



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2007131681/04, 20.08.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
20.08.2007

(45) Опубликовано: 20.04.2009 Бюл. № 11

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2283298 C1, 10.09.2006. SU 1508535 A1,
27.08.1996. RU 2022959 C1, 15.11.1994. JP 61-
145144 A, 02.07.1986.

Адрес для переписки:

690022, г. Владивосток, пр-кт 100-летия
Владивостоку, 159, Тихоокеанский институт
биоорганической химии ДВО РАН,
патентный отдел, Н.И. Стадниченко

(72) Автор(ы):

Артюков Александр Алексеевич (RU),
Козловская Эмма Павловна (RU),
Купера Елена Владимировна (RU),
Рущкова Татьяна Анатольевна (RU),
Балаганский Александр Петрович (RU),
Глазунов Валерий Петрович (RU),
Маханьков Вячеслав Валентинович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

ТИХООКЕАНСКИЙ ИНСТИТУТ
БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ТИБОХ ДВО РАН) (RU)

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

(57) Реферат:

Изобретение относится к способу получения 2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этил-1,4-нафтохинона (эхинохрома А), который используется в качестве активной субстанции лекарственных препаратов серии «Гистохром» и для производства активных добавок «Тимарин», «Хитохром-С», «Золотой рог». Способ характеризуется тем, что в качестве сырья используют консервированных плоских морских ежей, которых отделяют от консерванта декантацией, образовавшийся при этом консервант фильтруют и наносят на хроматографическую колонку, заполненную обезвоженным хитозаном в OH^- форме, затем хитозан, с адсорбированным на нем эхинохромом А, промывают 96% этиловым спиртом, а расконсервированных плоских морских ежей заливают 96% этиловым спиртом в соотношении сырье: экстрагент 1:(1,0-1,2) с добавлением неорганической кислоты в

соотношении этиловый спирт: кислота 100:(1,0-1,5), при этом экстракцию осуществляют в течение 20-24 час при комнатной температуре до полного истощения сырья, затем полученный экстракт пропускают через ту же колонку, заполненную обезвоженным хитозаном в OH^- форме, далее хитозан, с адсорбированным на нем эхинохромом А, промывают последовательно 30-40% водным раствором этилового спирта и 96% этиловым спиртом, затем элюируют эхинохром А с колонки 96% этиловым спиртом с добавлением соляной кислоты (pH 2-3), полученный кислый элюат нейтрализуют пищевой содой до pH 4-5, фильтруют и упаривают до полного удаления растворителя, далее сухой остаток растворяют в хлороформе или ацетоне, фильтруют и снова упаривают, затем осадок кристаллизуют из этилового спирта и высушивают. Способ позволяет получать эхинохром А с высоким выходом. 4 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: **2007131681/04, 20.08.2007**

(24) Effective date for property rights:
20.08.2007

(45) Date of publication: **20.04.2009 Bull. 11**

Mail address:

**690022, g. Vladivostok, pr-kt 100-letija
Vladivostoku, 159, Tikhookeanskij institut
bioorganicheskoj khimii DVO RAN, patentnyj
otdel, N.I. Stadnichenko**

(72) Inventor(s):

**Artjukov Aleksandr Alekseevich (RU),
Kozlovskaja Ehmma Pavlovna (RU),
Kupera Elena Vladimirovna (RU),
Rutskova Tat'jana Anatol'evna (RU),
Balaganskij Aleksandr Petrovich (RU),
Glazunov Valerij Petrovich (RU),
Makhan'kov Vjacheslav Valentinovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**TIKHOKEANSKIJ INSTITUT
BIOORGANICHESKOJ KHIMII
DAL'NEVOSTOCHNOGO OTDELENIJa
ROSSIJSKOJ AKADEMII NAUK (TIBOKh
DVO RAN) (RU)**

