

223932

2
19 SEP. 1955



MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar

P A T E N T E D E I N V E N C I O N

e n

E S P A Ñ A

por VEINTE años

a nombre de C.H. BOEHRINGER SOHN., entidad alemana, establecida en Ingelheim am Rhein, Alemania, por:

"UN PROCEDIMIENTO PARA EL AISLAMIENTO DE UN COMPONENTE ACTIVO DEL GLUCÓSIDO TEVETINA".

El glucósido tevetina, que se aisla del "oleander thevetia nerifolia" amarillo y que desde hace años encuentra aplicación clínica como activo agente cardiotónico, tiene a la vez que su deseado efecto sobre el corazón, una serie de indeseables efectos secundarios, principalmente el de estimular el peristaltismo, lo que provoca diarreas, haciendo tan solo posible de manera limitada el uso de dicho glucósido.

La investigación cromatográfica sobre papel



223932

de la tevetina cristalizada pura, obtenida de acuerdo con las indicaciones de la bibliografía (Helfenberger y Reichstein, Helv. Chem. Acta, 31, 1476), ha demostrado que este glucósido representa una mezcla de dos sustancias muy similares. El resultado concuerda con hallazgos de Reichstein dados últimamente a conocer (Helv. Chem. Acta, 37, 680), que dieron a su vez como resultado la heterogeneidad del material obtenido en los ensayos establecidos. En los procedimientos de purificación que suelen emplearse para la tevetina, por ejemplo la recristalización, no se obtiene, por lo tanto una sustancia homogénea.

Se ha descubierto ahora, que el glucósido tevetina puede ser descompuesto por métodos en sí conocidos, en dos componentes, que de aquí en adelante serán designados tevetina A y tevetina B.

El presente invento, por lo tanto, se refiere a un procedimiento para la separación de la tevetina, en el cual el glucósido es descompuesto por métodos usuales en tevetina A y tevetina B, aprovechando sus distintas cualidades físicas, tales como solubilidad, afinidad de adsorción y similares.

Esta separación se consigue preferentemente, distribuyendo nuevamente el glucósido tevetina entre agua o alternativamente soluciones salinas acuosas, por una parte, y disolventes orgánicos o mezclas de disolventes no miscibles con agua, o únicamente miscibles parcialmente, por otra parte, por ejemplo de acuerdo con el esquema indicado



223932

por E. Jantzen, Dechema Monographie 5, 100 (1932), y aislan-
do la tevetina A de las primeras fracciones acuosas y la te-
vetina B, de las últimas fracciones acuosas o las fracciones
no acuosas, todo ello de acuerdo con los procedimientos usua-
5 les. A este respecto ha demostrado ser especialmente venta-
josa la distribución entre una mezcla de una parte en volú-
men de agua, una parte en volumen de alcohol y dos partes en
volumen de cloroformo que, después de agitación concienzuda,
da aproximadamente una parte en volumen de fase ligera y
10 tres partes en volumen de fase pesada.

A continuación del procedimiento de separación,
pueden aplicarse entonces métodos de purificación, tales co-
mo recristalización, cromatografía o precipitación fraccio-
nada.

15 En la distribución entre dos fases, consisten-
tes en los disolventes arriba citados, la tevetina A pasa,
como componente más hidrófilo, a las fracciones acuosas pri-
meras, de las que puede ser cristalizadas directamente por
concentración o bien ser aislada mediante extracción con
20 disolventes orgánicos, mientras que se aísla de igual modo
de las fracciones acuosas últimas. En las fracciones orgá-
nicas, siempre que no estén libres de glucósido, se hallan
casi siempre mezclas de tevetina A y B, y tan sólo raras ve-
ces tevetina B pura, que puede obtenerse mediante concentra-
25 ción por evaporación de la solución así obtenida. Para ob-
tener cantidades mayores son apropiados los procedimientos
de distribución con fases movidas pulsatoria o uniformemente,



223932

como han descrito O'Keeffe, Watanabe - Ulorikawa, Rometele y Scheibel (véase el ejemplo 3 y el esquema adjunto). Con ello se obtiene la tevetina A de la fase ligera y la tevetina B de la fase pesada. Los componentes pueden entonces obtenerse en forma cristalina por recristalización repetida desde isopropanol al 85% o mediante solución en metanol y dilución de la solución con agua.

