



Patent dodatkowy  
do patentu nr \_\_\_\_\_

Zgłoszono: 14.10.77 (P. 201522)

Pierwszeństwo: 15.10.76 Republika  
Federalna Niemiec

Zgłoszenie ogłoszono: 25.09.78

Opis patentowy opublikowano: 29.11.1980

Int. Cl.<sup>2</sup> A61K 35/78  
A61K 31/58  
C07D 317/70

Twórca wynalazku \_\_\_\_\_

Uprawniony z patentu: Dr. Madaus u. Co., Kolonia (Republika Federalna  
Niemiec)

### Sposób otrzymywania kwasów aristolochialowych

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania kwasów aristolochialowych z gatunków *Aristolochia* przez ekstrakcję.

W przypadku kwasów aristolochialowych chodzi o roślinne substancje naturalne z grupą nitrową przy szkielecie fenantrenowym. Jako kwasy nitrofenantrenokarboksylowe występują one w licznych gatunkach *Aristolochiaceae*. Jest to mieszanina kwasów, przy czym struktura kwasów występujących w *Aristolochia clematitis* (L) jest chemicznie w znacznym stopniu wyjaśniona.

Kwasy aristolochialowe są bardzo interesujące pod względem chemicznym i farmakologicznym i stanowią cenne środki lecznicze. Powstrzymują one szczególnie wzrost nowotworów i pobudzają fagocytozę.

Do wytwarzania większych ilości kwasów aristolochialowych w naszej szerokości geograficznej jest do dyspozycji jako materiał wyjściowy w zasadzie *Aristolochia clematitis* (L). Chodzi przy tym w szczególności o korzenny surowiec do wyrobu leków, który ma dużą zawartość kwasów aristolochialowych. Korzenie zawierają w przybliżeniu pięć- do sześciu razy tyle kwasów, co liście i pozostałe części roślin, przy czym rzeczywista zawartość podlega jeszcze silnym wahaniom, zależnym od pory roku. Dobry handlowy surowiec do wyrobu leków może zawierać do 0,6% kwasów aristolochialowych.

Główny składnik mieszaniny kwasów aristolochialowych stanowią związki o wzorach strukturalnych

2

1 i 2. Kwas aristolochialowy o wzorze 1 stanowi kwas 3,4-metylenodioksy-8-metoksy-10-nitrofenantreno-1-karboksylowy. Kwas aristolochialowy o wzorze 2 różni się od kwasu aristolochialowego o wzorze 1 tym, że nie zawiera grupy metoksylowej. Jest to kwas 3,4-metylenodioksy-10-nitrofenantreno-1-karboksylowy.

Z uwagi na korzystne działanie farmakologiczne istnieje duże zapotrzebowanie na kwasy aristolochialowe. Znane są różne sposoby wydzielania składnika czynnego surowca do wyrobu lekarstw. Należy przy tym wskazać w szczególności następujące publikacje:

Według W. Schunack'a et al, *Pharmazie* 20, str. 685—688, 1965, poddaje się *Radix Aristolochia longae* najpierw ekstrakcji za pomocą eteru naftowego, a następnie poddaje obróbce etanolem albo mniej polarnym rozpuszczalnikiem, takim jak benzen, chlorek metylenu. Jako szczególnie korzystną opisano kwaśną ekstrakcję za pomocą chlorku metylenu i rozcieńczonego kwasu siarkowego albo chlorku metylenu i kwasu mrówkowego. Otrzymany ekstrakt wytrząsa się z 2% ługiem sodowym i następnie zakwasza rozcieńczonym kwasem siarkowym. Ten sposób ma poważne wady, ponieważ jest bardzo uzależniony od surowca i prowadzi niekiedy do otrzymania mazistych produktów.

