



431.193

Int. Cl.²: C08B, A61K

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

por "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UNA SAL DE SAPO-
NINA", a favor de la firma española LABORATORIOS MADAUS CE
RAFARM S.A., residente en BARCELONA, Regás nº 15.

=. . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

- La saponina escina se obtiene a partir de las se-
millas del castaño de indias, siendo empleada ampliamente
como substancia farmacológica en la medicina humana y vete-
raria como antiexudativo. La obtención de escina ácida
5. cristalizada a partir de semillas del castaño de indias es-
tá descrita, por ejemplo, en DT-AS 1 095 989. Sin embargo,
la escina ácida pura es muy poco hidrosoluble, limitando
esto el empleo terapéutico de esta valiosa substancia acti-
va. La hidrosolubilidad se puede aumentar en cierto grado
10. por amorfización de la misma (DT-PS 1 282 852).



La finalidad del invento es lograr un derivado de la escina, que además de presentar una hidrosolubilidad altamente elevada, se caracteriza por una notable absorción percutánea, estando por eso particularmente indicada para uso externo, por ejemplo, en forma de pomadas o geles con efecto de deshidratación de los edemas.

Se halló que por sulfatación de la escina se forma un éster ácido de la saponina con varios grupos sulfato que tras la transformación en una sal farmacológicamente adecuada posee en una gran medida la deseada combinación de propiedades.

Por lo tanto, objeto del invento, es un procedimiento para la obtención de la sal sódica del éster de la escina polisulfatada, caracterizado porque se disuelve la escina en un solvente orgánico - con propiedades de donador de electrones - y reacción con ácido clorosulfónico y paso, en la forma de por si ya conocida, del éster ácido de la escina polisulfatada obtenido a su sal sódica. Como disolvente orgánico se emplea preferentemente piridina, dioxano o formamida. La zona de temperaturas preferida para la reacción de sulfatado comprende los 50° hasta 100°C, en particular se trabaja con las temperaturas entre 70 y 90°C. Es práctico disolver primero el ácido clorosulfónico en piridina, refrigerando intensamente a la vez, para posteriormente mezclarlo a temperatura de reacción con la escina, a su vez disuelta en exceso de piridina.

En el procedimiento objeto de este invento se prolonga preferentemente el tiempo de sulfatado de la molécula de escina hasta que se incorpora a la molécula por



lo menos un 12 % del peso de azufre unido orgánicamente, en especial 11,2 hasta 14,4 % del peso y muy especialmente 12,8 % del peso de azufre unido orgánicamente, calculado en cada caso sobre la sustancia anhidra. El producto obtenido según el procedimiento del invento contiene por regla general 7 hasta 9, con preferencia aproximadamente 8, grupos sulfato en la molécula de escina formando con éster.

Las cantidades adecuadas de sustancias reaccionantes para la práctica del procedimiento según el invento, son por ejemplo, por 1 parte en peso de escina, 2,8 hasta 3,5, preferentemente 3,0, partes en volumen de ácido clorosulfónico y 8 hasta 20, preferentemente 10 hasta 15, partes en volumen del disolvente orgánico, en especial piridina. Sorprendentemente se ha comprobado que bajo las condiciones de reacción indicadas, se puede conseguir un producto de sulfatación de la escina con efectos farmacológicos extraordinariamente altos. Productos con otro grado de sulfatación muestran una acción biológica insuficiente.

El producto de sulfatación de la escina puede separarse de la mezcla de reacción por precipitación con alcoholes, en particular con etanol. A continuación se transforma en la sal sódica en la forma conocida, en particular por reacción con lejía sódica acuosa. Tras purificación se precipita la sal sódica del éster de la escina polisulfatada como polvo blanco parduzco, con punto de descomposición superior a 186° C. Esta sal es fácilmente soluble en agua, difícilmente soluble en metanol y prácticamente insoluble en etanol del 90 %.

