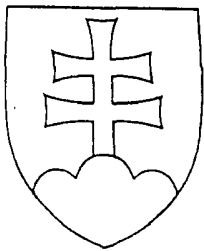


SLOVENSKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA
VYNÁLEZU

(21) 235-93

(13) A3

(22) 25.03.93

(32) 25.06.91

(31) P 4120990.7

(33) DE

(40) 07.07.93

5(51) C 07 C 69/95,
A 61 K 31/235

(71) MADAUS, AG, Kolín, DE;

(72) CARCASONA Alfons, Kolín, DE; GRIMMINGER Wolf, Bergisch-Gladbach, DE; HIETALA Pentti, Helsinki, FI; ZAESKE Helga, Overath, DE; WITHOHN Klaus, Overath, DE;

(54) Spôsob výroby diacetylreínu

(57) Riešenie sa týka spôsobu výroby diacetylreínu vo farmaceuticky použiteľnej čistote so zbytkovým obsahom nežiadúcich aloemodínových derivátov celkom nižším ako 20 ppm. diacetylreínu, získateľného uvedeným spôsobom a farmaceutických prostriedkov, ktoré obsahujú uvedenú zlúčeninu. Uvedená látka sa získa tak, že sa reín-9-antrón-8-glukozid, obsahujúci aloemodínové komponenty, podrobí rozdeleniu kvapalina-kvapalina medzi organické polárne rozpúšťadlo, len čiastočne miesiteľné s vodou a vodnou fázou, reín-9-antrón-8-glukozid, obsiahnutý po rozdelení vo vodnej fáze, sa oxiduje na reín-8-glukozid, glukózový zbytok v polohe 8 reín-8-glukozidu sa v kyslom médiu odštiepi a získaný reín sa acetyluje na diacetylreín.

28 00 00.00.25 00010

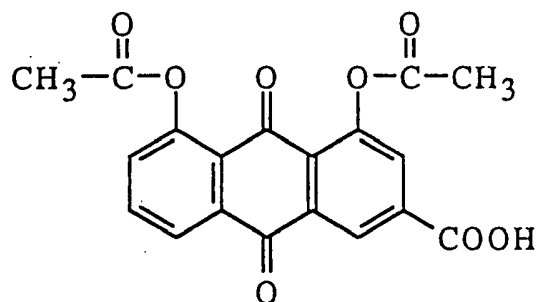
Spôsob výroby diacetylreínu

Oblasť techniky

Vynález sa týka spôsobu výroby diacetylreínu vo farmaceuticky použiteľnej čistote so zbytkovým obsahom nežiadúcich aloemodínových derivátov celkom nižším ako 20 ppm, diacetylreínu, získateľného uvedeným spôsobom a farmaceutických prostriedkov, ktoré obsahujú uvedenú zlúčeninu.

Doterajší stav techniky

Diacetylreín vzorca



je liečivá účinná látka, vykazujúca antiartritickú, antiinflamatorickú, antipyretickú a analgetickú aktivitu. Diacetylreín sa teda používa pre ošetrenie artritických chorôb, ako je napríklad uvedené v DE-A 27 11 493 a US-A 4,244.968.

Diacetylreín sa dá vyrobiť napríklad acetyláciou barbaloínu a oxidáciou získaného peracetylovaného barbaloínu oxidom chrómovým. Okrem toho sa dá diacetylreín vyrobiť acetyláciou reínu, ktorý sa dá napríklad získať z drogy zo senny.

V diacetylreíne, získanom pomocou tohto spôsobu, sú ako nežiadúce sprievodné látky obsiahnuté aloemodínové deriváty, pochádzajúce z neúplnej oxidácie oxidom chrómovým, alebo sú spoluextrahované z drogy zo senny. Sprievodné látky sú obsiahnuté

v relatívne nepatrných množstvách a dajú sa teda za použitia klasických čistiacich operácií len veľmi ťažko odstrániť. Okrem toho zostávajú pri vyššie uvedených postupoch v produkte zbytky chrómu, ktoré sa musia zneškodniť pomocou zvláštnych postupov.

Podstata vynálezu

Úlohou predloženého vynálezu teda je vypracovanie spôsobu získania diacetylreínu, ktorý by bol jednoduchý a uskutočniteľný s vysokými výťažkami a ktorý by poskytoval diacetylreín vo farmaceuticky použiteľnej čistote so zbytkovým obsahom nežiadúcich aloemodínových derivátov celkom nižším než 20 ppm.

Uvedená úloha bola podľa predloženého vynálezu vyriešená vypracovaním spôsobu, ktorého podstata spočíva v tom, že sa

A/ reín-9-antrón-8-glukozid, obsahujúci aloemodínové komponenty (to znamená aloemodín a/ alebo jeho deriváty) podrobí rozdelenie kvapalina - kvapalina medzi organicky polárne rozpúšťadlo, len čiastočne miešateľné s vodou a vodnou fázou,

B/ reín-9-antrón-8-glukozid, obsiahnutý po rozdelení vo vodnej fáze, sa oxiduje na reín-8-glukozid,

C/ glukózový zbytok v polohe 8 reín-8-glukozidu sa v kyslom médiu odštiepi a

D/ získaný reín sa acetyluje a získa sa diacetylreín.

Významným zdrojom reín-8-antrón-8-glukozidu sú sennozidy, obsiahnuté v droge zo senny. Výhodnou formou uskutočnenia vynálezu je teda spôsob výroby diacetylreínu, ktorý je v podstate jednoduchý aloemodínových derivátov, pri ktorom sa

A/ zmes sennozidov podrobí redukcii na zodpovedajúci reín-9-antrón-8-glukozid a zlúčeniny aloemodín-9-antrón-8-gluko-zidu

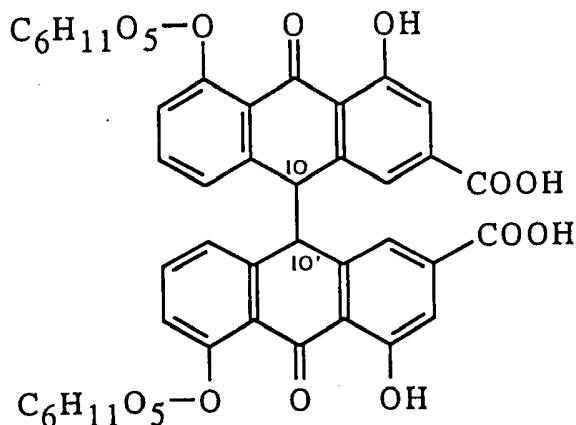
- B/ vykoná sa rozdelenie kvapalina - kvapalina, získaných zlúčenín medzi polárne organické rozpúšťadlo, len čiastočne miešateľné s vodou a vodnou fázou
- C/ reín-9-antrón-8-glukozidové zlúčeniny, obsiahnuté po rozdelení vo vodnej fáze, sa oxidujú na zodpovedajúce antrachinónové zlúčeniny,
- D/ glukózový zbytok v polohe 8 antrachinónovej zlúčeniny sa v kyslom prostredí odštiepi a
- E/ získaná 1,8-dihydroxyantrachinónová zlúčenina sa acetyluje a získa sa diacetylreín.