Cada uno de los dos componentes demostró ser puro cromatográficamente sobre papel. La velocidad de progresión en el cromatograma sobre papel es en la tevetina B alrededor de 50% mayor que en la tevetina A. La tevetina A proporciona el punto de microfusión según Kofler de 190°C $[\alpha_D^{20}] = -66,5$ en una solución en metanol al 1%. Desde isopropanol cristaliza en forma de plaquitas con extinción recta, de refracción negativa doble, ángulo aproximadamente 68°.

La tevetina B funde por el mismo método a 181°C $[\alpha_D^{20}] = -60^\circ$ en una solución en metanol al 1%, no obteniéndose cristalina desde isopropanol, sino proporcionando desde agua agujitas afiel, en las que no pudieron realizarse mediciones cristalópticas.

Se sabe por la bibliografía, que la tevetina es un medio eficaz contra la insuficiencia cardíaca. Junto a tal propiedad, empero, provoca la tevetina fuertes efectos secundarios, tales como diarreas y cólicos, que limitan su aplicación. Al presentarse estos efectos secundarios, hay que suspender inmediatamente la administración de la tevetina. Así por ejemplo demuestra M.Krameo, Arztliche Wochenschrift tomo 10, página 135 (1955), en una tabla con resulta-



223032

dos de investigaciones de varios autores, que en el tratamiento con tevetina se observaron diarreas y cólicos en 30 a 60% de los pacientes. Comprobaciones similares hicieron también H. Gold y sus colaboradores, The Journal of the
5 Pharmacology, tomo 93, paginas 44 a 52 (1948).

Se ha descubierto, que las tevetinas A y B aisladas por el procedimiento de acuerdo con el invento, no tienen estos efectos secundarios. De la tabla siguiente se desprende la eficacia de la tevetina A y B.

10	Dosis letal gatos Hatche en mg/kg	Acción estimulante sobre el intestino de cobayas ,, invitro "
	Media de 6 ensayos	g- estrofantina= 1
	Tevetina A 1,36 ± 0,127	alrededor de 1/8
	<hr/>	
15	Tevetina B 1,12 ± 0,134	alrededor de 1/2 a 1/4
	<hr/>	
	g-estrofantina 0,1 (según datos en la bibliografía)	1
	<hr/>	

En la última columna de la tabla se ha comparado la acción sobre el intestino de la g-estrofantina con la de la tevetina A y B. La acción de una cantidad normal de g-estrofantina se ha considerado igual a 1 a este respecto. A dosis iguales de la tevetina A y B, la A es 1/8 parte, y la B 1/2 - 1/4 parte tan eficaz. En la serie de ensayos realizados con
25 12 gatos, no pudo observarse defecación incluso con dosis tóxicas de tevatina.

La tevatina B aislada de acuerdo con el procedimiento según el invento, es superior a los medios conocidos



223932

tales como la estrofantina y la digitoxina. Mientras que la estrofantina es tan sólo eficaz durante poquísimos tiempo, la acción de la digitoxina perdura mucho y existe el peligro de su acumulación. La duración del efecto de la tevatina B aislada por el procedimiento de acuerdo con el invento, oscila entre la de la estrofantina y la de la digitoxina. Em lo referente a la capacidad de resorción, la estrofantina por ejemplo no es reabsorbida, la digitoxina lo es casi cuantitativamente, y la tevatina B obtenida por el procedimiento de acuerdo con el invento, lo es en un 50%. La resorción de la tevetina A, por el contrario, asciende tan sólo, a 2-3%. Correspondientemente, la tevetina B es en ratones 15 a 20 veces más tóxica que la tevetina A, al ser administrada por vía peroral. En aplicación intravenosa a gatos, por el contrario, son las tevetinas A y B de efectos aproximadamente iguales.

