

14 NOV 1964

302407



Rehecha I

302407

14 NOV 1964

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se presenta para unir a la solicitud

d e

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

formulada el 24 de julio de 1.964, con el número 302.407

e n

E S P A Ñ A

por VEINTE años

a nombre de KALI-CHEMIE AKTIENGESELLSCHAFT, entidad alemana, establecida en Hans-Böckler-Allee 20, Hannover, República Federal Alemana, por:

"UN PROCEDIMIENTO PARA AISLAR UN ESTER DE ACIDO ISOVALERIONICO CON EFECTO SEDANTE CENTRAL"

Los preparados de Radix Valerianae que se encuentran hasta el momento en el comercio no se emplean sobre una determinada substancia activa. Se emplean como medio tranquilizador general, terapéuticamente con un espectro de actividad muy amplio. Su actividad sedativa central es en cualquier caso incontestable.

5

Extractos no acuosos, activos sedativamente a partir de raíces y troncos de Valeriana poseen además de una multiplicidad de hidrocarburos, cetonas, ácidos carboxilicos y alcoholes de la serie de los terpenos, una mez-

10



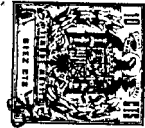
5 cla complicada de esteres. Si se saponifica tal mezcla de
manera usual, se pueden mostrar como componentes ácidos
en primera línea ácidos isovaleriánicos, mientras que los
correspondientes alcoholes se resinifican. Después de pro-
prias investigaciones aparecen en la valeriana substancias
que actúan excitante- y sedativamente.

10 El objeto del presente invento es la obtención
de esteres activos sedativos centralmente hasta ahora des-
conocidos, según un procedimiento técnicamente utilizable
y racional, por aislamiento cromatográfico de los mismos,
a partir de un extracto de valeriana no acuoso en un cam-
po de pH débilmente ácido, y de la separación así lograda
de las substancias que actúan como excitantes.

15 Es conocido que los esteres de ácido valeriani-
co de la valeriana se descomponen en los óxidos de alumi-
nio comerciales utilizados para la cromatografía. Contra-
riamente a ésto, se ha encontrado que la mezcla de este-
res se puede separar cromatográficamente, cuando se utili-
za como medio de absorción un óxido de aluminio parcial-
mente inactivo, por tratamiento con un ácido carboxílico
con uno a siete átomos de carbonos.

20 Para esta inactivación parcial se trata óxido
de aluminio neutral o básico (standardización según
Brockmann, descrita en Ber. dtsh. chem. Ges. 74(1941)
25 pag. 73-78) antes de su utilización, con un ácido carboxi-
lico de 1 a 7 átomos de carbón, eventualmente con adición
de dioxano o acetona o de un ester, tal como por ejemplo
acetato de amilo o monoacetato de glicerina, o mezclas de
éstos en disolventes anhidros y lipofilos. En esta parcial
30 inactivación del óxido de aluminio es importante que se

302407



22

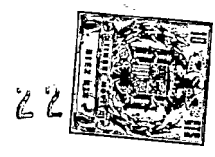
trabaje siempre en un medio anhidro. Si se hace reaccio-
nar por ejemplo un óxido de aluminio comercial con una di-
solución en exceso de 5 partes en volumen de acetico gla-
cial y 100 partes en volumen de n-heptano, o con una solu-
5 ción de 50 partes en volumen de monoacetato de glicerina
y 1 a 5 partes en volumen de acetico glacial y 200 partes
en volumen de acetona, tiene lugar con desprendimiento de
calor una reacción del óxido de aluminio con la solución
añadida. Subsiguientemente se lavan los componentes ácidos
10 con el mismo disolvente, que se utiliza para la elución del
ester. En un óxido de aluminio así inactivado, se pueden
cromatografiar los componentes sensibles de la valeriana
sin ninguna descomposición.

