



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

52785

Patent dodatkowy
do patentu _____

Kl. 30 h, 2/03

Zgłoszono: 17.V.1965 (P 109 135)

Pierwszeństwo: _____

MKP A 61 k 37/14

Opublikowano: 6.II.1967

UKD

Współtwórcy wynalazku: Wojciech Kroszczyński, Bogdan Rakowski,
Kazimierz Samuła

Właściciel patentu: Kutnowskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfa” Przed-
siębiorstwo Państwowe, Kutno (Polska)

Sposób wytwarzania α -acetylodigitoksyny

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania α -acetylodigitoksyny z mieszaniny lanatozydów A i B, otrzymanej po oddzieleniu lanatozydu C z kompleksu glikozydów ABC Digitalis lanata.

Znane są dwa zasadnicze sposoby otrzymywania α -acetylodigitoksyny, stanowiącej cenny lek narsercowy. Pierwszy z nich polega na tym, że kompleks glikozydów ABC Digitalis lanata rozdziela się na poszczególne lanatozydy i oczyszczony lanatozyd A poddaje hydrolizie za pomocą enzymów zawartych w liściach Digitalis lanata, z których przez uprzednie ekstrahowanie rozpuszczalnikami zostały usunięte glikozydy. Otrzymaną acetylodigitoksynę, przeważnie w postaci odmiany β , poddaje się procesowi izomeryzacji w celu przeprowadzenia jej w odmianę α .

Metoda ta ma jednak szereg wad, gdy całkowite usunięcie glikozydów z liści jest kłopotliwe i często zawodne, zwłaszcza w procesach na dużą skalę, a przy tym enzymy ulegają w znacznej mierze dezaktywacji. Stosunek ilości glikozydów do ilości liści jest tu zbliżony do procentowej zawartości glikozydów w liściach przed usunięciem z nich glikozydów, a często nawet jeszcze bardziej niekorzystny. Powoduje to konieczność stosowania znacznych ilości liści, w związku z czym do uprzednio starannie oczyszczonego lanatozydu A wprowadza się duże ilości zanieczyszczeń.

Poza tym w metodzie tej do oczyszczania ekstraktów stosuje się związki ołowiu, co jest

2

niekorzystne, gdyż osady tych związków adsorbują duże ilości glikozydów i sączenie jest bardzo powolne. W sumie proces ten jest skomplikowany, zużycie liści Digitalis lanata znaczne, a wydajność niewysoka.

W drugim znanym sposobie otrzymywania α -acetylodigitoksyny produktem wyjściowym są liście zawierające pełny kompleks glikozydów ABC Digitalis lanata, z którego na drodze ekstrakcji wodnej z równoczesną hydrolizą uzyskuje się mieszaninę acetylodigitoksyny, acetylodigitoksyny i acetylodigoksyny i wyodrębnia z niej acetylodigitoksynę. Stosunek ilości liści i glikozydów jest tu również niekorzystny jak w wyżej podanym sposobie, a poza tym traci się tu całkowicie lanatozyd C, stanowiący cenny produkt.

Znane z literatury sposoby przeprowadzania izomeryzacji β -acetylodigitoksyny w α -acetylodigitoksynę i rozdzielania obu tych odmian są bardzo kłopotliwe, a wydajność procesu wynosi zaledwie 50—60%. Mieszanina obu tych odmian jest bowiem trudna do rozdzielania, zwłaszcza przy dużej zawartości odmiany β . Proces ten obejmuje kilka operacji, a mianowicie wytrącanie odmiany β w roztworze wodnoalkoholowym, odzyskiwanie odmiany α z roztworu, ogrzewanie do wrzenia odmiany α w acetonie i krystalizację z chloroformu i eteru.

Opisanych wad nie ma sposób według wynalazku. Podczas gdy według znanych sposobów sto-

suje się albo hydrolizę czystego glikozydu liśćmi pozbawionymi glikozydów albo hydrolizę glikozydów zawartych w liściach za pomocą ekstrakcji wodnej, to według wynalazku jako produkt wyjściowy stosuje się mieszaninę lanatozydów A i B otrzymaną po oddzieleniu lanatozydu C z kompleksu glikozydów ABC Digitalis lanata i poddaje ją hydrolizie za pomocą enzymów, zawartych w liściach Digitalis lanata nie poddawanych uprzednio procesowi usuwania glikozydów rozpuszczalnikami. Hydrolizę tę prowadzi się w takich warunkach, że powstaje prawie wyłącznie α -acetyldigitoksyna, z małą domieszką odmiany β .

