



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

200506
(11) (B2)

(22) Přihlášeno 03 03 77

(21) (PV 1451-77)

(32) (31) (33) právo přednosti od 04 03 76
(P 545/76) Jugoslávie

(40) Zveřejněno 31 12 79

(45) Vydáno 15 08 83

(51) Int. Cl.³

C 07 D 519/02

A 61 K 31/48

(72)

Autor vynálezu

RUČMAN RUDOLF a DJORDJEVIČ NEBOJŠA, LUBLAŇ (Jugoslávie)

(73)

Majitel patentu

LEK TOVARNA FARMACEVTSKIH IN KEMIČNIH IZDELKOV,
LUBLAŇ (Jugoslávie)

(54) Způsob výroby 9,10-dihydroergosinu a jeho fysiologicky vhodných adičních solí s kyselinami

1

Vynález se týká způsobu výroby 9,10-dihydroergosinu a jeho fysiologicky vhodných adičních solí s kyselinami.

9,10-Dihydroergosin je přírodní látka, kterou je možno získat extrakcí sklerocií *Sphaelia SorigiMcRae*, kde je obsažena ve velmi malých množstvích [srov. P. G. Mantle a E. S. Weight, *Nature*, **218**, str. 581 (1968)]. Proto je žádoucí jeho polosyntetická nebo syntetická příprava. Syntetická příprava, která je až dosud velmi obtížná, je popsána v belgickém patentu 669 619, který popisuje přípravu ergosinu a 9,10-dihydroergosinu kondenzací kyseliny d-lysergové nebo kyseliny 9,10-dihydro-d-lysergové s hydrochloridem 2-amino-2-methyl-5-isobutyl-10b-hydroxy-3,6-dioxo-oktahydro-oxazolo[3,2-a]-pyrrolo[2,1-c]pyrazinu v bezvodém methylenchloridu a v přítomnosti pyridinu.

Popsaným způsobem je rovněž možno získat 9,10-dihydroergosin katalytickou hydrogenací dvojně vazby v poloze 9,10- v syntetickém ergosinu. Hydrogenace se provádí za použití katalyzátoru, tvořeného 5 proc. paládia, na kysličníku hlinitém, a trvá 4 hodiny při atmosférickém tlaku a teplotě místnosti. Výtěžek reakce není uveden.

Podle jiného postupu, popsaného A. Stolle a A. Hofmannem v časopisu *Helv. Chim.*

2

Acta, **26**, str. 2070 [1943], se hydrogenace provádí za použití paládiové houby jako katalyzátoru a trvá 2 hodiny při tlaku 3,5 MPa a při teplotě 60 °C. Výtěžek reakce odpovídá 79,5 %.

Nevýhodou známých způsobů je, že se při použití přírodních produktů dosáhne velmi malého výtěžku, čili že je třeba velmi značných množství tohoto přírodního materiálu. U syntetické metody je příprava výchozí látky velmi složitá, provádí se pouze za tímto účelem a s velmi nízkými výtěžky (asi 5 %). Hydrogenací se získá více vedlejších produktů než při způsobu podle vynálezu, poněvadž prvně jmenovaný způsob trvá déle. Výtěžek je nižší, což je způsobeno méně aktivním katalyzátorem a méně vhodným rozpouštědlem. Účelem vynálezu je hydrogenovat dvojnou vazbu v poloze 9,10 přírodního ergosinu za takových podmínek, že reakce trvá pouze krátkou dobu, čímž se podstatně sníží tvorba degradačních produktů.

Podle vynálezu se tohoto účelu dosáhne způsobem výroby 9,10-dihydroergosinu a jeho fysiologicky vhodných adičních solí s kyselinami, při němž se katalyticky hydrogenuje vodíkem za atmosférického tlaku ergosin v dimethylformamidu, jakožto reakčním prostředím, kterýžto způsob se vy-

značuje tím, že se použije katalyzátoru tvořeného aktivním uhlím s obsahem 10 % paládia, v množství 15 až 25 hmotnostních proc., vztaženo na hmotnostní množství ergosinu, a reakce se provádí při teplotě v rozmezí od 20 do 40 °C za míchání při otáčkách od 200 do 400 min⁻¹ v nepřítomnosti aktinického záření, načež se získaný 9,10-dihydroergosin popřípadě přemění ve svou fyziologicky vhodnou adiční sůl s kyselinou.

Při způsobu podle vynálezu se jako výchozí látky použije ergosinu, získaného jako vedlejší produkt při extrakci námelu rýže.

Při reakci se jako rozpouštědla používá dimethylformamid. Reakce se po celou dobu provádí v nepřítomnosti aktinického záření při teplotě v rozmezí od 20 do 40 °C. Při teplotě 20 °C je reakce skončena po 1 hodině, při teplotě 30 °C po 30 minutách a pouze 0,5 % výchozí látky není zhydrogenováno. Vodík se přivádí za míchání míchadlem, otáčejícím se rychlostí od 200 do 400 min⁻¹, které rovněž umožňuje recirkulaci vodíku nacházejícího se nad reakční směsí.

