішалкою, і концентрували під вакуумом до стану олії при температурі 45 °С. Після закінчення концентрування температуру підвищували до 70 °С, і продовжували перемішування протягом 3 год. Після закінчення цього часу температуру знижували до 30 °С, і додавали 18 літрів гексану (суміш ізомерів).
45 Температуру знижували до 15-21 °С, і кристалізацію ініціювали додаванням 20 г кристалічного CBD. Далі температуру знижували до 4 °С, і всю суміш витримували з перемішуванням протягом 12 год. Суспензію видаляли з реактора, а "неочищений" кристалічний CBD

відокремлювали вакуумною фільтрацією на полотні, здійснюючи три промивання кристалічної речовини холодним гексаном загальною кількістю 12,6 л. Було одержано 20 кг вологого кристалічного CBD (з 99,22 % чистотою за даними ВЕРХ) з LOD 7,9 %, що є еквівалентним 18,4 кг висушеного продукту, та 32 кг кристалізаційного маточного розчину.

5 Виділення CBD з кристалізаційних маточних розчинів (дивись FDL №2728PF_01_02):

23 кг кристалізаційних маточних розчинів концентрували у 25-літровому скляному реакторі з сорочкою, спорядженому валом з вакуумною мішалкою, при температурі 50 °C до об'єму 19 л. Додавали 5 л гексану (суміш ізомерів), і після доведення температури до 4 °C ініціювали кристалізацію додаванням 7 г кристалічного CBD, і підтримували температуру на рівні 4 °C при перемішуванні протягом ночі. Суспензію фільтрували під вакуумом на папері, і кристалічну речовину промивали 2 л холодного гексану (суміш ізомерів).

Було одержано 3,2 кг вологої кристалічної речовини (95,94 % чистота за даними ВЕРХ).

Приклад 6: Кристалізація CBD в метилциклогексані (тест Q207F/576B).

15 25 г кристалічного CBD, одержаного за способом А згідно з прикладом 4, розчиняли при кімнатній температурі при перемішуванні в 250 мл гексану (суміш ізомерів) у 500 мл скляній колбі, спорядженій якорем магнітної мішалки, і витримували у стані спокою протягом ночі. Розчин двічі відфільтровували під вакуумом на фільтрі зі скловолокна з пористістю 0,8 мкм, і концентрували до олії із застосуванням роторного випарника при температурі 50 °C.

20 До олії додавали 50 мл метилциклогексану, і весь вміст перемішували протягом ночі при температурі 4 °C.

Суспензію фільтрували під вакуумом на Gouch (G3), і кристалічну речовину промивали 20 мл холодного метилциклогексану.

Було одержано 16,9 г вологої кристалічної речовини з 99,05 % чистотою за даними ВЕРХ та 24 г маточного розчину.

25 Приклад 7: Кристалізація CBD в гептані (тест Q207F/584).

22,1 г кристалічного CBD, одержаного за способом А згідно з прикладом 4, розчиняли при перемішуванні при температурі 38 °C в 45 мл гептану у 100 мл скляній колбі, спорядженій якорем магнітної мішалки. Температуру розчину доводили до 4 °C, і кристалізацію ініціювали шляхом додавання кристалічного CBD на кінчику шпателя, тоді як весь вміст залишали перемішуватися якорем магнітної мішалки протягом однієї ночі.

30 Суспензію фільтрували під вакуумом на Gouch (G3), і кристалічну речовину промивали двома 10 мл аліквотами холодного гептану.

Було одержано 20,1 г вологої кристалічної речовини з 99,2 % чистотою за даними ВЕРХ та 36,4 г маточного розчину.

35

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб одержання канабідіолу (CBD) або іншого нейтрального канабіноїду, де згаданий спосіб включає:

40 i) контактування біомаси, яка містить CBD та/або CBDA або згаданий інший нейтральний канабіноїд, або канабіноїд у формі карбонової кислоти, з екстракційним розчинником, протягом щонайменше 10 хв при температурі від 0 °C до температури кипіння розчинника для одержання після видалення біомаси екстракційного розчину; згаданий екстракційний розчинник вибирають з групи, яку складають пентан, гексан, гептан, октан, метилциклогексан, ацетон, пропанол, етанол, метанол, етилацетат, толуол, хлорид метилену та їх суміші;

45 з продовженням за процесом (A), що включає:

ii-a) контактування екстракційного розчину з водно-спиртовим розчином і доведення рН до 7,5-12,5 прийнятним лужним розчином, для одержання після відокремлення фаз першої водно-спиртової фази та першої органічної фази; якщо екстракційний розчинник являє собою розчинник, здатний змішуватися з водою, додають також перший розчинник, не здатний змішуватися з водою, який вибирають з групи, яку складають пентан, гексан, гептан, метилциклогексан та їх суміші;