La elución de los esteres que actúan centralmen-
15 te sedativos se logra lo mejor con n-heptano, hexano, ci-
clohexano u otros disolventes de la primera zona de la se-
rie eluotropica o con una mezcla isoeluotropa correspon-
diente.

Se aconseja la siguiente forma de trabajo para
20 el aislamiento de los esteres, que actúan centralmente se-
dativos, hasta ahora desconocidos:

Un extracto de valeriana se añade sobre una co-
lumna con óxido de aluminio parcialmente inactivado y con
un disolvente no acuoso, preferiblemente con un disolven-
25 te de la primera zona de la serie eluotropa y/o se eluye
con una mezcla isoeluotropa correspondiente. Las primeras
fracciones se rechazan y las fracciones que contienen el
ester de ácido isovaleriánico, $C_{22}H_{30}O_8$, que está carac-
terizado por las propiedades seguidamente citadas, son
30 tratadas de manera usual.

302407



A éste ester de ácido isovaleriánico, que actúa centralmente sedativo, hasta ahora desconocido, se asigna en primera línea la acción sedativa de la droga de valeriana. Del análisis por combustión y del cálculo crioscópico de peso molecular en benzol resulta para éste la fórmula empírica $C_{22} H_{30} O_8$. Representa un aceite incoloro altamente viscoso de olor aromático y sabor algo jabonoso, amargo y ardiente.

10 $\alpha_D^{28} = + 167^{\circ}$ (en metanol; $c = 1.035$
 $l = 1 \text{ dm}$)

$n_D^{20} = 1,4933$

15 Espectro UV: $\lambda_{\max_1} = 256 \text{ m}\mu$ ($\epsilon = 15.010$) en metanol
 $\lambda_{\max_2} = 204 \text{ m}\mu$ ($\epsilon = 3.800$) en metanol

Como caracterización del ester pueden servir las siguientes reacciones:

20 Si se agita una solución del ester en bencina, con una solución de ácido acético y ácido clorhídrico, tiene lugar instantáneamente la disolución del ester como colorante azul intensivo en la fase ácida. Con una ejecución cuidadosa de esta reacción se puede observar, que
 25 transcurre a través de una etapa intermedia amarilla.

Los siguientes ejemplos sirven para la explicación del invento, sin limitarse a ellos.

Ejemplo 1: Se pusieron en suspensión 550 g. de óxido de aluminio de la fase de actividad III, según
 30 Brockmann, con una disolución consistente en 600 ml de

302407



n-heptano y 30 ml. de acetico glacial en un matraz
 Erlenmeyer, con agitaci3n. Se observ3 un calentamiento de
 la mezcla hasta 30°C aproximadamente. Se dej3 quieta la
 mezcla a 20°C durante 24 horas y se aÑadi3 en una columna
 5 de 700 mm. de altura y 30 mm. Ø. Seguidamente se lav3 con
 n-heptano hasta que el l3quido de lavado seÑal3 en un pa-
 pel de pH humedecido francamente el pH = 4,5.

Se disolvieron 5 g. de un extracto metan3lico de
 raices y troncos de raices de valeriana india, enriqueci-
 10 do en esteres de 3cido isovaleri3nico, seg3n la solicitud
 de patente espaÑola n3 295.377/64 en un poco de n-heptano,
 y se aÑadieron en la columna. La eluci3n tuvo lugar con
 n-heptano. La velocidad de goteo supuso 40 gotas por minu-
 to.

15 Se tomaron 100 fracciones cada una de 50 ml. El
 control de las fracciones individuales tuvo lugar cromato-
 gr3ficamente en capa delgada.

Las sustancias de las fracciones desde 0 a 24
 no mostraron en el ensayo en animales ninguna actividad
 20 sedativa. Las fracciones 25-60 conten3an 1,4925 g. =
 29,85% de una sustancia unificada que en los ensayos en
 animales actu3 muy fuertemente sedativo.