Esta sal sódica del éster de la escina polisulfata

21 OCT 1954



- tada (a continuación denominado brevemente escina-PSNa) está particularmente indicada para el empleo percutáneo en el tratamiento de tumefacciones localizadas, consecutivas a alteraciones inflamatorias o degenerativas, y de lesiones traumáticas. Esta escina-PSNa, en esta forma de empleo externo, determina un estímulo nítido de la circulación sanguínea con simultánea inhibición de la coagulación sanguínea y un efecto antiflogístico. Está, por lo tanto, particularmente indicada para el empleo en forma de crema, gel, pomada, tinturas y formas parecidas con efecto antitrombótico y antiflogístico. Particularmente práctico puede ser también el empleo con asociación de escina no sulfatada. Las propiedades antiexudativas específicas de esta saponina se complementan de forma notable con las características antiflogísticas y antitrombóticas del derivado de la escina obtenido según el invento.
- 5.
 - 10.
 - 15.

La escina PSNa es un Heparinoide, es decir, una substancia con acción heparínica. Frente a la Heparina, la escina-PSNa (peso molecular aprox. 2000) se caracteriza por contener aprox. sólo 1/10 del peso molecular de la Heparina (~ 16000) y por ello penetra más fácilmente por la piel. La escina-PSNa tiene no sólo una acción antitrombótica y fibrinolítica, sino que también influye en la regeneración de las sustancias básicas del tejido conjuntivo y completa el efecto antiflogístico de la escina. Aquí se supone que la heparina y sobre todo el heparinoide de bajo peso molecular pueden, al almacenarse en las sustancias de unión del tejido conjuntivo, reaccionar contra el aumento del grado de polimerización y con ello disminuir la densidad de la

- 20.
- 25.

2100



5. fibra elástica, rebajándose así el grado de polimerización al estado inicial normal. Esto significaría una depolimerización o bien la sustitución de sustancias básicas del tejido conjuntivo. La escina-PSNa favorece por hidratación la capacidad de hinchamiento del tejido mesenquimal empobrecido en ésteres del ácido sulfúrico.

10. La toxicidad de la escina-PSNa es muy baja. En la determinación de la toxicidad aguda en el ratón tras inyección intravenosa (procedimiento según PRIGGE, R.W. SCHAEFER, en Arch. exper. Path. und Pharmakol. 191, 281 (1939), en asociación con L.C. MILLER y M.L. TAINTER, en Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 57, 261 (1944) se constata una DL_{50} de $2,1 \begin{matrix} + 0,13 \\ - 0,12 \end{matrix}$ g/kg. El correspondiente coeficiente DL_{50} obtenido en los ensayos en la rata, es de $1,2 \begin{matrix} + 0,07 \\ - 0,07 \end{matrix}$ g/kg, también en este caso por vía intravenosa. En la prueba de tolerancia en el conejo, tras inyección por vía intravenosa, se tolera bien por los animales de ensayo 100 hasta 500 mg/kg i.v. de escina-PSNa.

20. La tolerancia cutánea de la escina PSNa es muy buena; se realizó en cerdos enanos. Los valores de suero aparecidos en cada animal y entre ambos animales se halla dentro de los límites de variación fisiológicos ya conocidos de estos cerdos enanos: total de proteínas (unos 6,4), albúmina(55,8-61,6), globulina alfa₁ (1,7-3,7), alfa₂ (10,2-14,7), alfa₃ (3,2-4,2), beta (7,2 - 10,2), gamma (13,2 - 15,2), timol-test (0,5-1,0), colessterina total (54 - 94), colessterina libre (27 - 40), éster-colessterina (14 - 56), colessterina libre/éster-colessterina (0,68-2,9)

25.

21 OCT



5. colesterina-ester (23,4 - 93,5), fosfatidos total (84 - 94,5)
colesterina total/fosfatidos (0,64 - 1,03), fosforo lipoides
(3,6 - 4,0) ácidos grasos esterificados (114 - 150), grasa
total (233 - 265), hierro (93,0 - 118,8) GOT (22,9 - 31,9),
GPT (17,2 - 32,1).

