

MINISTERIO DE INDUSTRIA  
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



Concedido el Registro de acuerdo  
con los datos que figuran en la pre-  
sente descripción y según el con-  
tenido de la Memoria adjunta.

ES

(11) NUMERO	(10) A 1
(21) 459.416	
(22) FECHA DE PRESENTACION	
2-6-1977	

5 OCT. 1976

**PATENTE DE INVENCION**

(30) PRIORIDADES:	(32) FECHA	(33) PAIS
(31) NUMERO		
23021/76	3-6-76	Gran Bretaña

(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL	(62) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C07G//A61K	

(54) TITULO DE LA INVENCION

"UN METODO PARA PRODUCIR UN EXTRACTO PURIFICADO DE RAIZ DE GINSENG"

(71) SOLICITANTE (S)

INVERNI DELLA BEFFA S.P.A. (U.K.No.23021/76)

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

Via Ripamonti 99, Milan 20141, Italia

(72) INVENTOR (ES)

Ezio Bombardelli

(73) TITULAR (ES)

(74) REPRESENTANTE

DON OSCAR DE ELZABURU FERNANDEZ (P-66.038)

1 Este invento se refiere a métodos para producir  
extractos de ginseng purificados y normalizados. Más espe-  
cíficamente, el invento se refiere a un método para purifi-  
car extractos de ginseng, a los extractos purificados así  
5 obtenidos y a un método analítico para normalizar los ex-  
tractos de ginseng.

Las raíces de ginseng (Panax ginseng, C.A. Mayer  
y otras especies) se emplean ampliamente en los campos far-  
macéutico, dietético y cosmético, bien como tales (por - -  
10 ejemplo pulverizados para la preparación de infusiones y -  
coccciones) o en forma de derivados tales como por ejemplo,  
extractos de varios tipos (por ejemplo extractos alcohóli-  
cos o acuosos bien en forma líquida o seca o atomizada).

En vista principalmente de la naturaleza varia-  
15 ble de las raíces, la falta de selectividad de los métodos  
de extracción disponibles y también la ausencia de un méto-  
do conveniente de análisis, los extractos actualmente dis-  
ponibles no tienen una constancia de actividad suficiente  
y por lo tanto el efecto de tratamiento.

20 Ahora los autores del presente invento han desa-  
rrollado un método de purificación que permite que se pro-  
duzcan extractos de ginseng de una forma directa que están  
enriquecidos en los principios activos del material de par-  
tida en un grado que no ha sido alcanzado hasta ahora y tam-  
25 bién un procedimiento analítico que permite que se contro-  
len estos principios activos, e incluso sus componentes in-  
dividuales.

Por lo tanto de acuerdo con un aspecto del pre-  
sente invento, se proporciona un método para obtener un ex-  
30 tracto purificado de raíz de ginseng que comprende poner

1       en contacto un extracto acuoso de raíz de ginseng con una resina de absorción sólida de forma que se absorban saponinas activas contenidas en el extracto sobre la resina, y eluir las saponinas activas de la resina.

5               Antes de eluir las saponinas activas, la resina de absorción sólida con las saponinas activas absorbidas en ella puede separarse del resto del extracto de cualquier forma conveniente, aunque preferiblemente la puesta en contacto con la resina y la separación se efectúa haciendo pasar el extracto acuoso a través de una columna o lecho de la resina.

10               Preferiblemente, la resina de absorción sólida comprende un polímero aromático, es decir un material polímero que contiene una pluralidad de grupos aromáticos (por ejemplo, benceno) unidos en una cadena polímera. Ejemplos específicos de resinas de absorción que pueden emplearse para llevar a cabo el procedimiento del invento son resinas de absorción de poliestireno, por ejemplo la resina de absorción de poliestireno reticulada "Amberlite XAD-2" vendida por Rohm and Haas, y las resinas de absorción de fenol-formaldehído, por ejemplo "Duolite S-30" vendidas por Diamond Alkali Company.

15               Es deseable que la resina de absorción sólida empleada para absorber las saponinas activas esté esencialmente libre de grupos fuertemente ácidos o básicos, de modo que evite absorber las impurezas iónicas contenidas en el extracto original. Es decir, la resina de absorción sólida no debe poseer preferiblemente propiedades de intercambio iónico fuerte.

20               Como se indica, la puesta en contacto del extracto

1 to acuoso de raíces de ginseng con la resina de absorción y  
la separación de la resina de absorción (y las saponinas ac-  
tivas absorbidas) del extracto restante se lleva a cabo pre-  
feriblemente haciendo pasar el extracto a través de una co-  
5 lumna o lecho de la resina de absorción.

