



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 128982

(13) C2

(51) МПК

C07D 311/80 (2006.01)

C07C 63/06 (2006.01)

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

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2021 03182	(72) Винахідник(и):	Айзіковіч Александер (IL)
(22) Дата подання заявки:	22.05.2019	(73) Володілець (володільці):	Айзіковіч Александер, 5/35 Carmel St., 7630505, Rehovot, Israel (IL)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності:	19.12.2024	(74) Представник:	Лемещук Наталя Вадимівна, реєстр. №318
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	62/700,413	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	US 2015/038567 A1, 05.02.2015 US 2015/203343 A1, 23.07.2015 CA 2499492 A1, 01.04.2004 Solid-Phase Extraction and GC-MS Analysis of THC-COOH Method Optimized for a High-Throughput Forensic Drug-Testing Laboratory / PETER R. Stout ET AL. // Journal of Analytical Toxicology. 2001. Vol. 25. P. 550-554 Separation of Cannabinoids on Three Different Mixed-Mode Columns Containing Carbon/Nanodiamond/Amine-Polymer Superficially Porous Particles / CHUAN-HSI HUNG et al. // Journal of Separation Science. 2015. P. 1-25 Novel solid-phase extraction protocol for 11-nor-9-carboxy-Δ ⁹ -tetrahydrocannabinol from urine samples employing a polymeric mixed-mode cation-exchange resin, Strata-X-C, suitable for gas chromatography-mass spectrometry or liquid chromatography-mass spectrometry analysis / SHAHANA HUQ et al. // Journal of Chromatography A. 1073. 2005. P. 355-361
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	19.07.2018		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.08.2021, Бюл.№ 34		
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію:	18.12.2024, Бюл.№ 51		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/IL2019/050578, 22.05.2019		

(54) СПОСІБ ОЧИЩЕННЯ КАНАБІНОЛОВИХ КИСЛОТ, ОТРИМАНИХ З ЕКСТРАКТУ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ**(57) Реферат:**

Винахід стосується технології очищення канабінолової кислоти, а саме тетрагідроканабінолової кислоти (ТГКК) або канабідіолової кислоти (КБДК), одержаної або із сировинного рослинного матеріалу конопель, або з культури клітин зазначеної рослини конопель з використанням іонообмінних смол, де очищену канабінолову кислоту можна декарбоксилувати з одержанням відповідного канабіноїду, тобто ТГК або КБД, відповідно.

UA 128982 C2

Цей винахід стосується способу очищення канабінолової кислоти, а саме ТГКК або КБДК, з неочищеного екстракту рослинної сировини конопель. Отриману очищену канабінолову кислоту потім можна декарбоксилувати з отриманням відповідного канабіноїда, тобто ТГК або КБД, відповідно.

Скорочення: ACN, ацетонітрил; CBD, канабідіол (КБД); CBDA, канабідіолова кислота (КБДК); CBN, канабінол (КБН); DMF, диметилформамід (ДМФА); HPLC, рідинна хроматографія з високою роздільною здатністю; LCMS, рідинна хроматографія – мас-спектрометрія (РХМС); MTBE, метил-трет-бутиловий ефір (МТБЕ); NMR, ядерний магнітний резонанс (ЯМР); THC, А⁹-тетрагідроканабінол (ТГК); THCA, тетрагідроканабінолова кислота (ТГКК); THF, тетрагідрофуран (ТГФ); TLC, тонкошарова хроматографія (ТШХ).

ПЕРЕДУМОВИ СТВОРЕННЯ ВИНАХОДУ

Марихуана відома як природний лікарський засіб, що використовується при лікуванні запалень, болю, психозів, мігрені та інших розладів нервової системи. Завдяки своїй різноманітній активності природні канабіноїди часто можуть використовуватися для розробки нових потенційних препаратів, особливо в якості вихідних матеріалів для органічного синтезу.

Канабіноїди є активними інгредієнтами рослини *Cannabis sativa*, які імітують ефекти ендогенної канабіноїдної системи (ендоканабіноїдів) і впливають на організм людини, активуючи канабіноїдні рецептори. Канабіноїдні рецептори включають канабіноїдний рецептор типу 1 (CB1), що переважно присутній в головному мозку, і канабіноїдний рецептор типу 2 (CB2), в першу чергу виявлений в клітинах імунної системи. Рецептори канабіноїдів, а також уся ендоканабіноїдна система зазвичай розглядаються як ймовірні мішені для лікування різних захворювань, включаючи нейродегенеративні захворювання, такі як хвороба Паркінсона, хвороба Альцгеймера і хвороба Гантінгтона; розсіяний склероз; і численні запальні захворювання, такі як астма, алергічні захворювання, ревматоїдний артрит і коліт.

Канабіноїди можна розділити на ендогенні канабіноїди; фітоканабіноїди і синтетичні канабіноїди. Ендоканабіноїди виробляються в організмі людини і в основному діють як нейромодулятори. Вони грають важливу роль в запаленні, чутливості до інсуліну і метаболізмі, а також в регулюванні настрою, апетиту, больового відчуття, запальної реакції та пам'яті. Фітоканабіноїди природним чином містяться в рослині канабіс. Рослина канабіс містить близько 100 канабіноїдів. ТГК, КБД і КБН – це найпоширеніші природні канабіноли. ТГК є основним психоактивним компонентом цієї рослини і використовується для лікування широкого спектру захворювань. КБД є найпоширенішим не психоактивним фітоканабіноїдом у рослині, і відомо, що він справляє безліч позитивних фармакологічних ефектів, включаючи протизапальну, протитривожну, антидіабетичну і протиракову дії. Крім того, КБД пропонується для усунення дії деяких з основних побічних ефектів ТГК, наголошуючи на терапевтичній цінності рецептур на основі ТГК-КБД.

Розробка фармакологічних застосувань канабіноїдів дійсно сильно обмежена психотропними побічними ефектами, зумовленими лігандами рецептора CB1. З цієї причини дослідження охоплюють розробку нових стратегій, що дозволяють ізолювати окремі канабіноїдні сполуки з периферійно обмеженою активністю рецептора CB1. Такі сполуки можна дозувати і стандартизувати, забезпечуючи фармацевтичну активність без психотропних побічних ефектів.

