

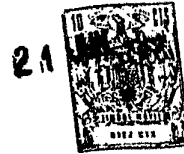
P.- 35.677

M 2470.54

342537

21 JUN 1968

Memoria descriptiva



para solicitar PATENTE DE INVENCION por 20 años

a nombre de PHILIPPE PREFFER y PLANTEK LTD

~~entidad de nacionalidad~~ nacionalidad y entidad israelitas, respectivamente

con domicilio en 19 Helsinki Street, Tel-Aviv y establecida en Industrial Zone, Nathanya, respectivamente, ambos en Israel

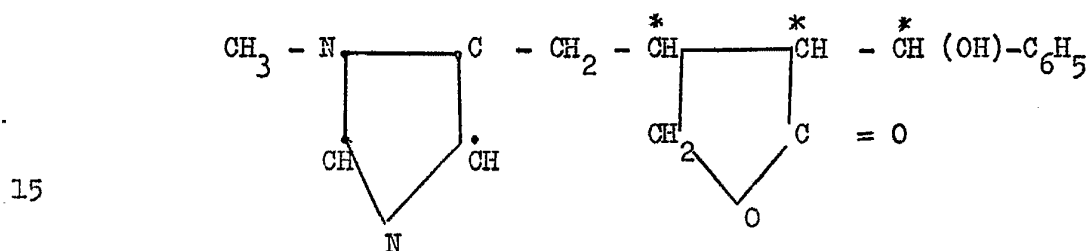
por: " PROCEDIMIENTO PARA LA RECUPERACION DE PILOSINA E ISOPILOSINA DESDE LAS HOJAS DE JABORANDI MICROPHYLOUS "
(Clase Internacional C07_g)



Extracto de la descripción. Los compuestos de pilosina son recuperados por extracción de las hojas de Jaborandi Microphyllous.

5 Preparados dermatológicos que contienen un compuesto de pilosina como ingrediente activo y el método de tratar diversas enfermedades o afecciones de la piel y de cuero cabelludo, por aplicación a las zonas afectadas de dicho preparado dermatológico.

10 Fundamento del invento. La pilosina y la isopilosina son alcaloides que corresponden a la fórmula:



20 En la fórmula anterior, los átomos de carbono marcados con un asterisco son asimétricos, y la pilosina y la isopilosina difieren una de otra por estereoisomería en uno de estos tres átomos de carbono activos.

25 La pilosina y posiblemente la isopilosina, aparecen en las hojas de la planta Jaborandi Microphyllous en una cantidad total de aproximadamente 0,05% en peso de las hojas secas. En las hojas naturales, la cantidad de pilosina es predominante con relación a la de isopilosina, pero la isomerización se verifica bajo condiciones alcalinas suaves. Las hojas de Jaborandi Microphyllous contienen también los alcaloides pilocarpina e isopilocarpina, que
30 son conocidos y utilizados en farmacia.

342537



Pilosina - p. de f. 179°C (α)_D al 1% en alcohol = 84°

Isopilosina - p. de f. 187°C; (α)_D al 1,16% en cloroformo
= 40,2°

Sulfato de Isopilosina - p. de f. 194-195°C; (α)_d al
5 4,45% en H₂O = + 21°.

Resumen del invento: Este invento se refiere a
preparados dermatológicos que contienen, como ingrediente
activo, un compuesto de pilosina.

10 El invento incluye además el método de tratar
diversas enfermedades o afecciones de la piel y del cuero
cabelludo aplicando un preparado dermatológico, que contie-
ne un compuesto de pilosina como ingrediente activo, a las
zonas afectadas de la piel y del cuero cabelludo.

15 El invento incluye además un nuevo procedimiento
para la recuperación de compuestos de pilosina en forma
sustancialmente pura y con altos rendimientos a partir de
las hojas de Jaborandi Microphyllous.

20 Los términos "compuestos de pilosina" y "un com-
puesto de pilosina", tal como se utilizan aquí, incluyen
la pilosina propiamente dicha así como composiciones deri-
vadas o derivados farmacológicamente activos de la misma,
incluyendo isopilosina y las sales farmacológicamente acti-
vas tanto de pilosina como de isopilosina.

25 El procedimiento de recuperar compuestos de pilo-
sina desde las hojas de Jaborandi Microphyllous implica tres
operaciones básicas: (1) la extracción desde las hojas de
Jaborandi Microphyllous de sustancialmente todos los alcaloi-
des de pilocarpina, isopilocarpina, pilosina e isopilosina
bajo condiciones que aseguran la extracción de pilosina y
30 la posible isopilosina, y para evitar la destrucción o

342537



degradación de las moléculas de pilosina o isopilosina;
(2) la separación selectiva de sustancialmente toda la cantidad de pilocarpina e isopilocarpina desde el extracto; y
(3) la recuperación de los compuestos de pilosina desde las aguas madres, que quedan después de la separación de la pilocarpina e isopilocarpina, en forma sustancialmente pura y con altos rendimientos. Cada una de las tres operaciones básicas antes bosquejadas implica también operaciones subsidiarias que son convenientes para obtener una pureza y un rendimiento óptimos de los compuestos de pilosina.

