ČESKÁ REPUBLIKA

(19)

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU (12)

(22) 24.06.93

(32) 25.06.91

(31) 91/4120991

(33) DE

(40) 11.12.96

(21) 370-93

(13) A3

6(51)

C 07 H 15/244

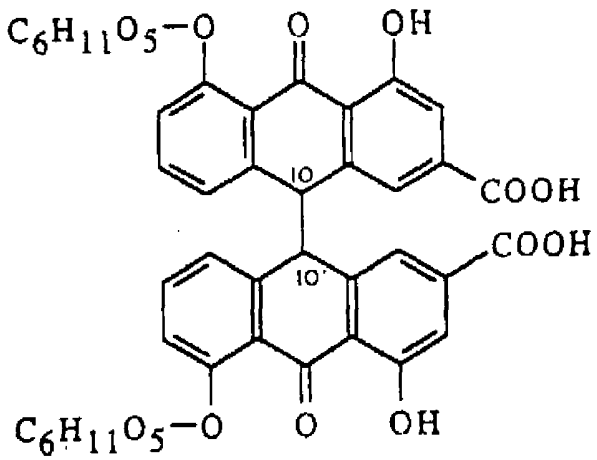
A 61 K 35/78

(71) MADAUS AG, Köln, DE;

(72) Carcasona Alfons, Köln, DE;
Grimminger Wolf, Bergisch-Gladbach, DE;
Hietala Pentti, Helsinki, FI;
Zaeske Helga, Overath, DE;
Witthohn Klaus, Overath, DE;

(54) Způsob výroby sennosidů A, B a A1 a farmaceutický prostředek na jejich bázi

(57) Řešení se týká způsobu získávání sennosidů A, B a A1 vzorce I, které v podstatě neobsahují sennosidy C, D a D1 a aloeemodinové komponenty, při kterém se směs sennosidů podrobí redukci na rhein.9-anthron-8-glukosid a aloeemodinin-9-anthron-8-glukosid, provede se rozdělování kapalina-kapalina získaných sloučenin mezi polární organické rozpouštědlo, pouze omezeně mísitelné s vodou a vodnou fází, a rhein-9-athron-8-glukosid, obsažený ve vodné fázi, se opět oxiduje na odpovídající sennosidy a tyto se získávají.



Způsob výroby sennosidů A , B a A1

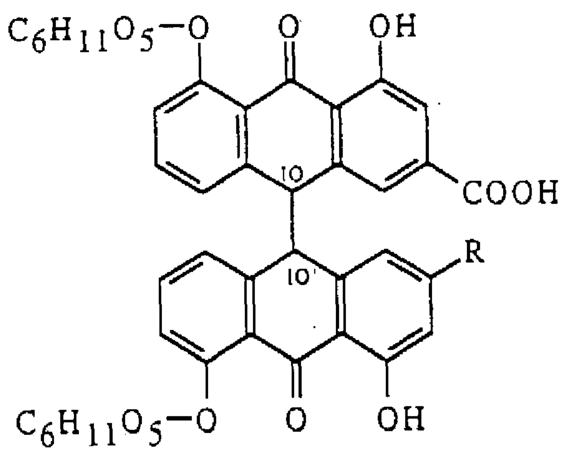
Oblast techniky

Vynález se týká způsobu získávání sennosidů A , B a A1 , které jsou v podstatě prosté sennosidů C , D a D1 a aloeemodinových komponent, jakož i sennosidů, získatelných uvedeným způsobem a farmaceutických prostředků, tyto sennosidy obsahujících.

Dosavadní stav techniky

Sennosidy jsou laxativně působící substance, které se vyskytují v sušených drogách z rostlin rodů Cassia a Rheum. Droga ze senny sestává z usušených listů a lusků rostlin senny, například indické senny (Cassia acutifolia) .

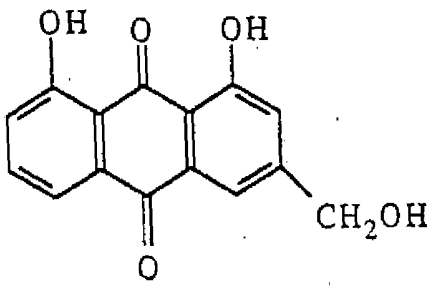
Laxativně aktivní sennosidy jsou dianthronové glukosidy, odvozené od rheinu a aloeemodinu. Nejdůležitější jsou sennosidy A , B , A1 , C , D a D1 . Odpovídají následujícímu vzorci.



U sennosidů A , B a A1 značí substituent R karboxylovou skupinu a u sennosidů C , D a D1 značí substituent R hydroxymethylovou skupinu. Sennosidy A , B a A1 , popřípadě C , D a D1, jsou stereoisomery a liší se navzájem konfigurací na uhlíkových atomech 10 a 10' .

Surová droga obsahuje vedle sennosidů také aglykony (sennidiny) , pologlykosidované sennidiny, polymery, produkty odbourávání sennosidů, aloeemodin a jeho deriváty a podobně, které mohou vyvolávat nežádoucí vedlejší účinky, jako jsou například nevolnosti, zvracení, nadýmání a koliky.