Pak se katalyzátor odfiltruje a reakční směs se zkoncentruje za sníženého tlaku.

Po krystalizaci zbytku z ethylacetátu se získá čistý krystalický 9,10-dihydroergosin.

Poněvadž 9,10-dihydroergosin je pouze nepatrně rozpustný ve vodě, a proto z farmakologického hlediska nepříliš účinný, je možno jej popřípadě přeměnit v jeho adiční sůl s fyziologicky vhodnou kyselinou. Za tímto účelem je možno 9,10-dihydroergosin rozpustit například v bezvodém ethanolu, k roztoku přidat ekvivalentní množství kyseliny a vzniklou sůl vyloučit bezvodým etherem.

9,10-Dihydroergosin připravený způsobem podle vynálezu se vyznačuje níže uvedenými toxikologickými a farmakologickými vlastnostmi.

1. Akutní toxicita

Metodou popsanou J. T. Litchfieldem a F. Wilcoxonem v časopisu J. Pharmacol. exp. Ther. **96**, str. 99 (1949) a G. Kärberem v časopisu Arch. exp. Path. Pharmacol. **162**, str. 480 (1931) se na myších a kryších stanoví průměrná hodnota lethální dávky DL₅₀ methansulfonátu dihydroergosinu. Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce ve srovnání s výsledky získanými použitím několika jiných námelových alkaloidů.

	DL ₅₀ v mg/kg	
	na myších i. p. (18—24 g)	na kryších i. p. (200—260 g)
methansulfonát dihydroergotoxinu	175	240
methansulfonát dihydroergokristinu	234	430,4 (Kärber)
methansulfonát ergosinu	162	asi 400
methansulfonát dihydroergosinu	72,2	asi 400

2. Účinek dihydroergosinu na tepenný krevní tlak

Tento vliv se zkoumá tak, že se normotensivním krysám o hmotnosti 180 až 250 g v uretanové narkóze aplikuje methansulfonát dihydroergosinu. U několika krys se přetne mícha na úrovni druhého krční obrátle (spinální krysa). Po zavedení kanyly do krční tepny se pomocí snímače tepenného tlaku registruje dynografem tepenný tlak. Rovněž se zkoumá účinek methansulfonátu dihydroergosinu na krevní tlak hypertensivních krys.

a) Methansulfonát dihydroergosinu, aplikovaný intravenózně normotensivním krysám s neporušenou míchou vyvolá snížení tepenného krevního tlaku. Minimální účinná dávka činí 0,01 mg/kg a ve srovnání s kontrolní krysou vyvolá 15% snížení průměrného tepenného tlaku. Dávka je účinná po dobu asi 60 minut. Maximální snížení tlaku se vyvolá dávkou 1,5 mg/kg, již se dosáhne 40% snížení oproti kontrolní kryse. Tato dávka je účinná po několik hodin.

b) U spinálních krys vyvolá intravenos-

ně aplikovaná dávka 0,15 mg/kg methansulfonátu dihydroergosinu nejprve snížení krevního tlaku trvající 2 až 3 minuty, následované pak zvýšením průměrného tepenného tlaku o 40 až 60 %, které trvá 60 až 90 minut.

Výsledky na spinálních krysách a na krysách s neporušenou míchou ukazují, že snížení tepenného tlaku má centrální původ. Účinek uvedené dávky u normotensivních a spinálních krys je doprovázen bradykardií. Hypertensivní reflex uzavření krční tepny je ve většině případů zčásti snížen.

c) Vliv methansulfonátu dihydroergosinu na krevní tlak hypertensivních krys se zkoumá na spontánně hypertensivních krysách Akamoto—Aoki (29. generace). Krevní tlak se měří pomocí manžety na ocase zvířete v bdělém stavu. Methansulfonát dihydroergosinu vyvolává snížení průměrného tepenného tlaku rovněž u hypertensivních krys.

3. Vliv na srdce

Methansulfonát dihydroergosinu vyvolává zvýšení amplitudy kontrakcí na izolovaném srdci morčete [modifikovaná Langendorff-

fova preparace, popsaná Zalarem a spol. v časopisu Boll. Chim. Pharm. 114, str. 146 [1975]] v dávce 0,005 mg/g srdce asi o 80 %, snižuje frekvenci srdečního tepu asi o 20 % a snižuje průtok koronárními cévami asi o 10 %. Při této dávce nejsou na elektrokardiogramu pozorovatelné žádné změny. Vyšší dávky methansulfonátu dihydroergosinu v rozmezí 0,025 až 0,05 mg/g srdce vyvolávají nejprve zvýšení amplitudy kontrakcí o více než 150 %, načež se amplituda sníží na 50 % kontrolní hodnoty. Frekvence se sníží asi o 33 %, průtok koronárními cévami asi o 50 % a na elektrokardiogramu se objeví známky poškození srdečního svalu.

