



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

195882
(11) (B1)

(22) Přihlášeno 10 06 76
(21) (PV 3846-76)

(40) Zveřejněno 29 06 79

(45) Vydáno 15 06 82

(51) Int. Cl.³
A 61 K 31/725 //
C 08 B 37/10

(75)
Autor vynálezu

BRODINA ROBERT ing., ŘÍČANY u Prahy,
CHROMÍK JINDŘICH ing., ŠAFAŘ JOSEF
a VÁVRA VLADIMÍR, PRAHA

(54) Způsob výroby antikoagulačně účinného heparinoidu

1

Vynález se týká způsobu výroby antikoagulačně účinného heparinoidu na bázi polysacharidů, odpadajících při izolaci heparinu ze zvířecích orgánů, zejména hovězích plic nebo z mukosy vepřových střev.

Pod označením heparinoidy se rozumí sírové estery výšemolekulárních sloučenin, zejména polysacharidů a mukopolysacharidů, které mají některé biologické účinky heparinu, zejména účinek antikoagulační. Získávají se izolací z živočišných nebo rostlinných tkání nebo polosyntetickou cestou sulfonací částečně odbouraných polysacharidů přirozeného původu i syntetických sloučenin.

Charakteristickými složkami molekuly heparinoidů jsou sulfonované deriváty glukosaminu, glukuronové kyseliny, glukosaminoglykanu, glukosamino-glukuroglykanu, mukoitinu, chondroitinu, hyaluronové kyseliny apod. Látky tohoto typu mají při určité formě molekuly a délce řetězce vlastnosti podobné vlastnostem heparinu.

Byla popsána řada látek získaných z různých orgánů jatečných zvířat, které svými vlastnostmi jsou blízké heparinu, například preparát izolovaný alkalickou extrakcí žaludeční nebo duodenální sliznice vepřů, koní a ovcí nebo další preparáty, které jsou

2

definovány jako polysírové estery mukopolysacharidů z orgánů.

Výchozím materiálem polosyntetické přípravy heparinoidů jsou četné vysokomolekulární sloučeniny obsahující hydroxyskupiny esterifikovatelné kyselinou sírovou, které se vyskytují v živočišných a rostlinných tkáních jako rezervní látky nebo součásti buněčné stěny. Bylo však použito i sloučenin čistě syntetického původu.

Polosyntetické heparinoidy se také získávají z biologicky neúčinných nebo jen slabě účinných polymerů sulfonací. Tak se například zhodnocuje málo účinný odpad z výroby heparinu sulfonací kyselinou chlorsulfonovou v pyridinu. Původně prováděné sulfonace vedly k preparátům s velmi nízkou biologickou aktivitou, poněvadž docházelo k depolymeraci modifikované základní látky působením chlorovodíku odštěpeného z chlorsulfonové kyseliny. Tuto nežádoucí vedlejší reakci se podařilo potlačit provedením sulfonace v alkalickém médiu, zejména v ochranném prostředí pyridinu.

V poslední fázi výroby heparinu z vepřové střevní mukosy nebo z hovězích plic, kdy jsou již všechny balasty odstraněny a konečný produkt se čistí frakcionací ethanolom, se získává vedle vysoce aktivní heparinové frakce s antikoagulační aktivitu

100 až 120 mj/mg ještě značný podíl vedlejší polysacharidové frakce, která má nízkou antikoagulační aktivitu, 5 až 20 mj/mg. Zatímco tato frakce izolovaná z hovězích plic dává po sulfonaci produkt o antikoagulační aktivitě 100 až 130 mj/mg, poskytuje frakce izolovaná ze střevní mukosy, jak nově zjistili autoři tohoto vynálezu při pokusech v této oblasti, sulfonací produkt o relativně vysoké antikoagulační aktivitě 85 až 95 mj/kg. Při podrobném studiu možností zvýšení aktivity této frakce autoři dále zjistili, že je výhodné používat směsi této frakce s frakcí izolovanou z hovězích plic.