Stwierdzono bowiem, że liście Digitalis lanata nie dezaktywowane rozpuszczalnikami mogą jako preparat enzymatyczny hydrolizować duże ilości glikozydów, znacznie przekraczające zawartość glikozydów w liściach. Pozwala to na ograniczenie zużycia liści Digitalis lanata i umożliwia stosowanie w procesie mniejszych objętości roztworów oraz sprawia, iż ilość zanieczyszczeń, jakie wraz z liśćmi przedostają się do procesu, jest znacznie mniejsza niż w znanych procesach.

Zgodnie z wynalazkiem hydrolizę prowadzi się w środowisku wodnym o $\text{pH} = 5,0$ i w temperaturze $40\text{--}60^\circ\text{C}$ w ciągu $5\text{--}10$ godzin, stosując $50\text{--}200$ części wagowych suchych liści na 1 część wagową mieszaniny lanatozydów A i B. Stosunek ten zależy od enzymatycznej aktywności użytych liści. Takie warunki procesu sprzyjają otrzymywaniu od razu produktu, w którym odmiana α stanowi $80\text{--}85\%$ całej zawartości acetyldigitoksyny. Z produktu o takim składzie można odmianę β usuwać przez jednorazową lub dwukrotną krystalizację i unika się tu konieczności prowadzenia procesu izomeryzacji podstawowej masy produktu.

Po zakończeniu hydrolizy dodaje się metanolu w ilości $50\text{--}70\%$ w stosunku do ilości wody i sączy w celu oddzielenia liści. Z przesączu ekstrahuje się glikozydy organicznym rozpuszczalnikiem z grupy węglowodorów lub chlorowcopochodnych węglowodorów, na przykład benzenem lub chloroformem, po czym odparowuje się rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem, rozpuszcza pozostałość w metanolu, dodaje benzenu i wytrąca glikozydy wodą. Odsączony osad glikozydów rozpuszcza się w organicznym rozpuszczalniku, zwłaszcza w chloroformie lub chlorku etylenu, a następnie odsąca przez tlenek glinowy do chromatografii. Przesącz odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem i otrzymaną α -acetyldigitoksynę z domieszką β -acetyldigitoksyny przekrystalizowuje dla oczyszczenia, najkorzystniej z mieszaniny acetonu z benzenem w stosunku objętościowym $4:1$.

Proces można też prowadzić w ten sposób, że po oddzieleniu liści z przesączu oddestylowuje się metanol i z pozostałości ekstrahuje glikozydy, przy czym w tym przypadku oprócz wymienionych wyżej rozpuszczalników organicznych z grupy węglowodorów lub chlorowcopochodnych węglowodorów można też stosować estry niższych kwasów tłuszczowych, na przykład octan etylu.

Zgodnie z wynalazkiem szczególnie dobre wyniki osiąga się, jeżeli roztwory glikozydów w me-

tanolu lub w metanolu rozcieńczonym wodą sączy się przez adsorbent poliamidowy, który jak wiadomo w odniesieniu do innych glikozydów, dzięki adsorbowaniu zanieczyszczeń polifenolowych powoduje oczyszczanie roztworu glikozydów. Zamiast sączenia przez tlenek glinowy można też oddzielać glikozydy wykorzystując ich różną rozpuszczalność w znanych układach rozpuszczalników, na przykład w układach: alkohol-węglowodór-woda.

Sposób według wynalazku jest bliżej wyjaśniony w poniższych przykładach.