La primera operación del procedimiento implica la extracción de sustancialmente toda la cantidad de los alcaloides de pilocarpina, isopilocarpina, pilosina e isopilosina desde las hojas. Las hojas, preferiblemente en forma triturada y seca, son impregnadas en primer lugar con una solución alcalina acuosa, la cantidad de solución alcalina acuosa, la concentración en álcalis de la misma, y el tiempo de esta primera operación de impregnación deberán ser suficientes para asegurar una impregnación a fondo de las hojas, y para que las hojas resulten débilmente alcalinas con un pH de aproximadamente 7,5 a 8, para permitir una extracción sustancialmente total de todos los alcaloides desde las mismas. Esto se puede lograr convenientemente impregnando las hojas secas con una solución acuosa aproximadamente al 5% de carbonato de sodio, utilizando aproximadamente 80% en peso de la solución basado en el peso en seco de las hojas secas de Jaborandi. Bajo estas condiciones, los objetivos de esta primera operación de impregnación se pueden lograr generalmente en el curso de 2 a 2,5 horas de impregnación.

342537



La utilización de diferentes materiales alcalinos, para lograr el objetivo de hacer débilmente alcalinas a las hojas, permitirá desde luego alteraciones en la concentración de la solución alcalina acuosa, en el tiempo de impregnación etc. con el fin de llevar a las hojas al estado debilmente alcalino requerido, tal como resultará evidente para los técnicos en la materia.

Se deberá utilizar una cantidad suficiente de solución alcalina acuosa para asegurar que las hojas estén completamente impregnadas. Esto se puede lograr convenientemente utilizando aproximadamente 80% en peso de la solución alcalina acuosa, basado en el peso de las hojas secas de Jaborandi. El tiempo en el que las hojas son impregnadas puede variar, desde luego, y es conveniente dejar que las hojas se impregnen en la solución alcalina acuosa a un pH entre aproximadamente 7,5 y 8,0 durante aproximadamente 2 horas.

Las hojas impregnadas son extraídas entonces con un disolvente orgánico no polar capaz de extraer sustancialmente todos los alcaloides de pilocarpina, isopilocarpina, pilosina e isopilosina. El extracto en disolvente, que contiene todos los alcaloides, es separado entonces de las hojas de cualquier manera apropiada, por ejemplo por filtración.

El extracto en disolvente no polar, que contiene los alcaloides, es entonces extraído de nuevo con una solución ácida acuosa diluída haciendo circular al extracto en disolvente no polar a través de la solución ácida acuosa diluída. El disolvente no polar, utilizado en la extracción original desde las hojas impregnadas con solución alcalina

342537



acuosa, puede ser entonces reciclado para ulterior extrac-
ción de hojas impregnadas con solución alcalina.

5 Todos los alcaloides extraídos desde las hojas
impregnadas, con el disolvente no polar, están contenidos
de esta manera en la solución ácida acuosa en la forma de
la sal soluble del ácido utilizado para la nueva extrac-
ción.

10 La solución ácida acuosa que contiene todos los
alcaloides es entonces neutralizada de manera conveniente,
y cualquier cantidad de material que no se haya disuelto
es separada por filtración bajo condiciones sustancialmen-
te neutras. El pH de las aguas madres transparentes re-
sultantes es elevado entonces hasta entre aproximadamente
15 7,5 y 8 y, tan pronto como es posible después de esto, se
extrae la solución alcalina acuosa de los alcaloides con
un disolvente no polar, preferiblemente un disolvente clo-
rado tal como dicloroetano. Esta extracción de la solución
acuosa alcalina de los alcaloides es repetida conveniente-
mente un número suficiente de veces con el fin de asegurar
20 la extracción de sustancialmente la totalidad de los alca-
loides desde la solución acuosa alcalina, dentro del disol-
vente no polar o clorado. En esta operación son preferi-
bles tres extracciones separadas con el disolvente no po-
lar, y los extractos en disolventes no polar son combinados.

25 Estos extractos combinados en disolvente no polar
son evaporados entonces en vacío a temperaturas por deba-
jo de aproximadamente 50°C, dejando como residuo las bases
de alcaloide en forma semisólida.

30 Los alcaloides combinados son disueltos entonces
en una solución ácida diluida y la pilocarpina es separada

342537



por cristalización o precipitación desde la misma, en forma de la sal del ácido utilizado para disolver las bases de alcaloides. Convenientemente, los alcaloides son disueltos en una solución orgánica no polar de un ácido mineral, tal como ácido clorhídrico, en acetona, y la pilocarpina es cristalizada enfriando la solución hasta aproximadamente 0°C, preferiblemente -10°C. Bajo estas condiciones, sustancialmente toda la pilocarpina se separará por cristalización de la solución en el espacio de aproximadamente 24 horas, en la forma del clorhidrato de pilocarpina. Después de la cristalización del clorhidrato de pilocarpina, este puede ser separado de las aguas madres por cualquier procedimiento convencional. Entonces, el clorhidrato de pilocarpina puede ser recristalizado por procedimientos convencionales, para producir un producto más puro.