Екстракт канабісу, отриманий безпосередньо з рослинної сировини, містить приблизно до 70-75 % канабінолових кислот разом з терпеноїдами й іншими речовинами, такими як лігнін, камеді, пігменти і лецитин. Неочищені екстракти канабісу можна відразу використовувати для лікування пацієнтів, які страждають багатьма захворюваннями, але вони не підходять для фармакологічних цілей.

Існує значна кількість публікацій, що розкривають процеси виділення та очищення ТГКК та КБДК, а також продуктів, отриманих після їхнього декарбоксилування (WO2004016277, US2016228385, WO2013045115, WO2015070167, WO2016004410, WO2016127111). У деяких з цих публікацій описана технологія виділення зазначених продуктів без використання методів хроматографічного очищення, яка дозволяє виробляти канабідіолові кислоти в промислових масштабах.

Патент US2015038567 розкриває спосіб отримання солей ТГКК без хроматографічного розділення. Цей процес включає екстракцію рослинного матеріалу відповідним розчинником, таким як пентан або петролейний ефір, екстракцію канабідіолових кислот до водної фази за допомогою гідроксиду натрію або калію, а потім реекстракцію до органічної фази після додавання до водного розчину лимонної кислоти. Додавання амінів, таких як діциклогексиламін, і охолодження давали залишок солі канабідіолової кислоти з чистотою 95-97 %.

Патент WO2016179247 розкриває аналогічний процес очищення, який включає екстракцію

канабідіолових кислот з рослинної сировини, додавання органічної основи для отримання їх солей, промивання трьома розчинниками, що мають різну полярність, і підкислення для отримання чистих кислот.

Патент US2017008870 розкриває спосіб одержання екстракту селективного сольвентного очищення канабіноїдів вищого ступеня чистоти з марихуани шляхом а) проведення екстракції рослинної сировини розчинником з отриманням екстракту селективного сольвентного очищення; б) охолодження екстракту селективного сольвентного очищення розчинника; і с) видалення осаду з охолодженого екстракту сольвентного очищення з одержанням фільтрату екстракту сольвентного очищення, при цьому фільтрат екстракту сольвентного очищення має вищу чистоту щонайменше одного канабіноїду.

КОРОТКИЙ ЗМІСТ ВИНАХОДУ

Цей винахід стосується способу очищення канабінолових кислот, а саме ТГКК і КБДК, шляхом вилучення природних канабінолових карбонових кислот або з сировини рослини канабісу (наприклад, *Cannabis sativa*), або з культури клітин вказаної рослини канабісу, а також подальшої обробки придатною іонообмінною смолою для виділення зазначених канабінолових кислот із зазначеного екстракту; обробки неорганічною основою для одержання зазначених канабінолових кислот у вигляді відповідних солей; а потім обробки зазначених солей кислотою, наприклад, з використанням кислотної іонообмінної смоли, для отримання зазначених канабінолових кислот в хімічно чистих формах, тобто з чистотою вище за 90 %, переважно вище за 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %.

ПОВНИЙ ОПИС

Цей винахід забезпечує спосіб очищення ТГКК або КБДК, отриманих із неочищеного екстракту рослини канабісу в органічному розчиннику, при цьому зазначений процес включає такі стадії:

(i) пропускання зазначеного органічного розчинника, що містить зазначений неочищений екстракт рослини канабісу, через основну іонообмінну смолу, тим самим зв'язуючи ТГКК або КБДК, присутні в зазначеному неочищеному екстракті рослини канабісу, з вказаною основною іонообмінною смолою;

(ii) пропускання розчину сильної основи через зазначену основну іонообмінну смолу, тим самим вивільняючи ТГКК або КБДК у вигляді основної солі з вказаної основної іонообмінної смоли в зазначений розчин;

(iii) підкислення розчину, отриманого на стадії (ii), тим самим нейтралізуючи основну сіль ТГКК- або КБДК-основну сіль, з отриманням ТГКК або КБДК, відповідно;

(iv) екстрагування зазначеної ТГКК або КБДК органічним розчинником з отриманням розчину ТГКК або КБДК, відповідно, в зазначеному розчиннику;

або:

(v) перетворення зазначеної ТГКК в її основну сіль, очищення зазначеної солі ТГКК для отримання твердого осаду, що містить зазначену сіль ТГКК, перекристалізацію зазначеного осаду для отримання зазначеної солі ТГКК в хімічно чистому вигляді і перетворення зазначеної хімічно чистої солі ТГКК в зазначену очищену ТГКК; або:

(vi) висушування отриманого розчину КБДК, випаровування зазначеного розчинника, а також сушка отриманої таким чином речовини у вакуумі з отриманням зазначеної очищеної КБДК.

Словосполучення "неочищений екстракт рослини канабісу в органічному розчиннику" стосується будь-якого екстракту, отриманого шляхом екстракції рослинної сировини рослини канабісу, наприклад *Cannabis sativa*, або культури клітин вказаної рослини канабісу, в розчиннику. Органічний розчинник, що використовується для екстракції зазначеної рослинної сировини канабісу або культури клітин цієї рослини, може бути будь-яким придатним органічним розчинником без обмежень, таким як, зокрема, метанол, етанол, або ізопропанол, або гексанол, гептан, циклогексан, метилциклогексан, діхлорметан, ацетонітрил, ацетон, метилетилкетон, діетиловий ефір, МТБЕ, хлороформ, ТГФ, діоксан, надкритичний діоксид вуглецю ($s\text{CCh}$) в спирті, такому як метанол, етанол або ізопропанол, або їхні суміші. У деяких варіантах здійснення органічний розчинник, що використовується для екстракції зазначеної сировини рослини канабісу або її культури клітин, є водним розчином спирту і аміаку, отриманим шляхом змішування чистого спирту, наприклад метанолу, етанолу або ізопропанолу, з відповідною кількістю 10-25 % розчину аміаку у воді. Такий органічний розчинник забезпечує кращу екстракцію зазначених канабінолових кислот з рослинної сировини або культури клітин і знижує вміст неполярних домішок, таких як терпени і лігнін.