(54) METHOD OF OBTAINING 2,3,5,7,8-PENTAHYDROXY-6-ETHYL-1,4-NAPHTOQUINONE

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to method of obtaining 2,3,5,7,8-pentahydroxy-6-ethyl-1,4-naphthoquinone (equinochrome A), which is used as active substance of medications of "Histochrome" series and for production of active additives "Timarin", "Chitochrome-C", "Zolotoy Rog". As raw material, preserved sand dollars, which are separated from preservative by decantation, are used, formed preservative is filtered and applied onto chromatographic column filled with dehydrated chitosan in OH form, then chitosan with adsorbed in it equinochrome A is washed with 96% ethyl alcohol, and out of preserved sand dollars are covered with 96% ethyl alcohol with ratio raw material : extragent 1: (1.0-1.2) with addition of inorganic acid with ratio ethyl alcohol : acid 100 : (1.0-1.5),

extraction being carried out during 20-24 hours at room temperature until raw material is fully exhausted; then obtained extract is passed through the same column filled with dehydrated chitosan in OH⁻ form, further chitosan, with adsorbed on it equinochrome A, is washed successively with 30-40% water solution of ethyl alcohol and 96% ethyl alcohol, then equinochrome A from column is eluted with 96% ethyl alcohol with addition of hydrochloric acid (pH 2-3), obtained acid eluate is neutralised with baking soda to pH 4-5, filtered and evaporated until full solvent removal, further, dry residue is dissolved in chloroform or acetone, filtered and evaporated again, then residue is crystallised from ethyl alcohol and dried.

EFFECT: obtaining equinochrome A with high output.

4 dwg, 2 ex

Изобретение относится к фармакологическому производству и касается способа получения 2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этил-1,4-нафтохинона (эхинохрома А) из консервированных плоских морских ежей.

5 Эхинохром используется в качестве активной субстанции лекарственных препаратов серии «Гистохром», применяющихся для лечения острого инфаркта миокарда и ишемической болезни сердца, и для лечения воспалительных заболеваний сетчатки и роговицы глаз. Также эхинохром является активной субстанцией для
10 производства биологически активных добавок «Тимарин», «Хитохром-С», «Золотой рог», предназначенных для профилактики атеросклероза, коронарной болезни сердца, улучшения липидного статуса крови, обеспечения антиоксидантной защиты организма.

Известен способ получения 2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этил-1,4-нафтохинона путем
15 экстракции сырья (плоских морских ежей) 4-8% раствором 30% серной кислоты в этиловом спирте, последующей жидкостной экстракции хлороформом в смеси с водой в объемном соотношении 1:1, концентрирования экстракта, последующей перекристаллизации целевого продукта из смеси растворителей 1,4-диоксан - гексан при объемном соотношении 5:1, промывки полученного кристаллосольвата гексаном
20 и сушки в вакуумном сушильном шкафу [SU 1508535 АЗ, 27.08.1996]. Выход целевого продукта составляет 0,05-0,06% от веса исходного сырья.

Известен способ получения 2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этил-1,4-нафтохинона, включающий обработку сырья соляной кислотой, экстракцию целевого продукта из
25 морских ежей серным эфиром, отделение его в виде водорастворимых натриевых производных, хроматографическую очистку на силикагеле и дробную перекристаллизацию [Mathieson J.W., Thomson R.H. J. Chem. Soc.(C), 1971, №1, р.153-160]. Выход целевого продукта составляет 0,01% от веса исходного сырья.

Основными недостатками известных способов являются низкий выход целевого
30 продукта и использование высокотоксичного, взрывоопасного, из-за возможного накопления перекисных соединений, 1,4-диоксана в первом способе; опасного серного эфира - во втором способе, а также сложность и длительность процесса препаративной хроматографии на силикагеле и значительные потери целевого продукта.

35 Наиболее близким к заявляемому способу по технической сущности является способ получения 2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этил-1,4-нафтохинона, включающий последовательную обработку свежельовленных или дефростированных морских ежей водой, органическими растворителями, например спиртом этиловым,
40 экстракцию целевого продукта из морских ежей раствором неорганической кислоты в органическом растворителе, например соляной кислоты в этиловом спирте, концентрирование полученного экстракта, жидкостную экстракцию кислого раствора хлороформом с водой в соотношении 1:1 по объему, упаривание хлороформного экстракта досуха, кристаллизацию целевого продукта из диоксана, сушку
45 кристаллосольвата и последующую сублимацию эхинохрома при 220°C [RU 2283298 С1, 10.09.2006]. Выход целевого продукта составляет 0,028% от веса исходного сырья.