De ésto se desprende, que la tevetina A, administrada por vía peroral, únicamente actúa de manera muy difícil.

Gracias al presente invento se obtiene una tevetina B libre de efectos secundarios, fácilmente reabsorbible por vía peroral, excelentemente eficaz como medio contra insuficiencia cardiaca. La aplicación de la tevetina B puede efectuarse por los métodos generalmente usuales.

El ejemplo siguiente servirá para ilustrar el invento con más detalle:

Ejemplo 1.

Partes iguales de una solución de sal común al



223932

15% y de una mezcla de 2 partes de cloroformo con una parte de etanol, fueron agitadas concienzudamente, disolviéndose 5 g. de tevetina, obtenida por los métodos usuales, en sendos 250 c.c. de la fase superior e inferior. Después se fraccionó por el método indicado de Jantzen. Una vez obtenidas 8 fracciones de las fases ligera y pesada, se suspendió el fraccionado y se analizó el contenido de las diversas fases mediante cromatografía sobre papel. Las primeras fracciones de la fase acuosa ligera, contenían tevetina A, mientras que la tevetina B se acumuló en las últimas fracciones de la fase orgánica pesada y/o de la fase acuosa ligera. Las restantes fracciones contenían solo pequeñas cantidades de tevetina A y B o estaban totalmente libres de ellas.

15 Como la droga tevetina tiene un contenido variable de ambos componentes y su solubilidad se vé fuertemente influenciada por ligeras impurezas, resulta que los rendimientos en ambos componentes son muy diversos. Se obtuvieron rendimientos en tevetina A de 26-85%, y de tevetina B de 12-52%. Se recuperó además entre 0 y 62% del material de partida sin separar. Los componentes tevetina A y tevetina B obtenidos en la separación, se purificaron mediante recristalización desde isopropanol al 85% o mediante solución en metanol y dilución con agua.

25 Ejemplo 2.

Si en lugar de la solución de sal común se emplea agua pura para la agitación y se añaden cloroformo y

22393



alcohol en las proporciones cuantitativas antes indicadas, se obtienen, con una carga de 5 grs., 2 grs. de tevetina A de las cinco primeras fracciones ligeras y 0.9 grs. de tevetina B de las fracciones ligeras quinta y sexta, al paso que en las tres últimas fracciones pesadas había 2,1 grs. de tevetina A y B. Todas las demás fracciones estaban carentes de tevetina.

Ejemplo 3.

Para una distribución pulsatoria en escala de preparación se tomaron 15 embudos separadores cada uno de un volumen de 10 litros. En el embudo separador medio Número 8 (véase esquema adjunto) se comenzó con 20 grs. de tevetina bruta, 2 litros de fase ligera y 6 litros de fase pesada. Después de 2 minutos de sacudidas vigorosas, la fase ligera pasó al embudo separador 9, la fase pesada al 7, y el 8 quedó vacío. Al 9 se introdujeron 6 litros de fase pesada y al 7, 2 litros de fase ligera. Después de agitar, la fase ligera del embudo 7 pasó al 8 y la fase pesada del 9, al 8. Las restantes fases quedaron en sus embudos separadores. Al 7 llegó la cantidad usual de fase ligera al 9 la cantidad usual de fase pesada y al 8 se añadieron 10 grs. de tevetina bruta. Después de agitar, la fase ligera del 9 pasó al 10, del 8 al 9, y la fase pesada del 8 al 7 y del 7 al 6. Al 6 llegó fase ligera nueva y al 10 fase pesada nueva. Las otras fases quedaron en sus embudos separadores, el 8 quedó vacío. Estos períodos se repiten constantemente. La vez siguiente, las fases ligeras de los



