

285719

PATENTE DE INVENCION

Case 1.645.

285 719



Memoria Descriptiva

sobre:

"Procedimiento para la producción de los ácidos lisérgico o isolisérgico y sus derivados".

Solicitante: SANDOZ. A.G., entidad suiza, residente en Basilea, Suiza.

La presente invención se relaciona con un procedimiento para la producción de ácido lisérgico o isolisérgico y sus derivados.

5. El ácido lisérgico es el material



de partida para la síntesis de diversos productos farmacéuticos importantes, como por ejemplo la ergobasina, la dietilamida del ácido D-lisérgico, la (+) -butanolamida- (2') del ácido l-metil-D-lisérgico y también para la síntesis total de los alcaloides naturales del cornezuelo de centeno.

Sin embargo, hasta ahora solo se ha podido obtener el ácido lisérgico y sus derivados por extracción de los esclerotios del hongo Claviceps purpurea o por cultivo in vitro de este hongo, o por una laboriosa síntesis total de etapas múltiples. Sorprendentemente se ha encontrado ahora que diversas cepas de aspergilo, en soluciones nutritivas adecuadas, son capaces de producir ácido lisérgico o isolisérgico y sus derivados, de modo que puede obtenerse el ácido lisérgico libre por tratamiento hidrolítico de la solución nutritiva. El presente invento tiene la ventaja de que las cepas de aspergilo pueden ser cultivadas más rápida y más fácilmente que las de la especie Claviceps purpurea, de modo que ahora se puede producir el ácido lisérgico en forma más simple y económica.

La presente invención proporciona un procedimiento para la producción de ácido lisérgico o isolisérgico y sus derivados, caracterizado porque se cultiva aeróbicamente una cepa de aspergilo en una solución nutritiva adecuada y luego se aísla el ácido lisérgico o isolisérgico.



gico y sus derivados de dicha solución nutritiva en forma conocida.

La denominación "conocido", tal como se emplea en este caso, indica un método

5. actualmente en uso o descrito en la literatura sobre el asunto.

Un modo de aplicar este invento, - cuando se desea el ácido lisérgico libre, se lleva a cabo sometiendo la mezcla, que ha sido

10. aislada de la solución nutritiva, a hidrólisis alcalina y haciendo cristalizar el ácido libre ajustando el valor pH de la mezcla - al punto isoeléctrico del ácido lisérgico.

Las cepas de aspergilo, usadas en -

15. el procedimiento de esta invención, fueron - aisladas de muestras de tierra de diversa procedencia, así como de tejidos humanos y animales y corresponden morfológicamente a la descripción de la especie dada por Thom y Raper

20. en "A Manual of the Aspergilli" (Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1.945). La Tabla expuesta más adelante indica una serie de tipos adecuados de aspergilo y sus cepas, que hemos encontrado capaces de producir ácido lisérgico e isolisérgico y sus derivados. Sin embargo,

25. el invento no está limitado a las cepas - enumeradas en la Tabla, sino que naturalmente comprende otras cepas de aspergilo que pueden ser producidas fácilmente por procedimientos

30. conocidos de aislamiento y modificación, como

-5 MAR 1951 285710



por ejemplo por mutación artificial por medio de la irradiación o por medios químicos.

- Las cepas de aspergilo pueden ser cultivadas sobre una variedad de soluciones nutritivas y bajo diversas condiciones aeróbicas de cultivo. El carbono requerido puede, por ejemplo, ser administrado en forma de carbohidratos, el nitrógeno en forma orgánicamente ligada (proteínas y sus hidrolizatos) o como iones inorgánicos (sales amónicas o nitratos). Además, la solución nutritiva debe contener las sales minerales y óligoelementos habituales. El cultivo puede llevarse a cabo a temperaturas entre 20 y 37° C y valores pH de 4 a 7, en cultivo estático de superficie o sumergido en recipientes adecuados, mientras se sacude o agita en presencia de aire u oxígeno. Sin embargo, para la biosíntesis del ácido lisérgico o isolisérgico y sus derivados, aparte de la idoneidad constitucional de la cepa usada, es preciso seleccionar las condiciones óptimas de cultivo en cada caso particular. Así, por ejemplo, se ha encontrado que los medios de cultivo en los que se obtiene el carbono de azúcar, por ejemplo glucosa, manita o sorbitol, y el nitrógeno de succinato amónico o peptona, son particularmente ventajosos.