W japońskim opisie patentowym nr 27 834 171 opisano sposób ekstrakcji *Aristolochia debilis*. Według tego ujawnienia wytwarza się z surowca ekstrakt

za pomocą wody amoniakalnej, ten ekstrakt poddaje się chromatografii kolumnowej, przy czym środek eluujący składa się w głównej ilości z chloroformu i dodatków butanolu i kwasu octowego, oddziela się frakcję produktu, i produkt wydziela się z frakcji. Ten sposób, przede wszystkim jednak znany proces ekstrakcji surowca za pomocą wodnego roztworu ługu sodowego, jest niekorzystny, ponieważ przy tym materiał roślinny szybko pęcznieje, tak że pierwotne kwasy nie mogą być dostatecznie szybko wyługowane jako sól i tym samym pozostają zbyt długo w środowisku alkalicznym, gdzie podlegają one rozkładowi opisanemu już przez Pailer'a.

Według opisu patentowego RFN nr 1 186 980 ekstrahuje się *Radix Aristolochiae* chloroformem, chlorkiem metylenu albo eterem, z otrzymanego w ten sposób roztworu ekstrahuje się kwasy aristolochialowe w postaci soli przez wytrąsanie z alkalicznym roztworem wodnym, produkt wytrąca się ponownie przez zakwaszenie i ewentualnie przekryształizowuje. Ten sposób ma tę wadę, że jest bardzo uzależniony od stopnia wysuszenia i stanu zastosowanego surowca. Otrzymuje się z reguły maziste mieszaniny substancji, przesycone produktami rozkładu.

Według opisu patentowego RFN nr 1 768 090 ekstrahuje się za pomocą mieszającego się z wodą alkoholu albo ketonu o zawartości wody 40—60% w podwyższonej temperaturze, otrzymany roztwór, zawierający wodę, odsąca się na gorąco, następnie oziębia i potem roztwór zadaje się 3—5% dwumetyloformamidu i zakwasza kwasem mineralnym do wartości pH = 2—3 i następnie doprowadza do krystalizacji kwasu aristolochialowego, pozostawiając w spokoju.

Wadą tego sposobu jest to, że trzeba stosować mieszaniny złożone z wody i organicznych rozpuszczalników mieszających się z wodą, tak że rozpuszczalniki organiczne praktycznie są stracone. Oprócz tego w ostrych warunkach wytrącania lub krystalizacji, przy zbyt silnie kwaśnym środowisku występują produkty rozkładu.

Sposób według wynalazku pozwala otrzymać w prosty sposób szczególnie czysty produkt z wysoką wydajnością.

Sposobem według wynalazku a) surowiec ekstrahuje się trzykrotnie za pomocą wodnego roztworu drugorzędowego albo trzeciorzędowego fosforanu metalu alkalicznego lub wodnego roztworu wodorowęglanu sodu przy pH = 8—9, b) otrzymany ekstrakt zakwasza się za pomocą nie utleniającego kwasu nieorganicznego do pH = 5—3, c) utworzony osad ekstrahuje się za pomocą estru alifatycznego kwasu karboksylowego o 1—5 atomach węgla i alkoholu o 1—4 atomach węgla, od ekstraktu odsąca się składniki nierozpuszczalne, d) otrzymany roztwór organiczny ekstrahuje się za pomocą wodnego roztworu alkaliów, e) alkaliczny ekstrakt zakwasza się za pomocą nieorganicznego nie utleniającego kwasu do wartości pH = 5—3, i wytrącone kwasy aristolochialowe ewentualnie przekryształizowuje się z mieszaniny, złożonej z N,N-dwumetyloformamidu i mieszaniny alkoholu o 1—10 atomach węgla i estru kwasu karboksylowego o 1—10 atomach węgla z alkoholem o 1—10 atomach węgla.

Korzystna forma przeprowadzenia procesu sposobem według wynalazku polega na tym, że w etapie a) surowiec do wyrobu lekarstwa *Radix Aristolochiae* clematitis ekstrahuje się za pomocą około 0,06 molarowego wodnego roztworu  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , w etapie b) otrzymany ekstrakt zakwasza się za pomocą rozcieńczonego kwasu siarkowego, kwasu solnego albo kwasu fosforowego do wartości pH = 4,0, w etapie c) utworzony osad ekstrahuje się za pomocą octanu etylu, od ekstraktu odsąca się składniki nierozpuszczalne, w etapie d) otrzymany roztwór ekstrahuje się za pomocą 0,1 n wodnego roztworu wodorotlenku sodu, w etapie e) ekstrakt zakwasza się za pomocą rozcieńczonego kwasu siarkowego do wartości pH = 4,0 i wytrącone kwasy aristolochialowe przekryształizowuje się z N,N-dwumetyloformamidu, który zawiera 20% mieszaniny złożonej z metanolu i octanu etylu w stosunku 2:1, w odniesieniu do użytego N,N-dwumetyloformamidu.

