



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

208351

(11) (B1)

(22) Přihlášeno 13 02 74

(21) (PV 1000-74)

(40) Zveřejněno

(45) Vydáno 01 01 83

(51) Int. Cl.³
C 07 D 519/02
C 07 D 457/00

(75)

Autor vynálezu

BERAN MILOŠ RNDr. CSc., ZIKÁN VIKTOR ing. CSc.,
ČERNÝ ANTONÍN RNDr. CSc.,
SEMONSKÝ MIROSLAV doc. dr. ing. DrSc., PRAHA,
KROPÁČEK PAVEL ing., ELIS TOMÁŠ ing., KRAJÍČEK ALOIS PhMr.
a BERKA JAROSLAV PhMr., OPAVA

(54) Způsob isolace alkaloidů námele

Předmětem vynálezu je způsob isolace surového souhrnu alkaloidů polypeptidového typu a ergometrinu z námele, který umožňuje, za užití snadno dostupných pomocných látek, získat řečené alkaloidy ve vysokém výtěžku a ve vysokém stupni čistoty.

Isolace biologicky účinných složek námele (*Secale cornutum*), alkaloidů polypeptidového typu označovaných jako alkaloidy ve vodě nerozpustné, a ergometrinu, označovaného jako alkaloid ve vodě rozpustný, je předmětem řady prací a patentů. Tyto práce jsou z největší části zaměřeny v první fázi isolace na získání více, nebo méně komplikovaných surových směsí řečených alkaloidů, které jsou pak, v další pracovní fázi, zpracovány na jednotlivé čisté alkaloidy, resp. alkaloid. Nejvýhodnější způsob zpracování námele je pochopitelně takový, který, bez časové i materiálově náročné odtučňování drogy, dovoluje získat z ní, v maximálních výtěžcích, všechny prakticky cenné alkaloidy, a to v první fázi práce, ve formě co nejčistších surových souhrnů, resp. surových alkaloidů. Tyto požadavky na izolaci alkaloidů z námele jsou nutně spojeny s použitím takového průmyslově snadno přístupného extrakčního činidla, nebo směsi rozpouštědel, ve kterém jsou námelové alkaloidy pokud možno dobře rozpustné, a ve kterém jsou současně nealkaloidní obsahové látky drogy rozpustné v míře co nejmenší.

Protože alkaloidy jsou v námelu obsaženy převážně ve formě solí s různými organickými a anorganickými kyselinami, existují principiálně dva způsoby jejich extrakce. Buď se rozemletá, odtučněná nebo neodtučněná droga zalkalísuje a ze soli uvolněné base se pak vyjmají do organického rozpouštědla nebo jejich směsí (např. viz náš čl. taj. pat. č. 1228), nebo se rozemletá droga extrahuje vodou, nebo vodným roztokem anorganické nebo organické kyseliny a soli alkaloidů přecházejí do vodného roztoku. Tak např. postupují Božko N. G., Kolesnikov D. G. a Savenko S. M. (SSSR pat. 177039), kteří použili k extrakci drogy zředěnou kyselinu solnou a polský pat. č. 61,719, dle něhož je námel macerován nejprve 2–4% vodným roztokem kyseliny vinné a pak extrahován 0,5–1,0%ním vodným roztokem téže kyseliny. Výhodou vodné extrakce solí alkaloidů z drogy je nevýznamná cena extrakčního činidla, jeho nejedovatost a nehořlavost. Na druhé straně však tento způsob extrakce námele, zvláště drogy neodtučněné, přináší s sebou, zvláště při průmyslovém zpracování námele, řadu nevýhod a obtíží. Extrakce vodou, resp. zředěnými vodnými roztoky kyselin, probíhá velmi pomalu vzhledem k těžké prostupnosti neodtučněné drogy vodou a bobtnání celulosových složek námele. Získané extrakty alkaloidů jsou kalné, znečištěné koloidně rozptýlenými balastními látkami, což působí často mimo-

208351

řádne potíže při následném zpracování extraktů tvorbou neúplně se dělicích emulzí. Časová a manipulační náročnost takových extrakčních a isolačních postupů je pochopitelně spojena se značnými ztrátami požadovaných alkaloidů v důsledku jejich rozkladu vlivem vzdušného kyslíku, hydrolysy, světla atd.

