

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

241196

(11)

(11)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

(22) Přihlášeno 04 04 78

(21) (PV 2134-78)

(40) Zveřejněno

(45) Vydáno 15 08 87

(51) Int. Cl.⁴
C 07 D 457/00 ✓

(75)

Autor vynálezu

SEMONSKÝ MIROSLAV doc. dr. ing. DrSc.; BERAN MILOŠ RNDr. CSc.,
PRAHA; STUHLÍK JOSEF ing., HRABYNĚ; KRAJÍČEK ALOIS PhMr.,
OPAVA; BOŘICKÝ JAN ing.; CVAK LADISLAV ing., OSTRAVA;
BČŘECKÝ MIROSLAV ing.; SPÁČIL JIŘÍ PhMr., OPAVA

(54) Způsob čištění směsí 9,10-dihydroergotoxinových alkaloidů

1

2

Způsob čištění směsí 9,10-dihydroergotoxinových alkaloidů a i jednotlivých alkaloidů, znečištěných příslušnými 2,3,9,10-tetrahydroderiváty a aci-isomety, doprovodnými nehydrogenovanými ergotoxinovými alkaloidy, hydrogenovanými alkaloidy ergotaminové skupiny a jejich štěpnými produkty, vyznačující se tím, že se roztok výchozí směsi bází v organickém rozpouštědle nemísícím se s vodou například v chlorovaném alkanu s 1 až 3 atomy uhlíku, s výhodou v chloroformu, extrahuje zředěnou kyselinou chlorovodíkovou, s výhodou v koncentraci 1 % hmot., organická fáze se odpaří do sucha, odparek se po rozpuštění v organickém rozpouštědle nemísícím se s vodou, například v chlorovaném alkanu s 1 až 3 atomy uhlíku, s výhodou v chloroformu, chromatografuje na sloupci silikagelu s použitím chloroformu a jeho směsi s octonem v objemovém poměru 3 : 1 až 1 : 1 jako elučního činidla a ze získaného eluátu se izolují přečištěné báze 9,10-dihydroergotoxinových alkaloidů ve formě krystalizátu s benzenem.

Vynález se týká způsobu čištění směsí 9,10-dihydroergotoxinových alkaloidů a i jednotlivých alkaloidů, znečištěných příslušnými 2,3,9,10-tetrahydroderiváty a aci-isomery, doprovodnými nehydrogenovanými ergotoxinovými alkaloidy, hydrogenovanými alkaloidy ergotaminové skupiny a jejich štěpnými produkty. Praktický význam má vynález hlavně pro čištění směsí uvedených 9,10-dihydroalkaloidů získaných z matečných luhů po výrobě methansulfonanu nebo ethansulfonanu, popřípadě dalších solí dihydroergotoxinu, tj. směsí uvedených tří dihydroderivátů ergokorninu, ergokryptinu a ergokristinu.

Dihydroergotoxin, připravovaný katalytickou hydrogenací přirozených alkaloidů ergotoxinové skupiny má ve formě svých solí široké terapeutické použití a je velmi cenným materiálem pro výrobu léčiv. Využití znečištěného dihydroergotoxinu, který odpadá při výrobě jeho čistých solí, představuje významný ekonomický přínos. Totéž se týká i jednotlivých dihydroalkaloidů.

Při výrobě solí dihydroergotoxinu je výchozí směs přirozených ergotoxinových alkaloidů vystavena působení různých organických rozpouštědel a chemických činidel. Tak během hydrogenace dvojně vazby v poloze 9, 10 přirozených alkaloidů dochází ve velmi malé míře i k nasycení dvojně vazby v poloze 2,3, za vzniku 2,3,9,10-tetrahydroderivátů ergotoxinových alkaloidů. Příprava, vlastnosti ani způsoby jejich separace nebyly dosud popsány. Až dosud jsou známy pouze analogické tetrahydroderiváty jednoduchých amidů kyseliny D-lysergové [viz např. Stadler P. A. a spol.: *Helv. Chim. Acta* **47**, 756 (1964); Johnsonová F. M. a spol.: *J. Med. Chem.* **16**, 532 (1973)] a některé deriváty ergolinu [viz např. *Brit. pat.* 1 138 419; *US pat.* 3 992 385].