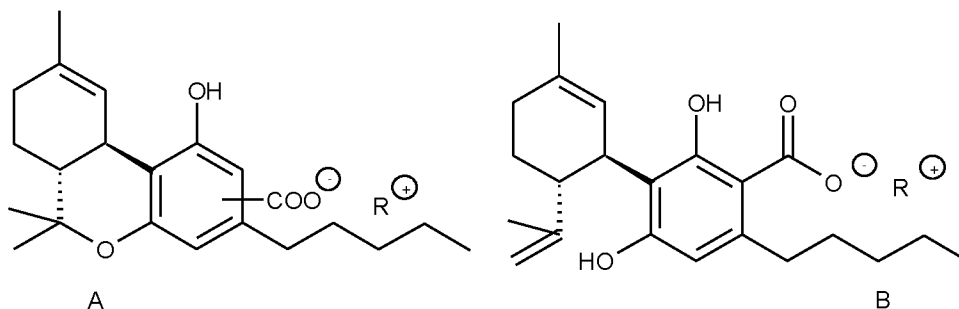
Термін "надкритичний діоксид вуглецю" стосується рідкого стану діоксиду вуглецю, в якому він підтримується на рівні або вище своєї критичної температури (304,25 K, 31,10 °C, 87,98 °F) і критичного тиску (72,9 атм, 7,39 МПа, 1,071 фунт-сила/кв. дюйм) і, таким чином, має властивості

між газом і рідиною.

Згідно стадії (i) розкритого тут способу, органічний розчинник, що містить неочищений екстракт рослини канабісу, пропускають через основну іонообмінну смолу, щоб зв'язати ТГКК або КБДК, що присутні в зазначеному неочищеному екстракті рослини канабісу, з зазначеною основною іонообмінною смолою. Основна іонообмінна смола, через яку пропускають указаний органічний розчинник, може бути будь-якою придатною основною іонообмінною смолою, наприклад, такою, що є комерційно доступною, і може бути обрана з урахуванням конкретного органічного розчинника, що використовується для екстракції зазначеної сировини рослини канабісу. У деяких варіантах реалізації зазначена основна іонообмінна смола являє собою смолу на вільній основі, таку як вільна основа Amberlyst (Амберліст)® A21 (Сіґма-Олдріч, Sigma-Aldrich), вільна основа Amberlyst® IRA-67 (Sigma-Aldrich) та вільна основа Amberlite (Амберлайт)™ IRA67RF (Ром і Хаас).

Зокрема, у варіантах реалізації, наведених тут як приклади, сировину рослини канабіс екстрагують циклогексаном або ізопропанолом для очищення ТГКК або етанолом для очищення КБДК, і далі використовуються основна іонообмінна смола з вільною основою Amberlyst® A21. Після зв'язування ТГКК або КБДК, присутніх в рослинному екстракті, з основною іонообмінною смолою, смолу переважно промивають одним або декількома відповідними розчинниками для видалення некіслотних домішок, таких як терпени.

ТГКК і КБДК, зв'язані із зазначеною основною іонообмінною смолою на стадії (i) способу, мають формули А і В, відповідно, де R^+ є зазначеною аніонною формою іонообмінної смоли. Слід зазначити, що формула А відповідає іонізованій формі (COO) як ТГКК, так і її ізомеру (6aR, 10aR)-1-гідрокси-6,6,9-триметил-3-пентил-6а, 7,8,10а-тетрагідро-6Н-бензо[с]хромен-4-карбонова кислота, що згадується у цьому документі як "ТГКК 4-COOH" і розглядається як домішка в способі.



На стадії (ii) розкритого тут способу розчин сильної основи пропускають через зазначену основну іонообмінну смолу, щоб вивільнити, тобто звільнити або від'єднати ТГКК (включаючи її ізомер ТГКК 4-COOH) або КБДК, зв'язану з зазначеною основною іонообмінною смолою як основна сіль в зазначеному розчині. Основою, що використовується для вивільнення зв'язаної ТГКК або КБДК, може бути будь-яка сильна основа, така як, але не обмежуючись цим, гідроксид літію, гідроксид натрію, а також гідроксид калію. У конкретних варіантах реалізації розчин сильної основи, який пропускають через основну іонообмінну смолу для вивільнення ТГКК або КБДК, зв'язаних із зазначеною смолою, є розчин гідроксиду натрію. Солі ТГКК і КБДК, отримані після стадії (ii) способу, мають формули А і В, відповідно, де R^+ є, наприклад, іоном металу, таким як іон літію, натрію або калію.

Згідно способу представленого тут винаходу розчин, отриманий на стадії (ii), що містить ТГКК або КБДК як основну сіль, підкислюється на стадії (iii), щоб, тим самим, нейтралізувати зазначену основну сіль і, отже, отримати ТГКК або КБДК, відповідно; і потім ці ТГКК або КБДК екстрагують на стадії (iv) органічним розчинником з отриманням розчину ТГКК або КБДК, відповідно, в зазначеному розчиннику. У деяких варіантах реалізації розчин, отриманий на стадії (ii), підкислюють шляхом пропускання через кислу іонообмінну смолу, наприклад, водневу форму Dowex® (Довекс) 50WX8 (Sigma-Aldrich), Amberlite™ IR120 H (Ром і Хаас), Ambejet™ 1000H (Ром і Хаас) та інші сильнокіслі смоли у водневій формі, і отримані таким чином ТГКК або КБДК потім екстрагують промиванням зазначеної кислої іонообмінної смоли зазначеним органічним розчинником для отримання розчину ТГКК або КБДК, відповідно, в зазначеному органічному розчиннику.

Прикладом відповідного органічного розчинника, який можна використовувати для екстракції зазначеної ТГКК або КБДК на стадії (iv) розкритого тут способу, є, але не обмежуючись цим, метанол, етанол, ізопропанол, гексанол, гептан, циклогексан, метилциклогексан, діхлорметан,

ацетонітрил, ацетон, метилетилкетон, діетиловий ефір, МТБЕ, хлороформ, ТГФ, діоксан або їх суміш.