Jednotlivé stupne postupu možno objasniť nasledujúcim spôsobom:

Redukcia sennozidov

Zmes sennozidov, slúžiacich ako východiskový materiál, sa dá napríklad získať z drogy zo senny.

Droga zo senny pozostáva z usušených listov a plodov sennesovej rastliny, ako je napríklad indická senna (*Cassia angustifolia*) a egyptská senna (*Cassia acutifolia*). Droga zo senny obsahuje diantrón-glukozidy reínu a aloe-emodínu. Najdôležitejšie sú sennozidy A, B, A1, C, D a D1. Sennozidy zodpovedajú vzorcu



Pri sennozidoch 1, B, A1 znamená substituent R karboxylovú skupinu a u sennozidov C, D a D1 znamená substituent R hydroxymetylovú skupinu. Sennozidy A, B a A1, poprípade C, D a D1 sú stereoizoméry a líšia sa navzájom konfiguráciou na uhlíkových atómov 10 a 10'.

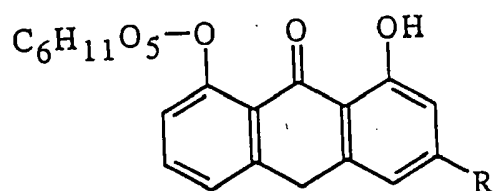
Získavanie sennozidov z drogy zo senny je napríklad opísané v DA-A-32 00 131, na čo je tu v celom rozsahu braný zreteľ. Podľa toho sa extrahuje najprv droga zo senny vodným metylalkoholom. Koncentrát, získaný po úplnom odstránení metylakoholu, obsahuje sennozidy vo forme draselnej soli. Tento koncentrát je vhodný ako východiskový komponent pre spôsob podľa predloženého vynálezu. Koncentrát sa môže ešte čistiť kvapalinovou axtrakciou s vo vode čiastočne rozpustenými alkoholmi alebo ketónmi (napríklad 2-butanol, 2-butanon) (rafinát). Takto získaný rafinát sa okyslí na hodnotu pH 1,5 až 2,0 a sennozidy sa privedú ku kryštalizácii za zaočkovania. Získaná zmes surových sennozidov je rovnako použiteľná ako východiskový produkt pre spôsob podľa predloženého vynálezu. Pokiaľ je to potrebné, môže sa zmes surových sennozidov tiež ešte prekryštalizovať.

Alternatívne sa môže ako východiskový prdukt použiť koncentrát, zmiešaný s vo vode čiastočne rozpustným alkoholom alebo ketónom, zvlášť s 2-butanolom.

Pri extrakcii drogy zo senny je pomer drogy k extrakčnému rozpúšťadlu výhodne 1 : 4 až 1 : 15, obzvlášť 1 : 4 až 1 : 10.

Extrakcia sa výhodne vykonáva za prítomnosti pufru, ako je napríklad trinatriumcitrát, glycín, hydrogénuhličitan sodný alebo sacharóza.

Podľa spôsobu podľa predloženého vynálezu sa tieto východiskové materiály podrobia úplnej redukcii na zodpovedajúci reín-9-antrón-8-glukozid (R = COOH) a zodpovedajúci aloemodín-9-antrón-8-glukozid (R = CH₂OH) vzorca



Ako redukčné činidlo s vhodným redukčným potenciálom je možné uviesť napríklad chlorid cínatý, oxid siričitý, bórovodíky alkalických kovov a výhodne ditioničnany alkalických kovov, zvlášť ditioničnan sodný (nátriumditionit).

Pre vykonávanie redukcie sa môže východiskový materiál predložiť vo vodnom roztoku alebo suspenzii a pridá sa redukčné činidlo v pevnej forme alebo rozpustené vo vode. Môže sa tiež pracovať v dvojfázovej zmesi tak, že sa pridá polárne organické rozpúšťadlo, čiastočne miešateľné s vodou, zvlášť 2-butanol alebo acetón.

Redukovať sa môže pri teplote okolia alebo pri zvýšenej teplote. Redukcia sa výhodne vykonáva pri teplote v rozmedzí 40 až 60 °C, zvlášť 50 až 55 °C. Pracuje sa pri slabo kyslom až slabo alkalickom pH roztoku východiskových sennozidov, poprípade ich suspenzie, výhodne pri hodnote pH v rozmedzí 7 až 9. Pokiaľ je treba, môže sa redukcia vykonávať viackrát, zvlášť dvakrát až desaťkrát.

Vytvorené 9-antrón-8-glukozidy sa vyzrážajú prídavkom kyseliny, napríklad kyseliny sírovej, na pH 4 až 4,5. Teplota by pri tom nemala byť vyššia než asi 40 °C. Účelne sa pracuje pri zrážaní 9-antrón-8-glukozidov a pri ich izolácii (napríklad filtráciou) pod ochrannou dusíkovou atmosférou, aby sa vylúčila nekontrolovaná oxidácia tejto zlúčeniny.

Je dôležité, aby redukcia prebehla úplne. Účelne sa preto používa redukčné činidlo vo vysokom prebytku. Pri použití ditioničnanu sodného sa obyčajne používa jednonásobné až

štvornásobné množstvo ditioničnanu, vzťahujúceho sa na obsah sennozidov vo východiskovom materiáli. Okrem toho sa nechá redukčné činidlo pôsobiť aspoň po dobu dvoch hodín, výhodne aspoň troch hodín. Obyčajne neprebíha redukcia ďalej ako desať hodín. Dodatočná redukcia sa výhodne vykonáva za uvedených podmienok.

Získaný produkt sa pred svojím zavedením do nasledujúceho stupňa výhodne vyzráža tak, že sa vo vodnom roztoku prídavkom bázy (bydroxid sodný, hydroxid draselný) privedie do roztoku až asi hodnoty pH 6 až 7, vodný roztok sa extrahuje 2-butanolom, acetónom alebo 2-butanónom a produkt sa okyslením na hodnotu pH asi 2 až 4 prídavkom kyseliny opäť vyzráža.

Rozdeľovanie kvapalina - kvapalina

V tomto stupni sa odstránia aloeemodínové komponenty, zvlášť aloeemodín-9-antrón-8-glukozid. Na to sa ukutoční rozdeľovanie kvapalina - kvapalina pri získanom produkte v polárne organickom rozpúšťadle, len obmedzene miesiteľnom s vodou, proti vodnej fáze. Vhodné polárne organické rozpúšťadla sú alkanoly so 4 až 5 uhlíkovými atómami a dialkylketónmi s 1 až 3 uhlíkovými atómami v alkylových častiach, ako je napríklad acetón, 1-butanol a 2-butanon. Výhodne sa používa 2-butanol a acetón.