Během přípravy solí jsou dihydroergotoxinové alkaloidy vystaveny působení relativně silných kyselin, např. kyseliny methansulfonové, nebo ethansulfonové. Jak popsali Schlientz a spol. [*Experientia* **17**, 108 (1961)], dochází působením kyselin k epimerisaci v poloze 2' peptidické části molekuly za vzniku tzv. aci-isomerů. Aci-isomery námělových alkaloidů jsou fyziologicky neúčinné a jsou tedy terapeuticky bezcenné.

Aci-isomery i tetrahydrosloučeniny se v konečné fázi výroby dihydroergotoxinu, tj. při krystalizaci např. methansulfonanu nebo ethansulfonanu dihydroergotoxinu oddělují a hromadí se v matečných louhách po oddělených solích, resp. ve směsích bází izolovaných z uvedených matečných luhů a jsou navíc doprovázeny malým množstvím balastních látek a dalšími doprovodnými alkaloidy, nehydrogenovanými ergotoxinovými alkaloidy, dihydroergotaminem, dihydroergosinem, dihydroerginem, hydrogenovanými alkaloidy necyklolové struktury a produkty jejich štěpení. Povaha a množství na-

víc přítomných látek jsou závislé na kvalitě výchozích alkaloidů a na technologickém procesu použitým při jejich zpracování.

Až dosud byly takto znečištěné směsi dihydroderivátů alkaloidů ergotoxinové skupiny nepoužitelné, protože známými postupy, např. krystalizací, nebylo možno zbavit je vedlejších produktů a nečistot a získat tak produkt požadované kvality. Vzhledem k vysoké ceně a hodnotě dihydroergotoxinu, bylo účelné zabývat se čištěním uvedených opadných bází s cílem jejich využití pro přípravu plnohodnotného preparátu splňujícího všechna analytická kritéria.

Při separaci výše zmíněných tetrahydrosloučenin jsme vycházeli z jejich chemických vlastností: Nasycením dvojně vazby v poloze 2,3 derivátů kyseliny D-dihydrolysergové-I dochází ke změně původně indolového seskupení na seskupení indolinové, což je spojeno se změnou reaktivity dusíkaté funkce v poloze 1, která se stává bazickou. Dibazické indolinové deriváty je možno vyjmout z jejich roztoků v organických, s vodou se nemísících rozpouštědlech, do vodných roztoků kyselin, nejlépe roztoků kyselin chlorovodíkové, fosforečné nebo methansulfonové. Jak jsme našli, k oddělování tetrahydroalkaloidů není vhodné použít roztoků silnějších ani slabších organických kyselin, jako např. kyselin mravenčí, octové, šťavelové, vinné, mandlové; ze silných anorganických kyselin není možno použít kyseliny sírové (z roztoků při vytřepání se vylučují špatně rozpustné síranové bází), ani slabých anorganických kyselin, např. kyseliny borité nebo uhlíčitě.

Z kyselých vodných roztoků po alkalizaci na pH 7 až 8 lze tetrahydrosloučeniny vyjmout např. do chloroformu. Tetrahydroderiváty ergotoxinových alkaloidů, na rozdíl od dihydroalkaloidů, nedávají Kellerovu reakci a s methanolickým roztokem p-dimethylaminobenzaldehydu poskytují při detekci po chromatografii na tenkých vrstvách [Merck FP KG F₂₅₄; soustava chloroform — benzen — ethanol 4 : 2 : 1] nespecifické žluté zbarvení. Roztřepáváním v soustavě chloroform — 0,2 N kyselina chlorovodíková, za užití 4 dělicích nálevek a oboustranného odběru fází („mřížové roztřepávání“) získané tetrahydroderiváty ergotoxinových alkaloidů nevykazují v ultrafialovém spektru, registrovaném v methanolu, intenzivní absorpční pás s maximem při 281 nm, který je charakteristický pro odpovídající směs dihydrobází ergotoxinových alkaloidů.