Způsoby získávání sennosidů z drogy ze senny jsou například popsány v DE-B-16 17 667 , FR-M-6611 , GB-A-832017 a DE-A-3 200 131 . Sennosidy, získané podle těchto známých způsobů, obsahují vždy podle použité drogy směs sennosidů s 1,5 až 5 % hmotnostními sennosidů C , D a D1 . Jak již bylo výše řečeno, obsahují tyto ve své molekule podíl, odvozený od aloeemodinu, vzorce



Bylo by vhodné, kdyby bylo možno získat sennosidy, které by v podstatě neobsahovaly sennosidy C , D a D1 .

Prakticky úplné oddělení sennosidů C , D a D1 ze

směsi sennosidů není podle dosavadního stavu techniky známé.

Podstata vynálezu

Úkolem předloženého vynálezu tedy je vypracování způsobu získávání sennosidů A , B a B1 , které by byly v podstatě prosté nežádoucích doprovodných látek, obzvláště sennosidů C , D a D1 .

Uvedený úkol byl vyřešen vypracováním způsobu podle předloženého vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že se

A) směs sennosidů podrobí redukci na rhein-9-anthron-8--glukosid ,

B) provede se rozdělování kapalina-kapalina získaných sloučenin mezi polární organické rozpouštědlo, pouze omezeně mísitelné s vodou, a vodnou fázi, a

C) rhein-9-anthron-8-glukosid, obsažený ve vodné fázi, se oxiduje na sennosidy A , B a B1 a tyto se získávají.

Stupeň A :

Jako výchozí materiál pro způsob podle předloženého vynálezu se všeobecně používají směsi sennosidů, které vznikají při extrakci drogy ze senny výše uvažovanými postupy. Například je jako výchozí materiál použitelná sennosidová směs, která se získá podle způsobu, popsaného v DE-A-32 00 131 . Podle tohoto způsobu se nejprve droga ze senny extrahuje vodným methylalkoholem. Koncentrát,

získaný po úplném odstranění methylalkoholu, obsahuje sennosidy ve formě draselných solí. Tento koncentrát se může použít jako výchozí materiál pro způsob podle předloženého vynálezu.

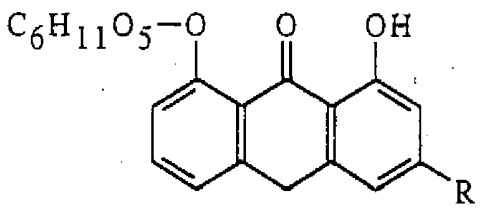
Koncentrát se může ještě čistit extrakcí kapalina-kapalina s alkoholy nebo ketony, částečně rozpustnými ve vodě (například 2-butanol , 2-butanon, aceton)(rafinát). Takto získaný rafinát se okyselí na hodnotu pH 1,5 až 2,0 a sennosidy se přivedou ke krystalizaci za zaočkování. Získaná směs surových sennosidů je rovněž použitelná jako výchozí produkt pro způsob podle předloženého vynálezu. Pokud je zapotřebí, může se směs surových sennosidů také ještě překrystalizovat.

Alternativně se může jako výchozí produkt použít koncentrát, smísený s ve vodě částečně rozpustným alkoholem nebo ketonem, obzvláště s 2-butanolem.

Při extrakci drogy ze senny činí poměr drogy k extrakčnímu rozpouštědlu výhodně 1 : 4 až 1 : 15 , obzvláště 1 : 4 až 1 : 10 .

Extrakce se výhodně provádí za přítomnosti pufru, jako je například trinatriumcitrát, glycin, hydrogenuhličitan sodný nebo sacharóza.

Podle způsobu podle předloženého vynálezu se tyto výchozí materiály podrobí úplné redukci na odpovídající rhein-9-anthron-8-glukosid (R = COOH) a odpovídající aloe-emodin-9-anthron-8-glukosid (R = CH_2OH) vzorce



Jako redukční činidla s vhodným redukčním potenciálem je možno uvést například chlorid cínatý, oxid siřičitý, borovodíky alkalických kovů a výhodně dithioničnany alkalických kovů, obzvláště dithioničnan sodný (natriumdithionit).

Pro provádění redukce se může výchozí materiál předložit ve vodném roztoku nebo suspenzi a přidá se redukční činidlo v pevné formě nebo rozpuštěné ve vodě. Může se také, obzvláště při použití primárního extraktu ze senneosových lusků podle DE-A-32 00 31 (= vodný koncentrát), pracovat ve dvoufázové směsi tak, že se přidá polární organické rozpouštědlo, částečně mísitelné s vodou, obzvláště 2-butanol nebo aceton.

Redukovat se může při teplotě okolí nebo při zvýšené teplotě. Redukce se výhodně provádí při teplotě v rozmezí 40 až 60 °C, obzvláště 50 až 55 °C. Pracuje se při slabě kyselém až slabě alkalickém pH roztoku výchozích sennosidů, popřípadě jejich suspenze, výhodně při hodnotě pH v rozmezí 5 až 10,5. Pokud je potřeba, může se redukce provádět vícekrát, obzvláště dvakrát až desetkrát.

Vytvořené 9-anthron-8-glukosidy se vysráží přídavkem

kyseliny, například kyseliny sírové, až asi na pH 2 až 4,5 . Teplota by při tom neměla být vyšší než asi 40 °C. Účelně se pracuje při srážení anthronglukosidů a při jejich izolaci (například filtrací) pod ochrannou dusíkovou atmosférou, aby se vyloučila nekontrolovaná oxidace těchto sloučenin.

