



PATENTE **221019**
DE
INVENCION **221019**

por "PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE SUBSTANCIAS ANTIBIÓ-
TICAMENTE ACTIVAS EXTRAIDAS DE PLANTAS CRUCIFERAS Y TROPEOLA-
CEAS", a favor de la firma alemana Dr. MAD AUS & Co., domicilia-
da en Köln-merneim (Alemania).

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención se refiere a un procedimiento para
la obtención de substancias antiobioticamente activas extraidas
de plantas crucíferas y tropeoláceas, particularmente de Tropaeo-
lum majus.

5 Es conocido que los aceites de mostaza presentan actividad
bacteriostática.

La peticionaria ha apreciado que la actividad antibiótica
de plantas que contienen aceite de mostaza, no preparadas quí-
micamente en manera alguna, es tan elevada que difícilmente pue-
10 de ser atribuida al contenido de aceites de mostaza conocidos.

Si se compara, por ejemplo, la actividad antibiótica del
aceite de mostaza alílico con la actividad de raices trituradas
del rábano picante (Cochlearia armoracia, de la familia de las
crucíferas), tendrían entonces estas que consistir en un 30%
15 de sinigrina, suposición completamente absurda.

31 MAR



221019

Lo mismo se muestra con una comparación de la actividad de
aceite de mostaza pencílico, que es calificado de única porción
de aceite de mostaza de la capuchina (*Tropaeolum maius*), de la
familia de las tropeoláceas, y del lepidio (*Lepidium sativum*,
5 de la familia de las crucíferas) y que representa la porción
que con mucho prepondera en el aceite de perro, obtenido median-
te destilación de vapor de agua, con la actividad de las propias
plantas. La acción antimicrobiana del aceite de mostaza penci-
lico es, con mucho, demasiado reducida para explicar los efectos
10 que emanan de la misma planta, a no ser que se admita para unas
partes de planta un contenido de un 10% de aceite de mostaza pen-
cílico. Con la determinación del aceite etéreo, según Kaiser-
Lang, resultan, no obstante, para partes de planta individuales
en estado desecado valores máximos de 0,5 a 0,7% de aceite etéreo.
15 Según estas investigaciones las sustancias volátiles de activi-
dad antibiótica, existentes en la planta, son de 30 a 40 veces
mas activas que los aceites de mostaza que se obtienen con la des-
tilación de vapor de agua o, respectivamente, que los correspon-
dientes aceites de mostaza sintéticamente producidos.

20 Anora bien, la solicitante ha logrado comprobar que es posi-
ble extraer estas sustancias altamente activas (que pasan anti-
bióticamente activas al cuerpo humano, volviendo a aparecer en
la orina, si se ingieren por vía bucal determinadas crucíferas
o tropeoláceas) de la planta con disolventes orgánicos o, respec-
25 tivamente, con grasas animales o vegetales, en forma nativa. De
este modo se puede obtener de la capuchina un extracto oleagino-
so que presenta un contenido de un 0,4% en aceite etéreo. Se pue-
de fijar el contenido en aceite etéreo como límite superior para
el contenido en sustancia antibiótica, puesto que las materias
30 activas desarrollan su completa actividad sobre el espacio gaseo-

221019



so. Por consiguiente, 0,4% de aceite etéreo ha de considerarse como límite máximo para el contenido en substancia antibiótica.

Este extracto presenta, con extracción de *Tropaeolum maius* contra *Staphylococcus aureus* Sg 511, una dilución límite del 1 : 1 000 000, si el extracto de aceite es emulsionado en el caldo de cultivo por Tween 80 (75,9% Tween 80, 15,4% de extracto de aceite de esperma galénico y 7,7% de agua destilata, como composición básica). Para tener relaciones rigurosamente comparables, ha sido disuelto 0,4% de aceite de mostaza benecílico sintético en el mismo aceite y emulsionado de la misma manera con Tween 80. La dilución límite quedó situada a 1 ; 25 000, o sea 40 veces mas baja que para el extracto galénico.

El límite de dilución para el destilado de vapor de agua, a base de *Tropaeolum maius*, si otra vez 0,4% de este aceite de berrero primero ha sido disuelto en el mismo aceite de esperma y emulsionado seguidamente con ayuda de Tween 80, quedó en el orden de magnitud del límite de dilución del aceite de mostaza benecílico, incluso algo debajo del mismo, de 1 : 20 000 hasta 1 ; 15 000, aproximadamente.

Relaciones en el mismo sentido pueden ser comprobadas para otras tropeoláceas y orucíferas.

Esta actividad aumentada queda invariadamente mantenida durante mas de un año en el extracto oleaginoso, mientras que la adición de medios de conservación de la naturaleza mas diversa (ácido benzóico, intensa acidificación pH 4.0 hasta pH 2,3) a la papilla de plantas frescas, si bien puede retardar la pérdida de actividad, no está, no obstante, en condiciones de impedir la, ni siquiera durante unas semanas.