F3rmula bruta: C₂₂ H₃₀ O₈
 PM cal.: 422,46; C cal.: 62,54; H cal.: 7,15;
 25 O cal.: 30,31
 PM enc.: 429,0; C enc.: 62,76; H enc.: 7,32;
 O enc.: 29,92
 (Crioscopico en benzol)



27

28

α = + 178° (en benzol; c = 1,089; l = 1 dm)
 = + 167° (en metanol; c = 1,035; l = 1 dm)

D

5

20

n = 1,4933

D

Espectro UV: λ_{max_1} = 256 m μ (ϵ = 15.010) (en metanol)

10

λ_{max_2} = 204 m μ (ϵ = 3.800) (en metanol)

Los espectros IR y NMR del ester están anejos en los dibujos (fig. 1 - espectro IR; fig. 2 - espectro NMR).

Ejemplo 2: Se inactivaron 300 g. de óxido de

aluminio (fase de actividad I según Brockmann) con 15 ml.

de acetico glacial y 300 ml. de n-heptano, análogamente

15

al ejemplo 1, y se añadieron sobre una columna de 30 mm.

de diámetro y 700 mm. de altura; para el lavado del ácido

acético en exceso se utilizaron 2.500 ml. de una mezcla de

85 partes en volumen de n-heptano y 15 partes en volumen

de etil-metil cetona. La columna tenía un pH de 4,0-4,5.

20

Se disolvieron 2,1 g. de una mezcla de esteres

de ácido isovaleriánico aceitosos, coloreados de amarillo

claro, obtenidos según el procedimiento de la solicitud

de patente española nº 295.377/64 en un poco de n-heptano,

etilmetilcetona (85 Vol. n-heptano : 15 Vol etilmetilceto

25

na) y se añadieron sobre la columna. La elución tuvo lugar

con n-heptano/etilmetilcetona, la velocidad de goteo fue

de 30 gotas/minuto, y la temperatura 20°C. Después de una

fracción de cabeza de aproximadamente 500 ml., se tomaron

30 fracciones cada una de 20 ml. El ester activo sedativa

30

mente se encontraba principalmente en las fracciones 3-5.

3°2407



Estas se reunieron, se desacidificaron con una disolución de bicarbonato sódico al 5%, se lavaron con agua, se secan sobre sulfato de magnesio y se concentraron en vacío a una temperatura por debajo de 30°C. Rendimiento: 0,900 g. = 42,0% de ester puro con la fórmula empírica $C_{22}H_{30}O_8$.

La desviación óptica, el índice de refracción, el peso molecular y los espectros UV, IR y NMR coinciden con los correspondientes valores del ejemplo 1.

Ejemplo 3: Se inactivaron 250 g. de óxido de aluminio (fase de actividad I según Brockmann) con una mezcla consistente en 200 ml. de acetona, 50 ml. de monoacetato de glicerina y 1 ml. de acético glacial, análogamente al ejemplo 1. Después de una permanencia de 24 horas a la temperatura ambiente se colocó la suspensión en una columna de 30 mm. de diámetro y 330 mm. de altura, se dejó salir el disolvente en exceso y se lavó con 500 ml. de n-heptano.

Se disolvieron 5 g. de un extracto en éter de petróleo, coloreado de marrón neutral, de Radix valerianae de procedencia india, en un poco de n-heptano, se añadieron sobre la columna y se dejaron absorber. La elución tuvo lugar con n-heptano; la velocidad de goteo fue de 40 gotas por minuto y la temperatura 22°C.

Se tomaron 50 fracciones cada una de 25 ml. Las fracciones reunidas 24-50, proporcionaron después de desacidificar con una solución de bicarbonato al 5%, lavar con agua, secar sobre sulfato de sodio y concentrar en vacío, 1,767 = 35,3% de producto puro con la fórmula empírica $C_{22}H_{30}O_8$.