Je důležité, aby redukce proběhla úplně. Účelně se proto používá redukční činidlo ve vysokém přebytku. Při použití dithioničnanu sodného se obvykle používá jednonásobné až čtyřnásobné množství dithioničnanu, vztaženo na obsah sennosidů ve výchozím materiálu. Kromě toho se nechá redukční činidlo působit alespoň po dobu dvou hodin, výhodně alespoň tří hodin. Obvykle neprobíhá redukce déle než deset hodin. Výhodně se provádí dodatečná redukce za uvedených podmínek.

Získaný produkt se před svým zavedením do následujícího stupně B výhodně přesráží tak, že se vodný roztok přídavkem báze (hydroxid sodný, hydroxid draselný) přivede na asi hodnotu pH 6 až 7 , vodný roztok se extrahuje 2-butanolem, acetonem nebo 2-butanonem a produkt se okyselením na hodnotu pH asi 2 až 4 přídavkem kyseliny opět vysráží.

Stupeň B :

V tomto stupni se odstraní aloeemodinové komponenty, obzvláště aloeemodin-9-anthron-8-glukosid. K tomu se provede rozdělování kapalina-kapalina u získaného produktu v polárním organickém rozpouštědle, pouze omezeně mísitelném s vodou, proti vodné fázi. Vhodná polární organická rozpouštědla jsou alkanoly se 4 až 5 uhlíkovými atomy

a dialkylketony s 1 až 3 uhlíkovými atomy v alkylových částech, jako je například aceton, 1-butanol , 2-butanol a 2-butanon. Výhodně se používá 2-butanol a aceton.

Výhodně se k vodné fázi přidá redukční činidlo, aby vodná fáze měla během celého rozdělování kapalina-kapalina redox-potenciál -210 mV nebo negativnější. Účelně se používá stejné redukční činidlo, které se používalo ve stupni A . Při použití dithioničnanů alkalických kovů jako redukčních činidel je všeobecně dostatečný roztok o koncentraci 2 až 4 % hmotnostní, při hodnotě pH v rozmezí 7 až 10,5 , aby se udržely uvažované potenciálové podmínky. Hodnota pH se účelně udržuje přídavkem pufru v uvedeném rozmezí.

Objemové poměry vodné fáze (těžká fáze) ku organické fázi (lehká fáze) jsou všeobecně v rozmezí 1 : 5 až 1 : 40 .

Výhodně se provádí extrakce kapalina-kapalina v protiproudu. Směs anthronových sloučenin se při tom přivádí ve formě roztoku, získaného po redukci, nebo, když byly anthronové sloučeniny izolované, přivádějí se ve formě roztoku o koncentraci 3 až 15 % hmotnostních.

Po rozdělení se nachází požadovaný rhein-9-anthron-8-glukosid ve vodné fázi. Vysráží se okyselením roztoku na pH asi 2 až 4 přídavkem kyseliny a získá se běžnými metodami.

Stupeň C :

V tomto stupni se rhein-anthron-8-glukosid opět

oxiduje na odpovídající sennosidové sloučeniny. Jako vhodná oxidační činidla je zde možno uvést peroxid vodíku, oxid manganičitý, manganistan a acetonylacetonát manganitý.

Výhodně se však oxidace provádí pomocí kyslíku. Jako zdroj kyslíku může sloužit například vzduch.

Vzhledem k tomu, že je rhein-9-anthron-8-glukosid ve vodě nerozpustný, převádí se pro oxidaci do rozpustné formy. Toto se provádí například tak, že se přídavkem vhodné báze až na hodnotu pH asi 6 - 7 převede na sůl s alkalickým kovem nebo s vápníkem. Podle potřeby se může do roztoku přidat nepatrné množství (až asi 30 % objemových) s vodou částečně mísitelného rozpouštědla, jako je obzvláště 2-butanol.

Oxidace se provádí v pokud možno koncentrovaném roztoku, neboť tímto způsobem je preferovaná tvorba požadovaných sennosidů. Účelně se oxidace provádí s roztokem, který obsahuje asi 250 až 300 g rhein-9-anthron-8-glukosidu na jeden litr rozpouštědla. Při použití kyslíku jako oxidačního činidla se tento účelně vede skrz roztok.

Oxidace kyslíkem se může ulehčit použitím katalyzátoru. Jako vhodné katalyzátory je možno uvést například palladium nebo soli trojmocného železa, obzvláště chlorid železitý. Množství katalyzátoru se obvykle pohybuje v rozmezí 0,2 až 2 % hmotnostní, vztaženo na množství rhein-9-anthron-8-glukosidu, a výhodně v rozmezí 0,5 až 1 % hmotnostní.

Alternativně se může oxidace provádět pomocí železitých solí, jako je například síran železitý nebo chlorid

železitý, při pH v rozmezí 8 - 8,5 . Výhodně se při tom pracuje při teplotě 30 až 50 °C a za přítomnosti citrátu trojsodného.

Oxidace se provádí tak dlouho, dokud již není dokazatelný žádný rhein-9-anthron-8-glukosid (nevyskytuje se UV-fluorescence anthronových sloučenin) .

Sennosidy se získávají běžným způsobem okyselením získaného roztoku. Účelně se zředí roztok před přídavkem kyseliny v úvahu přicházejícím rozpouštědlem (například voda/2-butanol) na dvojnásobek až trojnásobek stávajícího objemu. Tímto způsobem se dosáhne toho, že rhein-8-glukosid, vytvořený jako vedlejší produkt, zůstává při vysrážení sennosidů prakticky úplně v roztoku.