El aislamiento del ácido lisérgico de las soluciones de cultivo puede, por ejemplo, llevarse a cabo retirando la mayor parte de las otras sustancias presentes por medio de una



285719

- pre-extracción de la solución acidificada con un disolvente orgánico, por ejemplo acetato etílico, alcalinizando la solución a continuación con carbonato sódico, extrayendo nuevamente con éster de ácido acético, -
5. concentrando el extracto en vacío, agregando una solución acuosa, alcohólica de hidróxido potásico al 15% al residuo y calentando hasta ebullición durante dos horas, con lo cual
10. se saponifican diversos derivados del ácido lisérgico del tipo de la amida. Los derivados del ácido isolisérgico presentes se convierten en su mayor parte en derivados del ácido lisérgico por medio de la epimerización
15. durante la saponificación. Se hace cristalizar el ácido lisérgico ajustando el valor del pH de la solución, al punto isoeléctrico de dicho ácido lisérgico.

En los siguientes ejemplos no limitativos todas las temperaturas están indicadas en grados centígrado.

EJEMPLO 1:

Se cargan 10 matraces Erlenmeyer, cada uno con una capacidad de 500 ml y fabricados de vidrio para aparatos, de Jena, con

25. 100 ml de la siguiente solución nutritiva:

- | | |
|--|----------------|
| Manita (pura) | 50.0 g |
| Acido succínico (puro) | 5.4 g |
| Agua del grifo | hasta 1000 ml |
| 30. NH_4OH analíticamente puro | hasta valor pH |



	de	5.2
	KH_2PO_4 analíticamente puro	1.0 g
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ " "	0.3 g
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ " "	13.0 mg
5.	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ " "	4.0 mg
	concentrado de oligoelementos	
	(Hoagland A-Z)	1.0 ml

Después de cerrar los matraces con algodón crudo, se esterilizan en un esterilizador a vapor a 120° y a una presión en exceso de 1 atmósfera, durante 20 minutos. Se inocula la mezcla con un cultivo de malta-agar oblicuo, de 10 días, de aspergilo clavatus S 54 y se incuba como cultivo estático de superficie durante 24 días a 27°.

Se separa el micelio por filtración con una tela de nylon y se lleva la solución a un valor de pH de 3, con ácido tartático. Se extraen las impurezas agitando repetidamente con acetato etílico, se lleva la fase acuosa a un valor de pH de 8, con carbonato sódico, y subsiguientemente se concentra la mezcla en vacío. Se hierve el residuo durante dos horas con una solución acuosa alcohólica de hidróxido potásico al 15%, se concentra la solución nuevamente y se hace cristalizar el ácido lisérgico acidificando con ácido clorhídrico hasta un valor de pH de 6. Después de recristalizar de agua, el ácido lisérgico tiene las propiedades descritas en la literatura.



-5 MAR 1963

285719

EJEMPLO 2:

Se cultiva aspergilo umbrosus S -
195 en la forma descrita en el Ejemplo 1 y se
trabaja el filtrado de cultivo. Nuevamente se
5. obtiene ácido lisérgico.

EJEMPLO 3:

Se inoculan 30 matraces Erlenmeyer
de 500 ml conteniendo cada uno 100 ml de la -
siguiente solución nutritiva:

- | | | |
|-----|--|---------------|
| 10. | Glucosa puriss. Ph.H. | 20.0 g |
| | Extracto de malta Schweiz.Ferment AG | 2.0 g |
| | Peptona Cudahay | 2.0 g |
| | Fosfato potásico primario
analíticamente puro | 2.0 g |
| 15. | Extracto de levadura Difco | 2.0 g |
| | Sulfato magnésico. 7H ₂ O | 2.0 g |
| | Agua desmineralizada | hasta 1000 ml |

con un cultivo de malta-agar oblicuo de la ce-
pa S 130 de aspergilo fumigatus, aislada de -
20. una muestra de tierra africana. Se lleva a ca-
bo la incubación sobre un dispositivo agitador
con movimiento amplitudal (100 movimientos por
minuto) durante 4 días a 27°. Con el fin de ais-
lar el ácido lisérgico, se trabaja el filtrado
25. de cultivo en la forma descrita en el Ejemplo
1.

