



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2005126564/04, 22.08.2005

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
22.08.2005

(45) Опубликовано: 10.09.2006 Бюл. № 25

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: RU 1508535 A1, 27.08.1996. RU 2203265  
C2, 27.04.2003. RU 2022959 C1, 15.11.1994. RU  
1401828 A1, 27.07.1996.

Адрес для переписки:

690022, г.Владивосток, пр-кт 100 лет  
Владивостока, 159, Тихоокеанский институт  
биоорганической химии ДВО РАН, зав.  
патентным отделом Н.И. Стадниченко

(72) Автор(ы):

Артюков Александр Алексеевич (RU),  
Купера Елена Владимировна (RU),  
Кольцова Евгения Александровна (RU),  
Кочергина Татьяна Юрьевна (RU),  
Руцкова Татьяна Анатольевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Тихоокеанский институт биоорганической химии  
Дальневосточного отделения Российской  
Академии наук (RU)

## (54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ 2,3,5,7,8-ПЕНТАГИДРОКСИ-6-ЭТИЛ-1,4-НАФТОХИНОНА

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтическим  
средствам и касается способа получения 2,3,5,7,8-  
пентагидрокси-6-этил-1,4-нафтохинона  
(эхинохрома). Способ осуществляют экстракцией  
целевого продукта из морских ежей. Сырье  
промывают в реакторе водой для удаления  
морских солей, механических и других примесей.  
Промытое сырье обрабатывают органическим  
растворителем, смешивающимся с водой,  
например этиловым спиртом или ацетоном, для  
удаления остатков воды и части органических  
веществ. Затем проводят экстракцию органическим  
растворителем, не смешивающимся с водой,

например гексаном, хлороформом, для удаления  
веществ липидной природы. Обработанное сырье  
подвергают кислотной экстракции водным  
раствором неорганической кислоты в органическом  
растворителе не менее двух раз. Полученный  
экстракт, содержащий эхинохром, очищают от  
примесей последовательно жидкостной  
экстракцией хлороформом и кристаллизацией из  
органического растворителя. Окончательную  
очистку эхинохрома проводят вакуум-сублимацией  
кристаллосольвата при температуре около 220°C.  
Технический результат - получают эхинохром  
чистотой более 98,0%. 1 з.п. ф-лы, 2 ил.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

*C07C 50/32* (2006.01)*C07C 46/10* (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2005126564/04, 22.08.2005**(24) Effective date for property rights: **22.08.2005**(45) Date of publication: **10.09.2006 Bull. 25**

Mail address:

**690022, g.Vladivostok, pr-kt 100 let  
Vladivostoka, 159, Tikhookeanskij institut  
bioorganicheskoj khimii DVO RAN, zav.  
patentnym otdelom N.I. Stadnichenko**

(72) Inventor(s):

**Artjukov Aleksandr Alekseevich (RU),  
Kupera Elena Vladimirovna (RU),  
Kol'tsova Evgenija Aleksandrovna (RU),  
Kochergina Tat'jana Jur'evna (RU),  
Rutskova Tat'jana Anatol'evna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Tikhookeanskij institut bioorganicheskoj  
khimii Dal'nevostochnogo otdelenija  
Rossijskoj Akademii nauk (RU)**

(54) **METHOD FOR PREPARING 2,3,5,7,8-PENTAHYDROXY-6-ETHYL-1,4-NAPHTHOQUINONE**

(57) Abstract:

FIELD: organic chemistry, pharmaceutical technology.

SUBSTANCE: invention relates to pharmaceutical agents and a method for preparing 2,3,5,7,8-tetrahydroxy-6-ethyl-1,4-naphthoquinone (echinochrome). Method involves extraction of the end product from urchins. Raw is washed in reactor with water to remove sea salts, mechanical and other impurities. Washed out raw is treated with a water-mixing organic solvent, for example, ethyl alcohol or acetone for removal of water residue and part of organic substances. Then method involves extraction with organic solvent not mixing with water, for example,

hexane or chloroform to remove lipid substances. Treated raw is subjected for 2-fold, not less, acid extraction with inorganic acid aqueous solution in organic solvent. The prepared echinochrome-containing extract is purified from impurities by successive liquid extraction with chloroform and crystallization from organic solvent. The final purification of echinochrome is carried out by vacuum-sublimation of crystal solvate at temperature about 220°C. Invention provides preparing echinochrome with purity above 98.0%.