Oddělení rhein-8-glukosidu se může také provádět přes vápenaté soli, neboť vápenatá sůl rhein-8-glukosidu je nerozpustná a vysráží se, zatímco vápenatá sůl sennosidů zůstává v roztoku.

Sennosidy se okyselením přídavkem kyseliny na hodnotu pH asi 2 až 4 vysráží a potom se získají obvyklým způsobem.

U získaných sennosidů se jedná v podstatě o sennosidy A , B a A1 . Jsou v podstatě prosté sennosidů C , D a D1 a ostatních aloeemodinových sloučenin. Obsah sennosidů C , D a D1 v produktu, získatelném způsobem podle předloženého vynálezu, je nižší než 100 ppm (stanoveno pomocí analytické metody, uvedené v příkladové části.

Vynález se také týká směsi sennosidů A , B a A1 , zís-

katelné způsobem podle vynálezu, jakož i farmaceutických prostředků, které uvedenou směs obsahují.

Oblast použití, aplikovaná množství a vhodné aplikační formy jsou známé z již výše uvažované publikace.

Příklady provedení vynálezu

Následující příklady provedení slouží k bližšímu objasnění předloženého vynálezu.

P ř í k l a d 1

Získávání směsi sennosidů, použité jako výchozí materiál

Do dvou v řadě uspořádaných perkolátorů o objemu 250 litrů se dá 40 kg drogy ze senny (obsah sennosidů asi 1,5 % hmotnostních) a překryje se děrovanou ocelovou deskou. Jako rozpouštědlo pro extrakci se použije 70% methylalkohol, který se přivádí na drogu v prvním perkolátoru. Roztok, vytvořený v prvním perkolátoru, se vede na drogu, nacházející se ve druhém perkolátoru. Při tom se ponechá rozpouštědlo volně téci přes první perkolátor.

Pro extrakci 40 kg drogy ze senny se použije celkem 160 litrů rozpouštědla. Potom co se tento objem 70% methylalkoholu převede přes oba perkolátory a zachytí se odpovídající množství perkolátu, připojí se vyprazdňovací hadice perkolátoru na dále zařazenou nádrž a přes perkolátory se ještě dodatečně vede 60 litrů 70% methylalkoholu. Potom se vede zbylé volné rozpouštědlo z prvního perkolátoru do horní části druhého perkolátoru a shromažďuje

se dodatečný perkolát, až se získá celkem 120 litrů. Potom se vyprázdní první perkolátor, naplní se znovu 40 kg drogy ze senny a dodatečný perkolát se čerpá na drogu, přičemž postačí 120 litrů dodatečného perkolátu k tomu, aby se droga v perkolátoru překryla. Potom se upraví teplota roztoku na 30 °C , načež se nechá stát přes noc.

Potom se spojí tento perkolátor s dříve extrahovaným a extrakce se provádí, jak je výše popsáno.

Na každých 40 kg drogy se ~~se~~ shromáždí 160 litrů perkolátu, ze kterého se methanol potom odstraní ve vakuové rotační odparce, opatřené sloupcem s nápňovými tělísky. Získá se takto asi 30 litrů koncentrátu.

Tento koncentrát se extrahuje stejným objemem vodou nasyceného 2-butanolu. Fáze se rozdělí a vodná fáze se dále zpracovává.

Stupeň A :
Redukce sennosidů na rhein-9-anthron-8-glukosidy

1,0 litr extrahovaného koncentrátu se pomocí 48% (hmot.) hydroxidu sodného zalkalizuje na hodnou pH 7,5 . Zahřeje se na teplotu 60 °C a za míchání se během půl hodiny přidá do roztoku 90 g dithioničnanu sodného v pevné formě. Po ukončení přídavku se míchá ještě další hodinu. Potom se za míchání přidá koncentrovaná kyselina sírová až do dosažení hodnoty pH = 2 . Směs se ochladí v průběhu 2 hodin na teplotu okolí, vysrážená krystalická sraženina se odfiltruje a promyje se vodou, obsahující oxid siřičitý.

Pokud je třeba, tak se surový rhein-9-anthron-8-glukosid přesráží. Ještě vlhký filtrační koláč se rozpustí ve směsi 15 objemových dílů 2-butanolu a 85 objemových dílů vody, která obsahuje 0,5 % hmotnostních pyrosiřičitanu sodného, tak, aby se získal přídavkem 48% (hmot.) roztoku hydroxidu sodného až na pH 7 10% roztok (hmotnost/objem). Roztok se potom okyselí koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou na pH 2,8 nebo nižší a nechá se stát po dobu 2 hodin. Vypadlá sraženina se odfiltruje, promyje se vodou, obsahující oxid siřičitý nebo pyrosiřičitan sodný a vysuší se.

Výtěžek: 90 %.

S produktem, získaným uvedeným způsobem, se znovu provádí redukce (dodatečná redukce) následujícím způsobem :

3,0 g surového vysušeného rhein-9-anthron-8-glukosidu nebo odpovídající množství vlhkého produktu se rozpustí společně s 1,4 g dithioničnanu sodného a 2,3 ml 5 N hydroxidu sodného v 15 ml vody. Potom se doplní vodou na 24 ml a roztok se zahřívá po dobu 20 minut při teplotě 55 °C . Potom se přidá dalších 1,5 g ditioničnanu sodného a roztok se zahřívá po dobu 20 minut při teplotě 55 °C . Dále se přidá 0,9 ml 5 N hydroxidu sodného a 1,5 g dithioničnanu sodného. Po dvacetiminutovém zahřívání na teplotu 55 °C se ještě jednou přidá 0,9 ml 5 N hydroxidu sodného. Takto získaný roztok se zavádí přímo do následující extrakce kapalina-kapalina.