50 iii-a) контактування першої водно-спиртової фази з другим розчинником, не здатним змішуватися з водою, і розчином кислоти, придатним для доведення рН до 2,0-6,5, для одержання другої органічної фази та другої водно-спиртової фази; згаданий другий розчинник, не здатний змішуватися з водою, вибирають з групи, яку складають пентан, гексан, гептан, метилциклогексан та їх суміші;

55 iv-a) концентрування другої органічної фази і піддавання одержаної олії нагріванню при температурі від 65 до 180 °C протягом проміжку часу тривалістю щонайменше 10 хв для здійснення декарбоксілювання CBDA до CBD;

60

або з продовженням за процесом (B), що включає:

ii-b) концентрування екстракційного розчину до одержання екстракційної олії, та контактування екстракційної олії зі спиртом при температурі нижче 20 °C протягом щонайменше 10 хв для одержання суспензії екстракту та восків, де згаданий спирт вибирають з групи, яку складають

5 метанол, етанол, пропанол та їх суміші;

iii-b) фільтрування та концентрування згаданої суспензії для одержання екстракційної олії, яка не містить восків, та контактування цієї екстракційної олії, яка не містить восків, з органічним розчинником, не здатним змішуватися з водою, та водно-спиртовим розчином, для одержання органічної фази, яка містить екстракт без восків та смол, і водно-спиртової фази, яка містить

10 смоли;

iv-b) концентрування органічної фази, яка містить екстракт без восків та смол, піддавання хроматографії на силікагелі із застосуванням відповідної фази для елюювання та збирання фракцій, які містять CBD або згаданий інший нейтральний канабіноїд;

і на завершення

15 v) кристалізацію CBD або згаданого іншого нейтрального канабіноїду з третього розчинника, не здатного змішуватися з водою, вибраного з групи, яку складають пентан, гексан, гептан, октан, метилциклогексан та їх суміші.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що біомасу вибирають із групи, яку складають Cannabis sativa, Antal, Armanca, Beniko, Bialobrzeskіe, Cannakomp, Carma, Carmagnola, Carmaleonte, Chamaeleon, Codimoro, CS, Dacia Sacuieni, Delta-Ilosa, Delta-405, Denise, Diana, Dioica 88, Eletta Campana, Epsilon 68, Fedora 17, Felina 32, Ferimon, Fibranova, Fibrol, Finola, Futura 75, Ivory, KC Bonusz, KC Dora, KC Virtus, KC Zuzuna, Kompolti, KompoltiHibrid TC, Lipko, Lovrin 110, Marcello, Markant, Monica, Rajan, Ratza, Santhica 23, Santhica 27, Santhica 70, SecuieniJubileu, Silvana, Szarvasi, Tiborszallasi, Tisza, Tygra, Uniko B, Uso-31, Wielkopolkie, Wojko, Zenit.

25

3. Спосіб за п. 1 або 2, який **відрізняється** тим, що біомасу тонко подрібнюють перед піддаванням екстракції розчинником.

4. Спосіб за будь-яким з пп. 1-3, який **відрізняється** тим, що при здійсненні процесу А екстракцію на етапі (i) проводять при утримуванні конопель в контактi з екстракційним розчинником, вибраним із групи, яку складають пентан, гексан, гептан, октан, метилциклогексан та їх суміші; при цьому як екстракційний розчинник переважно використовують гексан, і екстракцію проводять при температурі від 0 до 35 °C, переважно від 10 до 25 °C, протягом проміжку часу тривалістю щонайменше 10 хв.

30

5. Спосіб за будь-яким з пп. 1-4, який **відрізняється** тим, що при здійсненні процесу А водно-спиртовий розчин етапу (ii-a) є таким, що згаданий спирт вибирають із групи, яку складають етанол та метанол, переважно метанол, рН регулюють переважно від 8,0 до 8,5 додаванням прийняттого лужного розчину.

35

6. Спосіб за будь-яким з пп. 1-5, який **відрізняється** тим, що при здійсненні процесу А рН етапу (iii-a) регулюють переважно від 4,5 до 5,5 додаванням розчину оцтової кислоти.

40

7. Спосіб за будь-яким з пп. 1-5, який **відрізняється** тим, що при здійсненні процесу А першу органічну фазу, одержану в кінці етапу (ii-a), піддають етапам (ii-b)-(iv-b) процесу В, і CBD, одержаний подібним чином, потім піддають кристалізації.

8. Спосіб за будь-яким з пп. 1-3, який **відрізняється** тим, що при здійсненні процесу В екстракцію на етапі (i) проводять при утримуванні конопель в контактi з екстракційним розчинником, вибраним із групи, яку складають ацетон, пропанол, етанол, метанол, етилацетат, толуол, н-гексан або суміші ізомерів гексану, при температурі кипіння розчинника протягом щонайменше 10 хв.