4. Antiadrenalinový účinek

a) Ochranný účinek vůči lethální dávce adrenalinu

Antiadrenalinový účinek se zkouší na kryších o hmotnosti 180 až 240 g, jimž se 70 až 90 minut před intravenosním vstříknutím adrenalinu v dávce 1 mg/kg, což odpovídá DL₅₀, podá per os methansulfonát dihydroergosinu. Výsledky jsou shrnuty v níže uvedené tabulce ve srovnání s výsledky získanými použitím některých jiných námelových alkaloidů.

ID₅₀ v mg/kg

methansulfonát ergotaminu	30,0
methansulfonát dihydroergotaminu	30,0
methansulfonát ergosinu	6,5*
methansulfonát dihydroergosinu	5,2*

* Kärber (viz výše)

b) Při zkouškách tepenného tlaku na kryších, jak byly popsány v odstavci 2, snižuje methansulfonát dihydroergosinu v dávce 0,01

Antagonista	agonista	pA ₂
methansulfonát dihydroergotoxinu	adrenalin	7,82
	noradrenalin	8,47
methansulfonát dihydroergokristinu	adrenalin	7,42
	noradrenalin	8,56
methansulfonát dihydroergosinu	adrenalin	7,84
	noradrenalin	8,79

5. Antiserotoninový účinek

a) Tento účinek se stanoví na izolované děloze krysy podle metody DeJalona, Bajo a DeJalona, popsané v časopisu Pharmacoter. Act. 3, str. 313 [1945].

Methansulfonát dihydroergosinu zabraňuje kontrakcím vyvolaným serotoninem. Stupeň antagonismu se stanoví podle metody stanovení hodnot pA₂, popsané H. O. Schildem v časopisu Brit. J. Pharmacol. 2, str. 189 [1947]. Je-li agonistou serotonin, je hodnota pA₂ methansulfonátu dihydroergosinu

mg/kg i. v. hypertensivní reakci na intravenosní injekci adrenalinu a noradrenalinu. Vyšší dávky v rozmezí 0,02 až 0,15 mg/kg i. v. blokují hypertensi vyvolanou noradrenalinem a vyvolávají inverzi adrenalinové účinnosti. Methansulfonát dihydroergosinu aplikovaný intravenosně v dávkách 0,02 až 0,05 mg/kg snižuje hypertensi vyvolanou intravenosní aplikací salicylátu fysostigminu o 30 až 75 %. Hypertense vlivem salicylátu fysostigminu představuje následek nepřímého stimulačního účinku na centrální sympatickou soustavu [Varagič, Br. J. Pharmacol. 10, str. 349 [1955]].

c) Methansulfonát dihydroergosinu v dávce 0,02 mg/kg snižuje hypertensivní reakci na intravenosní injekci angiotensinu asi o 20 % a ve vyšší dávce 0,05 až 0,15 mg/kg i. v. asi o 50 %.

d) Antiadrenalinový účinek na izolovaný chámovod se zkoumá metodou popsanou G. D. H. Leachem v časopisu J. Pharm. Pharmacol. 8, str. 501, [1956]. Methansulfonát dihydroergosinu zabránil kontrakcím vyvolaným adrenalinem a noradrenalinem. Stupeň antagonismu se určí metodou stanovení hodnot pA₂, popsanou H. O. Schildem v časopisu Brit. J. Pharmacol. 2, str. 189, [1947].

Je-li agonistou adrenalin, je hodnota pA₂ methansulfonátu dihydroergosinu 7,84; je-li agonistou noradrenalin, je tato hodnota 8,79. To znamená, že v přítomnosti methansulfonátu dihydroergosinu jako antagonisty v koncentraci $9,3 \times 10^{-9}$ g/m, popřípadě $1,0 \times 10^{-9}$ g/m, je třeba dvojnásobného množství agonisty (adrenalinu nebo noradrenalinu), aby vyvolala tutéž reakci orgánu, než v případě nepřítomnosti tohoto antagonisty. Získané výsledky jsou shrnuty v níže uvedené tabulce ve srovnání s výsledky dosaženými při použití několika jiných námelových alkaloidů.