Stupeň B :

Oddělování aloeemodinových komponent

Oddělování aloeemodinových komponent se provádí rozdělováním kapalina-kapalina 9-anthron-8-glukosidů v protiproudu za pomoci aparatury ze 60 míchacích-odlučovacích jednotek (Mixer-Settler-Apparatur) . Jako vodná těžší fáze se použije roztok 3,0 g dithionečnanu sodného ve 3,5 ml 5 N hydroxidu sodného a 96 ml vody. Jako organická, lehčí fáze, se použije (vodou nasycený) 2-butanol nebo aceton. Obě fáze se vedou přes aparaturu tak, aby objemový poměr těžší fáze ku lehčí fázi byl 1 : 10 .

Rozdělovaná směs se přivádí do aparatury ve formě čerstvě redukovaného roztoku nebo ve formě roztoku o odpovídající hodnotě pH a o odpovídající koncentraci, obsahujícího 9-anthron-8-glukosidy, a sice takovým způsobem, že se pro objemový díl rozdělované směsi použije 30 objemových dílů organické fáze.

Hodnota pH roztoku, obsahujícího směs, se udržuje pomocí glycinového pufru na 9 - 9,5 . Tento pufr, sestávající ze 3 objemových dílů 7,5% glycinového roztoku a jednoho objemového dílu 1 N hydroxidu sodného, se přidává v množství 240 ml roztoku pufru na 150 g surového rhein-9-anthron-8-glukosidu. Nežádoucí aloeemodinové sloučeniny se obohacují v organické fázi, zatímco rhein-9-anthron-8-glukosid zůstává ve vodné fázi. Vodná fáze se kyselinou sírovou okyselí na hodnotu pH 2,8 , vytvořená sraženina se odfiltruje a promyje se vodou a acetonem a na vzduchu se vysuší při teplotě okolí. Uvedeným způsobem se získá rhein-9-anthron-8-glukosid s obsahem aloeemodinových komponent 49 ppm (stanoveno jako aloeemodin).

Výtěžek : 97 % , vztaženo na rhein-9-anthron-glukosid.

Stupeň C :
Oxidace rhein-9-anthron-8-glukosidu

18,8 g získaného rhein-9-anthron-8-glukosidu se rozpustí v 56 ml vody a 11 ml 2-butanolu, přičemž se přidá 17 N hydroxid sodný až do dosažení hodnoty pH 6,5 . Tímto roztokem se ve válcovité nádobě probublává za pomoci skleněné frity vzduch po dobu 5 hodin a za míchání. Rychlost proudění vzduchu činí 40 ml/min . Průběh oxidace se sleduje pomocí HPLC .

Když již není dokazatelný žádný rhein-9-anthron-8-glukosid, zředí se roztok na asi 200 ml směsí vody a butylalkoholu 56/11 . Potom se přidá koncentrovaná kyselina chlorovodíková až do dosažení hodnoty pH 1,5 až 2,0 a reakční směs se míchá po dobu 2 hodin při teplotě místnosti. Vyloučené krystaly se odfiltrují, promyjí se vodou a acetonem a usuší se. Získá se takto 14,4 g (76 %) čisté směsi sennosidů s obsahem 41 ppm aloeemidinových komponent (stanoveno jako aloeemodin) podle analytického postupu, popsaného v příkladě 2 , stupeň C .

P ř í k l a d 2

Opakuje se extrakce drogy ze senny a redukce sennosidů, popsaná v příkladě 1 , avšak oxidace ve stupni C se provádí následujícím způsobem :

150 g čistých rhein-9-anthron-8-glukosidů a 75 g hexahydrátu chloridu železitého se rozpustí ve 480 ml vody

a 120 ml 2-butanolu. Potom se přidá 48% (hmot.) roztok hydroxidu sodného až do dosažení hodnoty pH 6,5 a rhein-9--anthron-8-glukosid je rozpuštěný. Roztok se dá do nádoby se dnem ze sintrované desky, načež se skrz roztok vede živý proud vzduchu. Oxidace je ukončena po asi 30 minutách. Potom se roztok zředí směsí ze 120 ml 2-butanolu a 480 ml vody, přidá se 7,5 g dithioničnanu sodného a hodnota pH roztoku se nastaví přídavkem koncentrované kyseliny chlorovodíkové na 2,0 . Roztok se potom míchá po dobu 18 hodin, vytvořená sraženina se odfiltruje, promyje se 800 ml acetonu a usuší se. Obsah anthranoidových sloučenin v produktu je v rozmezí 94 až 95 % .