Předmětem vynálezu je tedy způsob výroby antikoagulačně účinného heparinoidu na bázi polysacharidů, odpadajících při izolaci heparinu ze zvířecích orgánů, sulfonací kyselinou chlorsulfonovou v prostředí pyridinu, při teplotách 90 až 120 °C, jehož podstata spočívá v tom, že se jako výchozí suroviny pro sulfonaci používá polysacharidové frakce odpadající při izolaci a čištění heparinu z vepřové střevní mukosy nebo její směsi s polysacharidovou frakcí odpadající při izolaci a čištění heparinu z hovězích plic, ve hmotnostním poměru 1:1 až 4:1, s výhodou 3:1.

Po ukončené sulfonaci se reakční směs rozloží vodou a produkt sulfonace se izoluje srážením organickým s vodou mísitelným rozpouštědlem, s výhodou ethanolem. Získá se produkt, který je po přečištění charakterizován antikoagulační aktivitou 85 až 100 mj/mg, což je aktivita dostačující pro použití při výrobě antilipemicky účinných preparátů.

Způsob podle vynálezu umožňuje ekonomické zhodnocení dosud nevyužitého odpadu a jeho přeměnu v terapeuticky cenný preparát.

Příklady provedení

Příklad 1

Směs 20 kg polysacharidových frakcí od-

padajících při výrobě heparinu (5 kg z hovězích plic a 15 kg z vepřové střevní mukosy) se sulfonuje ve směsi 20 litrů kyseliny chlorsulfonové a 80 litrů bezvodého pyridinu při teplotě 98 až 102 °C. Směs polysacharidových frakcí se vnáší za míchání po částech 1 hod. a po této době se reakční směs míchá ještě 30 min. při uvedené teplotě. Reakční směs se potom hydrolyzuje 320 litry studené vody a vzniklý čirý roztok se sráží asi trojnásobným objemem, tj. 1000 litry regenerovaného ethanolu za míchání. Přitom se vyloučí pyridinová sůl polysírového esteru polysacharidu. Směs se nechá usadit, načež se tmavohnědě zbarvená matečná tekutina stáhne. Mazlavý sediment surového heparinoidu se vypustí a dehydratuje absolutním ethanolem. Výtěžek je 18 až 22 kg suché substance. Takto získaný surový produkt se dále čistí některým ze známých způsobů čištění heparinu, například pomocí manganistanu draselného nebo peroxidu vodíku. Výtěžek čisté substance je 7 až 8 kg o antikoagulační aktivitě 100 až 120 mj/mg.

Příklad 2

20 kg polysacharidové frakce, která odpadá při výrobě heparinu ze střevní mukosy vepřů, se sulfonuje za stejných podmínek jako v příkladu 1. Polysacharidová frakce se vnáší do reakční směsi za míchání po částech 1 hodinu a potom se reakční směs míchá ještě 1 hodinu při teplotě okolo 100° Celsia. Po hydrolyze reakční směsi 350 litry studené vody, trávící 1 hodinu, se vzniklý roztok sráží přidávkem ethanolu do koncentrace 60 % obj. Vyloučená sraženina se nechá usadit a matečná kapalina se odtáhne. Usazený surový heparinoid se dehydratuje absolutním ethanolem. Výtěžek je 17 až 22 kg suché substance. Surový produkt se dále čistí některým známým způsobem. Výtěžek čisté substance je 8 až 11 kg o antikoagulační aktivitě 85 až 100 mj/mg.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob výroby antikoagulačně účinného heparinoidu na bázi polysacharidů, odpadajících při izolaci heparinu ze zvířecích orgánů, sulfonací kyselinou chlorsulfonovou v prostředí pyridinu, při teplotách 90 až 120 °C, vyznačující se tím, že se jako výchozí suroviny pro sulfonaci používá polysacha-

ridové frakce odpadající při izolaci a čištění heparinu z vepřové střevní mukosy nebo její směsi s polysacharidovou frakcí odpadající při izolaci a čištění heparinu z hovězích plic, ve hmotnostním poměru 1:1 až 4:1, s výhodou 3:1.