У деяких варіантах реалізації винаходу пропонується спосіб очищення ТГКК або КБДК з первинного (неочищеного) екстракту рослини канабісу в органічному розчиннику, як описано вище, де: (а) основна іонообмінна смола, через яку органічний розчинник, що містить зазначений первинний (неочищений) екстракт рослини канабісу пропускають на стадії (i) для зв'язування ТГКК або КБДК, присутніх в зазначеному рослинному екстракті, з вказаною основною іонообмінною смолою, що представляє собою смолу Amberlyst® A21 з вільною основою; (b) розчин сильної основи, пропущений через зазначену основну іонообмінну смолу на стадії (ii), аби вивільнити ТГКК або КБДК, пов'язану з указаною смолою, що являє собою розчин гідроксиду натрію; (c) розчин, отриманий на стадії (ii), що містить ТГКК або КБДК у вигляді основної солі, підкислюють шляхом пропускання через кислоту іонообмінну смолу, таку як воднева форма Dowex® 50WX8, аби тим самим нейтралізувати зазначену основну сіль і, отже, отримати ТГКК або КБДК, відповідно; і (d) отримані ТГКК або КБДК потім екстрагують промиванням зазначеної кислотою іонообмінної смоли зазначеним органічним розчинником з отриманням розчину ТГКК або КБДК, відповідно, у зазначеному органічному розчиннику.

Стадії (v) і (vi) способу цього винаходу представляють собою дві альтернативи, спрямовані на очищення ТГКК або КБДК, відповідно, з їх органічного розчину, отриманого на стадії (iv).

[0023] Розчин ТГКК, отриманий на стадії (iv), додатково містить ізомер ТГКК 4-СООН. Виділення та очищення ТГКК з суміші ізомерів проводять, як описано на стадії (v), виходячи з різної розчинності двох ізомерів в органічних розчинниках, шляхом перетворення зазначених ізомерів в їхні основні солі; очищення зазначених солей з отриманням твердого осаду, що містить зазначені солі; перекристалізації зазначеного осаду з отриманням солі ТГКК в хімічно чистому вигляді; і перетворення зазначеної хімічно чистої солі ТГКК в зазначену очищену ТГКК.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб очищення ТГКК з первинного (неочищеного) екстракту рослини канабісу в органічному розчиннику, як визначено в будь-якому з варіантів реалізації, наведених вище, де ТГКК, отримана на стадії (iv), перетворюється в її амонійну сіль; зазначену сіль ТГКК очищують шляхом розчинення її в органічному розчиннику, наприклад, гептані, з отриманням зазначеного твердого осаду, що містить зазначену амонійну сіль ТГКК; зазначену амонійну сіль ТГКК перекристалізують з органічного розчинника, наприклад, суміші МТБЕ і гептану, з отриманням зазначеної амонійної солі ТГКК у хімічно чистому вигляді, яку потім сушать; і зазначена висушена хімічно чиста амонієва сіль ТГКК перетворюється у зазначену очищену ТГКК шляхом розчинення її в органічному розчиннику, наприклад, МТБЕ, промивання отриманого органічного розчину кислотою водою, наприклад, розчином лимонної кислоти у воді, і відокремлення органічної фази.

Перетворення ТГКК, отриманої на стадії (iv), в її амонійну сіль утворює амонійну сіль як ТГКК, так і її ізомеру ТГКК 4-СООН; проте розчинність амонійної солі ТГКК 4-СООН у вуглеводнях істотно краща, ніж розчинність ТГКК, і хоча остання випадає в осад з органічного розчинника, в якому розчинені зазначені солі, перша залишається в розчині й, таким чином, може бути видалена. Потім амонійну сіль ТГКК перекристалізують з органічного розчинника для отримання солі ТГКК в хімічно чистому вигляді, яку потім можна піддати реакції з відповідними кислотами, наприклад, мінеральними кислотами, оцтовою кислотою, лимонною кислотою, а також іонообмінною смолою (катіонна форма) для отримання ТГКК з чистотою щонайменше 90 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %.

[0026] Відповідно до альтернативної стадії (vi), отриманий органічний розчин КБДК спочатку сушать для видалення залишків води, а потім висушений органічний розчинник випаровують, отримуючи матеріал, який сушать у вакуумі, аби отримати КБДК з чистотою щонайменше 90 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %.

У деяких варіантах реалізації, цей винахід забезпечує спосіб очищення КБДК з первинного (неочищеного) екстракту рослини канабісу в органічному розчиннику, як визначено в будь-якому з наведених вище варіантів реалізації, де розчин КБДК, отриманий на стадії (iv), спочатку сушать над безводним сульфатом магнію, сульфатом натрію або хлоридом кальцію, а потім висушений органічний розчинник випаровують з отриманням матеріалу, який сушать у вакуумі, отримуючи очищену КБДК.

Очищені ТГКК і КБДК, отримані розкритим тут способом, можна декарбоксилувати для отримання очищених ТГК і КБД, відповідно. Таким чином, деякі варіанти реалізації винаходу, як визначено в будь-якому з наведених вище варіантів реалізації, додатково включають стадію декарбоксилування очищеної ТГКК або КБДК, отриманої на стадії (v) або (vi), для отримання очищеного ТГК або КБД, відповідно.

Згідно з представленим винаходом, ТГК може бути додатково отриманий безпосередньо з

солі ТГКК, отриманої як проміжний продукт на стадії (v) розкритого тут способу. У деяких варіантах реалізації винаходу висушена хімічно чиста сіль ТГКК, отримана на стадії (v), декарбоксилюється шляхом розчинення зазначеної солі ТГКК в органічному розчиннику; нагрівання отриманого таким чином розчину під тиском вище, ніж атмосферний тиск, зокрема під тиском, створюваним парами зазначеного органічного розчинника, аби для запобігання окисленню ТГК, з тим, аби отримати ТГК в зазначеному органічному розчиннику; і видалення зазначеного органічного розчинника з отриманням зазначеного очищеного ТГК. У конкретних таких варіантах реалізації винаходу ТГКК, отримана на стадії (iv), перетворюється на стадії (v) в амонійну сіль, а ТГК отримують, як описано вище, починаючи з висушеної хімічно чистої амонійної солі ТГКК. Альтернативно, ТГК можна отримати за таким саме варіантом, починаючи з твердого осаду, що містить амонійні солі обох ізомерів ТГКК, а не з висушеної хімічно чистої амонієвої солі ТГКК.

