



Patent dodatkowy
do patentu nr _____

Zgłoszono: 04.06.1971 (P. 148 609)

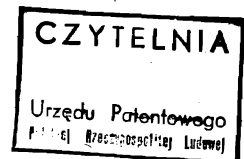
Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 05.05.1973

Opis patentowy opublikowano: 20.04.1976

MKP C07d 57/06

Int. Cl.
C07D 519/04



Twórca wynalazku: _____

Uprawniony z patentu: Richter Gedeon Vegyészeti Gyár RT, Budapeszt
(Węgry)

**Sposób oddzielania ubocznych alkaloidów barwinka pospolitego
(Vinca minor L.), wykazujących własności lecznicze, od winkaminy
i wincyny**

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób oddzielania ubocznych alkaloidów barwinka pospolitego (Vinca minor L.), wykazujących własności lecznicze, od winkaminy i wincyny, na drodze rozpuszczenia w niemieszącym się z wodą rozpuszczalniku, zateżeniu do sucha całej frakcji alkaloidowej, następnie na drodze krystalizacji winkaminy i wincyny z roztworu i ich odsączeniu.

Dotychczas w lecznictwie stosowano głównie alkaloidy barwinka, to jest winkaminę i wincynę (wincynę do czasu ustalenia jej wzoru strukturalnego nazywano izowinkaminą), z powodu wykazywanych przez nie własności obniżających ciśnienie krwi, rozszerzających naczynia krwionośne mózgu i podwyższających dokrwienie mózgu.

Znanych jest kilka sposobów otrzymywania winkaminy i wincyny (np. węgierskie opisy patentowe nr nr 146 703, nr 147 282 i nr 151 784). Wadą tych sposobów jest to, że przy zawartości alkaloidów ubocznych kilkakrotnie przewyższającej zawartość alkaloidów głównych nie pozwalają uzyskać ubocznych alkaloidów w postaci dopuszczalnej farmakologicznie, aczkolwiek czynione były próby w tym kierunku (porównaj węgierski opis patentowy nr 146 703).

Według węgierskiego opisu patentowego nr 146 703 oddzielenie głównych alkaloidów od alkaloidów ubocznych polega na tym, że alkaloidy główne z wyciągu alkaloidowego w niemieszącym się z wodą rozpuszczalniku, zawierającego całość alka-

2

loidów, przeprowadza się, utrzymując ściśle ograniczony zakres wartości pH, za pomocą roztworu kwasu winowego wykazującego odczyn o wartości pH=4,0—5,5 do warstwy wodnej a następnie alkaloidy uboczne z ekstraktu uwolnionego od alkaloidów głównych ekstrahuje się roztworem kwasu winowego wykazującym odczyn o wartości około pH=2.

Otrzymaną warstwę wodną zawierającą alkaloidy uboczne alkalizuje się amoniakiem, doprowadzając odczyn do wartości pH=8, po czym ekstrahuje się eterem a osuszony roztwór eterowy zateża się do sucha. Alkaloidy uboczne otrzymuje się w postaci silnie zanieczyszczonej, czerwono-fioletowej bezpostaciowej pozostałości. Tak otrzymane alkaloidy wykazuje wskutek ubocznego działania substancji im towarzyszących bardzo nieznaczna czynność leczniczą i dlatego nie są stosowane w lecznictwie.

W trakcie prób selektywnego wydzielania alkaloidów towarzyszących winkaminy i wincynie stwierdzono, że stosując specjalny sposób przeróbki ługu macierzystego po krystalizacji głównych alkaloidów udaje się wyodrębnić alkaloidy uboczne w postaci preparatu o wysokim stopniu czystości. Alkaloidy uboczne wykazują cenne własności farmakologiczne, różne od własności winkaminy i wincyny. Jeżeli z czerwono-brązowej pozostałości, otrzymanej według przykładu I węgierskiego opisu patentowego nr 151 784, po odpędzeniu rozpuszczalnika z ekstraktu benzenowego zawierającego wszy-

stkie alkaloidy, wyodrębni się mieszaninę winkaminy i wincyny przez krystalizację nie z eteru, lecz z n-/lub izopropanolu, a następnie ług macierzysty, rozcieńczony zakwaszoną wodą wytrząsa się z rozpuszczalnikiem niemieszącym się z wodą i alkalizuje, to wytrącają się związki, które po odsączeniu, przemyciu i ostrożnym suszeniu wykazują właściwości obniżające ciśnienie krwi, rozszerzające krwionośne naczynia mózgowe i podwyższające dopływ krwi do mózgu a przy tym są to substancje działające długotrwale i wykazujące bardzo niską toksyczność. Zalety te należy przypisać synergetycznemu działaniu dotychczas nie zbada-
nych farmakologicznie i nie stosowanych w lecznictwie alkaloidów towarzyszących winkaminie i wincynie.