Osad z etapu c) procesu stanowi mieszaninę surowych kwasów z zawartością wody około 60—90%, korzystnie około 80%. Ten zawierający wodę surowy kwas rozprawdza się korzystnie bardzo mało w rozpuszczalniku organicznym, korzystnie w zdefiniowanym wyżej estrze kwasu karboksylowego o 1—10 atomach węgla i alkoholu o 1—10 atomach węgla, silnie mieszając, np. za pomocą Turrax'u. Korzystnie stosuje się ester metylowy, etylowy, propylowy, butylowy i izobutylowy kwasu octowego i odpowiednie estry kwasu mrówkowego, propionowego, masłowego i walerianowego, szczególnie korzystny jest octan etylu.

Osad rozpuszcza się korzystnie w 100- do 200-krotnej ilości wagowej wymienionych estrów, korzystnie w octanie etylu, w odniesieniu do zawierającego wodę osadu. Szczególnie korzystne jest zastosowanie 150- do 200-krotnej ilości wagowej octanu etylu, w odniesieniu do zawierającego wodę osadu.

Surowiec ekstrahuje się ogółem trzy razy słabo alkalicznie i następnie przemywa dodatkowo jeden raz wodą. Tę ekstrakcję alkaliczną można przeprowadzić za pomocą wodnego roztworu substancji reagującej alkalicznie, korzystnie roztworu rozcieńczonego. Jako substancje reagujące alkalicznie stosuje się drugorzędowy i trzeciorzędowy fosforan metalu alkalicznego, wodorowęglany metali alkalicznych oraz ewentualnie wodny roztwór etanoloaminy i trójetanoloaminy i podobne. Szczególnie korzystny jest rozcieńczony wodny roztwór  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , korzystnie stosuje się 0,03—0,3 mowowy, w szczególności 0,06 mowowy roztwór tej soli. Ekstrakcję można również przeprowadzić za pomocą wodnego roztworu wodorowęglanu sodu, korzystnie drugorzędowego albo trzeciorzędowego fosforanu sodu itp.

W zasadzie do pierwotnej ekstrakcji kwasów aristolochialowych z korzennego surowca, jak wspomniano wyżej, nadają się wodne roztwory zasadowe albo słabozasadowe. W znanych sposobach występują jednakże w każdym przypadku poważne trudności przy dalszym oczyszczaniu i krystalizacji. Dopiero przez odpowiedni dobór etapów procesu według wynalazku udało się przezwyciężyć te trudności i uniknąć powstawania produktów rozkładu.

Do ekstrakcji wprowadza się mialko zmielony, nieodtłuszczony korzeniowy surowiec. Przez ekstrakcję w zakresie pH = 8—9, korzystnie 8—8,5, w środowisku wodnym staje się zbędne wstępne odtłuszczenie.

Nieoczekiwany jest fakt, że warunki ekstrakcji, stosowane w procesie według wynalazku nie prowadzą do dekarboksylacji kwasów aristolochialowych, jak tego należało oczekiwać według dotychczasowej znajomości zachowania kwasów aristolochialowych.

Stosunek surowca do środka ekstrakcyjnego ustala się na około 1:5 do 1:10 (g/v). Ekstrakcję można przeprowadzić według zasady przepływu wirowego z ciągłym dodawaniem i zwracaniem surowca przy odbieraniu ekstrahowanego materiału przez połączenie dzielące do dekantera.

Opisaną w etapie d) ekstrakcję roztworu można przeprowadzić korzystnie w postaci ekstrakcji przeciwwądowej.