Las aguas madres, que quedan después de separar el clorhidrato de pilocarpina, son evaporadas entonces bajo condiciones adecuadas para evitar la degradación de las moléculas de pilosina o isopilosina, y los clorhidratos que permanecen o quedan en las aguas madres son convertidos en las bases libres por la adición de una solución alcalina acuosa para ajustar el pH entre aproximadamente 7,5 y 8,0. Después de ajustar las aguas madres a un pH entre aproximadamente 7,5 y 8, las aguas madres son extraídas con un disolvente no polar tal como dicloroetano. El extracto resultante en disolvente no polar es entonces evaporado hasta sequedad en vacío bajo condiciones adecuadas para evitar la degradación del contenido de pilosina e isopilosina, y el residuo es tratado con una solución diluída de ácido mineral y disolvente polar, convenientemente

342537



una solución de acetona y ácido nítrico. La solución de disolvente polar y ácido es entonces enfriada hasta aproximadamente 0°C, preferiblemente - 10°C, durante aproximadamente 24 horas, lo cual da como resultado la cristalización desde la misma del contenido de isopilocarpina así como de cualquier vestigio remanente de pilocarpina, en la forma de los respectivos nitratos. Los nitratos de isopilocarpina y pilocarpina son separados de las aguas madres por procedimientos convencionales.

5

Las aguas madres remanentes después de separar los nitratos de isopilocarpina y pilocarpina son concentradas entonces de nuevo en vacío bajo condiciones apropiadas para evitar la degradación de las moléculas de pilosina e isopilosina, y el pH de la solución es aumentado hasta entre aproximadamente 7,5 y 8,0 por la adición de una solución alcalina acuosa diluída, preferiblemente al 10%. La pilosina, y posiblemente la isopilosina, son extraídas entonces de la solución alcalina acuosa con un disolvente no polar, tal como dicloroetano, y el extracto resultante en disolvente no polar es concentrado de nuevo en vacío bajo condiciones que evitan la degradación de los compuestos de pilosina.

10

15

20

La concentración en vacío se deberá efectuar preferiblemente hasta que el producto resultante se encuentre en una forma siruposa.

25

Se añade entonces un disolvente polar al extracto siruposo, y la solución es enfriada hasta aproximadamente 0°C y es dejada reposar durante aproximadamente 24 horas, durante cuyo periodo de tiempo cristalizan la pilosina y la isopilosina. Los cristales de pilosina y de isopilosina

30

342537

25.8.67

- 9 -



son separados entonces por filtración de la solución en disolvente polar.

Entonces, los compuestos de pilosina y de isopilosina son convenientemente purificados adicionalmente disolviendo el producto crudo en un ácido mineral, tal como ácido sulfúrico, filtrando la solución ácida convenientemente a través de carbón vegetal y recuperando la solución transparente resultante que contiene una mezcla de pilosina e isopilosina sustancialmente puras. La pilosina y la isopilosina son precipitadas entonces desde la solución ácida transparente por la adición de una solución alcalina acuosa, tal como de carbonato de sodio, en una cantidad tal que el pH es ajustado dentro del margen entre aproximadamente 7,2 y 7,7.

En las operaciones de extracción antes descritas se pueden utilizar diversos disolventes no polares. Sin embargo, es conveniente utilizar benceno en la primera extracción de las hojas impregnadas con solución alcalina, y utilizar un disolvente clorado, tal como dicloroetano, en las subsiguientes operaciones de extracción. Ejemplos adicionales de disolventes no polares, que se pueden utilizar para las operaciones de extracción, incluyen disolventes clorados tales como cloroformo y cloruro de metileno.

También se pueden utilizar diversas soluciones ácidas diluídas en la operación de extracción de retorno o para las operaciones de acidificación antes descritas, incluidas entre las cuales se pueden mencionar, a título de ejemplo soluciones de ácido sulfúrico, ácido acético y ácido tartárico.

En las operaciones de alcalinización antes descri-

342537



tas, se pueden utilizar diversos materiales alcalinos acu-
sos para ajustar los pH de las diversas soluciones, inclu-
yendo carbonatos, tales como carbonato de sodio y bicarbo-
nato de sodio, e hidróxidos de metales alcalinos, tales
5 como hidróxido de sodio.

Se pueden utilizar diversos disolventes polares
donde se indica anteriormente, y particularmente en lo que
respecta a la precipitación de los productos crudos de pilo-
sina e isopilosina, por ejemplo cetonas tales como acetona,
10 tal como resultará evidente para los técnicos en la materia.