Výhodne sa k vodnej fázi pridá redukčné činidlo, aby vodná fáza mala behom celého rozdeľovania kvapalina - kvapalina redox-potenciál - 210 mV alebo negatívnejší. Účelne sa používa rovnaké redukčné činidlo, ktoré sa používalo vo stupni A. Pri použití ditioničnanov alkalických kovov o koncentrácii 2 až 4 % hmotnosných, rpi hodnote pH v rozmedzí 7 až 11, aby sa udržali uvažované potenciálové podmienky.

Objemové pomery vodnej fáze (ťažká fáza) k organickej fáze (ľahká fáza) sú všeobecne v rozmedzí 1 : 5 až 1 : 40.

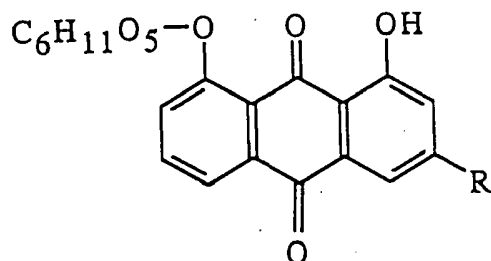
Výhodne sa uskutočňuje extrakcia kvapalina - kvapalina v protiprúde. Zmes antrónových zlúčenín sa pri tom privádza vo

forme roztoku, získaného po redukcii, keď boli antrónové zlúčeniny izolované, privádzajú sa vo forme roztoku o koncentrácii 3 až 15 % hmotnostných.

Po rozdelení sa nachádza požadovaný reín-9-antrón-8-glukozid vo vodnej fáze. Vyzráža sa okyslením roztoku na pH asi 2 až 4 prídavkom kyseliny a získa sa bežnými metódami.

Oxidácia reín-9-antrón-8-glukozidu

Uvedeným spôsobom získaný reín-9-antrón-8-glukozid sa teraz oxiduje na reín-8-glukozid vzorca



Ako vhodné oxidačné činidlá pre tento účel je možné uviesť kyslík, peroxidové zlúčeniny (peroxid vodíka) a zlúčeniny mangánu, chrómu alebo železa s vysokým oxidačným stupňom. Výhodne sa používajú železité soli, zvlášť síran železitý. Účelne sa pracuje pri zvýšených teplotách, avšak nižších než 60 °C. Tým sa vylúči vznik nežiadúcich a nedefinovateľných oxidačných produktov. Po ukončení oxidácie sa vytvorený reín-8-glukozid obvyklými spôsobmi izoluje.

Odštiepenie glukózového zbytku

Glukózový zbytok v polohe 8 sa odštiepuje v kyslom roztoku. Účelne sa pracuje pri teplote v rozmedzí 85 až 95 °C. Získaný produkt sa izoluje obvyklým spôsobom.

Je známe, že sa sennozidy po kyslej hydrolyze prevádzajú reakciou s chloridom železitým priamo na reín (viď napríklad DE-A-27 11 493). Pri tom však činí výťažok len asi 10 % a okrem toho je vytvorený reín len ťažko oddeliteľný.

Pri spôsobe podľa predloženého vynálezu sa vykonáva reduktívne štiepenie sennozidov, oxidácia vytvorených antrónových zlúčenín na zodpovedajúce antrachinónové zlúčeniny a odštiepenie glukózového zbytku v polohe 8 antrachinónovej zlúčeniny vždy v oddelenom stupni. V nadväznosti na reduktívne štiepenie sa všetky zlúčeniny, ktoré môžu v ďalšom priebehu viesť k tvorbe aloemodínu alebo jeho derivátom, rozdeľovaním kvapalina - kvapalina kvantitatívne odstránia. K tomu je ešte možné vykonávať oxidáciu pri priaznivých teplotách, takže sa vylúči tvorba nežiadúcich a nedefinovateľných oxidačných produktov. Okrem toho sa môže soľ železa, používaná pri tomto vedení reakcie, prakticky kvantitatívne získavať späť a po opätovnej oxidácii znovu použiť. Oddelenie oxidačného stupňa a hydrolyzného stupňa dovoľuje na základe vyššej rozpustnosti antrónoglukozidov vo vode v porovnaní s vyskytujúcimi sa aglykmi, vykonávať oxidáciu ohľaduplne pri teplote miestnosti a pod 60 °C, čím je už potlačená nevyhnutná tvorba nedefinovateľných produktov.

Acetylácia 1,8-dihydroantrachinónových zlúčenín

Acetylácia získaných 1,8-dihydroxyantrachinónových zlúčenín sa vykonáva obvyklými spôsobmi. Napríklad sa môže acetylovať pomocou acetanhydridu za prítomnosti octanu sodného, ako je opísané napríklad v Arch. Pharm. 241, 607 (1903). Acetylácia sa môže vykonávať tiež pomocou iných, pre odborníkov známych metód, napríklad reakciou acetylchloridom a obdobne.

Týmto spôsobom získaný diacetylreín je v podstate zbavený aloemodínu a jeho derivátov. Obsah týchto nečistôt je pri tom ešte asi 50 ppm (stanovené podľa analytického postupu, opísaného v príkladovej časti). Obsah týchto nečistôt sa môže ďalej znížiť, keď sa získaný diacetylreín prekryštalizuje nasledujúcim

spôsobom.

Diacetylreín sa prevedie na soľ alkalickým kovom tak, že sa spracuje vodnou bázou. Ako takúto vhodnú formu bázy je možno uviesť octan alkalického kovu, výhodne octan draselný. Použije sa výhodne ekvimolárne množstvo bázy a vodný alkohol s 1 až 3 uhlíkovými atómami, napríklad 80 % až 90 % etylalkohol, ako reakčné médium. Soľ diacetylreínu s alkalickým kovom sa nechá za studena vykryštalizovať, vyjme sa do vodného alkoholu s 1 až 3 uhlíkovými atómami a vyzráža sa okyslením pH na asi 3 pridaním kyseliny. Vyzrážaný diacetylreín sa potom pomocou obvyklých spôsobov izoluje a spracúva.

Uvedeným spôsobom získaný produkt obsahuje menej než 20 ppm vyššie uvažovaných nečistôt. Okrem tohto sa produkt vyskytuje vo forme ihlovitých kryštálov, ktoré sú zvlášť vhodné pre galenické prípravky.