Sposób oddzielania ubocznych alkaloidów barwinka pospolitego (*Vinca minor* L.) od winkaminy i wincyny, na drodze rozpuszczenia w niemieszącym się z wodą rozpuszczalniku otrzymanej w znany sposób i zateżonej do sucha całej frakcji alkaloidowej, następnie na drodze krystalizacji winkaminy i wincyny z roztworu i ich odsączeniu, polega według wynalazku na tym, że po zakończonej krystalizacji z n- i/lub izopropanolu, otrzymany przesączony ług macierzysty rozcieńcza się 10—100 krotnie za pomocą 0,1—10% roztworu organicznego kwasu kompleksotwórczego roztwór reakcyjny zadaje się rozpuszczalnikiem organicznym niemieszącym się z wodą, a odczyn oddzielonej kwaśnej warstwy wodnej doprowadza się do wartości $pH=8,0-9,0$, po czym wytrącone alkaloidy uboczne wyodrębnia się i ostrożnie suszy.

Uboeczne alkaloidy otrzymane sposobem według wynalazku wykazują niżej podane (jako a—d) właściwości lecznicze.

a) Ciśnienie krwi w Arteria carotis badane u kotów narkotyzowanych środkiem o nazwie Chlo-ral-Urethan jest obniżane w zależności od wielkości aplikowanej dawki (0,5—2,0 mg/kg, dożylnie), przy czym działanie to jest długotrwale. Działanie obniżające ciśnienie krwi, wywoływane alkaloidami ubocznymi, jest w porównaniu z działaniem papaweryny dwukrotnie silniejsze i trzykrotnie dłużej się utrzymuje.

b) Działanie rozszerzające krwionośne naczynia mózgowe potwierdza fakt, że ilość krwi przepływającej w jednostce czasu przez Arteria carotis zwiększa się o 20—80% (dawka 0,5—2,0 mg/kg, dożylnie).

W podanej niżej tabeli przedstawiono porównanie działania leczniczego ubocznych alkaloidów wyodrębnionych sposobem według wynalazku oraz papaweryny.

c) Obok silnego oddziaływania na układ naczyniowy stwierdzono korzystne oddziaływanie na centralny układ nerwowy. Przy nieznacznym działaniu uspokajającym nie obserwuje się działania rozluźniającego mięśni, skurcze wywołane nikotyną i elektrowstrząsami są w 50% zwalniane dawkami 20 lub 17,5 mg substancji czynnej /kg. Nadrucfliwość wywołana amfetaminą jest zahamowywana dawkami 40 mg/kg wprowadzanymi dootrzewnowo. Działanie uśmierzające ból nie zostało stwierdzone.

d) Alkaloidy uboczne wykazują niską toksyczność.

Przy codziennym, w ciągu 6 tygodni do 3 miesięcy, wprowadzania dawek 50 mg/kg nie występują niepożądane efekty uboczne i nie stwierdza się chorobowych zmian makro- i mikroskopowo badanych narządów. Dawka 450 mg/kg powoduje zejście 50% zwierząt doświadczalnych.

Alkaloidy uboczne oddzielone sposobem według wynalazku, stosowano w leczeniu miażdżycy naczyń mózgowych u ludzi i w pewnych chorobach oczu, polegających na uszkodzeniu układu naczyniowego. Kliniczne badania wykazują jednoznacznie, że przy miażdżycy naczyń mózgowych alkaloidy uboczne, otrzymane sposobem według wynalazku działają wielokrotnie silniej niż stosowane dotychczas w leczeniu tych dolegliwości papaweryna i dwuhydroergotoksyna. W leczeniu chorób oczu, jeżeli choroba spowodowana jest miejscowymi zaburzeniami układu krążenia, a szczególnie w tych przypadkach, gdy zmiany spowodowane są spastycznym zwichnięciem żył siatkówki lub nerwu wzrokowego, dobre wyniki osiąga się dawkując trzy razy dziennie po 10 mg alkaloidów w postaci tabletek.

Działające leczniczo alkaloidy uboczne barwinka otrzymuje się według wynalazku w ten sposób, że z otrzymanej po odparowaniu benzenu czerwono-brązowej mieszaniny alkaloidów o konsystencji pasty wydziela się winkaminę i wincynę na drodze krystalizacji z n- i/lub izopropanolu, a ług macierzysty po odsączeniu głównych alkaloidów 10—100 krotnie rozcieńcza się 0,1—10% wodnym roztworem kompleksotwórczego kwasu organicznego, następnie wytrząsa się z niemieszącym się z wodą rozpuszczalnikiem, np. benzyną, benzenem lub dwuchloroetanem i alkalizuje amoniakiem do odczynu o wartości $pH=8,0-9,0$, a wytrącające się w postaci osadu alkaloidy odsąca się, przy czym związki nie będące alkaloidami pozostają w roztworze. Osad przemywa się wodą i ostrożnie suszy się fluidyzacyjnie w powietrzu w temperaturze 40—50°C.