Produkt se vyjme do 200 ml 2-butanolu a vysráží se pomocí 800 ml vody za přídavku 5,5 g pyrosiřičitanu sodného. Po odfiltrování a usušení vypadlé sraženiny se získá 95,4 g produktu z anthranoidových sloučenin o následujícím složení (podle HPLC, analýza typického pokusu) :

Rhein-8-glukosid	1,5 % hmotnostních
sennosid B	49,7 % hmotnostních
sennosid A1	13,3 % hmotnostních
sennosid A	33,6 % hmotnostních
sennidin monoglukosidy	0,1 % hmotnostních
rhein	0,02 % hmotnostních
	99,22 % hmotnostních

Sennosidy C a D a aloeemodinglukosid nebylo možno pomocí HPLC dokázat. Celkový obsah aloeemodinu a jeho derivátů byl stanoven na 30 ppm pomocí následující metody :

Sennosidy C a D a aloeemodin-8-glukosid se nedají v ppm-oblasti již pomocí HPLC-chromatografie jako sennosidy spolehlivě stanovit. Je tedy potřebné zkoumanou látku převést oxidací pomocí chloridu železitého za současné hydrolýzy kyselinou chlorovodíkovou ve dvoufázové směsi z vodného roztoku a tetrachlormethanu na rhein, popřípadě aloeemodin. Rhein se potom převede na sůl, takže se může extrahovat do vodné fáze a aloeemodin se může v organické fázi stanovit pomocí HPLC . Tímto způsobem se může udávat celkový obsah sennosidů C a D a aloeemodin-8-glukosidů a ostatních aloeemodinových komponent, vyjádřeno jako aloeemodin.

P ř í k l a d 3

Opakuje se extrakce drogy ze senny a redukce sennosidů, popsaná v příkladě 1 . Dodatečná redukce se potom provádí následujícím způsobem :

Rozpustí se 14,0 g sacharózy, 4,5 g dithioničnanu sodného (85%) a 13,3 g octanu sodného ve 133 ml vody a k tomuto roztoku se přidá 1,3 ml 48% (hmot.) roztoku hydroxidu sodného a 17,3 g uhličitanu draselného. Potom se smísí se 293 ml acetonu a 50 ml vody. Reakční směs se třepe ve třepací nálevce, potom se fáze oddělí a získá se 375 ml horní fáze (acetonová fáze) a 130 ml spodní fáze .

V 98 ml spodní fáze se rozpustí 1,4 ml 48% (hmot.) roztoku hydroxidu sodného a 10 g surového rhein-9-anthron-8-glukosidu. Směs se zahřeje na teplotu v rozmezí 45 až 50 °C a ponechá se při této teplotě po dobu 20 až 30 minut. Potom se přidá 1,0 ml 48% (hmot.) roztoku hydroxidu sodného a 3,4 g dithioničnanu sodného a zahřívá se po dobu

dalších 20 až 30 minut na teplotu v rozmezí 45 až 50 °C . Nakonec se znovu přidá 1,0 ml 48% (hmot.) roztoku hydroxidu sodného a 3,4 g dithioničnanu sodného a znovu se po dobu 20 až 30 minut zahřívá na teplotu v rozmezí 45 až 50 °C .

Oddělování aloeemodinových komponent se provádí rozdělováním kapalina-kapalina redukovaného roztoku v protiproudu proti výše uvažované horní fázi (acetonová fáze) . Odtékající rafinátová fáze, obsahující rhein-9-anthron-8--glukosid, se odpaří na objem 400 ml a smísí se se 20 ml 2-butanolu, načež se okyselí přídavkem kyseliny chlorovodíkové nebo kyseliny sírové na hodnotu pH 4,0 až 4,2. Vytvořená sraženina se odfiltruje, promyje se 40 ml vody a 30 ml acetonu a potom se vysuší. Následující oxidace probíhá způsobem popsaným v příkladě 2 .

P ř í k l a d 4

Koncentrát, získaný po extrakci drogy ze senny, se smísí s asi 2 litry 2-butanolu. Redukce směsi koncentrátu z plodů senny a 2-butanolu se potom provádí v sedmi stupních pod atmosférou dusíku jako ochranného plynu. Po redukčním stupni I se provádí srážení surového rhein-9-anthron-8-glukosidu.

Redukční stupeň I

100 litrů směsi koncentrátu z plodů senny a 2-butanolu, obsahujícího asi 4 kg sennosidů, se předloží do míchané nádrže a překryje se dusíkovou atmosférou. Za míchání se po sobě přidá 6 litrů 20% (hmot.) roztoku hydroxidu sodného

a potom 350 litrů vodou nasyceného 2-butanolu (například ze stupně II) a směs se míchá po dobu 15 minut. Vsázka se potom zahřeje na teplotu v rozmezí 42 až 50 °C a smísí se se 7 kg dithioničnanu sodného, načež se reakční směs míchá ještě po dobu 45 minut. Hodnota pH se udržuje pomocí 20% (hmot.) hydroxidu sodného v rozmezí 7,5 až 8. Redukční potenciál (proti Ag/AgCl - elektrodě) se podle potřeby udržuje přídavkem dithioničnanu sodného pod -630 mV . Po ochlazení na teplotu v rozmezí 30 až 35 °C se roztok vysráží pomocí okyselení 10% (hmot.) kyselinou sírovou na pH nižší než 4 v průběhu 1,5 hodiny. Vzniklá suspenze se při pomalých otáčkách míchadla míchá při teplotě nižší než 25 °C po dobu asi 10 hodin. Vzniklá sraženina se odfiltruje. Potom se sraženina suspenduje v 60 litrech 15% (hmot.) 2-butanolu, míchá se po dobu 30 minut při teplotě v rozmezí 50 až 60 °C a znovu se přefiltruje. Zbytek se promyje 100 litry demineralizované vody. Surový výtěžek rhein-9-anthron-8-glukosidu, vztaženo na vsazené sennosidy, je vyšší než 82 % .