Získaný produkt sa môže obvyklými metódami sušiť. Účelne sa nasjkôr vykonáva sušenie za vákuu pri relatívne nízkej teplote, napríklad nie viac ako 40 °C, tak dlho, pokiaľ obsah vody v produkte neklesne na asi 3 % alebo menej. Potom sa môže teplota zvýšiť na 70 až 110 °C.

Predmetom predloženého vynálezu je tiež podľa vynálezu získateľný, v podstate čistý diacetylreín, ako aj farmaceutické prostriedky, ktoré túto zlúčeninu obsahujú. Oblasti použitia, aplikované dávky a vhodného aplikačné formy sú známe napríklad z US-A,244.968, 4,346.103 a 4,950.687, DE-A-27 11 493 ako i Drugs Exptl. Clin. Res. 6 (1) 53 až 64 (1980).

Príklady uskutočnenia vynálezu

Nasledujúce príklady uskutočnenia slúžia k bližšiemu objasneniu predloženého vynálezu.

P r í k l a d 1

Získané zmesi sennozidov, používané ako východiskový materiál:

Do v rade usporiadaných perkolátorov o objeme 250 litrov sa dá 40 kg drogy zo senny (obsah sennozidov asi 1,5 % hmotnostných) a prekryje sa dierovanou oceľovou doskou. Ako rozpúšťadlo pre extrakciu sa použije 70 % metylalkoholu, ktorý sa privádza na drogu v prvom perkolátore. Roztok, vytvorený v prvom perkolátore sa vedie na drogu, nachádzajúcu sa v druhom perkolátore. Pri tom sa ponechá rozpúšťadlo voľne tiecť cez prvý perkolátor.

Pre extrakciu 40 kg drogy zo senny sa použije celkom 160 litrov rozpúšťadla. Po tom, čo sa tento objem 70 % metylalkoholu prevedie cez oba perkolátory a zachytí sa zodpovedajúce množstvo perkolátu, pripojí sa vyprázdňovacia hadica perkolátoru na ďalej zaradenú nádrž a cez perkolátory sa ešte dodatočne vedie 60 litrov 70 % metylakoholu. Potom sa vedie zostávajúce voľné rozpúšťadlo z prvého perkolátoru do hornej časti druhého perkolátoru a zhromažďuje sa dodatočný perkolát, až sa získa celkom 120 litrov. Potom sa vyprázdni prvý perkolátor, naplní sa znovu 40 kg drogy zo senny a dodatočný perkolát sa čerpá na drogu, pričom postačí 120 litrov dodatočného perkolátu k tomu, aby sa droga v perkolátore prekryla. Potom sa upraví teplota roztoku na 30 °C.

Potom sa spojí tento perkolátor s predtým extrahovaným a extrakcia sa vykonáva, ako je vyššie opísané.

Na každých 40 kg drogy sa zhromaždí 160 litrov perkolátu, z ktorého sa metanol potom odstráni vo vákuovej rotačnej odparke, opatrenej stĺpcom s náplňovými telieskami. Získa sa takto asi 30 litrov koncentráту. Tento koncentrát sa extrahuje rovnakým objemom vodou nasýteného 2-butanolu.

Stupeň A:

Redukcia sennozidov na reín-9-antrón-8-glukozidy

1,0 litra extrahovaného koncentrátu sa pomocou 48 % (hmot.) hydroxidu sodného zalkalizuje na hodnotu pH 7,5. Zahreje sa na teplotu 60 °C a za miešania sa behom pol hodiny pridá do roztoku 90 g ditioničnanu sodného v pevnej forme. Po ukončení prídavku sa mieša ešte ďalšiu hodinu. Potom sa za miešania pridá koncentrovaná kyselina sírová až do dosiahnutia hodnoty pH = 2. Zmes sa ochladí v priebehu dvoch hodín na teplotu okolia, vyzrážaná kryštalická zrazenina sa odfiltruje a premyje vodou, obsahujúcou oxid siričitý.

Pokiaľ je potrebné, tak sa surový reín-9-antrón-8-glukozid prezráža. Ešte vlhký filtračný koláč sa rozpustí v zmesi 15 objemových dielov 2-butanolu a 85 objemových dielov vody, ktorá obsahuje 0,5 % hmotnostných pyrosiričitanu sodného tak, aby sa získal prídavkom 48 % (hmot.) roztoku hydroxidu sodného až na pH 7 10 % roztok (hmotnosť/objem). Roztok sa potom okyslí koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou na pH 2,8, alebo nižší a nechá sa stáť po dobu dvoch hodín. Vypadnutá zrazenina sa odfiltruje, premyje sa vodou, obsahujúcou oxid siričitý alebo pyrosiričitan sodný a vysuší sa.

Výťažok : 90 %.

S produktom, získaným uvedeným spôsobom sa znova vykonáva redukcia (dodatočná redukcia) nasledujúcim spôsobom:

3,0 g surového vysušeného reín-9-antrón-8-glukozidu, alebo zodpovedajúceho množstva vlhkého produktu sa rozpustí spoločne s 1,4 g ditioničnanu sodného a s 2,3 ml 5 N hydroxidu sodného v 15 ml vody. Potom sa doplní vodou na 24 ml a roztok sa zahrieva po dobu 20 minút pri teplote 55 °C. Potom sa pridá ďalších 1,5 g ditioničnanu sodného a roztok sa zahrieva po dobu dvadsiatich minút pri teplote 55 °C. Ďalej sa pridá 0,9 ml 5 N hydroxidu sodného a 1,5 g ditioničnanu sodného. Po dvadsať minútovom zahrievaní na teplotu 55 °C sa ešte raz pridá 0,9 ml 5

N hydroxidu sodného. Takto získaný roztok sa zavádza priamo do nasledujúcej extrakcie kvapalina - kvapalina.

Stupeň B :

Oddelovanie aloemodínových komponentov

Oddelovanie aloemodínových komponentov sa vykonáva rozdeľovaním kvapalina - kvapalina 9-antrón-8-glukozidov v proti-prúde za pomoci aparatury zo 60 miešacích-odlučovacích jednotiek (Mixér-Settler-Apparatur). Ako vodná ťažšia fáza sa použije roztok 3,0 g ditioničnanu sodného v 3,5 ml 5 N hydroxidu sodného a 96 ml vody. Ako organická, ľahšia fáza, sa použije (vodou nasýtený) 2-butanol alebo acetón. Obe fázy sa vedú cez aparaturu tak, aby objemový pomer ťažšej fáze k ľahšej fáze bol 1 : 10.

Rozdeľovaná zmes sa privádza do aparatury vo forme čerstvo redukovaného roztoku alebo vo forme roztoku so zodpovedajúcou hodnotou pH a so zodpovedajúcou koncentráciou, obsahujúcou 9-antrón-8-glukozidy, a síce takým spôsobom, že sa pre objemový diel rozdeľovanej zmesi použije 30 objemových dielov organickej fázy.