Otrzymany w etapie a) ekstrakt z surowca zakwasza się za pomocą kwasu, korzystnie kwasu mineralnego, szczególnie korzystnie za pomocą kwasu siarkowego. Według szczególnie korzystnej postaci wykonania wynalazku zakwasza się przy jednoczesnym mieszanym za pomocą kwasu siarkowego do pH = 3—5, a zwłaszcza 4,0—4,5. Wytrącają się przy tym surowe kwasy w postaci delikatnego osadu. Poddaje się je następnie dalszej obróbce w sposób wyżej opisany.

Opisane w etapie e) zakwaszenie ekstraktu otrzymanego w etapie d), przeprowadza się korzystnie za pomocą kwasu mineralnego, szczególnie korzystnie za pomocą kwasu siarkowego, silnie mieszając. Korzystne jest pozostawienie zakwaszonego ekstraktu przez pewien czas w spokoju, aby ułatwić wzrost cząstek oczyszczonych kwasów aristolochialowych. Osad oddziela się następnie np. przez odwirowanie albo sączenie i suszy pod zmniejszonym ciśnieniem w podwyższonej temperaturze, korzystnie 70—80°C.

Otrzymany żółty produkt można stosować bezpośrednio albo poddać dalszemu oczyszczaniu przez przekrystalizowanie. Przekrystalizowanie przeprowadza się korzystnie z zastosowaniem mieszaniny dwumetyloformamidu i wody. Korzystnie stosuje się dwumetyloformamid, do którego dodaje się określoną ilość mieszaniny, złożonej z alkoholu o 1—10 atomach węgla i estru kwasu karboksylowego o 1—10 atomach węgla w określonym stosunku mieszania, korzystnie 2:1.

Dwumetyloformamid z dodatkiem 10—30%, zwłaszcza 20%, mieszaniny metanolu i octanu etylu w stosunku 2:1 jest szczególnie korzystny.

Wydajność wykrystalizowanych kwasów waha się w zależności od użytego i wynosi na ogół 0,1—0,5%, w odniesieniu do wyjściowego surowca.

Wykrystalizowane kwasy składają się w zasadzie z kwasu aristolochialowego o wzorze 1 i kwasu aristolochialowego o wzorze 2 w stosunku 2:1, przy czym mogą występować wahania  $\pm 20\%$  w zależności od surowca.

Zastosowane tutaj określenie „kwasy mineralne” obejmuje wszystkie zwykle stosowane nieutleniające kwasy nieorganiczne, takie jak kwas siarkowy, kwas fosforowy, kwas chlorowodorowy itp.

Jako surowiec do wyrobu lekarstwa nadają się wszystkie gatunki *Aristolochia*, które zawierają kwasy aristolochialowe. Należą do nich np. *Radix Aristolochia longae*, *Aristolochia clematitis*, *Aristolochia debilis*, *Aristolochia contorta*, *Aristolochia kaempfer*, *Aristolochia manshuriensis*, *Aristolochia fangdu*, *Aristolochia westlandi*, *Aristolochia griffithii* i *Aristolochia argentina*.

Szczególnie korzystne jest zastosowanie *Aristolochia clematitis*.

W porównaniu ze znanymi sposobami, sposób według wynalazku ma tę zaletę, że pozwala uzyskać w prostszy sposób 100% wydajność substancji czynnej o lepszej jakości niż dotychczas.

Następujący przykład wyjaśnia wynalazek.

Przykład. 100 g mialko zmielonego surowca *Aristolochia clematitis* ekstrahuje się każdorazowo w ciągu 1 godziny na Turrax'ie za pomocą wodnego roztworu II-rzędowego fosforanu sodu (11,9 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ /litr). Pierwszą i drugą ekstrakcję przeprowadza się za pomocą każdorazowo 2 litrów tego roztworu, trzecią ekstrakcję za pomocą 1 litra. Po trzykrotnej ekstrakcji surowiec odwirowuje się i następnie wymywa za pomocą 1 litra wody. Roztwór ekstraktu łączy się z wodą z przemywania i po wyklarowaniu przy jednoczesnym silnym mieszanym nastawia za pomocą kwasu siarkowego na wartość pH = 4. Pozostawiony w spokoju w ciągu nocy strącony osad odwirowuje się, następnie pozostałość wprowadza się mieszając do 600 ml octanu etylu i ekstrahuje w ciągu 1/2 godziny na Turrax'e w temperaturze pokojowej. Następnie fazę octanu etylu klaruje się i ekstrahuje trzykrotnie za pomocą każdorazowo 300 ml 0,1 n roztworu wodorotlenku sodu w przeciwwądzie. Z połączonych roztworów alkalicznych wytrąca się kwasy aristolochialowe przez zakwaszenie za pomocą kwasu siarkowego do pH = 4. Osad pozostawiony w spokoju w ciągu nocy, odwirowuje się i suszy.