Pueden emplearse varios eluyentes para recuperar las saponinas activas de la resina, pero se emplea preferi-  
blemente un alcohol inferior, bien tal cual o mezclado con  
agua y/u otros disolventes orgánicos.

10 Cuando la puesta en contacto inicial con la resi-  
na de absorción sólida se lleva a cabo haciendo pasar el ex-  
tracto a través de una columna o lecho de resina, la elu- -  
ción puede también efectuarse haciendo escurrir simplemente  
el disolvente de elución a través de la columna o lecho.

15 Preferiblemente, antes de poner en contacto el ex-  
tracto con la resina de absorción, el extracto se somete a  
uno o más tratamientos de purificación preliminares, por --  
ejemplo tratamiento con resinas de intercambio iónico y --  
otros materiales de absorción para efectuar una purifica- -  
20 ción preliminar por absorción de las impurezas en las resi-  
nas de intercambio iónico o materiales de absorción, perman-  
neciendo las saponinas activas en solución en el extracto.

25 El procedimiento del invento permite que se obten-  
gan extractos purificados de raíz de ginseng que están nota-  
blemente libres de las diversas sustancias inertes (sales,  
azúcares, fenoles, etc) que están presentes generalmente en  
los extractos en bruto de las raíces y también permite que  
se obtengan extractos que son más concentrados respecto al  
contenido de saponina activa. Por ejemplo pueden obtenerse  
30 extractos purificados que contienen en exceso el 50% en pe-

1 so de saponinas activas (expresadas como 6,20-diglucosil--  
-panaxatriol).

5 Con el fin de obtener los extractos purificados en forma seca, el disolvente de elución puede eliminarse --  
por métodos convencionales, por ejemplo desecación a vacío,  
atomización o liofilización. Generalmente los extractos se  
cos así obtenidos son perfectamente solubles en agua.

10 Los extractos purificados producidos de acuerdo con el invento pueden formularse en composiciones farmacéu-  
ticas mezclándolos con un diluyente o excipiente adecuado y dichas composiciones forman un aspecto adicional del pre-  
sente invento.

15 El contenido de saponina de los extractos puede controlarse por métodos colorimétricos, por ejemplo des- --  
pués de reacción con cloruro de antimonio en ácido percló-  
rico al 60% o por cromatografía en capa delgada empleando  
placas de gel de sílice y una mezcla de elución de cloro-  
formo, metanol y agua 65:35:10 (en volumen).

20 Estos métodos analíticos son relativamente imper-  
fectos y los autores del presente invento han desarrollado un método de análisis que es particularmente exacto y tam-  
bién permite que se determinen las proporciones relativas de las diversas saponinas que forman los principios acti-  
vos de los extractos de ginseng.

25 Por lo tanto de acuerdo con un aspecto adicional del invento, se proporciona un método para analizar un ex-  
tracto de ginseng que comprende someter el extracto de gin-  
seng a sililación para convertir las saponinas contenidas en el extracto en éteres de trimetilsililo, separar los ---  
30 éteres por cromatografía gas-líquido y detectar los éteres

1 separados.

Pueden emplearse técnicas de sililación conocidas para convertir las saponinas en éteres trimetilsilílicos, por ejemplo la reacción con una mezcla de trimetilclorosilano, N,O-bis-(trimetilsilil)-acetamida y trimetilsilimidazol.

Pueden emplearse varios métodos de detección para detectar los éteres separados, por ejemplo una técnica conveniente es la que emplea un detector de ionización de llama de hidrógeno. También puede emplearse un detector espectrográfico de masa.

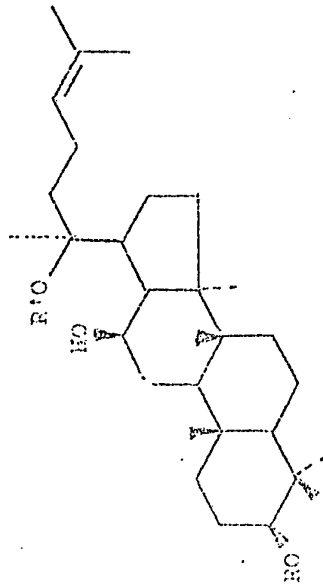
El método de análisis del invento permite estimar la presencia en los extractos de ginseng de las diversas saponinas activas tanto cualitativa como cuantitativamente. En particular han sido determinadas las saponinas activas conocidas denominadas Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rc, Rd, Re, Rf y Rg. Las estructuras de los componentes se da en la Tabla siguiente:

20

25

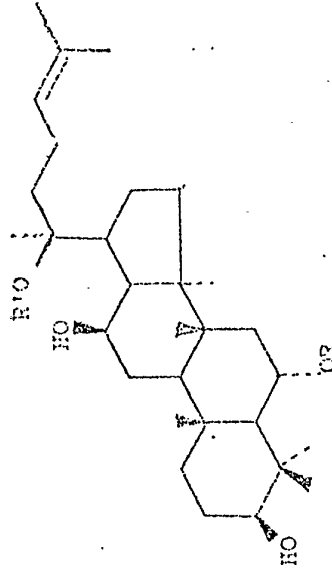
30

TABLA



20 S-Protoginsenosidiol R=R'=H

- Ginsenosida Rb<sub>1</sub> R=D-Glc-β (1→2)D-Glc-  
R'=D-Glc-β (1→6)D-Glc-
- Rb<sub>2</sub> R=D-Glc-β (1→2)D-Glc-  
R'=L-Ara(piranososa)β (1→6)-D-Glc-
- Rc R=D-Glc-β (1→2)D-Glc-  
R'=L-Ara(furanosa)β (1→6)-D-Glc-
- Rd R=D-Glc-β (1→2)-D-Glc-  
R'=D-Glc-



20 S-Protoginsenosidiol R=R'=H

- Ginsenosida Re R=L-Rha(1→2)D-Glc-  
R'=D-Glc-
- Rf R=D-Glc-β (1→2)-D-Glc-  
R'=D-Glc-
- Rg<sub>1</sub> R=D-Glc-  
R'=D-Glc-

Seponinas de Panax ginseng

1 La purificación de los extractos de ginseng de acuerdo con el presente invento se describirá con más detalle en los Ejemplos siguientes:

5 Ejemplo 1

Se extrajeron 10 kg de raíces trituradas de Panax ginseng tres veces a 60°C con agitación, con 50 litros de alcohol acuoso al 20%.

10 Los líquidos de extracción se concentraron hasta aproximadamente 30 litros y la solución se clarificó con "Celite" y se hizo pasar a través de una columna que contenía 3 kg de resina de absorción de fenol-formaldehído ("Duolite S-30").

15 La columna se lavó con agua hasta que no hubo residuo seco en el líquido de lavado y luego se eluyeron las saponinas con alcohol al 70%. El alcohol se eliminó por evaporación y el concentrado acuoso se liofilizó.

20 Se obtuvieron 250 g de extracto seco purificado de ginseng que tenía un contenido de 55% de saponinas.

Ejemplo 2

25 800 g de extracto hidroalcohólico seco de ginseng, que contenía 6% de saponinas, se disolvieron en 50 litros de agua. La solución se clarificó con Celite y se hizo pasar sobre 3,5 kg de resina de absorción de poliestireno ("Amberlite" XAD 2). Se efectuó la elución como se indica en el Ejemplo 1, empleando metanol al 60% como eluyente para las saponinas.

30 Después de liofilización, se obtuvieron 55 g de

1 extracto seco purificado de ginseng que tenía un contenido de 65% de saponinas.

### Ejemplo 3

5 10 kg de raíces finamente trituradas de Panax -- ginseng se extrajeron de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1.

10 El concentrado acuoso se cromatografió sobre una columna que contenía 1 kg de resina aniónica fuerte (sal de amonio cuaternaria) y a continuación sobre una columna que contenía 5 kg de la resina de absorción de poliestireno empleada en el Ejemplo 2.

La columna se lavó luego con agua desmineralizada hasta que el líquido de lavado no contenía residuo.

15 La columna se eluyó luego con metanol anhidro.

La solución de metanol se concentró hasta 1 litro, se diluyó con 0,5 litros de agua y se atomizó.

Se obtuvieron 200 g de extracto seco purificado que contenía 75% de saponinas.

20 Los extractos purificados de ginseng obtenidos -- como se ha descrito antes tienen toxicidad particularmente baja ( $DL_{50} = 600 \text{ mg/kg}$  intraperitonealmente y  $>1000 \text{ mg/kg}$  oralmente en ratas). Los extractos tienen una marcada actividad de estimulación sobre el sistema nervioso central y

25 aumentan la resistencia del organismo a la fatiga.