Hodnota pH roztoku, obsahujúceho zmes, sa udržiava pomocou glycínového pufru na 9 - 9,5. Tento pufr, pozostávajúci s 3 objemových dielov 7,5 % glycínového roztoku a jedného objemového dielu 1 N hydroxidu sodného, sa pridáva v množstve 240 ml roztoku pufru na 150 g surového reín-9-antrón-8-glukozidu. Nežiadúce aloemodínové zlúčeniny sa obohacujú v organickej fáze, zatiaľ čo reín-9-antrón-8-glukozid zostáva vo vodnej fáze. Vodná fáza sa kyselinou sírovou okyslí na hodnotu pH 2,8, vytvorená zrazenina sa odfiltruje a premyje sa vodou a acetónom a na vzduchu sa vysuší pri teplote okolia. Uvedeným spôsobom sa získa reín-9-antrón-8-glukozid s obsahom aloemodínových komponentov 41 ppm, stanovené ako aloemodín podľa metódy, ktorá je uvedená ďalej.

Výťažok : 97 %, vzťahujúci sa na reín-9-antrón-glukozid.

Stupeň C :

Oxidácia na reín-8-glukozid

Produkt zo stupňa B (vzťahujúce sa na obsah 3,0 kg sennozidov A, A₁ a B), sa suspenduje v roztoku zo 184 litrami demineralizovanej vody a 75,5 kg hydrátu síranu železitého (22 % Fe²⁺). Suspenzia sa zahreje na teplotu v rozmedzí 55 až 62 °C a oxiduje sa po dobu 14 hodín za použitia rýchlobežného dispergátoru. Keď je oxidácia ukončená, odfiltruje sa vytvorený reín-8-glukozid a premyje sa 50 litrami demineralizovanej vody, ktorá bola okyselená kyselinou sírovou na pH 2.

Stupeň D :

Hydrolyza na reín

Vlhký zbytok na filtri zo stupňa C sa suspenduje v 200 kg 20 % (hmot.) kyseliny sírovej a mieša sa po dobu 8 hodín pri teplote v rozmedzí 88 až 92 °C. Vytvorený reín sa odfiltruje a pre skladovanie sa môže usušiť za vákua 100 Pa po dobu 48 hodín pri teplote 40 °C, alebo sa môže vo vlhkom stave ined' použiť pre acetyláciu v stupni E.

Celkový výťažok pre stupne A až D činí 79 %, vzťahujúci sa na sennozidy A, A₁ a B, vsadené do stupňa A.

Stupeň E :

Acetylácia na diacetylreín

6,5 kg reínu zo stupňa D sa suspenduje v 100 litroch anhydridu kyseliny octovej po dobu 10 minút, zmieša sa s 2 kg octanu sodného, potom sa za miešania zahreje na teplotu 95 °C a zmieša sa s 0,65 kg aktívneho uhlia, na čo sa zmes mieša po

dobu 30 minút pri teplote v rozmedzí 90 až 95 °C. Aktívne uhlie sa z horúceho roztoku odfiltruje a filtrát sa pri teplote 90 °C zmieša s 2,1 kg 96-98 % (hmot.) kyseliny sírovej. Potom sa za miešania pokiaľ možno rýchlo ochladí na teplotu 20 °C. Vzniknutá suspenzia sa prefiltruje a zostatok na filtri sa premyje demineralizovanou vodou až do neprítomnosti síranových iónov.

Výťažok : 83 %.

Stupeň F :

Kryštalizácia, sušenie, mletie

Za silného miešania sa suspenduje 7,5 kg diacetylreínu zo stupňa E (vzťahujúce sa na suchú látku) v 375 litroch 90 % (obj.) etylalkoholu. Suspenzia sa zahreje na teplotu 70 °C a potom sa zmieša s 3,75 kg octanu draselného. Pri ochladení na teplotu v rozmedzí 0 až 2 °C vykryštalizuje z číreho roztoku, ktorý medzitým vznikol, čistá draselná soľ diacetylreínu.

Draselná soľ sa odfiltruje a za pridania 3 kg octanu draselného sa pri teplote v rozmedzí 20 až 30 °C rozpustí v 300 litroch 40 % (obj.) etylalkoholu. Číry roztok sa okyslí kyselinou sírovou o koncentrácii 10 % hmotnostných na pH 3,0 a vykryštalizovaný diacetylreín sa odfiltruje a premyje sa demineralizovanou vodou až do neprítomnosti síranových iónov.

Sušenie produktu sa vykonáva najprv vo vákuu pri tlaku 100 Pa a pri teplote 40 °C po dobu 24 hodín. Keď sa obsah zbytkovej vody zníži pod 3 % hmotnostné, materiál sa zhruba rozmelní a za vákua 100 Pa sa dosuší po dobu 24 hodín pri teplote 70 °C.

Potom sa materiál rozmelie za použitia sitovej vložky 0,5 mm a pre odstránenie zbytkov rozpúšťadiel sa dosuší za vákua 100 Pa pri teplote 70 °C.

Výťažok : 95 %.

P r í k l a d 2

Opakuje sa extrakcia drogy zo senny a redukcia sennozidov, opísaná v príklade 1. Dodatočná redukcia sa potom vykonáva nasledujúcim spôsobom:

Rozpustí sa 14,0 g sacharózy, 4,5 g ditioničnanu sodného (85%) a 13,3 g octanu sodného v 133 ml vody a k tomuto roztoku sa pridá 1,3 ml 48 % (hmot.) roztoku hydroxidu sodného a 17,3 g uhličitanu draselného. Potom sa zmieša s 293 ml acetónu a 50 ml vody. Reakčná zmes sa trepe v trepacej nálevke, potom sa fáza oddelí a získa sa 375 ml hornej fázy (acetónová fáza) a 130 ml spodnej fázy.

V 98 ml. spodnej fázy sa rozpustí 1,4 ml 48 % (hmot.) roztoku hydroxidu sodného a 10 g surového reín-9-antrón-8-glukozidu. Zmes sa zahreje na teplotu v rozmedzí 45 až 50 °C a ponechá sa pri tejto teplote po dobu 20 až 30 minút. Potom sa pridá 1,0 ml 48 % (hmot.) roztoku hydroxidu sodného a 3,4 g ditioničnanu sodného a zahrieva sa po dobu ďalších 20 až 30 minút na teplotu v rozmedzí 45 až 50 °C. Nakoniec sa znovu pridá 1,0 ml 48 % (hmot.) roztoku hydroxidu sodného a 3,4 g ditioničnanu sodného a znovu sa po dobu 20 až 30 minút zahrieva na teplotu v rozmedzí 45 až 50 °C.