En la práctica del procedimiento de este invento
para asegurar la extracción de compuestos puros de pilosi-
na con altos rendimientos existen tres factores importantes
y críticos que deben ser controlados. Estos factores in-
15 cluyen el control del pH alcalino durante la impregnación
de las hojas, así como durante las diversas operaciones de
extracción que tienen lugar bajo condiciones alcalinas, el
tiempo durante el cual son sometidas a condiciones alcali-
nas las hojas y los extractos alcalinos, y la temperatura
20 utilizada mientras que las hojas y los diversos extractos
se encuentran bajo condiciones alcalinas.

Cuando las hojas y los diversos extractos son so-
metidos a condiciones alcalinas, el pH deberá mantenerse en-
tre aproximadamente 7,5 y 8. Desde luego, se podrían uti-
25 lizar pH ligeramente inferiores a 7,5 y ligeramente superio-
res a 8, pero los rendimientos de los compuestos de pilosina
disminuyen hasta aproximadamente cero a un pH de aproximada-
mente 10 a 11 o de 6 a 7. Esto es debido al hecho de que
los compuestos de pilosina pueden ser extraídos en ninguna
30 cantidad significativa por disolventes orgánicos bajo condi-

342537



ciones ácidas. Bajo condiciones de pH superiores aproximadamente 8, tales como de 10 a 11, los compuestos de pilosina son destruidos por apertura del anillo de lactona.

5 El tiempo de impregnación de las hojas, o el tiempo durante el cual los diversos extractos son sometidos a condiciones alcalinas, incluso entre los pH de 7,5 a 8, es también importante, ya que una prolongada acción alcalina también dará como resultado la destrucción de los compuestos de pilosina incluso a temperaturas bastante bajas. 10 Por lo tanto, es importante que la extracción de los compuestos de pilosina bajo condiciones alcalinas se efectúe rápidamente, pero desde luego el tiempo deberá ser suficientemente prolongado para asegurar la extracción sustancialmente completa de los compuestos de pilosina.

15 La temperatura de las hojas y de los diversos extractos mientras se encuentran bajo condiciones alcalinas también deberá controlarse cuidadosamente, incluso durante la utilización de las condiciones alcalinas suaves entre un pH de aproximadamente 7,5 a 8. Aparecen resultados óptimos, tanto con respecto al rendimiento como a la pureza, cuando la temperatura de las hojas y extractos alcalinos es mantenida a aproximadamente 50°C. Temperaturas muy por debajo de 45°C, o superiores a 55°C, afectan de manera significativa al rendimiento de los compuestos de pilosina. 20 Desde luego se podrían utilizar temperaturas mas altas en algunos casos, tales como en la producción de isopilosina, pero el tiempo durante el cual se mantienen estas temperaturas mas altas deberá ser de corta duración. 25

Descripción de las realizaciones preferidas.

30 Ejemplo 1. 1000 kg de hojas secas de Jaborandi

342537



Microphyllous fueron impregnadas con 800 litros de una solución acuosa al 5% de carbonato de sodio. Las hojas secas fueron dejadas impregnarse en la solución alcalina durante aproximadamente 2 horas, durante cuyo periodo de tiempo el pH de las hojas impregnadas se mantuvo entre aproximadamente 7,5 y 8.

Las hojas impregnadas fueron extraídas entonces con 50.000 litros de benceno. Durante la extracción, la temperatura se mantuvo entre 45 y 55°C. La extracción se realizó haciendo circular al benceno a través de las hojas impregnadas, de la forma más rápida posible en la práctica pero durante tiempo suficiente para extraer sustancialmente todo el contenido de alcaloides (95-98%) desde las mismas. Una extracción sustancialmente completa de los alcaloides desde las hojas impregnadas se realizó en este ejemplo particular en un periodo de aproximadamente 2,5 horas.

El extracto resultante en benceno fue hecho circular entonces a través de 500 litros de una solución acuosa al 10% de ácido acético, y el benceno que salía de la solución fue reciclado para ulterior extracción de hojas impregnadas con solución alcalina. Después de aproximadamente 2 horas, se completó la extracción del contenido total de alcaloides en la solución de ácido acético, y el contenido total de alcaloides de las hojas se disolvió en forma de acetatos en la solución acuosa. La solución contenía entre aproximadamente 95 y 98% del contenido total de alcaloides de las hojas. Es conveniente mantener la concentración del contenido total de alcaloides en la solución acuosa de acetato entre aproximadamente 4 y 5%,

Entonces la solución ácida acuosa fue neutralizada

342537



hasta un pH de 7 y el material que no se había disuelto fue separado por filtración y eliminado o desechado.

5 El pH de la solución transparente resultante fue elevado entonces hasta 8,0 y fue extraído muy rápidamente con disolvente de dicloroetano. Esta extracción se logra de la manera mas conveniente por etapas, tal como con 3 porciones, de 100 litros cada una, de dicloroetano. Los extractos en dicloroetano fueron entonces combinados y el disolvente fue evaporado en vacio, dejando como residuo
10 las bases de alcaloides en la cantidad de aproximadamente 10 kg.