Tabela

Substancja czynna	Obniżenie ciśnienia krwi	Czas trwania oddziaływania	Ilość krwi przepływającej przez Arteria carotis
Papaweryna	1	1	1
Uboeczne alkaloidy barwinka	2	3	4

Tak otrzymany produkt stanowi proszek o barwie jasnożółtej. Jego ilość mniej więcej 10-krotnie przewyższa ilość uprzednio wytrąconej krystalicznej winkaminy i wincyny. Oznaczona przez miareczkowanie w niewodnym środowisku zawartość alkaloidów, wyrażona w równoważnikach winkaminy, wynosi 70–100%. Na chromatogramie na bibule Whatman 4, impregnowanej aldehydem mrówkowym i mrówczanem amonu, rozwijanym metodą zstępującą w mieszaninie benzen – cykloheksan (2:1) wysyczonej aldehydem mrówkowym, wykrywa się trzy plamy dotychczas nie zidentyfikowanych alkaloidów.

Wartości R_f tych alkaloidów są nieco niższe od wartości R_f winkaminy i wincyny i wynoszą 0,14, 0,07 i 0,00. Obecność winkaminy i wincyny nie została stwierdzona.

Postać wykonania sposobu według wynalazku jest bliżej objaśniona w niżej podanym przykładzie.

Przykład. Sposobem znanym ekstrahuje się alkaloidy z 25 kg barwinka (*Vinca minor* L.) za pomocą benzenu, otrzymany ekstrakt przemywa się 20% roztworem wodnym wodorotlenku sodu nie zawierającym Cl_3COOH , suszy a następnie odparowuje benzen. Suchą pozostałość ogrzewając rozpuszcza się w 125 ml n- i/lub izopropanolu, po czym krystalizuje w temperaturze 0°C . Wykrystalizowaną winkaminę i wincynę odsącza się a do ługu macierzystego dodaje 1000 ml 2% wodnego roztworu kwasu winowego. Otrzymany roztwór dwukrotnie wytrząsa się z porcjami po 500 ml benzenu, usuwając propanol i substancje nie mające charakteru alkaloidów. Roztwór wodny alkalizuje się amoniakiem do odczynu o wartości $\text{pH}=8,0-9,0$, a wytrącone zasady alkaloidów ubocznych odsącza się, przemywa wodą i suszy fluidyzacyjnie w powietrzu w temperaturze $40-50^\circ\text{C}$.

Otrzymuje się 12,5 g mieszaniny alkaloidów ubocznych. W mieszaninie tej można wykazać za pomocą oznaczenia chromatografii bibulowej, obec-

ność trzech alkaloidów o wartościach R_f 0,14, 0,07 i 0,00 oraz nieobecność winkaminy i wincyny. Tak otrzymany produkt nadaje się do bezpośredniego stosowania w lecznictwie.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób oddzielania ubocznych alkaloidów barwinka pospolitego (*Vinca minor* L.) wykazujących własności lecznicze, od winkaminy i wincyny, polegający na rozpuszczeniu w niemieszącym się z wodą rozpuszczalniku otrzymanej w znany sposób i zatężonej do sucha całej frakcji alkalidowej, następnie na krystalizacji winkaminy i wincyny z roztworu i ich odsączeniu, **znamienny tym**, że po zakończonej krystalizacji z n- i/lub izopropanolu, otrzymany przesączony ług macierzysty rozcieńcza się 10–100-krotnie za pomocą 0,1–10,0% roztworu organicznego kwasu kompleksotwórczego, roztwór reakcyjny zadaje się rozpuszczalnikiem organicznym niemieszącym się z wodą, a odczyn oddzielonej kwaśnej warstwy wodnej doprowadza się do wartości $\text{pH}=8,0-9,0$, po czym wytrącone alkaloidy uboczne wyodrębnia się i ostrożnie suszy.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako organiczny kwas kompleksotwórczy stosuje się kwas winowy.
3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako organiczny rozpuszczalnik niemieszący się z wodnym kwaśnym roztworem zawierającym alkaloidy uboczne stosuje się benzynę, benzen i dwuchloroetan.
4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że w wodnej kwaśnej warstwie odczyn doprowadza się do odpowiedniej wartości pH za pomocą roztworu wodorotlenku sodowego lub wodorotlenku amonowego.
5. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że alkaloidy uboczne, wykazujące własności lecznicze, suszy się fluidyzacyjnie.