Oddeľovanie aloemodínových komponentov sa vykonáva rozdeľovaním kvapalina - kvapalina redukovaného roztoku v protiprúde proti vyššie uvažovanej hornej fáze (acetónová fáza). Odtekajúca rafinovaná fáza, obsahujúca reín-9-antrón-8-glukozid sa odparí na objem 400 ml a zmieša sa s 20 ml 2-butanolu, na čo sa okyslí prídavkom kyseliny chlór vodíkovej alebo kyseliny sírovej na hodnotu pH 4,0 až 4,2. Vytvorená zrazenina sa odfiltruje, premyje sa 40 ml vody a 30 ml acetónu a potom sa vysuší. Nasledujúca oxidácia prebieha spôsobom, popísaným v príklade 1.

P r í k l a d 3

Koncentrát, získaný po extrakcii drogy zo senny, sa zmieša s asi 2 litrami 2-butanolu. Redukcia zmesi koncentráta z plodov zo senny a 2-butanolu sa potom vykonáva v siedmich stupňoch pod atmosférou dusíku ako ochranného plynu. Po redukčnom stupni I sa vykonáva zrážanie surového reín-9-antrón-8-glukozidu.

Redukčný stupeň I

100 litrov zmesi koncentráta z plodov zo senny a 2-butanolu, obsahujúceho asi 4 kg sennozidov, sa predloží do miešacej nádrže a prekryje sa dusíkovou atmosférou. Za miešania sa po sebe pridá 6 litrov 20 % (hmot.) roztoku hydroxidu sodného a potom 350 litrov vodou nasýteného 2-butanolu (napríklad zo stupňa II) a zmes sa mieša po dobu 15 minút. Vsadenina sa potom zahreje na teplotu v rozmedzí 42 až 50 °C a zmieša sa so 7 kg ditioničnanu sodného, na čo sa reakčná zmes mieša ešte po dobu 45 minút. Hodnota pH sa udržiava pomocou 20 % (hmot.) hydroxidu sodného v rozmedzí 7,5 až 8. Redukčný potenciál (proti Ag/AgCl - elektróde) sa podľa potreby udržiava prídavkom ditioničnanu sodného pod - 630 mV. Po ochladení sa teplotou v rozmedzí 30 až 35 °C sa roztok vyzráža pomocou okyslenia 10 % (hmot.) kyselinou sírovou na pH nižšie než 4 v priebehu 1,5 hodiny. Vzniklá suspenzia sa pri pomalých otáčkach miešadla mieša pri teplote nižšej ako 25 °C po dobu asi 10 hodín. Vzniknutá zrazenina sa odfiltruje. Potom sa zrazenina suspenduje v 60 litroch 15 % (hmot.) 2-butanolu, mieša sa po dobu 30 minút pri teplote v rozpätí 50 až 60 °C a znovu sa prefiltruje. Zbytok sa premyje 100 litrami demineralizovanej vody.

Surový výťažok reín-9-antrón-8-glukozidu, vzťahujúci sa na vsadené sennozidy je vyšší ako 82 %.

Redukčný stupeň II

3,3 kg surového reín-9-antrón-8-glukozidu z redukčného stupňa I sa suspenduje vo zmesi 42 litrov demineralizovanej vody a 7,4 litrov 2-butanolu. Pomocou 2 litrov 20 % (hmot.) hydroxidu sodného a 9,9 kg citrátu trojsodného sa suspenzia prevedie do roztoku a tento sa potom zmieša s 3,3 kg ditioničnanu sodného a 350 litrami vodou nasýteného 2-butanolu (napríklad zo stupňa III). Vsadenina sa vyhreje na teplotu v rozpätí 42 až 45 °C. Hodnota pH sa udržiava pomocou 20 % (hmot.) hydroxidu sodného v rozpätí 8,5 až 9. Redukčný potenciál (proti Ag/AgCl - elektróde) sa podľa potreby udržiava prídavkom ditioničnanu sodného pod - 750 mV.

Po 30 minútovom stáaní sa horná fáza odoberie a spodná fáza sa ďalej spracuje v stupni III.

Redukčný stupeň III

So spodnou fázou zo stupňa II sa za pridania nasledujúcich chemikálií opakuje redukčno-extrakčný postup, opísaný v stupni II:

1,65 kg	ditioničnan sodný
0,8 l	20 % (hmot.) hydroxid sodný
350 l	vodou nasýtený 2-butanol (napríklad zo stupňa IV).

Redukčný stupeň IV - VII

So spodnou fázou zo vždy predchádzajúceho stupňa sa za pridania nasledujúcich chemikálií opakuje redukčno-extrakčný postup, opísaný v stupni II:

0,825 kg	ditioničnan sodný
0,4 l	20 % (hmot.) hydroxid sodný
350 l	vodou nasýtený 2-butanol (napríklad zo vždy nasledujúceho stupňa - princíp protiprúdu).

Spodná fáza, oddelená v stupni VII, sa ochladí na teplotu v rozpätí 30 až 35 °C sa reín-9-antrón-8-glukozid sa vyzráža rovnako, ako je uvedené v stupni I. Vzniknutá zrazenina sa odfiltruje a premyje so 100 litrami demineralizovanej vody. Potom sa prekryje s 10 litrami roztoku síranu železitého (príprava vid' príklad 1, stupeň B).

Reín-9-antrón-8-glukozid sa potom prevedie na sennozid rovnako, ako je opísané v príklade 1 alebo 2.

Farmakologické skúšky

Účinnosť diacetylreínu bola stanovovaná u chronických modelových zápalov po orálnej aplikácii. Do úvahy prichádzali nasledovné modelové pokusy:

Cotton-Pellet-Granulom u potkanov a antróza u králikov, vyvolaná intraartikulárnou aplikáciou vitamínu A.

a/ Granulom u potkanov vyvolaný peletami bavlny (Cotton-Pellet-Granulom).

Mladé, pohlavne dospelé potkany (n = 10) dostali 25, 50 alebo 100 mg diacetylreínu/kg, po prípade 5 mg indometacínu/kg, alebo 100 mg kyseliny acetylsalicylovej/kg denne po dobu 5 dní. Tiež bola pozorovaná jedna kontrolná skupina, ktorej bola podávaná iba voda. Implantácia peliet prebehla v prvom pokusnom dni. Čerstvé hmotnosti a sušiny granulómov, vypreparovaných na konci pokusu ukazujú signifikačné a podstatné zníženie závislosti na dávke v porovnaní s kontrolnou skupinou. Pritom zodpovedá účinok 100 mg diacetylreínu/kg asi 5 mg indometacínu/kg alebo 100 mg kyseliny acetylsalicylovej/kg. Hmotnosť týmusu a nadobličiek sa behom spracovania nezmenili.

b/ Artróza vyvolaná vitamínom A

Pomocou troch intraartikulárnych injekcií 30.000 IE vitamínu A behom 9 dní bolo vyvolané u dvoch skupín vždy po 10 králikoch (novozélandský biely) zmeny kĺbov, zodpovedajúce artróze. O 56 dní neskôr bolo aplikované desiatim zvieratám 3 mg diacetylreínu/kg/deň po dobu 8 týždňov. V porovnaní s kontrolnou skupinou došlo k makroskopicky a mikroskopicky zreteľne viditeľnému zníženiu zmien kĺbov.