Entonces, se añadieron al anterior residuo 10 litros de una solución en acetona de ácido clorhídrico. Se utilizó suficiente cantidad de ácido clorhídrico para lo-
15 grar la completa neutralización de las bases libres y para llevar a aproximadamente 5 al pH de la mezcla. La solución acidificada fue enfriada entonces hasta 10°C y fue dejada reposar durante 24 horas, después de lo cual se separó por cristalización el clorhidrato de pilocarpina y fue se-
20 parado por centrifugación. El clorhidrato de pilocarpina puede ser recristalizado, si se desea, para nueva purificación, por procedimientos convencionales.

A partir de las aguas madres resultantes, la acetona fue evaporada y los clorhidratos remanentes fueron con-
25 vertidos en las bases libres por la adición de carbonato de sodio, para llevar al pH a un valor entre aproximadamente 7,5 y 8.

Entonces las aguas madres alcalinas fueron extraí-
das con dicloroetano. El extracto resultante en dicloroe-
30 tano fue evaporado entonces en vacio, y el residuo fue tra-

342537



tado con una solución de ácido nítrico en acetona al 10%. La mezcla fue dejada reposar durante 24 horas a 10°C, lo cual dió como resultado la cristalización de isopilocarpina y de cualquier cantidad remanente de pilocarpina en la forma de los respectivos nitratos.

5

Las aguas madres resultantes fueron separadas y concentradas en vacío, y el pH fue elevado a 8 por la adición de solución acuosa al 10% de carbonato de sodio. Las aguas madres alcalinas fueron extraídas entonces con disolvente de dicloroetano y el dicloroetano resultante fue concentrado hasta sequedad en vacío, y se añadieron 6 litros de acetona.

10

La solución en acetona fue enfriada y, después de 24 horas, cristalizaron la pilosina y la isopilosina. Entonces, la pilosina y la isopilosina crudas fueron separadas por filtración y disueltas en 6 litros de ácido sulfúrico diluído, utilizando suficiente cantidad de ácido sulfúrico para asegurar que se disolviesen la pilosina y la isopilosina. La solución en ácido sulfúrico fue filtrada entonces a través de carbón vegetal, y se añadió suficiente cantidad de solución acuosa de carbonato de sodio a la solución transparente resultante para ajustar el pH de la solución dentro del margen entre aproximadamente 7,2 y 7,7. Es importante en esta operación un margen de pH de aproximadamente 7,2 a 7,7, ya que no tiene lugar ninguna precipitación sustancial de pilosina o isopilosina muy por debajo o por encima del margen de pH indicado.

15

20

25

30

El ejemplo anterior utiliza Jaborandi *Microphyllous* como manantial de los compuestos de pilosina, pero el invento no excluye la utilización de otros manantiales naturales

342537



en los que existan los compuestos de pilosina.

Ejemplo 2.- Para la isomerización de pilosina en isopilosina, 1 kg de la anterior mezcla pura fue introducido en 5 litros de una solución acuosa al 5% de hidróxi-
5 do de sodio. La mezcla fue calentada rápidamente hasta 100°C, después de lo cual se disolvió toda la pilosina. El material que no se había disuelto fue separado por filtra-
ción y al filtrado transparente se añadió una solución acuosa al 50% de ácido sulfúrico hasta que el pH descendió
10 a 1. La solución fue calentada entonces durante 10 minutos a 100°C, fue enfriada hasta 20-25°C, y se añadieron gradualmente 600 cm³ de una solución acuosa al 10% de hidró-
xido de sodio hasta que el pH llegó a 7,2-7,5. Entonces, la solución fue dejada reposar durante 20 horas, después
15 de lo cual estaba completa la cristalización de la isopilo-
sina. P de f. 178-180°C. α_D al 1% en alcohol = 39-40°.

El anterior producto fue recristalizado a partir de alcohol, después de lo cual el punto de fusión había
aumentado a 185-187°C.

Ejemplo 3.- Isopilosina seca fue suspendida en
20 dos volúmenes de alcohol isopropílico (la cantidad doble de alcohol isopropílico con relación al peso de la isopilo-
sina) y la solución fue calentada hasta 80°C. Se añadió a la anterior solución una mezcla de 1:1 en volumen de ácido
25 sulfúrico y alcohol isopropílico que contenía una cantidad estequiométrica del ácido, y la mezcla de reacción fue enton-
ces enfriada. Se obtuvo un precipitado de sulfato de iso-
pilosina. El precipitado fue separado por filtración y fue
secaño, y se obtuvo el sulfato puro con un rendimiento de
30 93%. Se obtuvo una nueva cosecha o tanda de 5% por la

342537



concentración de las aguas madres, de manera que el rendimiento total fue de 98% de la teoría. P. de f. 194-195°C; α_D al 4,45% en agua = + 21.