EJEMPLO 4:

Se emplean 10 cultivos agitados de -
aspergilo fumigatus S 130, cultivados en la for-
30. ma descrita en el Ejemplo 3, para la inocula -



285719

ción de un fermentador de 10 litros (sistema -
Ultramix FU 001, Hch.Bertrams S.A., Basilea) -
conteniendo la solución nutritiva descrita en
el Ejemplo 3. Se hace rotar la mezcla a 1480

5. r.p.m. y se alimenta el fermentador con 0.6 m³
de aire por hora. Se mantiene la temperatura a
24°. Se trabaja el filtrado de cultivo en la -
forma descrita en el Ejemplo 1 con el fin de
aislar el ácido lisérgico.

10.

Aspergilo <u>clavatus</u> Desm.	S 54
Aspergilo <u>repens</u> (Cda.) DeBary	S 1493
Aspergilo <u>umbrosus</u> Bainier y Sartory	S 195
Aspergilo <u>fumigatus</u> Fresenius	S 16, S 34, S 36, S 130, S 131, S 132, S 133, S 181, S 911, S 1182, S 1516
20. Aspergilo <u>caespitosus</u> Raper y Thom	S 186
Aspergilo <u>nidulans</u> (Eidam) Wint	S 10, S 27, S 694
Aspergilo <u>ustus</u> (Bainier) Thom y Church	S 440
25. Aspergilo <u>flavipes</u> (Bainier y Sarto ry) Thom y Church	S 1461, S 1141 S 1517
Aspergilo <u>versicolor</u> (Vuillemin) Tiraboschi	S 703, S 808, S 878, S 900, S 964

30. Aspergilo sydowi (Bainier y Sartory)



- 9 -
285719

	Thom y Church	S 191
	Aspergilo <u>humicola</u> Chaudhuri y Sachar	S 67
	Aspergilo <u>terreus</u> Thom	S 1153, S 1436
5.	Aspergilo <u>niveus</u> Blochwitz	S 32
	Aspergilo <u>carneus</u> (van Tieghem) Blochwitz	S 52
	Aspergilo <u>niger</u> van Tieghem	S 1083, S 1464
	Aspergilo <u>phoenicis</u> (Corda)	
10.	Thom	S 1465

N O T A

Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas, son susceptibles de modificaciones de detalle, en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a una solicitud de patente presentada en Suiza con fecha 6 de marzo de 1.962 bajo el nº 2719/62 acogiendo se, por lo tanto, a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor y siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años, en España "Procedimiento para la producción de los ácidos lisérgico e isolisérgico y sus derivados"; caracterizándose por lo siguiente:

1ª.- "Procedimiento para la producción de los ácidos lisérgico e isolisérgico y sus derivados",



285719

5. caracterizado porque se cultiva aeróbicamente una cepa de aspergilo en una solución nutritiva adecuada y luego se aísla el ácido lisérgico o isolisérgico o sus derivados, de dicha solución nutritiva en forma conocida.

10. 2ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque cuando se desea el ácido lisérgico libre, se somete la cepa cultivada de aspergilo, que ha sido aislada de la solución nutritiva, a hidrólisis alcalina, y se hace cristalizar el ácido libre ajustando el valor de pH de la mezcla al punto isoelectrico del ácido lisérgico.

15. 3ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª o 2ª caracterizado porque se emplea como cepa de aspergilo una de las cepas enumeradas en la Tabla antes expuesta.

20. 4ª.- "Procedimiento para la producción de los ácidos lisérgico e isolisérgico y sus derivados"; tal y como queda substancialmente descrita en la presente Memoria.

Esta memoria consta de diez hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

-5 MAR. 1963

SANDOZ, A.G.,

GOMEZ ACEBA Y MOREY