Jak jsme našli, lze výše zmíněné nedostatky zpracování námele na surové alkaloidy eliminovat použitím vody ve směsi s alkoholy, nebo s dalšími s vodou se mísícími organickými rozpouštědly, a to bez předchozí úpravy drogy alkáliemi či kyselinami. Tento pracovní postup dovoluje získat v ekonomicky vyhovujícím výtěžku surové souhrny alkaloidů polypeptidového typu ve vysokém stupni čistoty a rovněž ve vysokém výtěžku ve vodě rozpustný ergometrin. Přitom se jedná o postup průmyslově dobře využitelný.

Postup podle vynálezu spočívá v extrakci odtučněného nebo neodtučněného rozemletého námele roztokem organické nebo anorganické kyseliny ve směsi vody s organickým rozpouštědlem mísitelným s vodou, nebo se směsí takových rozpouštědel, s výhodou 0,2% ním roztokem dihydrátu kyseliny oxalové v 50% ním vodném ethanolu, načež se ze získaných extraktů alkalizací uvolněné base alkaloidů vyjmou do organického rozpouštědla nemísitelného s vodou, nebo do směsi takového organického rozpouštědla s vyšším alkoholem (C_3-C_8) nebo s jejich směsí, výhodně do směsi toluenu s n-butanolem nebo s technickou přiboudlinou, a z takto získaného extraktu, se po jeho protřepání vodou, vyjmou alkaloidy do vodného roztoku anorganické nebo organické kyseliny, výhodně do roztoku kyseliny fosforečné, a získaný roztok solí alkaloidů se zpracuje známým způsobem na souhrn alkaloidů peptidového typu a na ergometrin případně další alkaloidy ve vodě rozpustné, při čemž rovněž známým způsobem se zpracuje na alkaloidy ve vodě rozpustné výše zmíněný vodný výtřepek.

Použití roztoků organických nebo anorganických kyselin, např. kyseliny oxalové, ve směších vody např. s alkoholy, jako s ethanolem, nebo methanolem, k extrakci drogy poskytne i za užití jemně mleté a neodtučněné drogy extrakty prakticky čiré, dobře dále zpracovatelné. Extrakce alkaloidů probíhá velmi rychle, bobtnání drogy je omezeno na nejmenší míru, hmota drogy je dobře prostupná pro extrakční činidlo a oddělování extraktu z drogy je snadné a rychle realizovatelné, např. filtrací přes látkový filtr.

V případě užití ethanolu lze použití jak ethanol kvasný, tak syntetický, denaturovaný či čistý.

Surové souhrny alkaloidů peptidového typu jsou postupem dle vynálezu získávány, v závislosti na počtu stacionárně prováděných extrakcí, ve vysokém až v téměř teoretickém výtěžku, stejně tak je tomu i v případě alkaloidů ve vodě rozpustných. Přitom získané souhrny alkaloidů ve vodě nerozpustných jsou zatíženy, dle povahy drogy, jen malým množstvím nealkaloidních látek (asi 5–20%). Způsob extrakce alkaloidů z námele

postupem dle vynálezu je rovněž optimální z hlediska stability alkaloidů, např. pH spojených prvních tří extraktů se pohybuje, za užití 0,2% ním roztoku dihydrátu kyseliny oxalové v 50% ním vodném ethanolu k extrakci drogy, mezi 3,5 až 4,0. Toto pH přitom prakticky nepodporuje bobtnavost námele.

Bobtnavost drogy při extrakci je, jak jsme našli, ve vysoké míře závislá na pH extrakčního činidla, resp. na koncentraci kyseliny ve směších užitých rozpouštědel. S klesajícím pH extrakčního činidla stoupá i bobtnavost extrahované drogy a tím i obtížnost oddělování drogy od extraktu.

Aplikace postupu dle vynálezu bez užití kyseliny oxalové, resp. jiné kyseliny, k extrakci alkaloidů z drogy vede ke zřetelnému snížení výtěžku surového alkaloidu, resp. alkaloidů (o ca 10%).