223932

embudos separadores inferiores al 8 pasaron al embudo separador 8, y las fases pesadas de los embudos separadores superiores al 8, al 8. El embudo separador 8 queda cargado de nuevo y recibe 10 grs. de tevetina bruta. La vez siguiente, las fases pesadas del embudo 8 y de todos los embudos separadores inferiores y las fases ligeras del embudo 8 y de todos los embudos separadores superiores, fueron retiradas del 8. Los embudos separadores extremos necesitan en cada caso disolvente nuevo. Si todos los embudos separadores están ocupados, lo cual ocurre después de XV ciclos de sacudida, se retira del embudo separador 1 la fase pesada con tevetina pura B y del embudo separador 15 la fase ligera con tevetina pura A. Los ciclos de sacudida pueden repetirse tanto tiempo como se quiera. Después de que han sido retirados 90 grs. de tevetina A pura y 120 grs. de tevetina B pura, se renunció a lavar el sistema para libertarlo de glucósido. Se analizaron las fracciones individuales. La fase pesada de los embudos separadores 1 a 3 y la fase ligera de 1 contenían sólo tevetina B. Las fases pesadas 15 a 11 contenían sólo tevetina A. Todas las demás fracciones contenían todavía mezclas. De estos datos analíticos puede verse que el citado método, no da ciertamente una separación cuantitativa de la tevetina, pero sí da una separación óptima.

Se consiguieron resultados muy favorables con una distribución continua en una instalación como la descrita por Scheibel Chem. Eng. Progr., 44, 681, 771 (1948). La separación en este caso es cuantitativa.



223932

La presente solicitud, que corresponde a la pre-
sentada en Alemania, con fecha 11 de Septiembre de 1954, bajo
el número B 32.580 IVa/30h, se acoge a los beneficios es-
tablecidos por el artículo 51 del vigente Estatuto Ley sobre
5 Propiedad Industrial.

---- N O T A ----

Los puntos de invención propia y nueva que se
presentan para que sean objeto de la presente solicitud de
Patente de Invención en España por VEINTE años son los si-
10 guientes:

1º. Un procedimiento para el aislamiento de
un componente activo, del glucósido tevetina, caracteriza-
do por escindir este glucósido en dos componentes, teveti-
na A y B, a saber, por uno de los métodos en sí conocidos,
15 aprovechando sus diferentes cualidades físicas, tales como
solubilidad, afinidad de adsorción, basicidad o similares.

2º. Un procedimiento de acuerdo con la reivin-
dicación 1, caracterizado por distribuirse el glucósido te-
vetina entre agua o alternativamente soluciones salinas acuo-



223932

sas, por una parte, y disolventes orgánicos no miscibles, o tan sólo parcialmente miscibles con agua, por otra parte, y aislarse por los procedimientos usuales la tevetina A de la fase acuosa, y la tevetina B de la fase no acuosa.

5 3º. Un procedimiento para el aislamiento de un componente activo del glucósido tevetina.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, representada por el dibujo que se acompaña y para los fines que se han especificado.

10 Esta Memoria consta de once hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid 19 SEP. 1955

P. A.
Alberto de Elzaur.
Por Poder.



223932

Explicaciones para el esquema adjunto.

Como disolvente sirve una mezcla de 1 parte en volúmen de agua, 1 parte en volúmen de alcohol y 2 partes en volúmen de cloroformo. Después de una agitación a fondo se obtienen aproximadamente 1 parte en volúmen de fase superior y 3 partes en volúmen de fase inferior.

Se colocan ahora en una fila 15 embudos separadores de 10 litros cada uno. Luego se trabaja según el esquema adjunto. En 'el significan las cifras árabes 1-15 los embudos separadores, las cifras romanas I-XV los ciclos de agitación.



Antes de la agitación se añaden en I 20 grs. de tevetina bruta, y en todos los siguientes, III, V, VII, etc., 10 grs. de tevetina bruta.

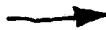


Fase superior.

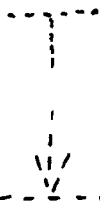
antes de la agitación se añaden 2 litros de fase ligera.



después de la agitación queda la fase ligera, por ejemplo, en el embudo separador 3.



después de acabar de agitar, la fase superior pasa al embudo separador superior contiguo, por ejemplo, del embudo separador 3 al embudo separador 4.



Fase pesada.

Antes de la agitación se añaden 6 litros de fase

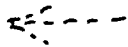


pesada.