Przykład I. 10 kg suszonych i zmielonych liści Digitalis lanata oraz 100 litrów roztworu, zawierającego 64 g lanatozydu A i 36 g lanatozydu B, miesza się w ciągu 8 godzin, utrzymując temperaturę $45\text{--}55^\circ\text{C}$. Po zakończonej hydrolizie dodaje się 50 litrów metanolu, miesza i po ochłodzeniu przesącza w celu oddzielenia liści, przemylając je rozcieńczonym metanolem. Z przesączu ekstrahuje się glikozydy pięciokrotnie benzenem, stosując po 100 litrów tego rozpuszczalnika, po czym odparowuje się benzen pod zmniejszonym ciśnieniem i pozostałość rozpuszcza w metanolu, dodaje benzenu i wytrąca glikozydy wodą. Oddzielony osad glikozydów rozpuszcza się w chloroformie i roztwór przesącza przez tlenek glinowy do chromatografii. Przesącz zawierający mieszaninę α i β -acetyldigitoksyny odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem i pozostałość przekrystalizowuje dwukrotnie z mieszaniny acetonu z benzenem w stosunku objętościowym $4:1$. Uzyskuje się czystą α -acetyldigitoksynę z wydajnością 70% w przeliczeniu na zawartość lanatozydu A w wyjściowym roztworze.

Przykład II. 10 kg liści Digitalis lanata i 100 litrów roztworu mieszaniny lanatozydów A i B poddaje się hydrolizie, dodaje metanolu i oddziela liście jak w przykładzie I. Z roztworu odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem metanol i pozostałość ekstrahuje pięciokrotnie 100 litrami octanu etylu. Z wyciągu odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem octan etylu, pozostałość rozpuszcza w metanolu, dodaje benzenu i wody i dalej postępuje jak w przykładzie I, stosując zamiast chloroformu chlorek etylenu. Wydajność α -acetyldigitoksyny wynosi 71% w przeliczeniu na zawartość lanatozydu A w wyjściowym roztworze.

Przykład III. 10 kg liści Digitalis lanata i 100 litrów roztworu mieszaniny lanatozydów A i B poddaje się procesowi jak w przykładzie II z tą różnicą, że po odparowaniu octanu etylu pozostałość rozpuszcza się w metanolu i sączy przez warstwę rozdrobnionego adsorbentu poliamidowego, przygotowanego z technicznego ϵ -polikaprolaktamu. Poliamid przemylwa się metanolem, dodaje benzenu i wody i dalej postępuje jak w przykładzie II. Wydajność α -acetyldigitoksyny wynosi 80% w przeliczeniu na lanatozyd A w roztworze wyjściowym.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania α -acetyldigitoksyny przez hydrolizę lanatozydów Digitalis lanata w śro-

dowisku wodnym za pomocą enzymów zawartych w liściach *Digitalis lanata*, znamieny tym, że mieszaninę lanatozydów A i B poddaje się hydrolizie za pomocą enzymów zawartych w liściach *Digitalis lanata*, nie ekstrahowanych rozpuszczalnikami, przy czym hydrolizę prowadzi się w ciągu kilku godzin w temperaturze 40—60°C przy pH = 5,0, stosując 50—200 części wagowych suchych liści na 1 część wagową mieszaniny lanatozydów A i B, po czym dodaje się metanolu, odsącza od liści, z przesączu ekstrahuje glikozydy organicznym rozpuszczalnikiem z grupy węglowodorów lub chlorowcopochodnych węglowodorów, zwłaszcza benzenem lub chloroformem, względnie po oddzieleniu metanolu ekstrahuje się estrem

niższych kwasów tłuszczowych, zwłaszcza octanem etylu, następnie odparowuje z wyciągu rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem, pozostałość rozpuszcza w metanolu, dodaje benzenu, wytrąca glikozydy wodą, odsącza, ponownie rozpuszcza osad w organicznym rozpuszczalniku, zwłaszcza w chloroformie lub chlorku etylenu, przesącza przez tlenek glinowy do chromatografii, przesącz odparowuje pod zmniejszonym ciśnieniem i pozostałość przekrystalizowuje, korzystnie z mieszaniny acetonu z benzenem, uzyskując czystą α -acetylodigitoksynę.

2. Sposób według zastrz. 1, znamieny tym, że roztwór glikozydów w metanolu lub w metanolu rozcieńczonym wodą oczyszcza się sącąc go przez poliamid.