EFFECT: improved preparing method.

2 cl, 2 dwg, 3 ex

Изобретение относится к фармацевтическому производству и касается способа получения 2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этил-1,4-нафтохинона (эхинохрома).

Природным источником эхинохрома служат панцири и иглы морских ежей, в которых он содержится в виде кальциевых и магниевых комплексов - фенолятов - совместно с другими  
5 спинохромами - родственными по структуре и свойствам полигидроксинафтохинонами. Эти соединения имеют близкие с эхинохромом физико-химические свойства (растворимость, сорбционная способность и др.).

Известен способ получения 2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этил-1,4-нафтохинона путем обработки сырья 18% раствором соляной кислоты в воде, жидкостной экстракцией кислого  
10 водного раствора н-бутиловым спиртом, промывки н-бутанольного экстракта водой до нейтральной реакции, упаривания н-бутанольного экстракта и последующей хроматографической очистки целевого продукта с использованием в качестве сорбента политетрафторэтилена, а в качестве элюирующего агента - воду и 40-45% этиловый спирт. Элюат упаривают досуха, а эхинохром кристаллизуют из водного этилового спирта и сушат  
15 [Авторское свидетельство СССР №1233443, 1986].

Наиболее близким к заявляемому способу по технической сущности является способ получения 2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этил-1,4-нафтохинона путем экстракции сырья (морских ежей) 4-8% раствором 30% серной кислоты в этиловом спирте, последующей  
20 жидкостной экстракции хлороформом в смеси с водой в объемном соотношении 1:1, концентрирования экстракта и последующей перекристаллизации целевого продукта из смеси растворителей 1,4-диоксан-гексан при объемном соотношении 5:1, промывки полученного кристаллосольвата гексаном и сушки в вакуум-сушильном шкафу [Патент РФ №1508535, 1991].

Основным недостатком прототипа является низкая степень очистки эхинохрома:  
25 наличие примесей полигидроксинафтохинонов более 2%, других неполярных посторонних органических примесей (см. фиг.1) и остаточных органических растворителей (целевой продукт получают в виде кристаллосольвата с содержанием растворителя (диоксана) в кристаллах до 30%). Такое качество продукта не позволяет использовать его в качестве субстанции для получения на его основе готовых лекарственных препаратов.

В связи с особенностью структуры эхинохрома при перекристаллизации происходит  
30 встраивание молекул растворителя и примесей, способных образовывать межмолекулярные водородные связи, в получаемый кристаллосольват с образованием достаточно прочных комплексов, которые не разрушаются при низкотемпературной вакуумной сушке, вследствие чего таким приемом полностью удалить примеси и  
35 растворитель не удается.

Кроме этого, в спиртовой экстракт переходит значительное количество соединений липидной природы, смолистых веществ, которые в процессе кристаллизации соосаждаются на поверхности кристаллов, происходит процесс осмоления, залипания полученных кристаллов.

Повышение температуры сушки может привести к обугливанию липидных и белковых  
40 примесей и загрязнению лекарственной субстанции остаточными продуктами их разложения (золой). Введение процедур повторных перекристаллизаций или хроматографической очистки приводит к снижению выхода эхинохрома и, соответственно, к существенным потерям ценного дорогостоящего продукта.

45 Задачей изобретения является повышение степени очистки эхинохрома.

Технический результат, обеспечиваемый изобретением, заключается в повышении степени очистки эхинохрома не менее 98,0%. При этом содержание в препарате  
посторонних органических примесей не более 2%, а остаточных органических растворителей не более 0,1%, т.е. получение препарата высокой степени очистки,  
50 отвечающего требованиям ФС 42-0170-2780-02 "Эхинохром". Эта субстанция используется для приготовления лекарственных препаратов гистохром для кардиологии и офтальмологии [Патент РФ №2137472, 1999; патент РФ №2134107, 1999].