5 Se preparó tartrato de isopilosina de una manera similar. p. de f. 135-136°C; α_D al 3,8% en agua = 22,2°
También se pueden preparar otras sales activas por procedimientos similares a los del ejemplo 3, por ejemplo el clorhidrato, tal como resultará evidente para los técnicos en la materia.

10 Los siguientes ejemplos son ilustrativos de diversos preparados dermatológicos que se pueden preparar y utilizar de acuerdo con este invento, e incluyen lociones, champús, ungüentos y cremas.

	(i) Sulfato de pilosina /isopilosina	4
15	Alcohol de 50°	96
	(ii) Sulfato de pilosina/isopilosina	4
	Agua	96
	(iii) Tartrato de pilosina/isopilosina	4
20	Alcohol isopropílico	96
	(iv) Sulfato de pilosina/isopilosina	2
	Aceite de ricino	10
	Alcohol	88
25	(v) Sulfato de pilosina/isopilosina	4
	Aceite de ricino	10
	Champú	86
	(vi) Clorhidrato de pilosina/isopilosina	4
	Cetrimide (*)	4
30	Champú	92

342537



	(vii) Sulfato de pilosina/isopilosina	4
	Alcohol cetílico	5
	Agua	10
5	Poliétilen glicol como base para unguento	81
	(viii) Sulfato de pilosina/isopilosina	2
	Cetrimide (*)	2
	Aceite de ricino	5
	Lauril-sulfato de sodio	1
10	Alcohol cetílico	15
	Agua	35
	Parafina blanda blanca	40

(*) Una mezcla que contiene principalmente bromuro de tetradeciltrimetilamonio junto con menores cantidades de bromuros de dodecil- y hexadecil-trimetil-amonio.

Todas las lociones, champús, unguentos y cremas descritas en los precedentes ejemplos están dadas solo a título de ilustración. Se pueden preparar otras composiciones en las que sean diferentes las proporciones relativas del material activo y de los vehículos y agentes auxiliares. También se pueden emplear diferentes sales de pilosina y de isopilosina. Las composiciones también pueden estar en forma pulverulenta. También se pueden utilizar en mezcla con las mismas otros diversos materiales farmacológicos o dermatológicos, siempre que no interfieran con la utilidad o con la función de los compuestos de pilosina.

Los preparados de acuerdo con el invento son útiles, entre otras cosas, contra al acné y contra perturbaciones o afecciones del cuero cabelludo tales como Seborrhea Capitis, Defluvium Capillorum, Alopecia Areata, Psoriasis

342537



Capitis, y otras.

Los ensayos de toxicidad de la isopilosina dieron los siguientes resultados.

5	1.	DL ₅₀	((intravenoso)	= 144 mg/kg
	2.	DL ₅₀	(intraperitoneal)	= 470 mg/kg
	3.	DL ₅₀	(crema para la piel)	= 660 mg/kg
	4.	DL ₅₀	(peroral)	= 900 mg/kg

10 Se observa de esta manera que la isopilosina es esencialmente no tóxica. La toxicidad de las sales es incluso menor.

Los ensayos alergológicos por el método de Schelansky-Draize y ensayos con parche o emplasto, o al des
15 cubierto no han mostrado absolutamente ninguna sensibilización o irritación sobre 240 pacientes tratados.

En experimentos preliminares, realizados sobre 79 pacientes, la aplicación de sulfato de isopilosina en solución acuosa-alcohólica mostró un porcentaje extremada-
20 mente elevado de resultados positivos. Solo se habían escogido pacientes con casos graves, y que ya habían sido tratados sin éxito anteriormente con otros preparados.

El preparado utilizado para los ensayos era una solución al 4% en peso, transparente, inodora e incolora, de
25 sulfato de isopilosina en alcohol al 30%. A los pacientes que padecían de Seborrhea Capitis, Defluvium Capillorum y Psoriasis se les entregaron frascos de 50 cm³ de la anterior

30

342537



5 solución. Fueron instruídos para dividir el cuero cabelludo en cuatro zonas, y para frotar en días sucesivos separadamente una de éstas zonas de forma suave, dos veces por día, con un trozo de gasa o de algodón previamente sumergido en la solución. Por este procedimiento, cada una de las zonas era tratada cada cuatro días.

10 A los pacientes que padecían de Alopecia Areata se les aconsejó aplicar la solución solo sobre las zonas afectadas dos veces por día.