Основным недостатком способа-прототипа является низкий выход целевого
50 продукта, обусловленный потерей эхинохрома при длительном хранении замороженного сырья, а также технологическими потерями при обработке сырья органическими растворителями для удаления липидов, в процессе жидкостной экстракции хлороформом значительная часть целевого продукта остается в кислом экстракте и промывной воде; при кристаллизации из 1,4-диоксана происходят потери

эхинохрома в маточном растворе и при отмывке кристаллов, которые могут достигать 20% от общего содержания целевого продукта. При возгонке происходит частичное спекание целевого продукта с органическими и неорганическими примесями. Кроме этого, 1,4-диоксан токсичен и взрывоопасен вследствие накопления перекисных соединений, что требует дополнительной очистки и контроля содержания перекисей.

Известно, что океаническое сырье не подлежит длительному хранению вследствие процессов окисления и разрушения лабильных соединений, таких как липиды, витамины и антиоксиданты, без заморозки или иных способов консервации.

Задачей изобретения является разработка способа получения эхинохрома А из консервированного сырья.

Задача решена тем, что в способе получения 2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этил-1,4-нафтохинона (эхинохрома А) из морских ежей, включающем экстракцию и очистку целевого продукта, согласно изобретению, в качестве сырья используют консервированных плоских морских ежей, которых отделяют от консерванта декантацией, образовавшийся при этом консервант фильтруют и наносят на хроматографическую колонку, заполненную обезвоженным хитозаном в OH^- форме, затем хитозан, с адсорбированным на нем эхинохромом А, промывают 96% этиловым спиртом, а расконсервированных плоских морских ежей заливают 96% этиловым спиртом в соотношении сырье: экстрагент 1:(1,0-1,2) с добавлением неорганической кислоты в соотношении этиловый спирт: кислота 100:(1,0-1,5), при этом экстракцию осуществляют в течение 20-24 час при комнатной температуре, до полного истощения сырья. Затем полученный экстракт пропускают через ту же колонку с обезвоженным хитозаном в OH^- форме, далее хитозан, с адсорбированным на нем эхинохромом А, промывают последовательно 30-40% водным раствором этилового спирта и 96% этиловым спиртом, затем элюируют эхинохром А с колонки 96% этиловым спиртом с добавлением соляной кислоты (рН 2-3). Полученный кислый элюат нейтрализуют пищевой содой до рН 4-5, фильтруют и упаривают до полного удаления растворителя, далее сухой остаток растворяют в хлороформе или ацетоне, фильтруют и снова упаривают, затем осадок кристаллизуют из этилового спирта и высушивают.

Технический результат заключается в повышении выхода целевого продукта в 2,5-2,7 раза по сравнению с выходом эхинохрома по способу-прототипу, а также в обеспечении безопасности процесса.

В заявляемом способе в качестве сырья используют консервированных 96% этиловым спиртом с добавлением аскорбиновой кислоты морских ежей, хранившегося от полугода до двух лет.

Сырье отделяют от консервирующего раствора методом декантации. Консервант, содержащий комплекс липидов и антиоксидант эхинохром, фильтруют и пропускают через хроматографическую колонку, наполненную измельченным в порошок обезвоженным хитозаном в OH^- форме и уравновешенную 96% этиловым спиртом.

Эхинохром селективно связывается с хитозаном, а сопутствующие примеси вымываются с колонки потоком элюента - 96% этанолом. Обедненный консервант и элюат регенерируют перегонкой. Этиловый спирт возвращают в технологический процесс.

Сырье - морские ежи, освобожденные от консервирующего раствора, экстрагируют 96% этанолом с добавлением разрешенной в пищевой промышленности кислоты (соляной, фосфорной). Соотношение сырья и экстрагента 1:(1,0-1,2), что

обеспечивает полное покрытие экстрагентом различных по размеру морских ежей. Соотношение этилового спирта и кислоты 100:(1-1,5). При этом соотношении происходит разложение кальциевых и магниевых солей эхинохрома, что обеспечивает возможность его экстракции из сырья.

5 Экстракцию проводят при комнатной температуре в течение 20-24 часов. Полученный экстракт, содержащий эхинохром, фильтруют и пропускают через ту же колонку с хитозаном, через которую пропускали консервирующий раствор. Эхинохром из экстракта адсорбируется на хитозане. Обедненный экстракт
10 регенерируют перегонкой и возвращают в технологический процесс. Экстракцию проводят не менее трех раз, до полного истощения сырья.

Колонку, с адсорбированным на хитозане эхинохромом, промывают последовательно 30-40% водным раствором этилового спирта и 96% этиловым спиртом. Эхинохром элюируют с колонки 96% этиловым спиртом, с добавлением
15 соляной кислоты (рН 2-3). Полученный кислый элюат нейтрализуют содой пищевой (кислый углекислый натрий) до рН 4-5, фильтруют и упаривают до полного удаления растворителя.