Сущность предлагаемого способа состоит в следующем.

Свежевыловленное или дефростированное сырье, соответствующее по своим санитарно-гигиеническим свойствам действующим техническим условиям (ТУ 9253-0389-02698170-97), предварительно промывают в реакторе водой для удаления механических примесей, морских солей и других водорастворимых веществ. После промывки сырье

5 сначала обрабатывают органическим растворителем, смешивающимся с водой, например, этиловым спиртом, ацетоном для удаления остатков воды и части органических веществ белковой природы, затем экстрагируют сырье органическим растворителем, не смешивающимся с водой, например гексаном, хлороформом, для удаления веществ

липидной природы (обезжиривание сырья).

10 Обработанное сырье подвергают кислотной экстракции. Для этой цели используют водный раствор неорганической кислоты в органическом растворителе с последующей экстракцией органическим растворителем до полного истощения сырья.

Полученный экстракт, содержащий эхинохром, очищают от примесей последовательно методами жидкостной экстракции хлороформом и кристаллизацией из диоксана.

15 Полученный кристаллосольват сушат в вакуумном сушильном шкафу.

Характерной особенностью эхинохрома является его способность при нагревании при температуре около 220°C сублимироваться без разложения. Поэтому для окончательной очистки эхинохрома проводят вакуум-сублимацию кристаллосольвата при температуре

около 220°C. При этом происходит полная очистка лекарственной субстанции от

20 органического растворителя, который удаляется под вакуумом, и от остаточных органических и неорганических примесей, остающихся в шлаке. Целевой продукт снимают с приемника сублиматора в чистом помещении и упаковывают в стерильные емкости (банки темного стекла для лекарственных средств).

Общими признаками в способе-прототипе и заявляемом способе являются:

- 25
- сырье - морской еж,
  - кислотная экстракция сырья,
  - жидкостная экстракция органическим растворителем и
  - перекристаллизация целевого продукта из органического растворителя.

Отличительными признаками в способе-прототипе и заявляемом способе являются:

- 30
- предварительная промывка сырья водой.
  - последовательная обработка промытого водой сырья органическими растворителями, сначала смешивающимися с водой, а затем органическими растворителями, не смешивающимися с водой.
  - перекристаллизация из диоксана.
- 35
- сублимация эхинохрома в вакууме при температуре около 220°C.

Использование совокупности этих отличительных признаков позволяет повысить чистоту целевого продукта, поскольку предварительная промывка сырья водой позволяет

избавиться от механических примесей, морских солей и других водорастворимых веществ.

Обработка промытого водой сырья органическими растворителями, смешивающимися с

40 водой, позволяет удалить значительную часть соединений белковой природы и обезводить сырье. Последующая обработка сырья органическими растворителями, не смешивающимися с водой, позволяет удалить примеси липидной природы, что в

дальнейшем существенно упрощает процесс кристаллизации эхинохрома и уменьшает

45 загрязнение кристаллов органическими примесями. Поэтому мы упростили процедуру перекристаллизации, используя в качестве растворителя только диоксан вместо смеси диоксан-гексан, используемой в способе-прототипе. Сублимационная очистка эхинохрома

при температуре около 220°C позволяет дополнительно очистить целевой продукт от

нелетучих органических примесей и растворителя, включенного в кристаллосольват, что не является безусловно очевидным приемом, т.к. трудно предугадать поведение примесей

50 в условиях сублимации эхинохрома (примеси могут совместно возгоняться с эхинохромом или образовывать летучие продукты деградации или взаимодействия, загрязняя тем самым целевой продукт).

На основе заявляемого способа получения лекарственного средства - субстанции

эхинохром - в Тихоокеанскрм институте биоорганической химии ДВО РАН разработан и утвержден опытно-промышленный регламент "Производство эхинохрома из морских ежей". Способ апробирован на химико-технологическом участке ТИБОХ ДВО РАН.

На фиг.1 приведена ВЭЖХ эхинохрома, полученного по способу-прототипу.

5 На фиг.2 приведена ВЭЖХ эхинохрома, полученного по заявляемому способу.