Na rozdíl od tetrahydroderivátů ergotoxinových alkaloidů jsou aci-isomery dihydroergotoxinových alkaloidů známy (viz Schlientz se spol., loc. cit.) a je popsána jejich příprava, chemické a fyzikální vlastnosti [viz Ott H. se spol. *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 1251 (1966)].

Tamtéž je popsáno dělení aci-isomerů

dihydroergotoxinových alkaloidů od nezměněných bází vyjmutím do 1 N hydroxidu sodného, do něhož aci-isomery snadno přecházejí vzhledem ke své vyšší aciditě, která je u aci-isomerů důsledkem uvolnění hydroxylové skupiny v poloze 12' cyklole z intramolekulární vodíkové vazby s kyslíkem karbonylové skupiny v poloze 18. Při ověřování použitelnosti tohoto postupu jsme zjistili, že pro sledované účely je tento postup nevhodný, protože působením silně alkalického prostředí dochází k částečné hydrolyze dihydroergotoxinových alkaloidů, a tím ke znečištění získaného produktu kyselinou dihydrolysergovou a dalšími štěpnými produkty.

Při pokusech o rychlé a úplné oddělení aci-isomerů i dalších kontaminujících nečistot jsme zjistili, že ho lze dosáhnout chromatografií na sloupci silikagelu za užití chlorovaných uhlovodíků, výhodně chloroformu, resp. methylenchloridu a za užití acetonu jako elučního činidla. Získaný eluát se opakovaným odpařováním ve vakuu za přídavku benzenu zbaví acetonu a většiny chloroformu. Z benzenu získaný krystalizát obsahuje velmi čisté dihydroergotoxinové alkaloidy vhodné pro další zpracování na jejich farmaceuticky vhodné soli. Uvedeným postupem čištění není narušen váhový poměr jednotlivých dihydroalkaloidů v jejich původní, znečištěné směsi.

Předmětem vynálezu je způsob čištění směsí 9,10-dihydroergotoxinových alkaloidů a i jednotlivých alkaloidů, znečištěných příslušnými 2,3,9,10-tetrahydroderiváty a aci-isomery, doprovodnými nehydrogenovanými ergotoxinovými alkaloidy, hydrogenovanými alkaloidy ergotaminové skupiny a jejich štěpnými produkty, jehož podstata spočívá v tom, že se roztok výchozí směsi bází v organickém rozpouštědle nemísícím se s vodou, například v chlorovaném alkanu s 1 až 3 atomy uhlíku, s výhodou v chloroformu, extrahuje zředěnou kyselinou chlorovodíkovou, s výhodou v koncentraci 1 % hmot., organické fáze se odpaří do sucha, odparek se po rozpuštění v organickém rozpouštědle nemísícím se s vodou, například v chlorovaném alkanu s 1 až 3 atomy uhlíku, s výhodou v chloroformu, chromatografuje na sloupci silikagelu s použitím chloroformu a jeho směsí s acetonem v objemovém poměru 3 : 1 až 1 : 1 jako elučního činidla a ze získaného eluátu se izolují přečištěné báze 9,10-dihydroergotoxinových alkaloidů ve formě krystalizátu s benzenem.

Vytřepávání roztoků čištěné směsi bází vodným roztokem kyseliny se předřazuje chromatografickému čištění bází na sloupci silikagelu jen tehdy, když v čištěné směsi bází jsou obsaženy 2,3,9,10-tetrahydroderiváty ergotoxinových alkaloidů.