Сухой остаток растворяют в хлороформе или ацетоне, фильтруют и снова
20 упаривают. Полученный мелкий порошок кристаллизуют из этилового спирта и сушат в вакуумном сушильном шкафу до постоянного веса. Выход эхинохрома А составляет 0,073-0,075% от веса исходного сырья. Целевой продукт не содержит примесей.

Для подтверждения чистоты продукта был проведен анализ образцов эхинохрома
25 А методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

ВЭЖХ проводили на хроматографе LaChrom (Hitachi Merck), снабженным УФ-детектором L-7400, термостатом L-7300, насосом L-7100, интегратором D-7500. Для анализа использовали колонку ZORBAX Eclipse XDB-C18 (Agilent) 4.6x75 mm, 3.5
30 μm . Детектирование проводили при $\lambda=270$ нм, скорость подачи растворителей 1 мл/мин, температура термостата 30°C. Элюцию проводили смесью растворителей А (ацетонитрил + 1% CH_3COOH) - В (вода + 1% CH_3COOH); градиент (10% А + 90% В) \rightarrow (90% А + 10% В).

На фиг.1 представлена ВЭЖХ-хроматограмма консерванта морских ежей, в
35 котором присутствуют пики, соответствующие эхинохрому А (15,55) и сопутствующих примесей.

На фиг.2 представлена ВЭЖХ-хроматограмма спиртового экстракта морских ежей, в котором присутствуют пики, соответствующие эхинохрому А (15,55) и
40 сопутствующих примесей.

На фиг.3 представлена ВЭЖХ-хроматограмма элюата, полученного при промывке спиртом колонки с адсорбированным на хитозане экстрактом, в котором присутствуют пики примесей. Пик эхинохрома А отсутствует, т.к. эхинохром А полностью связывается с хитозаном, образуя комплексную соль.

На фиг.4 представлена ВЭЖХ-хроматограмма элюата, полученного при
45 экстракции эхинохром А, адсорбированного на хитозане, подкисленным спиртом. На хроматограмме отчетливо проявляется пик эхинохрома А (15,55). Пики примесей отсутствуют, следовательно эхинохром А, полученный заявляемым способом,
50 является хроматографически чистым.

Изобретение иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1

Сырье - консервированный морской еж в количестве 100 кг загружают в реактор.

Консервант сливают. В хроматографическую колонку объемом 10 литров (соотношение высоты и диаметра 10:1) загружают 5 кг измельченного обезвоженного хитозана в OH^- форме и промывают 96% этиловым спиртом. Консервант в количестве 100 л пропускают через хитозан и отправляют на регенерацию.

Расконсервированных морских ежей экстрагируют 96% этиловым спиртом с добавлением фосфорной кислоты (соотношение сырья: экстрагент 1:1). Экстрагент получают смешиванием 100 л этанола 96% и 5 л 20% фосфорной кислоты. Экстракцию проводят до полного истощения сырья (не менее трех раз) при комнатной температуре в течение 22 час. Полученные экстракты объединяют, пропускают через колонку с хитозаном, упаривают и возвращают в технологический процесс.

Колонку с сорбированным эхинохромом А промывают 10 л 30% водного раствора этилового спирта и 10 л 96% этилового спирта. Эхинохром А с хитозана элюируют 96% этиловым спиртом с добавлением соляной кислоты (10 л 96% этанола и 1 л 18% соляной кислоты).

Регенерация колонки: хитозан промывают 20 л 96% этилового спирта.

Полученный элюат нейтрализуют пищевой содой до pH 4-5 и упаривают до полного удаления растворителя. Полученный остаток растворяют в 0,5 л хлороформа, фильтруют, снова упаривают и перекристаллизовывают из 96% этанола. Полученный кристаллосольват сушат в вакуумном сушильном шкафу до постоянного веса. Выход эхинохрома составляет 75 г.

Пример 2

Сырье - консервированный плоский морской еж в количестве 50 кг обрабатывают и экстрагируют, как описано в примере 1 (соотношение сырья: экстрагент 1:1,2).