Při vyjímání basí námelových alkaloidů uvolněných alkalizací kyselých, např. vodněalkoholických extraktů, do organického rozpouštědla nemísícího se s vodou, je tvorba emulzí za podmínek vynálezu prakticky nevýznamná. Rozpouštědla používaná nejčastěji k takovému vyjímání jsou např. ether, benzen, dichlorethan a další chlorované uhlovodíky. Uvedená rozpouštědla vyjímají sice z extraktů base námelových alkaloidů takřka selektivně, avšak rozpustnost alkaloidů v nich je relativně nízká. Některá z uvedených rozpouštědel jsou nevhodná ze zdravotních důvodů (benzen), jiná z bezpečnostních důvodů (např. ether), jiná z důvodů poměrně vysoké ceny (např. chloroform). Jak jsme našli, rozpustnost námelových alkaloidů ve vodě nerozpustných i rozpustných v toluenu lze řádově zvýšit přidávkou 10–50% vyššího alifatického alkoholu (C_3-C_8 – alkoholu), nebo směsí takových alkoholů jako je v podstatě technická přiboudlina, výhodně např. přidávkou 20% n-butanolu.

Dalším překvapivým zjištěním je, že při vytřepávání např. amoniakem alkalizovaného vodněalkoholického extraktu organickým rozpouštědlem nemísícím se s vodou nebo jeho směsí s vyšším alkoholem, zůstává největší část barviv přítomných v extraktu ve zbylé vodné fázi, takže organický výtřepek obsahující alkaloidy je téměř bezbarvý, nebo jen slabě zbarvený.

Organický výtřepek získaný postupem dle vynálezu obsahuje též malé množství methanolu či ethanolu použitého původně ve směsi s vodou k extrakci drogy. Před dalším zpracováním organického výtřepku alkaloidů je účelné odstranit z něho většinu přítomného methanolu či ethanolu jejich vytřepáním do vody. Takto upravený organický extrakt alkaloidů je pak vhodný pro další zpracování, tj. vyjmutí basí do vodného roztoku anorganické nebo organické kyseliny. Pro tento účel se zvláště z hlediska rychlosti vyjímání alkaloidů do vodné fáze, a rychlosti dělení fází, osvědčil roztok kyseliny fosforečné, např. 1% ním roztok této kyseliny. Použití vodných roztoků kyseliny vinné, často používané k obdobným účelům, je z hlediska zmíněných parametrů méně výhodné.

Z vodně kyselých výtřepků, po případném jejich zahuštění ve vakuu, se izolují alkalisací, např. amoniakem, ve vodě nerozpustné base.

Ergometrin lze získat, spolu s dalším malým podílem alkaloidů polypeptidového typu, z vodných matečných louhů po oddělení hlavního podílu posléze řečených alkaloidů některým ze známých pracovních postupů např. podle W. A. Jacobse a L. C. Craiga [Science **82**, 16 (1935)]. Celkové množství izolovaných alkaloidů a alkaloidů zachycených analyticky v matečných loužích se pohybuje kolem 90–95% (při třech stacionárně provedených extrakcích). Např. v případě zpracovávání námele ergotaminového typu získá se ergotamin, v závislosti na počtu stacionárně prováděných extrakcí, ve výtěžku 87% a 94% (dvě a tři extrakce), a to ve formě surového produktu obsahujícího asi 85% řečeného alkaloidu. Stejně úspěšně lze postup podle vynálezu aplikovat na zpracování námele ergokristinového typu, ergokornin-ergokryptinového typu a další.

Bližší podrobnosti postupu izolace alkaloidů z námele podle vynálezu vyplývají z následujících příkladů.