8,62. To znamená, že v přítomnosti $1,6 \times 10^{-9}$ g/ml methansulfonátu dihydroergosinu jako antagonisty je třeba dvojnásobné dávky serotoninu k vyvolání téže reakce orgánu, než v případě nepřítomnosti tohoto antagonisty.

b) Methansulfonát dihydroergosinu v dávce 0,1 mg/kg i. v. blokuje u morčete křeč průdušek vyvolanou intravenosní injekcí 0,005 až 0,06 mg/kg serotoninu. Použije se postupu Konzetta a Rösslera, popsaného v časopisu Arch. exp. Path. Pharmacol. 195, str. 171 [1940].

c) Při zkoušce popsané v odstavci 2 blokuje methansulfonát dihydroergosinu v dávce 0,15 mg/kg u spinální krysy hypertenzivní reakci na intravenózní injekci 0,07 až 0,15 mg/kg serotoninu.

Na základě popsaných farmakologických vlastností bylo zjištěno, že dihydroergosin působí jako antagonist katecholaminů na α -adrenergické receptory, jako antagonist serotoninu na D-receptory serotoninu, jako látka vyvolávající snížení zvýšeného tepenného tlaku a jako látka vyvolávající pozitivní inotropní účinek na srdce.

Na základě těchto vlastností je dihydroergosin možno použít pro léčení arteriální hypertenze, periferní angiopathie, poruch cerebrální cirkulace, srdeční arytmie a migrény.

9,10-Dihydroergosin ve formě fyziologicky vhodných adičních solí s kyselinami je možno použít jako léku pro enterální a parenterální aplikaci. Pro výrobu farmaceutických prostředků je možno k uvedeným solím přidat anorganické nebo organické přísady. Pro výrobu tablet a dražé je možno přidat například laktónu, škrob, mastek, kyselinu stearovou apod. Pro výrobu roztoků a emulzí je možno přidat například vodu, alkoholy, glycerol, rostlinné oleje a podobně. Pro výrobu čípků je možno přidat například přírodní oleje nebo ztužené oleje a vosky. Farmaceutické prostředky mohou rovněž obsahovat vhodné konzervační přísady, stabilizátory, smáčedla, látky podporující rozpouštění, sladidla a barviva.

Vhodná dávka 9,10-dihydroergosinu ve formě fyziologicky vhodných adičních solí s kyselinou je v rozmezí 0,3 až 10 mg/70 kg denně.

Vynález je blíže objasněn dále uvedenými příklady, kterými však jeho rozsah není nikterak omezen.

Příklad 1

V zatemněném reaktoru o objemu 800 ml, opatřeném dvojitými stěnami a míchadlem, se 6,90 g ergosinu rozpustí ve 120 ml bezvodého dimethylformamidu. Celá aparatura se dobře propláchne dusíkem, načež se přidá suspenze 1,29 g aktivního uhlí o obsahu 10 % paládia ve 20 ml bezvodého dimethylformamidu. Roztok se zahřeje na teplotu 30 stupňů Celsia a dusík se nahradí vodíkem. Za intenzivního míchání je hydrogenace skončena po 30 minutách. Katalyzátor se odfiltruje a rozpouštědlo se oddestiluje při teplotě 45 °C za sníženého tlaku do sucha. Po překrytlování zbytku z vroucího ethylacetátu, odfiltrování vzniklých krystalů a jejich vysušení za sníženého tlaku se získá 6,51 g 9,10-dihydroergosinu o bodu tání v rozmezí 195 až 199 °C a o specifické otáčivosti $\alpha_D^{20} = -48^\circ$ ($c = 0,5$ v pyridinu).

Příklad 2

V 10 ml bezvodého ethanolu se suspendují 3,0 g 9,10-dihydroergosinu a přidá se 0,36 ml destilované kyseliny methansulfonové, načež se směs míchá až do úplného rozpuštění. Za důkladného míchání se čirý roztok pomalu vlije do 250 ml bezvodého etheru, načež se v míchání pokračuje po dalších 15 minut. Vyloučená sůl se odfiltruje a dokonale promyje bezvodým etherem. Pak se vysuší při teplotě místnosti za sníženého tlaku, čímž se získá 2,85 g bezbarvého methansulfonátu 9,10-dihydroergosinu o bodu tání 237 °C (za rozkladu) a specifické otáčivosti $\alpha_D^{20} = -40^\circ$ ($c = 0,5$ v pyridinu).

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob výroby 9,10-dihydroergosinu a jeho fyziologicky vhodných adičních solí s kyselinami, při němž se ergosin katalyticky hydrogenuje vodíkem za atmosférického tlaku v dimethylformamidu, jakožto reakčním prostředím, vyznačující se tím, že se použije katalyzátoru tvořeného aktivním uhlím s obsahem 10 % paládia, v množství

15 až 25 hmotnostních %, vztaženo na hmotnostní množství ergosinu, a reakce se provádí při teplotě v rozmezí od 20 do 40 °C za míchání při otáčkách od 200 do 400 min⁻¹ v nepřítomnosti aktinického záření, načež se získaný 9,10-dihydroergosin popřípadě přemění ve svou fyziologicky vhodnou adiční sůl s kyselinou.