Bližší podrobnosti o postupu čištění vyplývají z následujících příkladů, které však rozsah vynálezu nikterak neomezuji.

Příklad 1

Oddělení 2,3,9,10-tetrahydroderivátů ergotoxinových alkaloidů

10 g směsi bází 9,10-dihydroergotoxinových alkaloidů znečištěných jejich 2,3,9,10-tetrahydroderiváty, případně dalšími nečistotami, bylo rozpuštěno ve 500 ml chloroformu a vytřepáno 2 × 100 ml 1% vodného roztoku kyseliny chlorovodíkové. Chloroformová fáze byla ještě vytřepána 100 ml vody a ve vakuu odpařena do sucha.

Příklad 2

Oddělení aci-isomerů a dalších nečistot

10 g směsi bází 9,10-dihydroergotoxinových alkaloidů znečištěných jejich aci-isomery, případně též balastními látkami a dalšími nečistotami alkaloidního charakteru, resp. odparek takto znečištěných bází po oddělení 2,3,9,10-tetrahydroderivátu ergotoxinových alkaloidů, byl rozpuštěn v 60 ml horkého chloroformu a po filtraci nanesen na sloupec 30 g silikagelu (např. Merck). Eluce byla provedena nejprve 250 ml chloroformu, pak 250 ml směsí 3 objemových dílů chloroformu s 1 objemovým dílem acetonu a nakonec 250 ml směsí 1 objemového dílu chloroformu s 1 objemovým dílem acetonu. Získaný eluát byl zahuštěn na 60 mililitrů, zředěn 60 ml benzenu a zahuštěn ve vakuu na poloviční objem. Tato operace, zahuštění na poloviční objem a zředění benzenem byla opakována. Po třetím přidání benzenu byla směs zahuštěna na asi 20 ml a ponechána krystalovat při 10 °C.

Získaný krystalizát je tvořen velmi čistou směsí bází 9,10-dihydroergotoxinových alkaloidů, obsahujících 4,9 % krystalového rozpouštědla, vhodných pro další zpracování na soli, např. methansulfonan nebo ethansulfonan.

Výtěžek čistých bází 9,10-dihydroergotoxinových alkaloidů se pohybuje mezi 75 % až 85 % (počítáno na jejich obsah ve výchozí směsi); může však být více nebo méně negativně ovlivněn v závislosti na povaze balastních látek, včetně štěpných produktů alkaloidů.

Po ukončení eluce lze alkaloidy zachycené na sloupci vymýtí methanolem. V odparku takto získaném jsou zkoncentrovány hlavně aci-isomery dihydroergotoxinových alkaloidů.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob čištění směsí 9,10-dihydroergotoxinových alkaloidů a i jednotlivých alkaloidů, znečištěných příslušnými 2,3,9,10-tetrahydroderiváty a aci-isomery, doprovodnými nehydrogenovanými ergotoxinovými alkaloidy, hydrogenovanými alkaloidy, ergotaminové skupiny a jejich štěpnými produkty, vyznačující se tím, že se roztok výchozí směsi bází v organickém rozpouštědle nemísí s vodou například v chlorovaném alkanu s 1 až 3 atomy uhlíku, s výhodou v chloroformu, extrahuje zředěnou kyselinou chlorovodíkovou, s výhodou v koncentraci

1 % hmot., organická fáze se odpaří do sucha, odparek se po rozpuštění v organickém rozpouštědle nemísí s vodou, například v chlorovaném alkanu s 1 až 3 atomy uhlíku, s výhodou v chloroformu, chromatografuje na sloupci silikagelu s použitím chloroformu a jeho směsí s acetonem v objemovém poměru 3 : 1 až 1 : 1 jako elučního činidla a ze získaného eluátu se izolují přečištěné báze 9,10-dihydroergotoxinových alkaloidů ve formě krystalizátu s benzenem.