Экстрагент получают смешиванием 60 л 96% этилового спирта с 4,5 л 18% соляной кислоты. Хроматографическую очистку проводят, как описано в примере 1. Для выделения эхинохрома А используют 3 кг хитозана, промывают колонку 6 л 40% водного раствора этилового спирта и 6 л 96% этанола. Целевой продукт элюируют с хитозана 6 л 96% этанола с добавлением 0,6 л 18% соляной кислоты. Упаренный элюат растворяют в 0,5 л ацетона, фильтруют, снова упаривают и перекристаллизовывают из 96% этанола. Полученный кристаллосольват сушат в вакуумном сушильном шкафу до постоянного веса. Выход эхинохрома составляет 73 г.

Формула изобретения

Способ получения 2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этил-1,4-нафтохинона (эхинохрома А) из морских ежей, включающий экстракцию и очистку целевого продукта, отличающийся тем, что в качестве сырья используют консервированных плоских морских ежей, которых отделяют от консерванта декантацией, образовавшийся при этом консервант фильтруют и наносят на хроматографическую колонку, заполненную обезвоженным хитозаном в OH^- форме, затем хитозан с адсорбированным на нем эхинохромом А, промывают 96%-ным этиловым спиртом, а расконсервированных плоских морских ежей заливают 96%-ным этиловым спиртом в соотношении сырье:экстрагент 1:(1,0-1,2) с добавлением неорганической кислоты в соотношении этиловый спирт:кислота 100:(1,0-1,5), при этом экстракцию осуществляют в течение 20-24 ч при комнатной температуре до полного истощения сырья, затем полученный экстракт пропускают через ту же колонку, заполненную обезвоженным хитозаном в OH^- форме, далее хитозан с адсорбированным на нем эхинохромом А промывают последовательно 30-40%-ным водным раствором этилового спирта и 96%-ным этиловым спиртом, затем элюируют эхинохром А с

колонки 96%-ным этиловым спиртом с добавлением соляной кислоты (рН 2-3),
полученный кислый элюат нейтрализуют пищевой содой до рН 4-5, фильтруют и
упаривают до полного удаления растворителя, далее сухой остаток растворяют в
5 хлороформе или ацетоне, фильтруют и снова упаривают, затем осадок кристаллизуют
из этилового спирта и высушивают.

