



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

202 641

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita

(22) Přihlášeno 19 12 72

(21) PV 8764-72

(32)(31)(33) Právo přednosti od 24 01 72

(WP A 61 k / 160 475)

Německá demokratická republika

(51) Int. Cl.³A 61 K 35/78

(40) Zveřejněno 30 05 80

(45) Vydáno 01 06 83

(75)

Autor vynálezu

BÄRISCH HORST dipl. chem.

SCHMIDT HANS-JÖRG dr., DRÄZDANY

PÖTTER HEINRICH dr., RADEBEUL

TÖNJES HEINZ dr., RADEBEUL (NDR)

FISCHER FRIEDRICH prof. dr., HARTHA

(54)

Způsob přeměny digitoxigeninových glykosidů

1

Vynález se týká způsobu přeměny digitoxigeninových glykosidů na dioxin, popřípadě gitoxin, a to cílenou fermentací při využití nativního nebo extrahovaného systému fermentů drogy.

Při výrobě srdečních glykosidů ze species *Digitalis* se izolují především Lanatosid C, který je nejdůležitější látkou pro terapeutické použití, a sekundární glykosid digoxin. Mimoto se vyskytují v rostlinách *Digitalis lanata* ještě glykosidy řady A a B, které jsou také v *Digitalis purpurea*. Tyto glykosidy však mají pouze omezené použití. Byly proto provedeny celé řady pokusů o zvýšení podílu digitoxigeninových glykosidů. K tomu účelu byly navrhovány tři cesty.

Obsah těchto látek je možno zvýšit například cíleným šlechtěním, kterým je možno zejména snížit podíl glykosidů řady A.

Nozaki a spol. [(Nozaki, Z. M. Mayama, K. Akaki e.a., Agric. biol. Chem. Tokyo, 29, 783 /1965/)] navrhovali po uveřejnění celé řady prací, týkajících se přeměny digitoxigeninu na digoxigenin, přeměnit digitoxin s výtěžkem 29 % na digoxin působením specifického kmenu *Streptomyces*.

Třetí možnost zvýšení podílu digoxigeninových glykosidů spočívá v tom, že se rostliny po sklizni zpracují určitým způsobem. Tak například Pitra a spol. navrhovali zavažnutím sklizených rostlin zvýšit podíl Lanatosidu C v sušeném materiálu. (ČSSR patent č. 123 570, Pitra I., Kučera M. a Starý F., datum uveřejnění 8. 8. 1963 /15. 7. 1967/.)

Pitra a spol. [(Pitra I., Stěrba I., Horák P. a Procházka V., *Pharmacie*, **26**, 779 /1971/)] popisují další možný způsob zvýšení podílu Lanatosidu C tak, že se listy čerstvých sklizených rostlin *Digitalis lanata* skladují 7 dní při teplotě 25 °C a při 100 % relativní vlhkosti v dobře větraném prostoru, čímž dojde ke zvýšení podílu žádaných sloučenin, listy se potom skladují při teplotě 40 °C, čímž dojde k jejich konzervaci. Při teplotách 15 °C se zvyšuje obsah glykosidů jen velmi pomalu, při teplotě 30 °C je ještě nedostatečný, kdežto při teplotě 40 °C dojde v průběhu 2 dní při dalším skladování při 38 °C k úplnému přebudování Lanatosidu C na digoxin.

Kdežto při provzdušňovaném prostoru dochází za svrchu uvedených podmínek k tvorbě Lanatosidu C, dojde při špatně větraném prostoru k rychlému odbourání Lanatosidu C na digoxin. Možnou příčinou tohoto jevu je nedostatek molekulárního kyslíku. Jako faktory, podstatné pro tvorbu Lanatosidu C, uvádějí autoři podmínky růstu rostlinných buněk, obsah vody a velikost tlaku.

Nevýhody svrchu uvedeného postupu spočívají v tom, že tvorby Lanatosidu C je možno dosáhnout pouze na izolovaných listech, a nikoli na celé rostlině, a také to, že k výrobě drogy obsahující digoxin je zapotřebí 9 dní. Mimoto není možno technicky snadno dosáhnout uvedených podmínek zevního prostředí. Způsob není ekonomicky výhodný a naráží proto na nesnáze. Bylo by proto zapotřebí navrhnout způsob, který by umožňoval při izolaci Lanatosidu C nebo digoxinu přeměnit Lanatosid A, popřípadě digitoxin na glykosidy, použitelnější k léčebným účelům, popřípadě dosáhnout této přeměny fermentací čerstvých rostlin.