1. Isolace surových alkaloidů z námele ergotaminového typu

Rozemletý, neodtučněný námel, 1 kg, obsahující celkem 5,2 g sumy alkaloidů vyjádřených jako ergotamin, z toho 4,6 g ergotaminu, byl extrahován, za míchání, nejprve 3 hod. 6000 ml, pak dvakrát po dvou hod. vždy 3000 ml 50%ního vodného roztoku ethanolu obsahujícího 0,2% dihydrátu kyseliny oxalové. Spojené extrakty, získané vždy odsátím drogy, byly upraveny koncentrovaným vodným amoniakem na pH 8 a uvolněné base byly vyjmuty vytřepáním (2 × 5500 ml, 1 × 4500 ml) do směsi toluenu s 20% (obj.) n-butanolu. Spojené světle žluté zbarvené organické extrakty byly vytřepány 3 × 4000 ml vody. Alkaloidy byly pak z organické fáze vyjmuty do 1%ního vodného roztoku kyseliny fosforečné, (vytřepáno až vodný podíl nedával již pozitivní reakci na námelové alkaloidy dle Keller-Kilianho) spojené kyselé výtřepky byly po zahuštění za

sníženého tlaku a teploty lázně 35 °C zalkalisovány koncentrovaným vodným roztokem amoniaku, vyloučené base byly odsáty, promyty malým množstvím chladné vody a sušeny na vzduchu při teplotě místnosti, za vyloučení přímého světla. Byly získány 5,4 g surového ergotaminu o obsahu 80 % ergotaminu, tzn. že bylo izolováno 94% v droze přítomného ergotaminu. Vysušený souhrn je 89,0%ní.

Vodný matečný louh po alkaloidech ve vodě nerozpustných získaný odsátím a promytím vyloučených basí a výše zmíněný vodný výtřepok byly zpracovány na další podíl alkaloidů polypeptidového typu a na ergometrin, např. způsobem uvedeným v čl. patentu č. 85995.

Celkem bylo z drogy vyjmuta 93,4% v ní analyticky nalezené sumy alkaloidů.

2. Isolace surových alkaloidů z námele ergokristinového typu

Rozemletý, neodtučněný námel, 1 kg, obsahující celkem 2,84 g sumy alkaloidů vyjádřených jako ergokristin, z toho 2,5 g ergokristinu, byl zpracován způsobem uvedeným v příkladu 1.

Byly získány 2,8 g surového ergokristinu o obsahu 87% ergokristinu, tzn. že bylo izolováno 97,6% v droze přítomného ergokristinu. Vysušený surový ergokristin je 91,5%ní.

Celkem bylo z drogy vyjmuta 97% v ní analyticky nalezené sumy všech alkaloidů.

3. Isolace surových alkaloidů z námele ergokornin-ergokryptinového typu

Rozemletý, neodtučněný námel, 1 kg, obsahující celkem 4,13 g sumy alkaloidů vyjádřených jako ergokornin, z toho 3,67 g směsi ergokorninu a ergokryptinu (vyjádřeno jako ergokornin), byl zpracován způsobem uvedeným v příkladu 1.

Byly získány 4,3 g směsi surových ergokorninu a ergokryptinu o obsahu 75,5%, tzn. že bylo izolováno 88,6 % v droze přítomných ergokorninu a ergokryptinu. Vysušený surový souhrn alkaloidů je 80,2%ní.

Celkem bylo z drogy vyjmuta 92% v ní analyticky nalezené sumy všech alkaloidů.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob izolace alkaloidů námele vyznačený tím, že odtučněný nebo neodtučněný, rozemletý námel se extrahuje roztokem organické nebo anorganické kyseliny ve směsi vody s organickým rozpouštědlem mísitelným s vodou, nebo se směsí takových rozpouštědel, s výhodou 0,2%ním roztokem dihydrátu kyseliny oxalové v 50%ním vodném ethanolu, načež se ze získaných extraktů alkalisací uvolněné base alkaloidů vyjmuje do organického rozpouštědla nemísitelného s vodou, nebo do směsi organického rozpouštědla s vyšším alkoholem

(C₃–C₈) nebo s jejich směsí, výhodně do směsi toluenu s n-butanolem nebo s technickou přiboudlinou, a z takto získaného extraktu, se po jeho protřepání s vodou, vyjmuje alkaloidy do vodného roztoku anorganické nebo organické kyseliny, výhodně do roztoku kyseliny fosforečné, a získaný roztok solí alkaloidů se zpracuje na souhrn alkaloidů peptidového typu a na ergometrin případně další alkaloidy ve vodě rozpustné, při čemž se zpracuje na alkaloidy ve vodě rozpustné výše zmíněný vodný výtřepok.