Redukční stupeň II

3,3 kg surového rhein-9-anthron-8-glukosidu z redukčního stupně I se suspenduje ve směsi 42 litrů demineralizované vody a 7,4 litrů 2-butanolu. Pomocí 2 litrů 20% (hmot.) hydroxidu sodného a 9,9 kg citrátu trojsodného se suspenze převede do roztoku a tento se potom smísí se 3,3 kg dithioničnanu sodného a 350 litry vodou nasyceného 2-butanolu (například ze stupně III) . Vsázka se vyhřeje na teplotu v rozmezí 42 až 45 °C . Hodnota pH se udržuje pomocí 20% (hmot.) hydroxidu sodného v rozmezí 8,5 až 9 . Redukční potenciál (proti Ag/AgCl - elektrodě) se podle potřeby udržuje přídavkem dithioničnanu sod-

ného pod -750 mV .

Po třicetiminutovém stání se horní fáze odebere a spodní fáze se dále zpracuje ve stupni III .

Redukční stupeň III

Se spodní fází ze stupně II se za přídavku následujících chemikálií opakuje redukčně-extrakční postup, popsaný ve stupni II :

1,65 kg	dithioničnan sodný
0,8 l	20% (hmot.) hydroxid sodný
350 l	vodou nasycený 2-butanol (například ze stupně IV) .

Redukční stupeň IV - VII

Se spodní fází ze vždy předcházejícího stupně se za přídavku následujících chemikálií opakuje redukčně - extrakční postup, popsaný ve stupni II :

0,825 kg	dithioničnan sodný
0,4 l	20% (hmot.) hydroxid sodný
350 l	vodou nasycený 2-butanol (například ze vždy následujícího stupně - princip protiproudu) .

Spodní fáze, oddělená ve stupni VII , se ochladí na teplotu v rozmezí 30 až 35 ^{o}C a rhein-9-anthron-8-glukosid se vysráží stejně, jako je uvedeno ve stupni I . Vzniklá sraženina se odfiltruje a promyje se 100 litry demineralizované vody. Potom se překryje 10 litry roztoku

síranu železitého (28 kg síranu železitého v 10 litrech demineralizované vody).

Rhein-9-anthron-8-glukosid se potom převede na sennosid stejně, jako je popsáno v příkladě 1 nebo 2 .

P ř í k l a d 5

Oxidace rhein-9-anthron-8-glukosidu může také probíhat následujícím způsobem :

6,0 kg filtračně vlhkého rhein-9-anthron-8-glukosidu se smísí se 12,6 kg citrátu trojsodného. Tato směs se za silného míchání rozpustí v 7,0 litrech 1 N hydroxidu sodného a smísí se s 0,7 litry 2-butanolu. Potom se tato směs smísí s 8,8 litry roztoku síranu železitého (28 kg síranu železitého ve 100 litrech demineralizované vody) a s takovým množstvím 20% hydroxidu sodného, aby se dosáhlo hodnoty pH 8,3 . Reakční směs se nechá po dobu 3 až 4 hodin reagovat při teplotě asi 40 °C , potom se okyselí 52% kyselinou sírovou na hodnotu pH 1,8 - 2,0 a zpracuje se stejně, jako je uvedeno v příkladě 1 .

P ř í k l a d 6

Alternativně se převede do roztoku rhein-9-anthron-8--glukosid v 50 ml vody přídavkem roztoku hydroxidu vápenatého a sacharózy (vyrobeného suspendováním 7,0 g hydroxidu vápenatého v roztoku 30,0 g sacharózy ve 100 ml vody a odstraněním nerozpuštěného hydroxidu vápenatého) . Potom se přidá 20 ml 2-butanolu a po dobu 90 minut se do roztoku zavádí živým proudem vzduch, načež se přidá 5,0 g dihydrátu chloridu vápenatého a hodnota pH se nastaví pomocí roztoku hydroxidu vápenatého a sacharózy na 8,5 . Vytvořená

sraženina se odfiltruje, filtrát se zředí přídavkem vody na objem 340 ml, smísí se se 60 ml 2-butanolu a hodnota pH se nastaví pomocí koncentrované kyseliny chlorovodíkové na 2,0 . Další zpracování probíhá stejně, jako je popsáno v příkladě 1 .

Farmakologické zkoušky

Laxativní účinek

Laxativní efekt směsi sennosidů podle předloženého vynálezu byl zkoušen na myších. Použijí se samci myší NMRI-i , které se během pokusu udržují v plexisklových klecích a podává se jim standardní krmivová směs s vodovodní vodou (1 : 1) v kašovité konsistenci. Oddělené dodávání pitné vody se během pokusu neprovádí.

Zvířatům se podává 100 , 200 a 400 mg/kg směsi sennosidů v 10 ml 0,5% hydrogenuhličitanu sodného/kg pomocí jícnové sondy.

Po aplikaci testovaných sloučenin se zachycuje trus a moč zvířat po dobu 24 hodin a vyhodnocuje se. Získané výsledky, vztažené na kilogram tělesné hmotnosti, jsou shrnuty v následující tabulce.

T a b u l k a - Laxativní účinek směsi sennosidů podle vynálezu u myší

Dávka (mg/kg)	počet zvířat	množství kusů normálního trusu	množství kusů měkkého trusu	měkký trus v % celkového trusu
0	30	1265	0	0
100	40	587	144	28,0
200	30	223	239	56,0
400	30	236	282	60,0

Z uvedených výsledků je zřejmé, že sennosidy vykazují dobrý laxativní účinek, který se dostavuje relativně rychle. Dobu do výskytu prvního měkkého trusu (2 hodiny) je třeba však ještě porovnat s předchozím tranzitem přes tlusté střevo a vzít v úvahu ovlivnění sennosidů mikroflórou tlustého střeva. Vztah dávky a účinku je zřejmý.