45

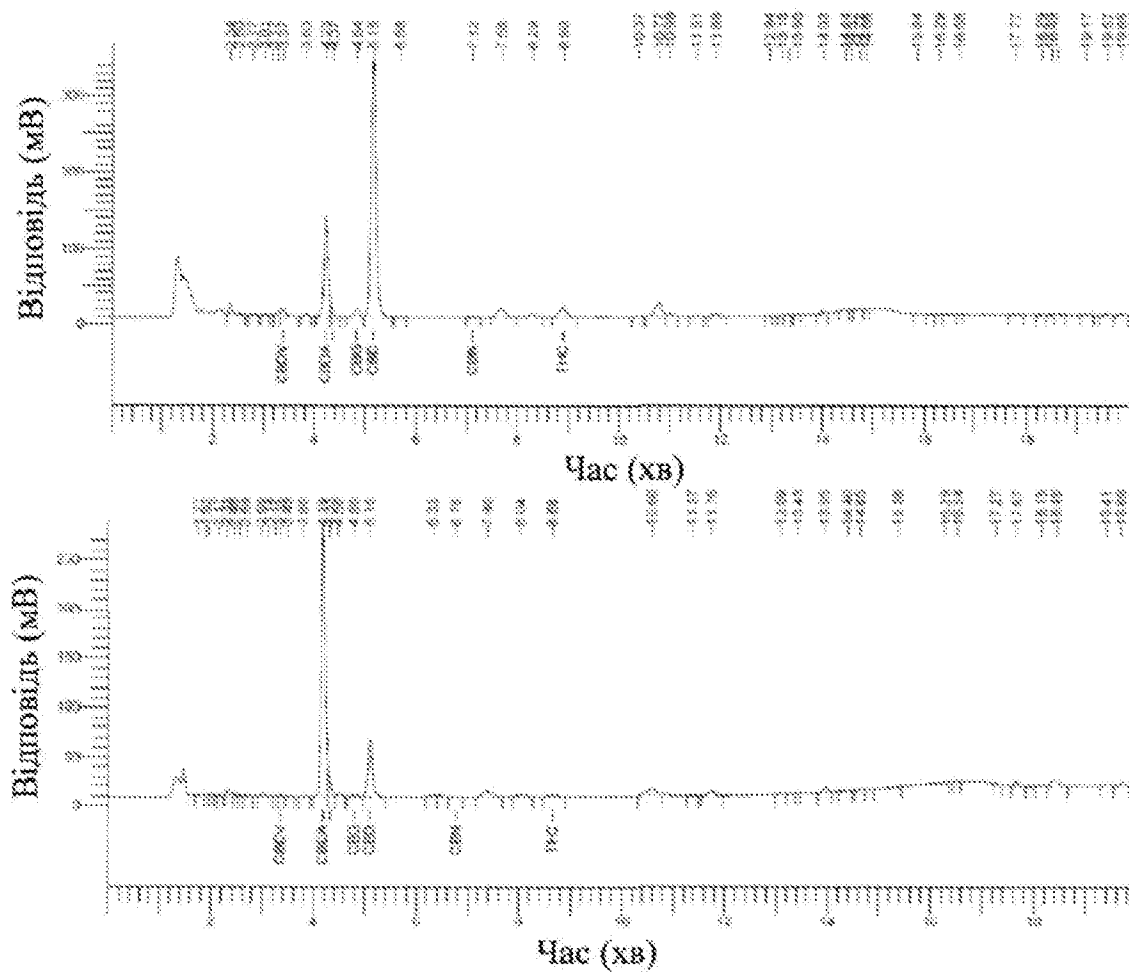
9. Спосіб за будь-яким з пп. 1-3 і 8, який **відрізняється** тим, що при здійсненні процесу В спирт, використовуваний на етапі (ii-b), являє собою метанол, з одночасним підтриманням температури 4-10 °C, переважно 4 °C, протягом проміжку часу тривалістю щонайменше 10 хв.

50

10. Спосіб за будь-яким з пп. 1-3 і 8-9, який **відрізняється** тим, що при здійсненні процесу В на етапі (iii-b) смоли видаляють з екстракційної олії, яка не містить воску, додаванням при перемішуванні розчинника, який вибирають із групи, яку складають толуол, пентан, гексан, гептан, октан та їх суміші; переважно гексану і водно-спиртового розчину, де спирт зазвичай вибирають із групи, яку складають етанол та метанол; переважним є метанол.

55

11. Спосіб за будь-яким з пп. 1-3 та 8-10, який **відрізняється** тим, що відповідно до процесу В фаза для елюювання на етапі (iv-b) являє собою суміш гексану (н-гексан або суміш ізомерів) і етилацетату, переважно у співвідношенні від 20:1 до 5:1.



Фіг.