Изобретение характеризуется следующими примерами.

Пример 1.

Сырье - морской еж свежеевыловленный или дефростированный - в количестве 200 кг загружают в реактор. Сырье промывают водой. Далее сырье обрабатывают

10 последовательно этиловым спиртом в соотношении 1:1 по массе с сырьем. Полученный экстракт упаривают. Концентрат оставляют для дальнейшего целевого использования.

Затем сырье обрабатывают гексаном в соотношении 1: 0,8 по массе с сырьем.

Полученный экстракт, содержащий вещества липидной природы, упаривают и оставляют для дальнейшего целевого использования.

15 Обезжиренное сырье экстрагируют 6% раствором 30% серной кислотой в этаноле в соотношении 1:1 с сырьем по массе. Экстракция проводится до полного истощения сырья по эхинохromу, но не менее двух раз. Полученные экстракты объединяют, упаривают до полного удаления этанола и подвергают жидкостной экстракции хлороформом. Для этого экстракт загружают в колонку и экстрагируют смесью хлороформ - вода в соотношении 1:1

20 по объему трехкратно. Хлороформные экстракты отделяют, объединяют, промывают водой до нейтральной реакции, фильтруют и упаривают в вакууме до полного удаления растворителя.

Полученный остаток перекристаллизовывают из диоксана (в соотношении 1:1 по массе).

25 Кристаллосольват отфильтровывают, промывают гексаном, сушат в вакуумном сушильном шкафу до постоянного веса и возгоняют в вакуумном сублиматоре при температуре около 220°C. Полученный сублимат фасуют в стерильную стеклянную тару в ламинарном шкафу. Выход целевого продукта 59 г.

По данным аналитического метода ВЭЖХ степень чистоты полученного эхинохрома составляет более 98,0% (фиг.2).

30 Пример 2.

Сырье - морской еж свежеевыловленный или дефростированный - в количестве 200 кг загружают в реактор. Сырье промывают водой. Далее сырье обрабатывают последовательно ацетоном в соотношении 1:0,8 по массе с сырьем. Полученный экстракт упаривают. Концентрат оставляют для дальнейшего целевого использования. Затем сырье

35 обрабатывают гексаном в соотношении 1: 0,8 по массе с сырьем. Полученный экстракт, содержащий вещества липидной природы, упаривают и оставляют для дальнейшего целевого использования.

40 Обезжиренное сырье экстрагируют 30% раствором 6М соляной кислоты в этаноле в соотношении 1:1 с сырьем по массе до истощения сырья по эхинохromу, но не менее двух раз. Кислые спиртовые экстракты объединяют, концентрируют. Полученный концентрат далее обрабатывают, как описано в примере 1. Выход эхинохрома составляет около 60 г.

По данным аналитического метода ВЭЖХ степень чистоты полученного эхинохрома составляет более 98,0%.

Пример 3.

45 Сырье - морской еж свежеевыловленный или дефростированный или отходы промышленной переработки промысловых видов ежей - в количестве 200 кг загружают в реактор. Сырье промывают водой, а затем этиловым спиртом в соотношении 1:1 по массе с сырьем. Полученный экстракт упаривают. Концентрат оставляют для дальнейшего целевого использования. Затем сырье обрабатывают хлороформом в соотношении 1:1,5 по

50 массе с сырьем. Полученный экстракт, содержащий вещества липидной природы, упаривают и оставляют для дальнейшего целевого использования. Отмытое и обезжиренное сырье далее обрабатывают, как описано в примере 1. Выход эхинохрома составляет 59,5 г. Хранят в защищенном от света месте при температуре не выше 25°C.

По данным аналитического метода ВЭЖХ степень чистоты полученного эхинохрома составляет более 98,0%.

#### Формула изобретения

5 1. Способ получения 2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этил-1,4-нафтохинона, включающий  
экстракцию целевого продукта из морских ежей раствором неорганической кислоты в  
органическом растворителе, жидкостную экстракцию хлороформом и перекристаллизацию  
из органического растворителя, отличающийся тем, что сырье перед экстракцией  
10 последовательно обрабатывают водой, органическими растворителями, сначала,  
смешивающимся с водой, а затем не смешивающимся с водой, перекристаллизацию  
осуществляют из диоксана, а окончательную очистку целевого продукта проводят  
сублимацией при температуре около 220°C.