10

15

20

25

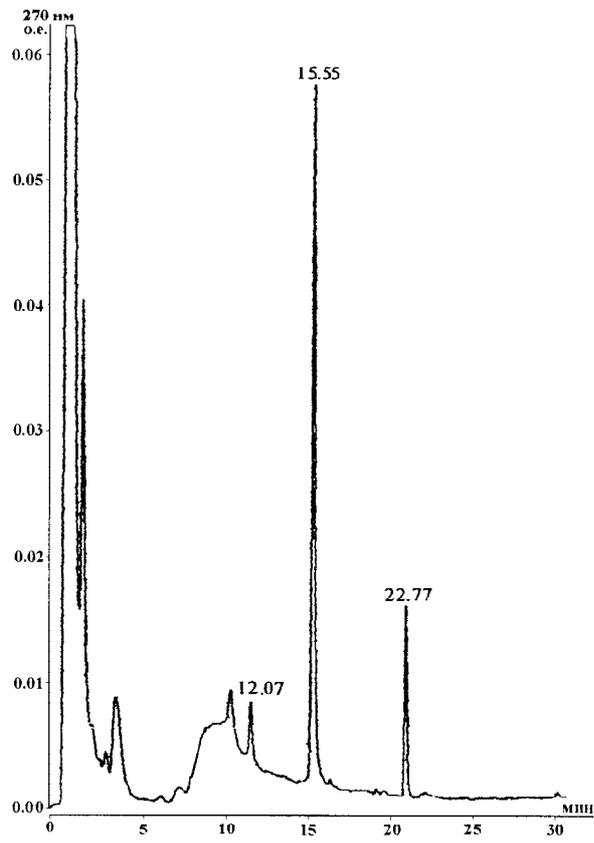
30

35

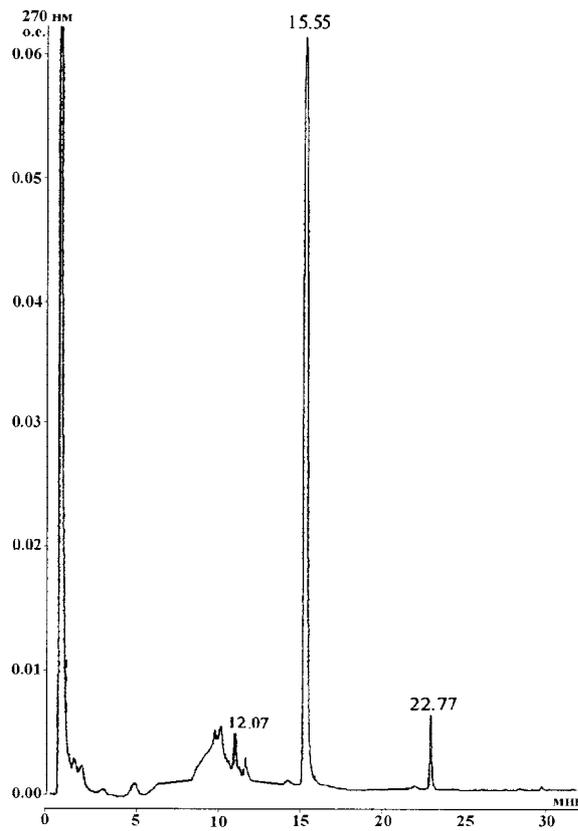
40

45

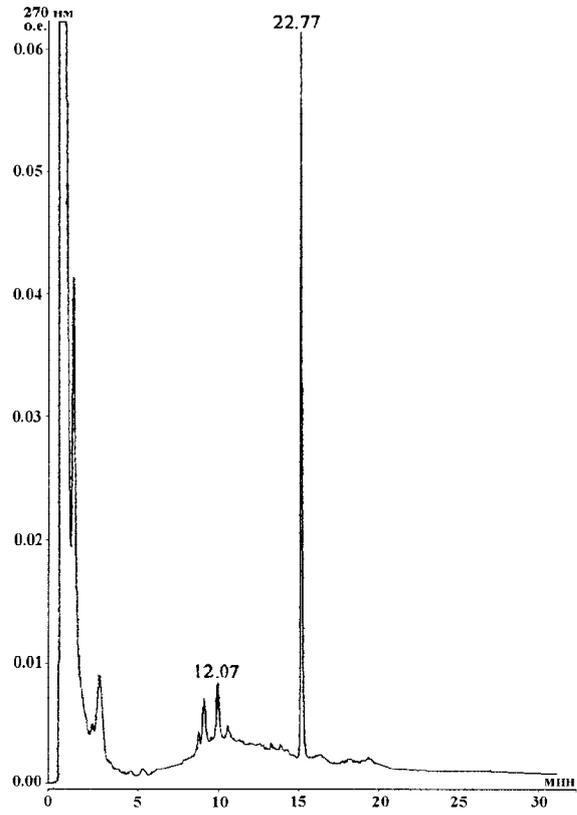
50



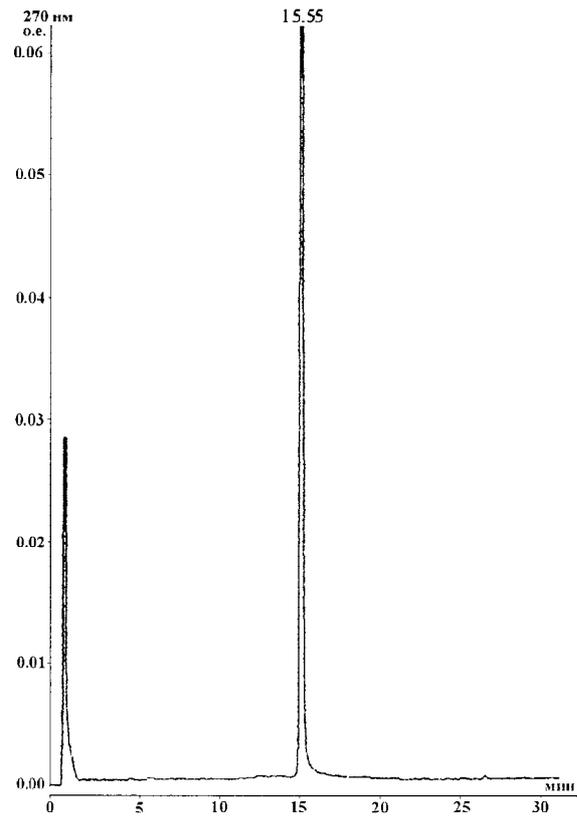
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4