Аналогічним чином висушену хімічно чисту КБДК, отриману на стадії (vi), можна декарбоксилювати для отримання КБД шляхом розчинення зазначеної очищеної КБДК в органічному аміаковмісному розчині, з отриманням, таким чином, амонійної солі КБДК; нагрівання отриманого таким чином розчину під тиском вище, ніж атмосферний тиск, конкретніше під тиском, створюваним парами зазначеного органічного розчинника, для запобігання окисленню КБД, аби таким чином отримати КБД у зазначеному органічному розчиннику; видалення зазначеного органічного розчинника; і перекристалізації зазначеного КБД для отримання зазначеного очищеного КБД.

Необмежувальні приклади органічних розчинників, які можна використовувати на стадії декарбоксилювання, аби розчинити очищену ТГКК або КБДК, отриману на стадії (v) або (vi), відповідно, включають метанол, етанол, ізопропанол, гексанол, гептан, циклогексан, метилциклогексан, діхлорметан, ацетонітрил, ацетон, метилетилкетон, діетиловий ефір, МТБЕ, хлороформ, ТГФ, діоксан або їх суміш.

На відміну від відомого рівня техніки, описаний тут спосіб є першим, в якому застосовуються іонообмінні смоли для селективного виділення канабінолових кислот з органічного екстракту із сировинного матеріалу рослини канабісу або культури клітин указаної рослини канабісу, і окремі варіанти абсорбції-десорбції. Цей спосіб дозволяє отримати бажану канабінолову кислоту, тобто ТГКК або КБДК з дуже високою чистотою, і це високорентабельний спосіб, оскільки він дозволяє використовувати смоли багаторазово.

Далі винахід буде проілюстровано наступними не обмежувальними прикладами.

ПРИКЛАДИ

Матеріали і методи

Процеси виділення та очищення забезпечені відповідними розчинниками, такими як вода, метанол, етанол, розчинниками, що не змішуються з водою, або розчинниками, що змішуються з водою, такими як галогенні вуглеводні, що містять до 30 атомів вуглецю, галогенні вуглеводні, що містять до 20 атомів вуглецю, наприклад, дихлорметан або хлороформ, прості ефіри, такі як 2-метілтетрагідрофуран, спирти, карбонові кислоти з числом атомів вуглецю до 16, аміді з числом атомів вуглецю до 20, складні ефіри з числом атомів вуглецю до 60, діоксид вуглецю, діоксид сірки, розчин амонію у воді і спиртах, вода із сумішами перелічених вище речовин. Завершення процесів виділення та очищення контролювалися за допомогою TLC (ТШХ), рівень чистоти перевірявся за допомогою HPLC (РХВРЗ) та LCMS (РХМС). Усі продукти охарактеризовані мас-спектрометрією і NMR (ЯМР)-спектроскопією при частоті 400 МГц (VARIAN). Ці методи здійснювались із встановленою послідовністю операцій.

Приклад 1. Приготування ТГКК (як 2-СООН, так і 4-СООН)

Як показано на Схемі 1, сухий рослинний матеріал *Cannabis sativa* (10 г) екстрагували циклогексаном (150 мл) протягом однієї години в атмосфері азоту для запобігання окислення і фільтрували. Тверду речовину двічі промивали 50 мл циклогексану, і всі розчинники разом додавали до аніонообмінної смоли Amberlyst® A21 (з вільною основою 3) і перемішували протягом години. Ступінь поглинання кислоти контролювали за допомогою ТШХ. Смоли фільтрували і двічі промивали етанолом для видалення слідів циклогексану (після перегонки циклогексан можна використовувати повторно). Потім смоли додавали до розчину NaOH (1,2 г, 30 ммоль) в 150 мл 95 % етанолу і суміш перемішували протягом двох годин. Смоли відфільтровували і двічі промивали 50 мл етанолу (смоли можна використовувати повторно). За даними РХВРЗ розчин містив Na-солі ТГКК (2-СООН) та ТГКК (4-СООН) в кількостях і 91 % і 5 %, відповідно. Усі розчини додавали до іонообмінної смоли Dowex® 50WX8 (воднева форма) і перемішували протягом 30 хв. Смоли відфільтровували і двічі промивали 50 мл етанолу.

Приклад 2. Приготування ТГКК (2-СООН) з чистотою >97 %

Як показано на Схемі 2, до розчину етанолу ТГКК, отриманого в Прикладі 1 (суміш 2-СООН

та 4-COOH), додавали 20 мл 32 %-ого розчину аміаку і розчинник випаровували до отримання маслянистого залишку. Продукт висушували в глибокому вакуумі протягом 24 годин, потім додавали 150 мл гептану і суміш перемішували до отримання білого осаду.

Після фільтрації тверду речовину перекристалізовували від МТБЕ-гептану і сушили під вакуумом. Вихід амонійної солі ТГКК (2-COOH) становив 620 мг. Чистота: > 97 %. ^1H ЯМР (CD_3OD), δ : 0,88-0,9 (3H, t, CH); 1,06 (3H, s, CH); 1,31-1,43 (9H, m, CH); 1,51-1,55 (3H, m, CH); 1,57 (3H, s, CH); 1,65-1,90 (1H, m, CH); 2,13-2,14 (2H, m, CH); 2,51-2,59 (2H, m, CH); 2,92-3,17 (1H, d, CH); 3,31-3,32 (3H, d, CH); 6,03 (1H, s, CH); 6,47 (1H, s, CH). ^{13}C ЯМР (CD_3OD), δ : 14,51, 19,54, 23,55, 23,72, 26,27, 27,90, 32,29, 32,81, 33,35, 35,11, 36, 64, 47,48, 78,49, 110,11, 110,70, 111,27, 126,06, 133,44, 146,71, 157,20, 165,58; 176,80. Спостережуваний молекулярний іон $[\text{M}-\text{H}]^+ = 359$, що відповідає молекулярній формулі $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_4$.