15 2. Способ по п.1, отличающийся тем, что в качестве растворителя, смешивающегося с  
водой, используют этиловый спирт или ацетон, а в качестве растворителя, не  
смешивающегося с водой, используют гексан или хлороформ.

20

25

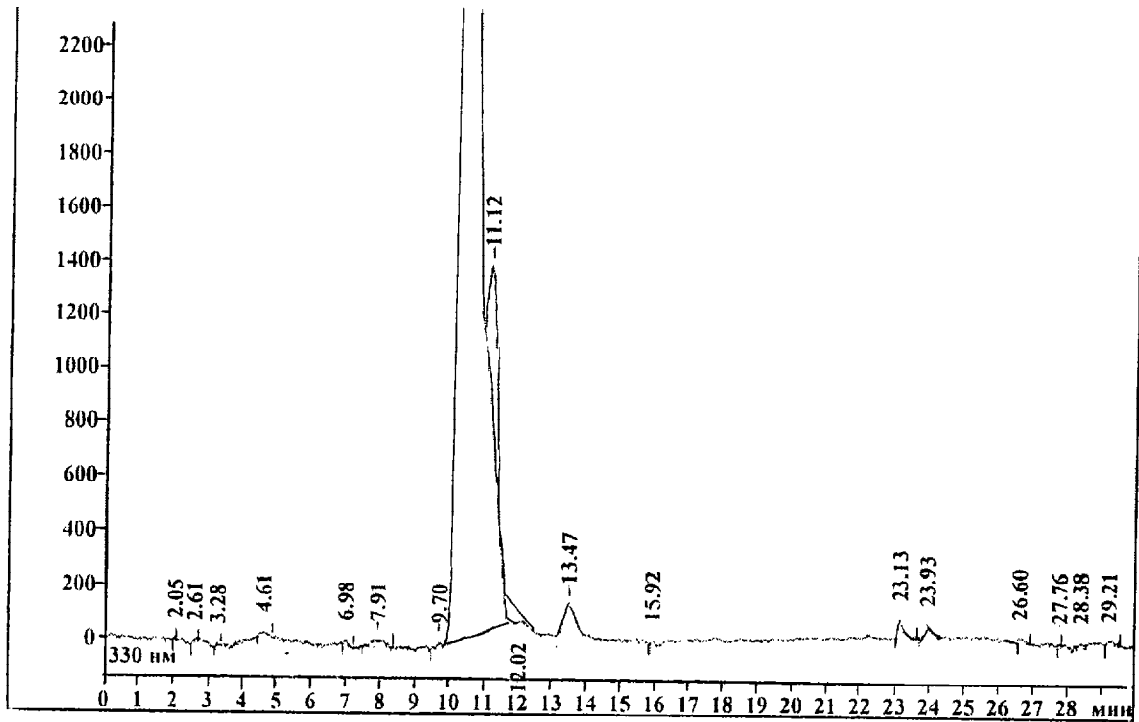
30

35

40

45

50

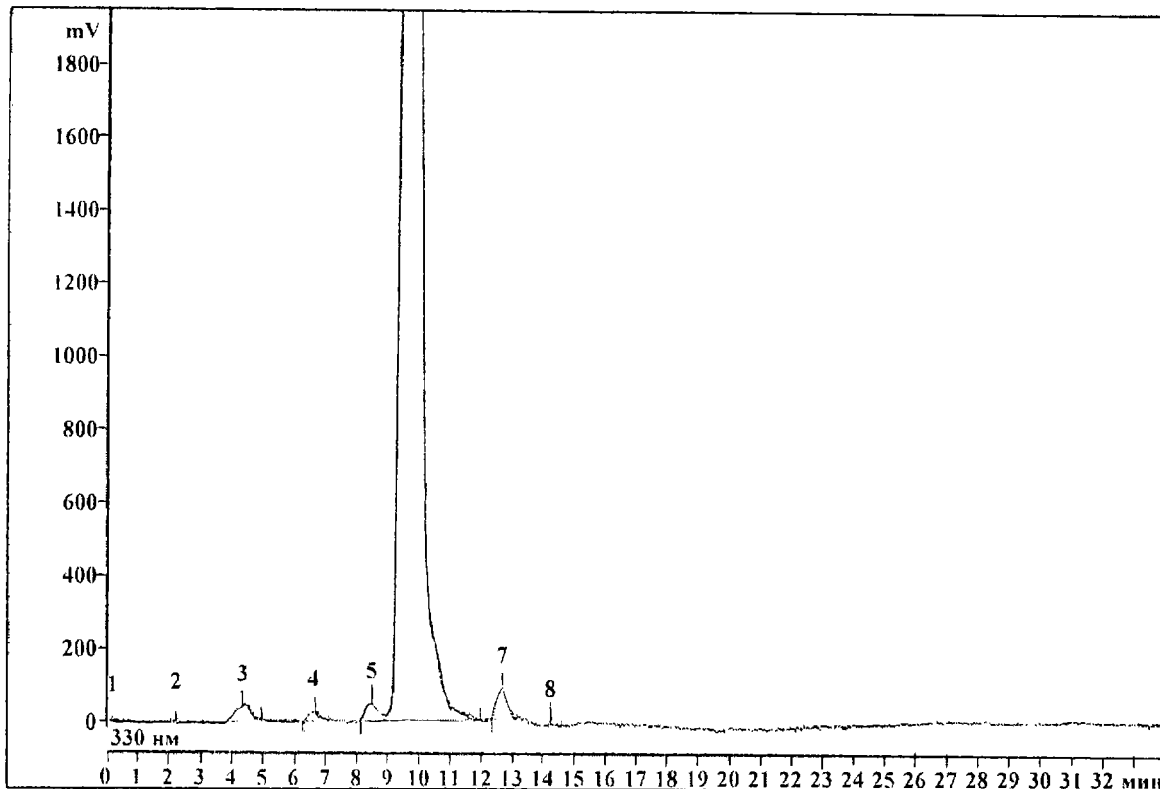


РЕЗУЛЬТАТЫ РАСЧЕТА

Метод расчета: Заказной  
 Стандарт: No  
 Канал: 330 нм  
 Нормализация: 100.00

No	Время мин	Высота mV	Площадь mV*сек	Площадь %	Название
1	2.048	14.23	35.44	0.01	
2	2.604	12.55	95.17	0.03	
3	3.282	16.95	59.19	0.02	
4	4.606	20.28	352.89	0.10	
5	6.984	18.12	171.63	0.05	
6	7.905	22.47	688.97	0.19	
7	9.699	20.89	174.69	0.05	
8	10.38	14602.03	337685.54	94.77	эхинохром
9	11.12	526.33	10040.44	2.82	
10	12.02	-36.91	-1904.62	-0.53	
11	13.47	124.27	2591.16	0.73	
12	15.92	13.92	91.84	0.03	
13	23.13	72.12	876.43	0.25	
14	23.93	52.34	701.74	0.20	
15	26.59	15.79	238.56	0.07	
16	27.76	14.02	29.78	0.01	
17	28.38	27.97	288.67	0.08	
18	29.21	14.46	279.94	0.08	
18	29.93	15625.63	356306.71	100.00	

Фиг. 1



РЕЗУЛЬТАТЫ РАСЧЕТА

Метод расчета: Заказной  
 Стандарт: No  
 Канал: 330 нм  
 Нормализация: 100.00

No	Время мин	Высота mV	Площадь mV*сек	Площадь %	Название
1	0.21	14.97	35.27	0.01	
2	2.237	28.51	48.59	0.01	
3	4.361	44.84	1685.70	0.43	
4	6.633	25.70	663.07	0.17	
5	8.49	48.11	1317.86	0.34	
6	9.638	14540.14	387019.39	98.55	эхинохром
7	12.69	86.15	1851.36	0.47	
8	14.24	13.90	100.96	0.03	
8	33.96	14802.32	392722.20	100.00	

Фиг. 2