Akutní toxicita

Vždy 10 samcům a samicím krys Wistar se jednorázově podají sennosidy v dávce 2000 až 25000 mg/kg pomocí jícnové sondy.

Makroskopická poškození orgánů, způsobená podávanou látkou, nebyla u krys pozorována. Zjištěné hodnoty LD_{50} jsou následující :

Samci krys : 5.200 + 840)
- 720) mg/kg

samice krys : 3.530 + 380)
- 340) mg/kg .

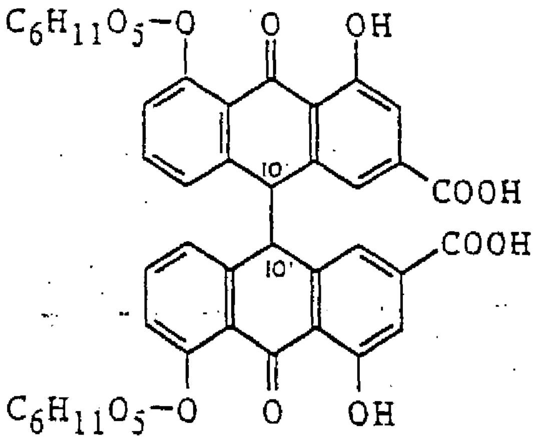
U samců a samic myší (n = 8 , kmen NMRI) nevedla maximální aplikovaná dávka 5.000 mg/kg k žádnému případu smrti. Průjem nastal u všech myší, i když v menší míře než u krys. Hodnoty LD_{50} byly pro obě pohlaví vyšší než 5.000 mg/kg .

JUDr. Miloš VŠETEČKA
advokát
120 00 PRAHA 2, Hálkova 2

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ
17. V. 96
DOŠLO

P A T E N T O V É   N Á R O K Y

1. Způsob výroby sennosidů A , B a A1 vzorce



které neobsahují sennosidy C , D a D1 a aloeemodinové komponenty nebo tyto obsahují pouze ve stopách pod 100 ppm, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se

A) směs sennosidů, obsahující sennosidy A, A1, B, C, D a D1, podrobí redukci na rhein-9-anthron-8-glukosid a aloeemodin-9-anthron-8-glukosid pomocí redukčního činidla ze skupiny, zahrnující chlorid cínatý, oxid siřičitý, soli kyseliny borovodíkové s alkalickými kovy a dithioničnany alkalických kovů,

B) provede se rozdělování kapalina-kapalina získaných sloučenin mezi polární organické rozpouštědlo, pouze omezeně mísitelné s vodou, vybrané ze skupiny, zahrnující alkanoly se 4 až 5 uhlíkovými atomy a alkylketony s 1 až 3 uhlíkovými atomy v každém alkylu, a mezi vodnou fázi, a

C) rhein-9-anthron-8-glukosid, obsažený ve vodné fázi, se opět oxiduje na odpovídající sennosidy A, A1 a B pomocí oxidačního činidla, vybraného ze skupiny, zahrnující kyslík, železité soli, peroxid vodíku, oxid manganičitý, manganistany a acetonylacetonát manganitý.

2. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že se použije směs sennosidů z extraktu drogy ze senny pomocí methylalkoholu, výhodně za přítomnosti pufru.

3. Způsob podle nároku 1 nebo 2, vyznačující se tím, že se ve stupni A použije jako redukční činidlo dithioničnan alkalického kovu.

4. Způsob podle nároku 3, vyznačující se tím, že se pracuje při hodnotě pH v rozmezí 5 až 10,5.

5. Způsob podle nároků 1 až 4, vyznačující se tím, že se ve stupni B použije jako polární organické rozpouštědlo 2-butanol.

6. Způsob podle nároků 1 až 4, vyznačující se tím, že se ve stupni B použije jako polární organické rozpouštědlo aceton.

7. Způsob podle nároků 1 až 6, vyznačující se tím, že se ve stupni B použije vodná fáze, jejíž redox potenciál je -210 mV nebo negativnější.

8. Způsob podle nároků 1 až 6, vyznačující se tím, že se rozdělování

kapalina-kapalina ve stupni B provádí v protiproudu.

9. Způsob podle nároků 1 až 8, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se oxidace ve stupni C provádí pomocí kyslíku nebo železitých solí.

10. Způsob podle nároku 9 , v y z n a č u j í c í s e t í m , že se oxidace provádí pomocí kyslíku při slabě kyselém pH v rozmezí 6 až 7 .

11. Způsob podle nároků 9 nebo 10 , v y z n a č u j í c í s e t í m , že se oxidace pomocí kyslíku provádí za přítomnosti katalyzátoru, obzvláště železitých solí.

12. Farmaceutický prostředek s laxativním účinkem, v y z n a č u j í c í s e t í m , že jako účinnou látku obsahuje sennosidy A, B a A1 , které jsou prosté sennosidů C , D a D1 a aloeemodinových komponent, nebo tyto obsahují pouze ve stopách pod 100 ppm, spolu s obvyklými farmaceutickými nosiči a pomocnými látkami.

přípravené známým způsobem podle nároků 1 až 11

JUDr. Miloš Všetečka