Los extractos pueden formularse en una amplia variedad de tipos de preparación farmacéutica. Por lo tanto pueden prepararse caramelos, cápsulas de gelatina blandas, cápsulas de gelatina duras, jarabes, ungüentos y tabletas

30 revestidas de azúcar. El producto puede emplearse solo o --



1 Ejemplo 7Ungüento

Se preparó un unguento, cada 100 gramos del cual  
 contenían los ingredientes siguientes:

5 Extracto de ginseng seco, purificado y normaliza-  
 do que contiene 60% de saponinas: 2 g

Excipientes (tween 80, laurilsulfato de sodio, es-  
 permaceti, mezcla de alcoholes grasos e hidrocarburos, lan-  
 lina hidrogenada, alginato de sodio, estearina, agua purifi-  
 cada) c.s. 100 g

15 Ejemplo 8Gránulos solubles

Extracto de ginseng seco purificado y normalizado  
 que contiene 60% de saponinas 40mg

Excipientes (manita, lactosa, sacarosa, aromati-  
 zantes) c.s. hasta 1 g

20 Ejemplo 9Gotas

Extracto de ginseng seco purificado y normalizado  
 que contiene 60% de saponinas 200mg

Excipientes (alcohol, propilenglicol, tween 80, -  
 agua purificada) c.s. hasta 10 ml

25

Ejemplo 10Ampollas liofilizadas

Extracto de ginseng seco purificado y normalizado  
 que contiene 60% de saponinas 10 mg

30 Excipiente (manita) 50 mg

1 Disolvente

Agua para inyección 2 ml

Los ejemplos siguientes ilustran el método analítico del invento:

5

Ejemplo 11

Se calentaron 20 mg del producto del Ejemplo 1 -- con 0,1 ml de TBT (mezcla de trimetilclorosilano, N,O-bis--(trimetilsilil)acetamida, trimetilsililimidazol 2:3:3) durante 10 minutos en una ampolla de tapón roscado con revestimiento de PTFE a 50°C en 0,1 ml de piridina.

1 mg de la solución resultante se analizó por cromatografía de gases en un cromatógrafo de gases aerógrafo - Varian 1400 equipado con un detector de ionización de llama de hidrógeno.

15

Se emplearon las condiciones siguientes:

Longitud de la columna 0,25 m

Fase estacionaria 0,5% de OV-101 (aceite de silicona-Supelco - Inc.)-Soporte Chromosorb WHP.100-120 mallas (Supelco Inc.)

20

Gas transportador Helio

Temperatura de la columna Programada desde 240°C hasta 320°C (8°C/min).

25

El cromatograma resultante se muestra en el dibujo que se acompaña, del cual puede verse que están bien separadas las diversas saponinas activas, lo que permite determinar el contenido de saponina de un extracto con mucha exactitud. Empleando esta técnica, el contenido de saponina de los extractos de ginseng puede controlarse fácilmente y ajustarse según se requiera para dar un producto nor--

30

1 malizado.

Los productos purificados del invento, particularmente cuando están normalizados como se ha descrito antes -- son particularmente ventajosos al permitir preparar formas farmacéuticas de bajo volumen y actividad constante elevada. 5 da.

Este aspecto es especialmente útil en el campo geriátrico, en el que los extractos actualmente disponibles, debido a su bajo contenido de saponinas activas, requieren la administración de dosis unitarias elevadas, y por lo tanto la preparación de formas farmacéuticas (cápsulas, caramelos, tabletas revestidas con azúcar, etc) de gran volumen -- que son poco aceptadas por los pacientes de edad avanzada -- que frecuentemente tienen dificultades de digestión. 10

15

#### REIVINDICACIONES

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 que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

25 1ª.- Un método para producir un extracto purificado de raíz de ginseng, que comprende poner en contacto un extracto acuoso de raíz de ginseng con una resina de absorción sólida de modo que se absorban las saponinas activas --  
30 contenidas en el extracto sobre la resina y eluir las saponi-

1  
  
  
  
5  
  
  
10  
  
  
15  
  
  
20  
  
  
25  
  
  
30

minas activas de la resina.

2<sup>a</sup>.-- Un método de acuerdo con la reivindicación 1<sup>a</sup>, en el que la resina de absorción sólida comprende un polímero aromático.

3<sup>a</sup>.-- Un método de acuerdo con la reivindicación 2<sup>a</sup>, en el que el polímero aromático comprende un poliestireno o una resina de fenolformaldehído.

4<sup>a</sup>.-- Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el extracto acuoso se pone en contacto con la resina de absorción sólida haciendo pasar el extracto a través de una columna o lecho de la resina.

5<sup>a</sup>.-- Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las saponinas activas se eluyen empleando un disolvente que comprende un alcohol inferior como eluyente.