Ochranné pôsobenie diacetylreínu bolo ďalej porovnané s pôsobením kyseliny acetylsalicylovej vždy na 7 králikoch, ktorým bolo 6 dní predtým aplikované trikrát 10.000 IE vitamínu A a po 26 dennej fáze im bolo po 8 týždňoch aplikované buď 5 mg diacetylreínu/kg/deň (pokusná skupina), alebo 15 mg kyseliny acetylsalicylovej/kg/deň (pozitívna kontrolná skupina), alebo zostali bez aplikácie (negatívna kontrolná skupina). Po 24 dňoch po poslednej injekcii vitamínu A nastúpili u všetkých troch skupín porovnateľné pohybové poruchy vo forme vlečenia zadných končatín. V negatívnej kontrolnej skupine behom nasledujúcich 8 týždňoch sa zosilnili klinické prejavy artrózy.

V pokusnej skupine a v pozitívnej kontrolnej skupine sa zlepšili tieto symptómy po osemtyždňovej aplikácii signifikantne.

Zmeny na žalúdočnej sliznici

Behom jednorázovej dávky 400 mg diacetylreínu/kg alebo rozpúšťadla potkanom, nedošlo k žiadnym eróziám na žalúdočnej sliznici, zatiaľ čo po dávke ibuprofénu (200 mg/kg) alebo indomethacínu (20 mg/kg) boli nájdené jednoznačné bodkovité erózie (priemer 1 mm) až veľké erózie (priemer 3 mm). Tiež dve aplikácie denne v dávke 100 mg/kg diacetylreínu po dobu troch dní nespôsobili žiadne poškodenie žalúdočnej sliznici, pričom podobné použitie indomethacínu 10 mg/kg vyvolalo erózie o priemere 1 - 3 mm.

Toxikológia

Akútna toxicita LD₅₀ činila vždy podľa skúmaných druhov zvierat (potkany, myši, mačky) pri orálnej aplikácii 1,9 až 7,9 g/kg. Pri tom sa ako najmenej citlivé ukázali myši. Po parenterálnych dávkach (i.v., i.p.) sa pohybovali hodnoty LD₅₀ u týchto zvierat v rozpätí 119 až 339 mg/kg.

Klinické pokusy

1. Na 95 pacientov (49/46) bol testovaný účinok diacetylreínu v dvojslepom pokuse proti naproxénu a následne na podávaní placebo pri coxartróze a gonartróze. Aplikované dávky boli 50 mg diacetylreínu dvakrát denne, eventuálne 750 mg naproxénu jedenkrát denne. Doba sledovania bola 60 dní po sedemdňovej odpočinkovej fáze. Následné podávanie placebo sa tiež vykonávalo po dobu 60 dní.

Hodnotené veličiny boli symptomatiká bolesti a pohyblivosti podľa Score-Scala, obmedzenie funkcií a znášateľnosť.

V obidvoch ošetrovaných skupinách (diacetylreín/naproxén) bol zistený oproti východiskovým hodnotám, so zreteľom na všetky skúšobné parametre, štatisticky významný stupeň zlepšenia ($P < 0,01$, prípadne $P < 0,5$). Po vysadení liečenia a nadviazaní dávok placebo sa však ukázala štatisticky významná prevaha ($P < 0,01$) skupiny diacetylreín/placebo po deväťdesiatom prípadne stodvadsiatom dni so zreteľom na parametre spontánnej bolesti a aktívne a pasívne pohybové bolesti v porovnaní so skupinou naproxén/placebo. Táto rozdielnosť bola pri 5 % hladine významnosti tiež zabezpečená po 30 dňoch po vysadení diacetylreínu pri premenlivých nočných bolestiach a bolestiach tlakových.

2. Pri otvorenej priebežnej štúdií s kontrolou bola skúmaná účinnosť diacetylreínu pri osteoartróze chrbtice a kolena u 70 pacientov (35/35). Aplikovaná dávka bola 100 mg diacetylreínu za

deň. Doba ošetrovania činila 60 dní. Doba pozorovania 75 dní. Hodnotené veličiny boli obmedzenie bolesti a obmedzenie pohybu. Veličiny boli zisťované podľa systému Score.

Kontrolná skupina zahŕňala 35 pacientov, u ktorých sa uskutočňovali fyzioterapeutické opatrenia. V skupine s diacetylreínom bola tiež vykonávaná fyzioterapia.

Vyhodnotenie výsledkov ukazovalo pri zahrnutí všetkých parametrov štatisticky signifikantnú prevahu skupiny liečenej, oproti skupine kontrolnej. Tiež po vysadení liečby mohol byť v skupine s diacetylreínom zistený pretrvávajúci terapeutický efekt ("hang-over-Effekt").

3. V jednoduchom slepom krížovom pokuse oproti naproxénu bol u dvadsiatich pacientov skúmaný účinok diacetylreínu pri lokalizovanej artróze. Pacienti boli rozdelení do dvoch skupín, pričom v prvej skupine bolo aplikované najprv dvakrát 50 mg diacetylreínu po dobu 20 dní. Potom nasledovali tri dni odpočinku (wash-out-phase) a potom ďalšie ošetrenie dvakrát denne 250 mg naproxénu po dobu 20 dní. V druhej skupine bol zachovaný rovnaký postup, ale obrátene. Doba ošetrovania trvala celkom 43 dní. Hodnotené veličiny - bolesť, tlaková bolesť, pasívna pohybová bolesť, obmedzenie funkcie a opuchy - boli vyhodnocované pomocou systému Score.

Vyhodnotenie výsledkov ukázalo prevahu liečenia diacetylreínom v porovnaní s liečbou naproxénom. Neboli pozorované žiadne vedľajšie účinky, ktoré by stáli za zmienku, a tiež žiadne zmeny klinických laboratórnych parametrov.

4. V ďalšom dvojslepom pokuse technikou "double-dummy" proti naproxénu bol skúmaný účinok diacetylreínu u 23 pacientov (12/11) a osteoartrózou (štúdia znášanlivosti). Aplikované dávky boli dvakrát 50 mg diacetylreínu denne a trikrát 250 mg naproxénu denne. Dĺžka pozorovania bola štyri týždne. Hodnotené veličiny boli zvýšené nálezmi pri özophagogastroduodenoskopii pred a po

terapii. Do štúdie boli vzatí len tí pacienti, ktorí mali na sliznici normálny nález, alebo len s ľahkým nálezom lézie (stupeň 1).