Por lo tanto se logra, por la extracción con disolventes orgánicos, grasas animales o vegetales, extraer de la capuchina,



221019

del lépido, del rábano picante, etc., las materias activas anti-
 bióticas en la forma nativa, altamente activa, y estabilizarlas
 simultáneamente de modo que esta actividad, aumentada en compara-
 ción de la de los aceites de mostaza puros, quede invariada du-
 rante mas de un año.

El ancho espectro de actividad de estas materias inhibidoras
 así estabilizadas, y el elevado límite de dilución contra gérme-
 nes patógenos, están representados para la capuchina, como ejem-
 plo para las tropeoláceas, en la siguiente Table

T a b l a I

Espectro de actividad de las materias activas antiobióticas
 de Tropaeolum majus

10

Agente patógeno	número de las razas investigadas	mínima dosis inhibidora ₃ en γ / cm
Staphylococcus aureus	53	1,25-5,25
Streptoc.pyog.naemol. (Grupo A)	10	0,75-2,5
Streptoc.viridans (Tipo mitis)	3	0,5 -2,0
Streptoc.Faecalis	53	1,5 -6,0
Diploc.pneumoniae	3	1,0 -1,5
Corynebact.diphtheriae (Tipo gravis)	3	1,0 -1,75
" " (Tipo mitis)	3	1,0 -2,0
" " (Tipo intermedius)	1	1,5
Neisseria gonorrhoeae	1	0,5
Neisseria meningitidis	3	1,25-1,75
Haemophilus influenzae	2	1,25-2,25
Diploc.mucosus	3	2,0 -3,5
Listeria monocytogenes	2	2,25-4,25
Escherichia coli	53	1,25-7,5
Proteus mirabilis + vulgaris	53	1,0 -5,75
Salmonella typhi	3	2,0
Salmonella paratyphi B-	3	1,75-3,5
Salmonelas de los subgrupos B.C.D.	5	2,25-4,0
Shigella dysenteriae sonnei	2	3,0
Klebsiella pneum.	3	4,25
Bazillus anthracis	1	1,25
Clostridium tetani	2	0,75
Clostridium perfringens	3	1,0 -2,0
Bazillus subtilis	2	1,0 -1,5
Mycobact.tuberculosis (Tipo humanus)	6	10,0-20,0
" " (Tipo bovinus)	2	15,0-20,0
Monilia albicans	15	0,5 -2,25
Shigella Shigae	1	1,25

20

25

30

Bacterium pyocyaneum	53	400
Aspergillus niger	10	400
Penicillium glaucum	5	400



Para el rábano picante que aquí, además del lepidio, se cita a título de ejemplo de la familia de las crucíferas, resulta por ejemplo un espectro de actividad en el mismo sentido, pero que aun es completado porque *baet. pyocyanum* y unas razas del *Colibacilo* resistentes a materias activas de *Tropaelum maius*, reaccionan bien. También aquí se logra aislar del rábano picante, mediante disolventes orgánicos, grasas animales o vegetales, la substancia activa en forma invariada, es decir, con completa actividad y con idéntico espectro de actividad. Este espectro de actividad, no obstante, se distingue del de aceite de mostaza alílico e igualmente del de aceite de mostaza fenílico, que son indicados como componentes de destilado de vapor de agua, de las raíces del rábano picante. También para estos extractos oleaginosos, obtenidos con arreglo al procedimiento indicado de las raíces del rábano picante, se puede demostrar que resultan múltiplemente mas activas que los aceites de mostaza que se pueden comprobar en el destilado de vapor de agua. Sin embargo, se distinguen no solo en el espectro de actividad, de los aceites de mostaza que se pueden comprobar en el destilado de vapor de agua, sino que permiten asimismo apreciar un límite de dilución contra *Staphylococcus aureus* Sg 511, esencialmente mas alto, si se emulsiona el extracto oleaginoso o, respectivamente, una emulsión de aceite de mostaza fenílico, en el aceite de esperma con ayuda de Tween 80 en caldo de cultivo.

Lo mismo se puede demostrar para numerosas crucíferas uteriores, como: *Brassica oleracea* var. *botrytis* (coliflor), *Brassica oleracea* var. *capitata* (repollo), *Brassica rapa* (nabo o toñal), *Brassica oleracea* subvar. *sabauda* (berza de Savoia), *Brassica napus* (colza de verano), *Raphanus sativus niger* (rábano invernal), *Raphanus sativus* var. *radicula* (rábano encarnado), *Brassica*



221019^{31M}

oleracea var. capitata (Lombarda), Brassica nigra (mostaza negra), Sinapis alba (mostaza blanca), Alyssum (chubarda), Arabis alpina (berro de los Alpes), Aubrietia alpina (berro de los Alpes), Aubrietia bougainvillea, Cheiranthus allionii (alhelí),
 5 Cochlearia off. (cochlearia), Hesperis matronalis (viola nocturna), Iberis amara (carraspique umbelífero), Lunaria biennis (hoja de plata), Nasturtium off. (berro acuático).