6<sup>a</sup>.-- Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que antes de poner en contacto el extracto con la resina de absorción se somete dicho extracto a un tratamiento de purificación preliminar que comprende poner en contacto el extracto con una resina de intercambio iónico.

7<sup>a</sup>.-- Un método para producir un extracto purificado de raíz de ginseng.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, representado en los dibujos que se acompañan y para los fines que se han especificado.

**POOR  
QUALITY**

1

Esta Memoria consta de quince hojas escritas a maquina por una sola cara.

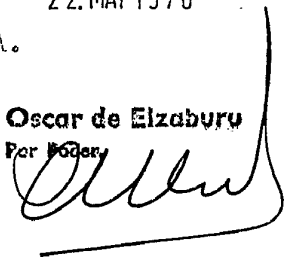
5

Madrid, 22. MAY 1978

P.A.

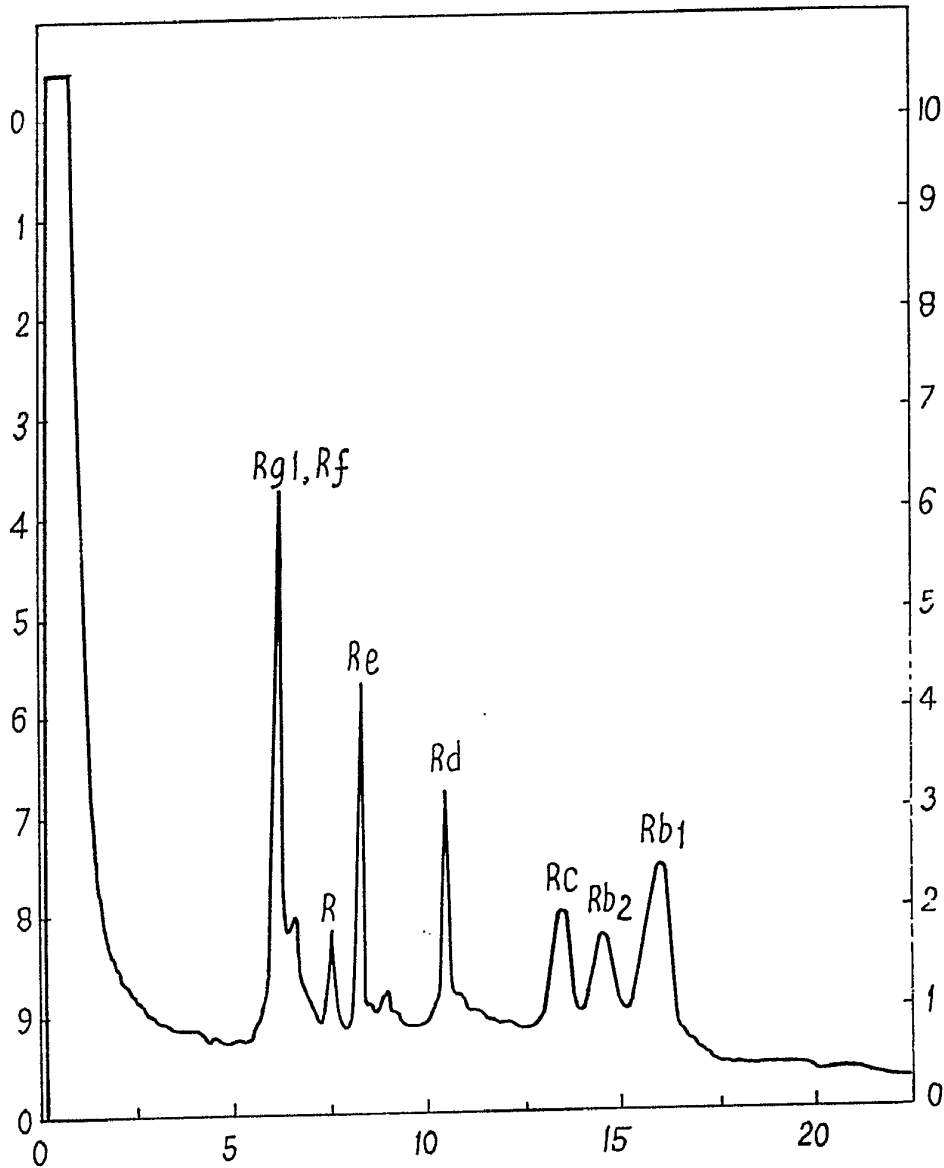
Oscar de Elizaburu

Per 1978



**POOR  
QUALITY**

1000



Oscar de Elkaburu  
For [unclear]