Отриману амонійну сіль ТГКК (2-COOH) розчиняли в МТБЕ і промивали розчином лимонної кислоти у воді. Органічну фазу відокремлювали і сушили над сульфатом натрію. Після видалення розчинника отримали 585 мг ТГКК (2-COOH) з чистотою вище 97 %. ^1H ЯМР (CD_3OD), δ : 0,89-0,92 (3H, t, CH); 1,07 (3H, s, CH); 1,29-1,37 (5H, m, CH); 1,41 (3H, s, CH); 1,51-1,61 (3H, m, CH); 1,66 (3H, s, CH); 1,95-1,97 (1H, m, CH); 2,15-2,17 (2H, m, CH); 2,77-2,92 (2H, m, CH); 3,16-3,17 (1H, d, CH); 3,31-3,32 (3H, d, CH); 6,14 (1H, s, CH); 6,39 (1H, s, CH). ^{13}C ЯМР (CD_3OD), δ : 14,43, 19,64, 23,54, 26,17, 27,79, 32,22, 32,83, 33,22, 34,87, 37,52, 47, 21, 79,34, 104,58, 110,83, 112,97, 125,29; 134,05, 147,16, 160,79, 165,37; 176,58. Спостережуваний молекулярний іон $[\text{M}-\text{H}]^+ = 359$, що відповідає молекулярній формулі $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_4$.

Приклад 3. Приготування ТГКК (суміш 2-COOH та 4-COOH)

Сухий рослинний матеріал *Cannabis sativa* (10 г) екстрагували і-пропанолом (200 мл), що містив 20 мл 25 %-го розчину аміаку, протягом однієї години в атмосфері азоту для запобігання окисленню і фільтрували. Тверду речовину двічі промивали 50 мл і-пропанолу, а всі розчинники разом додавали до аніонообмінної смоли Amberlyst® A21 (вільна основа 3) і перемішували протягом години. Ступінь поглинання кислоти контролювали за допомогою ТШХ. Смолу відфільтровували і двічі промивали і-пропанолом для видалення слідів розчину аміаку (після перегонки і-пропанол можна використовувати повторно). Потім смолу додавали до розчину КОН (1,2 г, 20 ммоль) у 100 мл і-пропанолу і суміш перемішували протягом двох годин. Смолу відфільтровували і двічі промивали 50 мл і-пропанолу (смолу можна використовувати повторно).

Усі розчини додавали до іонообмінної смоли Dowex® 50WX8 (воднева форма) і перемішували протягом 30 хв. Смолу відфільтровували і двічі промивали 50 мл і-пропанолу. Розчинник випаровували і сирий продукт сушили у вакуумі. За даними РХВРЗ, біла тверда речовина містила ТГКК (суміш 2-COOH та 4-COOH) в кількості 91 % та 6 %, відповідно. Спостережуваний молекулярний іон $[\text{M}-\text{H}]^+ = 359$, що відповідає молекулярній формулі $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_4$.

Приклад 4. Приготування ТГК

Як показано на Схемі 3, амонійну сіль ТГКК (суміш 2-COOH та 4-COOH) (20 мг, 0,05 ммоль) нагрівали в і-пропанолі в герметичній пробірці при температурі 120-125 °C у темряві протягом трьох годин. Після охолодження неочищений розчин перемішували з іонообмінною смолою Amberlyst® IRA-67 (слабка основа) для видалення ТГКК, що не прореагувала. Після фільтрації смоли розчинник випаровували і отримували ТГК. Вихід 96 % (14 мг, 0,045 ммоль). Спостережуваний молекулярний іон $[\text{M}-\text{H}]^+ = 315$, що відповідає молекулярній формулі $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$.

Приклад 5. Приготування КБДК з чистотою > 90 %

Суху технічну коноплю (10 г) екстрагували етанолом (200 мл), що містить 20 мл 25 %-го розчину аміаку, протягом однієї години в атмосфері азоту для запобігання окисленню і фільтрували. Тверду речовину двічі промивали 50 мл етанолу. Усі розчинники додавали разом, перемішували з 0,5 г активованого вугілля, перемішували протягом 30 хвилин в атмосфері азоту і фільтрували. Фільтрат додавали до аніонообмінної смоли Amberlyst® A21 (вільна основа) і перемішували протягом години. Ступінь поглинання кислоти контролювали за допомогою ТШХ. Смолу відфільтровували і двічі промивали етанолом для видалення слідів розчину аміаку (після перегонки етанол можна використовувати повторно). Потім смолу додавали до розчину NaOH (1,2 г, 30 ммоль) в 100 мл етанолу і суміш перемішували протягом двох годин. Смолу фільтрували і двічі промивали 50 мл етанолу (смолу можна використовувати повторно). До розчину натрієвої солі КБДК додавали 100 мл води і суміш двічі екстрагували пентаном. Водну фазу відокремлювали, додавали 100 мл розчину 0,5 М лимонної кислоти і суміш екстрагували МТБЕ. Органічну фазу сушили над сульфатом натрію, розчинник випаровували і первинну (неочищену) олію сушили в глибокому вакуумі протягом 24 годин. За даними РХВРЗ чистота

КБДК становила 93 %. Спостережуваний молекулярний іон $[M-H]^+ = 359$, що відповідає молекулярній формулі $C_{22}H_{30}O_4$.

Приклад 6. Приготування КБД з чистотою >98 %

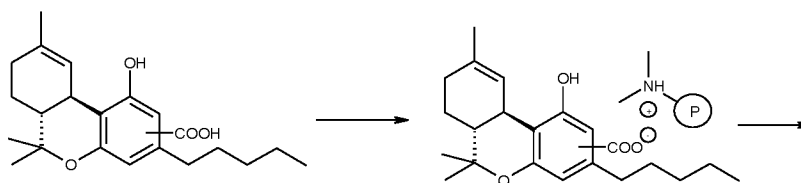
Як показано на Схемі 4, суху технічну коноплю (10 г) екстрагували етанолом (200 мл), що містить 20 мл 25 % розчину аміаку, протягом однієї години в атмосфері азоту для запобігання окислення і фільтрували.