TABLA I

<u>Afección</u>	<u>Nº de pacientes</u>	<u>Marcadamente mejorados</u>	<u>Ningun cambio</u>
Seborrhea	27	21	6
15 Defluvium Capilorum	30	27	3
Alopecia Areata	13	9	4
Psoriasis Capitis	9	7	2
TOTAL	79	64	15

20 Tanto con Defluvium Capilorum como con Alopecia Areata se pudo observar un crecimiento incrementado del cabello. Este efecto era notable o sorprendente no solo en casos comunes de Alopecia Areata, sino también en cinco casos de Alopecia Gravis, que comenzaron en la forma de Ophiasis o en forma de una Alopecia Areata múltiple. Estos
25 cinco pacientes habían sido tratados anteriormente con diversas aplicaciones locales o por inyecciones intralesionales de esteroides y con CO₂, pero sin ningún resultado. Dos de estos cinco pacientes habían sido forzados a llevar una peluca.
30

342537



El primer nuevo crecimiento de cabello fue observado clínicamente a los 30-40 días después del comienzo del tratamiento.

5 Con el fin de excluir la posibilidad de factores psicológicos y de otros factores que pudieran influir sobre la causa de Seborrhea y Defluvium Capillorum, se realizó un doble ensayo a ciegas sobre un mayor grupo de pacientes.

10 Se prepararon 4 grupos de frascos (A, B, C y D) siendo desconocido el código o clave para los médicos que realizaron el ensayo. Los frascos de los grupos A y D contenían cada uno una solución al 4% de sulfato de isopilosina en alcohol de 30%, mientras que los frascos de los grupos B y C contenían cada uno solamente el vehículo. Se
 15 seleccionaron 48 pacientes con grave Seborrhea Oleosa, asociada en la mayor parte de los casos con Defluvium Capillorum y Pruritus. El tratamiento duró 4 meses. En la Tabla II se muestran los resultados de este doble estudio a ciegas, después de una observación de 4 meses.

20

TABLA II

<u>Solución</u>	<u>Nº total de pacientes</u>	<u>Marcadamente mejorado</u>	<u>Ninguna mejora</u>	<u>Dudoso</u>
A	14	9 (64%)	4	1
B	9	0	9(100%)	-
25 C	11	0	10 (91%)	1
D	14	9 (64%)	5	-

Estos resultados muestran claramente que solo se obtuvieron efectos positivos cuando la solución contenía sulfato de isopilosina.

30

342537



El efecto del sulfato de isopilosina se manifestó por la desaparición de la secreción oleosa del cuero cabelludo, quedando este último limpio y suave, por la desaparición del Pruritus y por la paralización del Defluvium y porque el cabello resultó visiblemente más denso. La mejora comenzó en un espacio de aproximadamente 2 semanas y alcanzó su máximo después de aproximadamente 4 semanas. Los pacientes habían experimentado frecuentemente tales buenos progresos que interrumpieron su tratamiento semanal con champú. Ninguno de los pacientes se lamentó de ningún efecto secundario. La interrupción del tratamiento durante el periodo de experimentación o después del mismo resultó seguida por nueva aparición de Seborrhea en el cuero cabelludo. Después de reanudar el tratamiento, desapareció de nuevo la Seborrhea.

Un número adicional de 102 pacientes, con diversas irritaciones y afecciones o enfermedades de la piel, incluyendo Seborrhic Alopecia del cuero cabelludo primitiva o aislada Seborrhic Alopecia del cuero cabelludo acompañada por acné de la cara y del pecho; Seborrhea oleosa del cuero cabelludo del tipo Seborrhic oriental; Alopecia acompañada por Pityriasis seca o grasa y Alopecia varones o Alopecia progresiva de las hembras, denominada "Hormonal Alopecia".

Todos los pacientes recibieron un frasco que contenía 4 g de sulfato de isopilosina y 50 cm³ de una mezcla de 90% de alcohol isobutílico y 10% de agua destilada. Los pacientes recibieron instrucciones de aplicar esta loción primero dos veces por día, y después una vez por día, con masaje enérgico y prolongado, utilizando un algodón



impregnado con la loción, y dividiendo la zona afectada o el cuero cabelludo en 10 partes. Una vez apareció una mejora notable, se instruyó a los pacientes para espaciar las aplicaciones a cada dos días.

5 Estos ensayos mostraron que la loción era tolerada de forma notablemente buena no solo por el cuero cabelludo sino también por la piel, incluyendo la piel de la cara a pesar de los antecedentes de irritación e intolerancia con productos conocidos anteriormente empleados por algunos de los pacientes.

10 Los signos funcionales, cuando existían (fuerte picazón, sensación de quemadura) cesaron después de la primera aplicación. El aspecto oleoso del cuero cabelludo seborreico acostumbrado o común se anuló gradualmente después de las dos primeras semanas del tratamiento, el cabello estaba mas "tonificado", era más resistente, y todos los pacientes coincidieron en que su cabello era más fácil de manejar. La pérdida de cabello disminuyó en la mayor parte de los casos entre la segunda y la cuarta semana de tratamiento.