10. Las pruebas experimentales de actividad y de la
absorción cutánea seguida por efectos antiinflamatorios así
como inhibición de la coagulación sanguínea se realizaron
a través de la "prueba de hematoma" así como por medición
de la temperatura de la piel por periflebitis y determina-
ción de los tiempos de absorción en hematomas subcutáneas
estandarizadas, así como con otros ensayos. En el "ensayo
de hematoma" se utiliza un habón intracutáneo (suero fisiológico),
cuya intensidad se determina antes y después del
15. tratamiento con escina-PSNa en función del tiempo con ayuda
de un aparato medidor múltiple. Se vió que las preparaciones
conteniendo escina-PSNa, por ejemplo en forma de gel, así
como las que contienen complementariamente escina no sulfa-
tada, son muy adecuadas para la absorción de hemorragias su-
20. periciales. También en las determinaciones por medición de
temperaturas de la piel sobre focos inflamatorios, así como
en la determinación de los tiempos de absorción de hematomas
internos inyectados artificialmente, los resultados de los
ensayos realizados con escina-PSNa fueron extraordinaria -
25. mente positivos.

EJEMPLO

A 8,5 litros de piridina se añaden lentamente y
bajo refrigeración, y con agitación lenta, 2,5 litros de
ácido clorosulfónico. Durante este proceso manténgase una



- temperatura inferior a 50°C. Tras la incorporación de todo el ácido clorosulfónico caliéntese a 75°C y a continuación añádanse 0,8 kg de escina disuelta en 2 litros de piridina. Seguidamente caliéntese a 85°C y sígase agitando a esta
5. temperatura durante 10 minutos escasos. Viértase a continuación la mezcla reaccionante a 70 litros de etanol precalentado y, rápidamente, enfríese a temperatura baja, preferentemente a temperaturas inferiores a -10°C. El éster que se forma, precipita como sustancia espesa de color de miel. Sifónese la mezcla de etanol-piridina y lávese repetidas veces el éster con etanol.
- 10.

Disuélvase por completo en agua el éster purificado y gradúese a un pH 7,2 mediante lejía sódica acuosa 2 normal. La escina-PSNa en forma de sal sódica se obtiene ahora mediante precipitación con alcohol y purificación.

15.

Paralelamente se pueden realizar los ejemplos con dioxano o formamida, como disolventes orgánicos con la propiedad de donador de electrones.

Ejemplo galénico 1

20.	Escina PSNa	2,00 kg
	Polímero de carboxivinilo (Carbo-pol 940)	2,00 kg
	Aceite de lavanda	0,35 kg
	Aceite de neroli	0,35 kg
	Trietanolamina	2,50 kg
25.	Isopropanol	27,00 kg
	Agua desmineralizada hasta	100,00 kg

Ejemplo galénico 2

Escina-PSNa	2,00 kg
Alcohol graso	2,00 kg

21 OCT. 1971



- | | | |
|----|-------------------------------------|-----------|
| | Cetilestearilsulfato sódico | 0,50 kg |
| | Eter poliglicólico de alcohol graso | 1,00 kg |
| | Aceite de parafina | 10,00 kg |
| | Aceite de lavanda | 0,1 kg |
| 5. | Ester (metílico, propílico) del | |
| | ácido parahidroxibenzoico | 0,2 kg |
| | Agua desmineralizada hasta | 100,00 kg |
- Ambas fórmulas pueden confeccionarse también con el empleo conjunto de escina-PSNa y escina no sulfatada (1:1) como sustancia activa.

10.

REIVINDICACIONES

Descrito el objeto del presente invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones.

15. 1.- Procedimiento para la preparación de una sal de saponina, en especial de la sal sódica de ésteres de la escina polisulfatada, caracterizado porque se disuelve la escina previamente en un disolvente orgánico con propiedades de donador de electrones, preferentemente piridina, dioxano o formamida y la disolución formada se hace reaccionar con ácido clorosulfónico a temperaturas por debajo de 100°C, transformando posteriormente la escina polisulfatada, precipitado en la reacción, a su sal sódica por neutralización con sosa.
- 20.
25. 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se conduce la reacción en forma tal que se introduce en la molécula de escina, durante el sulfatado de la misma, de 7 a 9, con preferencia 8 grupos sulfato formando el éster.

21 OCT



3.- Procedimiento para la preparación de una sal de saponina.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 9 hojas foliadas y escri-

5. tas a máquina por una sola cara.

Madrid, a 21 OCT. 1974

P.a.

JAIME ISERN
P. P.
[Handwritten signature]
JOSE L. MORA

MIA.