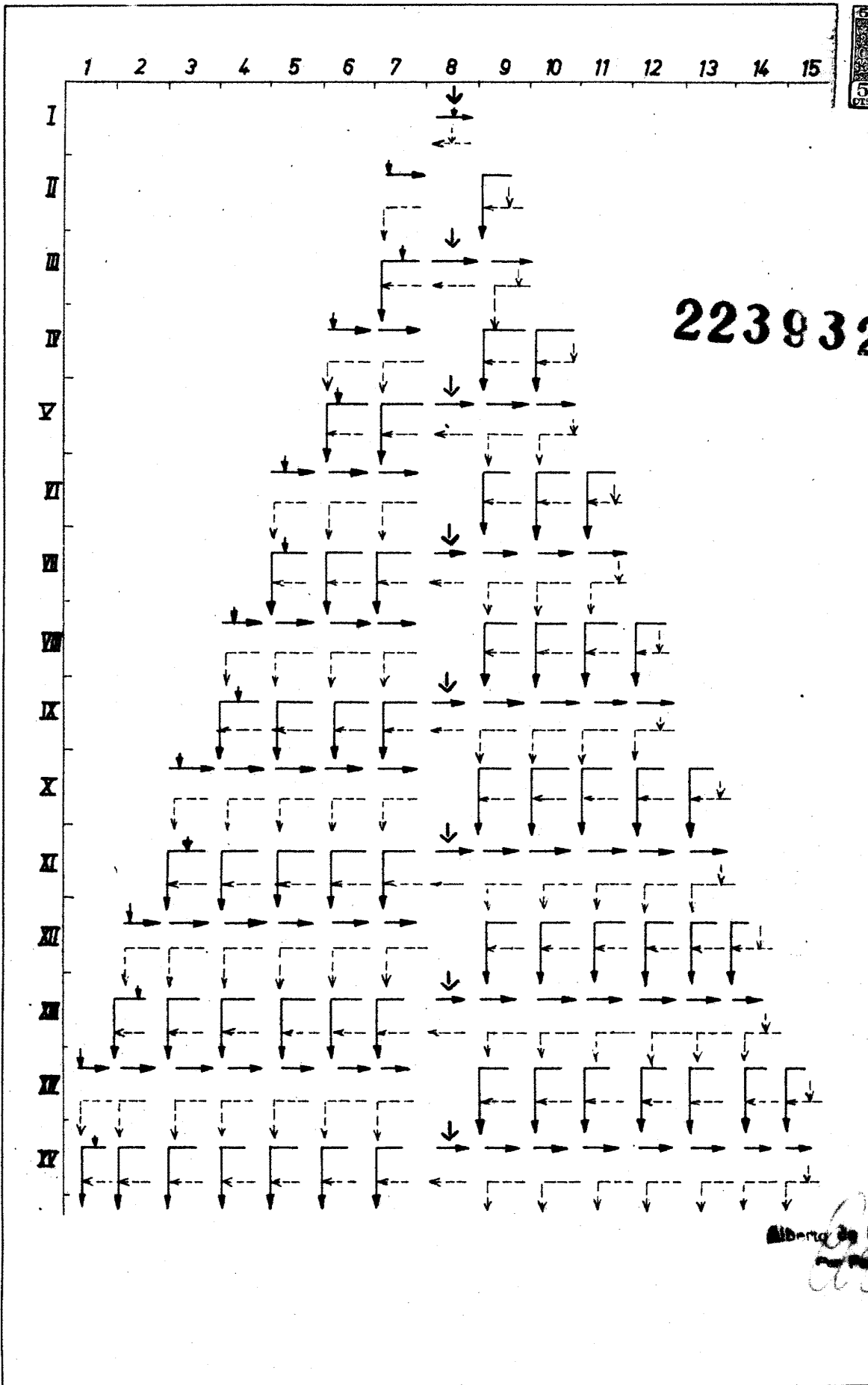
223932



Después de la agitación queda la fase pesada en el embudo separador.



Después de la agitación, la fase inferior pasa al embudo separador inferior contiguo, por ejemplo, del embudo separador 3 al embudo separador 2.



223932

Libreria de...