Тверду речовину двічі промивали 50 мл етанолу. Усі розчинники додавали разом, змішували з 0,5 г активованого вугілля, перемішували протягом 30 хвилин в атмосфері азоту і фільтрували. Фільтрат додавали в колонку, заповнену 25 г аніонообмінної смоли Amberlyst® A21 (вільна основа), і фільтрували через колонку. Ступінь поглинання кислоти контролювали за допомогою ТШХ. Смолу двічі промивали етанолом для видалення слідів розчину аміаку (після перегонки етанол можна використовувати повторно). Потім колонку промивали розчином NaOH (1,2 г, 30 ммоль) в 200 мл етанолу NaOH (1,2 г, 30 ммоль) в 100 мл етанолу. Ступінь екстракції натрієвої солі контролювали за допомогою РХВРЗ. Після видалення всієї кількості солі колонку можна використовувати повторно. До розчину натрієвої солі КБДК додавали 100 мл води і суміш двічі екстрагували пентаном. Водну фазу відокремлювали, додавали розчин 100 мл 0,5 М лимонної кислоти і суміш екстрагували МТБЕ. Органічну фазу сушили над сульфатом натрію, розчинник випаровували і первинну (неочищену) олію сушили в глибокому вакуумі протягом 24 годин. За даними РХВРЗ чистота КБДК склала 91,5 %. Спостережуваний молекулярний іон $[M-H]^+ = 359$, що відповідає молекулярній формулі $C_{22}H_{30}O_4$.

КБДК розчиняли в 20 мл розчину і-пропанолу, що містить 2 мл 25 %-го розчину аміаку, і нагрівали в герметичній пробірці при температурі 120-125 °C в темряві протягом двох годин. Після охолодження неочищений розчин розбавляли 50 мл води, екстрагували гептаном і сушили над сульфатом натрію. Гептан випаровували, і КБД кристалізували з пентану. Вихід - 550 мг. Спостережуваний молекулярний іон $[M-H]^+ = 315$, що відповідає молекулярній формулі $C_{21}H_{30}O_2$.

ДОДАТОК

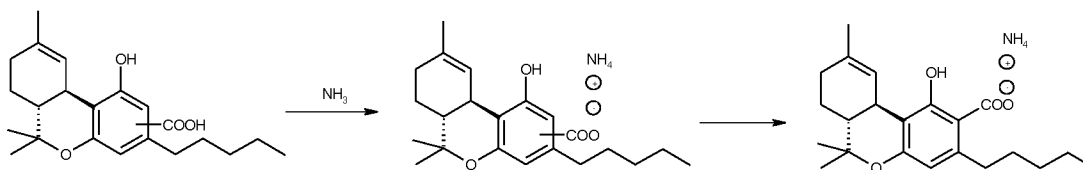
Схема 1



Первинний (неочищений) екстракт

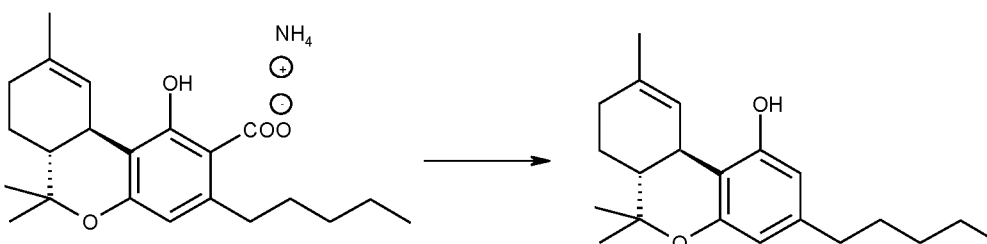
Іонообмінна смола

Схема 2



ТГКК (2-COOH та 4-COOH)

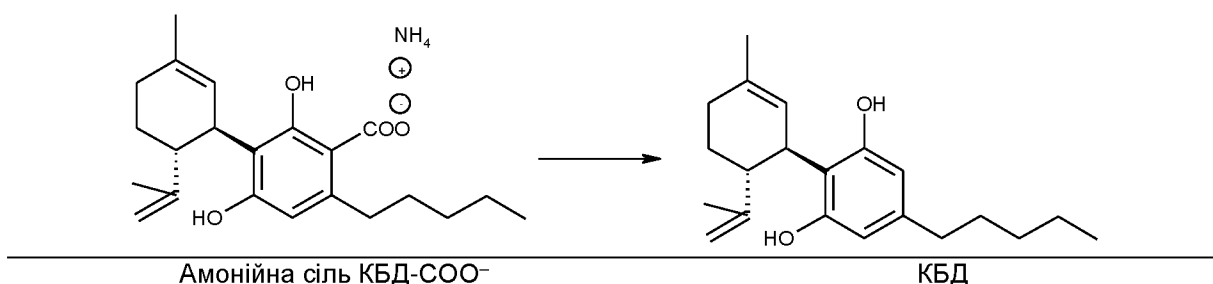
Схема 3



Амонійна сіль ТГКК (2-COO⁻)

ТГК

Схема 4



ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

5

1. Спосіб очищення тетрагідроканабінолової кислоти (ТГКК) або канабідіолової кислоти (КБДК) з неочищеного екстракту рослини канабісу в органічному розчиннику, причому зазначений спосіб включає стадії:

10 (і) пропускання зазначеного органічного розчинника, що містить зазначений неочищений екстракт рослини канабісу, через основну іонообмінну смолу, тим самим зв'язуючи ТГКК або КБДК, які присутні в зазначеному неочищеному екстракті рослини канабісу, з вказаною основною іонообмінною смолою;

15 (ii) пропускання розчину сильної основи через зазначену основну іонообмінну смолу, тим самим вивільняючи ТГКК або КБДК у вигляді основної солі з зазначеної основної іонообмінної смоли в зазначений розчин;

(iii) підкислення розчину, одержаного на стадії (ii), тим самим нейтралізуючи основну сіль ТГКК або КБДК з одержанням ТГКК або КБДК, відповідно;

(iv) екстракція зазначених ТГКК або КБДК органічним розчинником з одержанням розчину ТГКК або КБДК, відповідно, в зазначеному розчиннику;

20 (v) вилучення з розчину ТГКК або розчину КБДК твердої складової ТГКК або КБДК з одержанням очищеної ТГКК або очищеної КБДК, відповідно.