15 Los resultados eran maximamente favorables en casos de Seborrheic Alopecia aislada, acompañada por acné. En casos de acné con predominancia de espinillas o microquistes se observó la desaparición del aspecto brillante, grasiento o seborreico de la piel así como una modificación física de las espinillas o de los micro-quistes, haciéndolos más accesibles a tratamientos terapeuticos tales como extracción. La facilidad de extracción de espinillas es máximamente constante y evidente mientras que la loción se encuentra en uso, incluso en casos de acné polimórfico.

342537

21 JUN.



5 En los casos de Alopecia progresiva en la hembra, o en el varón (Androide) o de Alopecia hermonal, los resultados no eran tan concluyentes como con las otras dolencias de la piel antes observadas pero el cabello de estos pacientes resultó mucho más fácil de peinar y estaban más "tonificados".

10 La loción era notablemente bien tolerada por todos los pacientes. En todos los pacientes sobre los que se ensayaron métodos alérgicos " proféticos" no se encontraron ni irritación ni reacciones tempranas o retardadas.

15 La presente solicitud que corresponde a la presentada en Israel con fecha 3 de Julio de 1966 bajo el Nº 26.082 se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

N O T A

20 Los puntos de invención propia y nueva, que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España por VEINTE años son los siguientes:

25 1.- Procedimiento para la recuperación de pilosina e isopilosina desde las hojas de Jaborandi Microphyllous, que comprende, en una primera operación, producir a partir de las hojas secas una solución de pilocarpina, isopilocarpina, pilosina, posiblemente isopilosina, por operaciones de extracción, a un pH desde aproximadamente 7,5 a
30 8,0 y a una temperatura de aproximadamente 45 a 55°C, y

342537



precipitar a partir de dichas soluciones, sales de adición de ácido de pilocarpina e isopilocarpina por acidificación con un ácido, y, en una segunda operación, ajustar el pH de las aguas madres remanentes de dicha primera operación a un pH entre 7,5 y 8,0, extraer con un disolvente inerte las aguas madres alcalinizadas de esta manera, concentrar en vacío el extracto resultante y cristalizar el compuesto de pilósina, contenido en el residuo, por adición de un disolvente polar.

2.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en que el producto cristalino de pilosina obtenido es purificado disolviendo en un ácido, tratando la solución ácida con carbón orgánico activado, ajustando el pH de la solución entre 7,2 y 7,7, y aislando el precipitado cristalino resultante de pilosina.

3.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en que dicha primera operación comprende impregnar el material herbáceo, secado y preferiblemente triturado, con un álcali débil a un pH de 7,5 a 8,0 extraer el material alcalinizado de esta manera con un disolvente no polar extraer de nuevo el extracto resultante con una solución ácida acuosa, ajustar el pH del extracto resultante hasta dentro del margen de 7,5 a 8,0, extraer la solución alcalina acuosa así obtenida con un disolvente clorado, separar el extracto resultante y evaporar el disolvente desde el mismo, tratar el residuo con un disolvente orgánico a una solución acuosa de ácido mineral para precipitar de esta manera una sal de adición de ácido deppilocarpina, reajustar las aguas madres remanentes a un pH dentro del margen de 7,5 a 8,0 extraer con un disolvente clorado la solución

342537



alcalinizada de esta manera, separar el extracto resultante y evaporar el disolvente desde el mismo, tratar el residuo con un disolvente orgánico o con una solución acuosa de ácido mineral y separar la sal de adición precipitada resultante de isopilocarpina y de pilocarpina residual.

5

4.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en que dicha primera operación comprende impregnar el material herbáceo, secado y preferiblemente triturado, con un álcali débil a un pH de 7,5 a 8,0, extraer el material alcalinizado de esta manera con un disolvente no polar, extraer de nuevo el extracto resultante con una solución ácida acuosa, ajustar el pH del extracto resultante dentro del margen de 7,5 a 8,0, extraer la solución alcalina acuosa así obtenida con un disolvente clorado, separar el extracto resultante y evaporar el disolvente desde el mismo, tratar el residuo con un disolvente orgánico o una solución acuosa de ácido mineral para precipitar de esta manera una sal de adición de ácido de pilocarpina, reajustar las aguas madres remanentes a un pH dentro del margen de 7,5 a 8,0

10

15

extraer la solución alcalinizada de esta manera con un disolvente clorado, separar el extracto resultante y evaporar el disolvente desde el mismo, tratar el residuo con un disolvente orgánico o una solución acuosa de ácido mineral y separar la sal de adición precipitada resultante de isopilocarpina y pilocarpina residual.

25

5.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en que la pilosina obtenida es tratada en una solución alcalina acuosa diluída para la isomerización de pilosina e isopilosina.

30

6.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación

342537



ción 2, en que el producto de pilosina obtenido es convertido en una sal de adición de ácido por reacción con un ácido mineral.

7.- Procedimiento para la recuperación de pilosina e isopilosina desde las hojas de Jaborandi microphyllous.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y con los fines que se han especificado.

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

Madrid, 21 JUN: 1968

P.A.

Alberto de Elzabeta
Por Poder.

342537