Po štyroch týždňoch ukázal endoskopický nález v jednom prípade (10 %) v skupine s diacetylreínom léziou na sliznici stupňa 2, zatiaľ čo v skupine s aplikovaným naproxénom vykázal 5 pacientov (50 %) s léziami na sliznici stupňa 2.3 a 4. Vo všetkých prípadoch bol predložený normálny prijímací nález.

Analytické stanovenie aloemodínu

Rozpustí sa 50 mg diacetylreínu vo 25,3 ml 0,5 M hydroxidu sodného a v deliacej nálevke sa trepe po dobu 10 minút. Potom sa pridá 74,6 ml roztoku, obsahujúceho 0,5 M glycín a 0,5 M chlorid sodný. Pri tom sa dosiahne hodnota pH 9,5.

Tento roztok sa extrahuje trikrát vždy 25 ml chloroformu. Spojené organické fázy sa extrahujú raz 10 ml 0,5 M pufru o pH 9,5 (glycín, hydroxid sodný, chlorid sodný) a raz 10 ml 0,01 M kyselinou sírovou. Rozpúšťadlo sa z organickej fázy odstráni a získaný zbytok sa rozpustí v 1 ml metylalkohole.

Pre štandardný roztok sa rozpustí 2 mg aloemodínu v 20 ml N,N-dimetylacetamídu a zriedi sa s metylalkohol až na koncentráciu 2 µg/ml (zodpovedajúce 40 ppm).

Obsah roztokov sa stanovuje pomocou HPLC. Linearita metódy HPLC bola preukázaná pomocou štandardného roztoku aloemodínu v rozpätí 0,11 µg/ml (zodpovedajúce 2,2 ppm) až 53,6 µg/ml (zodpovedajúce 1072 ppm). Stanovenie obsahu sa vykonáva pomocou Merck HPLC-stĺpca Lichrocart 250-4, baleného s Li-Chrospher-100 RP-18, 5µm, pri teplote 40 °C a s mobilnou fázou s 1 % kyseliny octovej v metylalkohole (V/V), 1 % kyseliny octovej vo vode (V/V) a acetonitrilu v pomere 49 : 46 : 5.

Analytické stanovenie produktu stupňa B a síce reín-9-antrón-8-glukozidu s obsahom aloeemodínových komponentov 41 ppm, stanovené ako aloeemodín.

Skúmaná látka sa oxidáciou chloridom železitým za súčasnej hydrolýzy pomocou kyseliny chlór vodíkovej prevedie na dvojfázovú zmes z vodného roztoku a tetrachlórmetánu na reín a aloeemodín. Reín sa prevedie na soľ, takže sa môže pomocou rozdeľovania kvapalina - kvapalina oddeliť od aloeemodínu. Aloeemodín, prítomný v organickej fáze, sa stanovuje pomocou HPLC.

24 00 82.53.25 82010

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Spôsob výroby diacetylreínu v podstate zbaveného aloemodínových komponentov, **vyznačujúci sa tým, že sa**

A/ reín-9-antrón-8-glukozid, obsahujúci aloemodínové komponenty podrobí rozdeleniu kvapalina - kvapalina medzi organické polárne rozpúšťadlo, iba čiastočne miešateľné s vodou a vodnou fázou,

B/ reín-9-antrón-8-glukozid, obsiahnutý po rozdelení vo vodnej fáze sa oxiduje na reín-8-glukozid,

C/ glukózový zbytok v polohe 8 reín-8-glukozidu sa v kyslom médiu odštiepi a

D/ získaný reín sa acetyluje a získa sa diacetylreín.

2. Spôsob výroby diacetylreínu v podstate zbaveného aloemodínových komponentov, **vyznačujúci sa tým, že sa**

A/ zmes sennozidov podrobí redukcii na zodpovedajúci reín-9-antrón-8-glukozid a aloemodín-9-antrón-8-glukozidové zlúčeniny,

B/ vykoná sa rozdeľovanie kvapalina - kvapalina získaných zlúčenín medzi polárne organické rozpúšťadlo, iba čiastočne miešateľné s vodou a vodnou fázou,

C/ reín-9-antrón-8-glukozidové zlúčeniny, obsiahnuté po rozdelení vo vodnej fáze, sa oxidujú na zodpovedajúce antrachinónové zlúčeniny,

D/ glukózový zbytk v polohe 8 antrachinónovej zlúčeniny sa v kyslom prostredí odštiepi a

E/ získaná 1,8-dihydroxiantrachinónová zlúčenina sa acetyluje a získa sa diacetylreín.

3. Spôsob podľa nároku 2, **vyznačujúci sa tým**, že sa v stupni A použije ako redukčné činidlo ditioničnan alkalického kovu.

4. Spôsob podľa nároku 3, **vyznačujúci sa tým**, že sa pracuje pri hodnote pH v rozpätí 7 až 9.

5. Spôsob podľa jedného z nárokov 2 až 4, **vyznačujúci sa tým**, že sa redukcia vykonáva niekoľkokrát.

6. Spôsobom podľa niektorého z predchádzajúcich nárokov, **vyznačujúci sa tým**, že sa pre rozdeľovanie kvapalina - kvapalina použije acetón alebo 2-butanol.

7. Spôsob podľa niektorého z predchádzajúcich nárokov, **vyznačujúci sa tým**, že sa pre rozdeľovanie kvapalina - kvapalina použije vodná fáza, ktorej redox potenciál je - 210 mV alebo negatívnejší.

8. Spôsob podľa niektorého z predchádzajúcich nárokov, **vyznačujúci sa tým**, že sa rozdeľovanie kvapalina - kvapalina vykonáva v protiprúde.

9. Spôsob podľa niektorého z predchádzajúcich nárokov, **vyznačujúci sa tým**, že sa ako oxidačné činidlo použije železitá soľ, výhodne síran železitý.

10. Spôsob podľa nároku 2, **vyznačujúci sa tým**, že zmes sennozidov je získateľná extrakciou drogy zo senny vodným metylalkoholom, výhodne za prítomnosti pufru.

11. Spôsob podľa niektorého z predchádzajúcich nárokov, **vyznačujúci sa tým**, že sa získaný diacetylreín prevedie na soľ s alkalickým kovom, táto sa vyjme do vodného alkoholu s 1 až 3 uhlíkovými atómami a diacetylreín sa opäť vyzráža prídavkom kyseliny.

12. Diacetylreín v podstate zbavený aloemodínových derivátov.

13. Farmaceutický prostriedok, obsahujúci diacetylreín podľa nároku 12, popřípade s obvyklými farmaceutickými nosičmi a pomocnými látkami.