25 2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вилучення з розчину ТГКК твердої складової ТГКК на стадії (v) здійснюють шляхом перетворення зазначеної ТГКК в її основну сіль, очищення зазначеної основної солі ТГКК до одержання твердого осаду, з якого шляхом перекристалізації одержують основну сіль ТГКК в хімічно чистому вигляді, після чого перетворюють зазначену хімічно чисту основну сіль ТГКК в зазначену очищену ТГКК.

3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вилучення з розчину КБДК твердої складової КБДК на стадії (v) здійснюють шляхом висушування розчину КБДК, випаровування зазначеного розчинника, а також сушіння одержаної таким чином речовини у вакуумі з одержанням зазначеної очищеної КБДК.

4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вказаною рослиною канабісу є *Cannabis sativa*.

5. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що зазначений органічний розчинник, що містить зазначений неочищений екстракт рослини канабісу, вибирають з метанолу, етанолу, ізопропанолу, гексанолу, гептану, циклогексану, метилциклогексану, дихлорметану, ацетонітрилу, ацетону, метилетилкетону, діетилового ефіру, МТБЕ, хлороформу, ТГФ, діоксану, надкритичного CO₂ в спирті, такому як метанол або етанол, або ізопропанол, або їх суміш.

6. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що зазначеною основною іонообмінною смолою є смола марки Amberlyst® A21 з вільною основою.

7. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що зазначеною сильною основою, що використовують на стадії (ii), є гідроксид літію або гідроксид натрію, або гідроксид калію.

8. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що на стадії (iii) підкислення розчину, одержаного на стадії (ii), проводять пропусканням його через кислотну іонообмінну смолу і екстракцію на стадії (iv) здійснюють шляхом промивання кислотної іонообмінної смоли зазначеним органічним розчинником.

45 9. Спосіб за п. 8, який **відрізняється** тим, що зазначеною кислотою іонообмінною смолою є воднева форма смоли Dowex® 50WX8.

10. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що зазначений органічний розчинник, який використовують на стадії (iv), вибирають з метанолу, етанолу, ізопропанолу, гексанолу, гептану, циклогексану, метилциклогексану, дихлорметану, ацетонітрилу, ацетону, метилетилкетону, діетилового ефіру, МТБЕ, хлороформу, ТГФ, діоксану або їх суміші.

11. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що:

- (а) зазначеною основною іонообмінною смолою, через яку зазначений органічний розчинник, що містить зазначений неочищений екстракт рослини канабісу, пропускають на стадії (i), є смола марки Amberlyst® A21 з вільною основою;
- 5 (b) розчин сильної основи, пропущений через зазначену основну іонообмінну смолу на стадії (ii), є гідроксидом натрію;
- (c) стадію (iii) проводять шляхом пропускання розчину, одержаного на стадії (ii), через кислотну іонообмінну смолу, таку як воднева форма смоли марки Dowex® 50WX8; а також
- (d) стадію (iv) проводять шляхом промивання кислотної іонообмінної смоли органічним розчинником.
- 10 12. Спосіб за будь-яким з пп. 2, 4-11, який **відрізняється** тим, що ТГКК на стадії (v) перетворюють в її амонійну сіль; зазначену амонійну сіль ТГКК очищують шляхом розчинення в органічному розчиннику, такому як гептан, з одержанням зазначеного твердого осаду, що містить зазначену амонійну сіль ТГКК; зазначену амонійну сіль ТГКК перекристалізують із органічного розчинника, такого як суміш МТВЕ-гептан, з одержанням зазначеної амонійної солі ТГКК в
- 15 хімічно чистому вигляді, яку потім висушують; і вказану висушену хімічно чисту амонійну сіль ТГКК перетворюють в зазначену очищену ТГКК шляхом розчинення в органічному розчиннику, такому як МТВЕ, промивають одержаний органічний розчин кислотою водою і відділяють органічну фазу.
13. Спосіб за будь-яким з пп. 3-11, який **відрізняється** тим, що розчин КБДК на стадії (v) висушують над безводним сульфатом магнію або сульфатом натрію, або хлоридом кальцію.
- 20 14. Спосіб за будь-яким з пп. 1-11, який **відрізняється** тим, що додатково включає стадію декарбоксилювання зазначеної очищеної ТГКК або КБДК для одержання очищеного ТГК або КБД, відповідно.
15. Спосіб за п. 12, який **відрізняється** тим, що зазначену висушену хімічно чисту амонійну сіль ТГКК піддають декарбоксилюванню шляхом розчинення зазначеної амонійної солі ТГКК в органічному розчиннику, нагрівання одержаного розчину під тиском, що перевищує атмосферний тиск, одержуючи ТГК в зазначеному органічному розчиннику, і видалення зазначеного органічного розчинника з одержанням очищеного ТГК.
- 25 16. Спосіб за п. 11, який **відрізняється** тим, що вказану висушену очищену КБДК піддають декарбоксилюванню шляхом розчинення зазначеної очищеної КБДК в органічному розчині, що містить аміак, з одержанням таким чином амонійної солі КБДК у зазначеному розчині, нагрівання одержаного розчину під тиском, що перевищує атмосферний тиск, одержуючи КБД у зазначеному органічному розчиннику; видалення зазначеного органічного розчинника; і перекристалізації зазначеного КБД для одержання очищеного КБД.
- 30 17. Спосіб за п. 15 або 16, який **відрізняється** тим, що зазначений органічний розчинник вибирають з метанолу, етанолу, ізопропанолу, гексанолу, гептану, циклогексану, метилциклогексану, дихлорметану, ацетонітрилу, ацетону, метилетилкетону, діетилового ефіру, МТВЕ, хлороформу, ТГФ, діоксану або їх суміші.
- 35