Na rozdíl od výsledků, kterých dosáhli Pitra aj., bylo nyní zjištěno, že ve vzduchotěsných uzavřených nádobách, které jsou s výhodou plněny dusíkem nebo kysličníkem uhličitým, je možno dosáhnout v čerstvých, drcených rostlinách při teplotě 20 až 45 °C v průběhu alespoň 60 hodin mimo úplné odbourání nativního Lanatosidu C ještě přeměny velkého podílu digitoxigeninových glykosidů na digoxin a částečně i na gitoxin enzymatické hydroxylace. Z toho zároveň vyplývá, že pro syntézu digoxigeninových glykosidů není nutno zachovat, jak uvádí Pitra aj., základní životní podmínky rostlinných buněk, nýbrž že je možno tyto podmínky do určité míry porušit.

Předmětem vynálezu je tedy způsob přeměny digitoxigeninových glykosidů z *Digitalis lanata* a *Digitalis purpurea*, jako jsou Lanatosid A, acetyldigitoxin a digitoxin, na digoxin, acetyldigoxin a popřípadě gitoxin, fermentací, vyznačující se tím, že se čerstvé, rozdrcené rostliny *Digitalis lanata* nebo *Digitalis purpurea* podrobí fermentaci při teplotě 20 až 45 °C alespoň na 60 hodin za nepřístupu vzduchu a/nebo v atmosféře dusíku nebo kysličníku uhličitého, načež se droga, obohacená glykosidy, konzervuje.

Výhody způsobu podle vynálezu spočívají v tom, že tento způsob je možno provést v jednom stupni za podstatně kratší dobu a za snadno dosažitelných podmínek postmortální biosyntézou digoxinu a gitoxinu z digitoxigeninových glykosidů za současného odbourání nativního Lanatosidu C na digoxin, popřípadě Lanatosidu B na gitoxin, čímž se dosahuje vyššího obsahu digoxigeninových látek v poměru k obsahu digitoxigeninových glykosidů, původně přítomných v čerstvé rostlině. Ve spojení s následnou konzervací vysokými teplotami podle čs. patentu č. 157 619 se dosahuje podstatně ekonomičtějšího způsobu výroby digoxinu.

Vynález bude osvětlen následujícími příklady.

Příklad 1

Čerstvě sklizené digitalisové listy s obsahem 0,30 % digitoxigeninových glykosidů a 0,30 % digoxigeninglykosidů, propočítáno na digoxin v sušině, se rozřežou na díly o velikosti přibližně 1 cm a uloží v uzavřeném silu do výšky 1 až 2 m. Potom se do sila uvede kysličník uhličitý nebo dusík a materiál se ponechá v silu 4 dny. Teplota rozřezaných listů v této době se má pohybovat v rozmezí 20 až 30 °C. Potom se materiál suší při vysoké teplotě, takže obsahuje 0,51 % digoxinu a acetyldigoxinu a 0,09 % digitoxinu a acetyldigitoxinu při přepočtu na digoxin.

Příklad 2

Čerstvě sklizené digitalisové listy se zpracují s přísadou vody nebo pufru na hustou kaši. 10 kg této kaše, tj. přibližně 1 ks sušiny, se smísí s 5 g Lanatosidu A, desacetyl-lanatosidu A, digitoxinu nebo acetyldigitoxinu a směs se inkubuje 4 dny při teplotě 20 až 30 °C v atmosféře dusíku nebo kysličníku uhličitého za stálého míchání v uzavřené nádobě. Po této době je 70 až 80 % přidaných digitoxigeninových glykosidů transformováno na digoxin nebo acetyldigoxin.

Za týchž podmínek lze frakce Lanatosidu A, které vznikají při výrobě Lanatosidu C, převést na digoxigeninové glykosidy.

K izolaci digoxigeninových glykosidů se kaše vylisuje a získaný materiál se ještě jednou extrahuje 5 až 10 násobným množstvím vody o teplotě 40 °C. Vodné roztoky se slíjí a několikrát protřepou s chloroformem a chloroformový roztok se odpaří do sucha. Po desacetylaci současně získaného Acetyldigoxinu uhličitánem sodným ve směsi vody a alkoholu se surový digoxin, obsahující ještě malé množství digitoxinu a gitoxinu, dále čistí známým způsobem.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob přeměny digitoxigeninových glykosidů z *Digitalis lanata* a *Digitalis purpurea*, jako jsou Lanatosid A, acetyldigitoxin a digitoxin, na digoxin, acetyldigoxin a popřípadě gitoxin, fermentací, vyznačující se tím, že se čerstvé, rozdrcené rostliny *Digitalis lanata* nebo *Digitalis purpurea* podrobí fermentaci při teplotě 20 až 45 °C alespoň na 60 hodin za nepřístupu vzduchu a/nebo v atmosféře dusíku nebo kyslíčnicku uhlíčitého, načež se droga, obohacená glykosidy, konzervuje.