Las sustancias antibióticas se encuentran en la droga o, respectivamente, en la planta fresca, no en forma libre, sino
 10 en enlace de glicósido, del cual son primero extraídas con ayuda de la microsinaasa, contenida en las plantas.

Según la invención, por lo tanto, primero son fermentadas sustancias vegetales secas o frescas, o los glicósidos previamente aislados, con la microsinaasa presente en la planta, o ad-
 15 cionada. Al efecto, por lo tanto, son disociados los glicósidos y liberadas las materias activas, particularmente compuestos a modo de aceite de mostaza. Seguidamente es sometido el material fermentado a una fermentación con disolventes para materias li-
 20 pófilas, como disolventes sintéticos, orgánicos, parafinas, aceites vegetales o animales. Con esta extracción pasan las materias nativas, de actividad antibiótica, sin sufrir una descomposición, en el medio de extracción, Por consiguiente, se obtiene de esta manera una solución de las materias de actividad anti-
 25 biótica que está suficientemente estabilizada frente a influencias exteriores, para poder ser almacenada como agente terapéutico.

E J E M P L O

10 Kg. de piezas de plantas secas, finamente trituradas, de crucíferas o tropeoláceas, son fermentados durante 2 horas
 30 con 10 l. de agua. Es recomendable no continuar la fermentación



221019

mas allá de dicho tiempo ya que de lo contrario se producen, eventualmente, por microbios que no son sensibles a las materias inhibidoras liberadas, fenómenos de fermentación que tienen como consecuencia una pérdida de actividad. Asimismo, se recomienda mantener los recipientes de fermentación con cierre hermético para evitar pérdida de actividad por evaporación de los antibióticos, fácilmente volátiles. Se recomienda emplear recipientes de vidrio, o vidriados, ya que, por ejemplo, en presencia de goma, se comprueba una pérdida de actividad probablemente debida a destilación isotérmica. Después de la fermentación se adiciona un 2% de ácido benzóico para impedir la fermentación durante la extracción. Seguidamente se adiciona el medio de extracción, precisamente en la proporción aproximada de 0.75 a 1 parte del medio de extracción por kilo de droga, a fin de obtener un extracto lo mas concentrado posible. De este modo se obtiene un extracto con un 4 a un 6 por mil, aproximadamente, de aceite etéreo, lo cual para la terapéutica se acerca a un óptimo. En la extracción se debe cuidar de un íntimo mezclado de la papilla vegetal fermentada, que contiene agua, con el aceite, empleando como medio mejor un enérgico dispositivo agitador. Puede darse por terminada la extracción al cabo de 48 horas, ya que con material vegetal finamente desmenuzado y un buen mezclado con el disolvente, el paso de la sustancia activa en el agente de extracción tiene lugar con extraordinaria rapidez. Ya después de 24 horas ha pasado la mayor parte, incluso en aceite muy viscoso.

Del mismo modo se puede obtener de cualesquiera especie de tropeoláceas y crucíferas las materias activas antibióticas con la actividad antibiótica total de las sustancias nativas e invariado aroma. También aquí se muestra la estabilidad de

221019

34M



5 las materias activas antibióticas en el mismo extracto, particularmente con empleo de grasas animales o vegetales o, respectivamente, parafinas. Siempre ha de preceder a la extracción una fermentación suficiente de las materias de contenido glicosídicas.

10 Las materias antibióticamente activas, disueltas en los disolventes lipófilos, a base de crucíferas y tropeoláceas, pueden encontrar en sí empleo terapéutico; también resulta posible, precisamente con miras a la existencia de una solución en materias lipófilas, incorporarlas en jabones, u otras bases de ungüentos, para de este modo llevarla a su empleo terapéutico.

N O T A

15 hecha la descripción del presente invento se hace constar, que esta solicitud se acoge a los beneficios de prioridad de la solicitud de patente alemana n. 22 623 IVa/30n., depositada en 2 de Abril de 1954, y que se declaran como nuevas y de propia invención las reivindicaciones siguientes:

20 1ª.- Procedimiento para la obtención de sustancias antibióticamente activas extraídas de plantas crucíferas y tropeoláceas, particularmente de lepidio, capuchina, rábano picante o similares, en invariada forma nativa y altamente activa, caracterizado porque se somete la sustancia vegetal seca o fresca a una fermentación siendo seguidamente extraído el material fermentado en una segunda fase con medios lipodisolventes, tales como aceites vegetales o animales, o parafinas, o con medios lipodisolventes sintéticos, y transpuesto en una forma



221019

estable.

2ª.- Procedimiento para la obtención de sustancias anti-
bióticamente activas extraídas de plantas crucíferas y tropeco-
láceas.

Según se describe y reivindica en la presente memoria que
consta de nueve hojas foliadas y mecanografiadas por una sola
cara.

Madrid, a 31 de Marzo de 1955.

Dr. MADDAUS & Co.

p. a.

JAVIER VILLANARVALLES
R. P.

A large, stylized handwritten signature in dark ink, appearing to read 'Javier Villanarvalles', is written over a horizontal line.