Wydajność wynosi 0,540 g.

Podczas ekstrakcji surowca za pomocą wodnego roztworu fosforanu sodu nie potrzeba nastawiać dodatkowo wartości pH. Po pierwszej i drugiej ekstrakcji zakres pH wynosi 7—7,5 i wzrasta przy trzeciej ekstrakcji do pH = 8.

Otrzymany kwas surowy przekrystalizowuje się z N,N-dwumetyloformamidu z dodatkiem 20%, w odniesieniu do użytego N,N-dwumetyloformamidu, mieszaniny metanolu i octanu etylu w stosunku 2:1.

Zakres temperatury topnienia wynosi 273—290°C z rozkładem.

Widmo podczerwone przedstawia fig. 1 na załączonym rysunku.

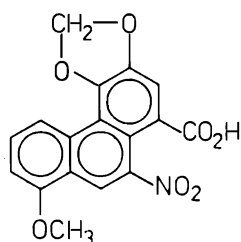
#### Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania kwasów aristolochialowych z gatunków *Aristolochia* przez ekstrakcję alkaliczną suchego materiału roślinnego, **znamienny tym**, że surowiec ekstrahuje się trzykrotnie za pomocą wodnego roztworu drugorzędowego albo trzeciorzędowego fosforanu metalu alkalicznego lub wodnego roztworu wodorowęglanu sodu przy pH = 8—9, otrzymany ekstrakt zakwasza się za pomocą nie utleniającego kwasu nieorganicznego do pH =

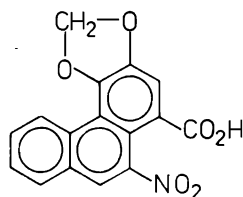
= 5—3, następnie utworzony osad ekstrahuje się za pomocą estru alifatycznego kwasu karboksylowego o 1—5 atomach węgla i alkoholu o 1—4 atomach węgla, od ekstraktu odsąca się składniki nierozpuszczalne, otrzymany roztwór organiczny ekstrahuje się za pomocą wodnego roztworu alkaliów, następnie alkaliczny ekstrakt zakwasza się za pomocą nieorganicznego nie utleniającego kwasu do wartości pH = 5—3, i wytrącone kwasy aristolochialowe ewentualnie przekształca się z mieszaniny, złożonej z N,N-dwumetyloformamidu i mieszaniny alkoholu o 1—10 atomach węgla i estru kwasu karboksylowego o 1—10 atomach węgla.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że Radix Aristolochia clematitis ekstrahuje się za po-

mocą około 0,06 molowego wodnego roztworu  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , otrzymany ekstrakt zakwasza się za pomocą rozcieńczonego kwasu siarkowego, kwasu solnego albo kwasu fosforowego do wartości pH = 4,0, po czym utworzony osad ekstrahuje się za pomocą octanu etylu, od ekstraktu odsąca się składniki nierozpuszczalne, otrzymany roztwór ekstrahuje się za pomocą 0,1 n wodnego roztworu wodorotlenku sodu, ekstrakt zakwasza się za pomocą rozcieńczonego kwasu siarkowego do wartości pH = 4,0 i wytrącone kwasy aristolochialowe przekształca się z N,N-dwumetyloformamidu, który zawiera 20% mieszaniny złożonej z metanolu i octanu etylu w stosunku 2:1, w odniesieniu do użytego N,N-dwumetyloformamidu.



WZÓR 1



WZÓR 2