302



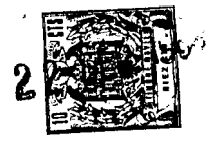
La desviación óptica, el índice de refracción, el peso molecular y los espectros UV, IR, y NMR coincidían con los correspondientes valores del ejemplo 1.

5 Ejemplo 4: Se añadieron lentamente 3.000 g. de Al_2O_3 (fase de actividad I según Brockmann), en un tubo de vidrio de 100 mm. de diámetro y 1200 mm. de altura, impidiendo la formación de burbujas, a una mezcla de 2.400 ml. de acetona, 600 ml. de monoacetato de glicerina y 12 ml de acético glacial.

10 Después de gastar homogéneamente el óxido de aluminio y de disminuir la tonalidad de calor positiva que aparece por la reacción del óxido de aluminio con la mezcla de disolvente, después de dejar salir la mezcla de disolvente se lavó con hexano. Se prolongó la adición de hexano, hasta que el eluato de lavado, resultante por agitación contra un volumen igual de agua, permaneció volumétricamente constante, y la fase acuosa mostró un pH de 4-5.

20 Se disolvieron 150 g. de una mezcla de éster, que había sido obtenida a partir de raíces de valeriana india, según el procedimiento de la solicitud de patente española nº 295.377/64, en 150 ml. de hexano y se añadieron sobre la capa de la columna. Después de penetrar la solución se comenzó la elución por medio de hexano. El control de las fracciones de eluato tomadas tuvo lugar cromatográficamente en capa delgada. Las fracciones puras que contenían sustancia activa se reunieron, se lavaron libres de ácidos con agua y con solución de carbonato sódico al 1%, se decoloraron con carbón animal y se secaron sobre sulfato de magnesio. A partir de las fracciones pu-

30



ras concentradas se obtuvieron 43,2 g. = 28,80% de ester puro como un aceite incoloro altamente viscoso.

La desviación óptica, el índice de refracción, el peso molecular y los espectros UV, IR y NMR coincidían con los correspondientes valores del ejemplo 1.

Ejemplo 5: Se inactivaron parcialmente 3.000 g. de Al_2O_3 de la fase de actividad I según Brockmann, bajo las mismas condiciones que las descritas en el ejemplo 4. Sin embargo, en este caso se lavó, en lugar de con hexano, con bencina (zona de evaporación: 50-75°C), hasta que el eluato de lavado resultante permaneció volumétricamente constante por agitación contra un mismo volumen de agua, y la fase acuosa mostró un pH de 4-5. Se disolvieron 150 g. de la misma carga de la mezcla de esteres empleada en el ejemplo 4, en 150 ml. de bencina, y se añadieron sobre la columna. Después de la penetración de la solución comenzó la elución por medio de bencina. El control de las fracciones de eluato tomadas tuvo lugar cromatográficamente en capa delgada. Se reunieron todas las fracciones puras que contenían sustancia activa, se lavaron libres de ácido con agua y con solución de bicarbonato sódico al 1%, se decoloraron con carbón animal, y se secaron sobre sulfato de magnesio. A partir de las fracciones puras se obtuvieron 39,3 g. = 26,2% de ester puro como aceite incoloro.

La desviación óptica, el índice de refracción, el peso molecular y los espectro UV, IR y NMR coincidían con los correspondientes valores del ejemplo 1.

Ejemplo 6: Se añadieron lentamente 500 g. de Al_2O_3 de la fase de actividad I según Brockmann, en un tubo de vidrio de 30 mm. de diámetro y 800 mm. de altura,

302407



impidiendo la formación de burbujas a una mezcla de 400 ml. de acetato de amilo, 100 ml. de monoacetato de glicerina y 2 ml. de acetico glacial. Después de gastar homogéneamente el $Al_2 O_3$ y de disminuir la tonalidad de calor positiva que aparece por la reacción del $Al_2 O_3$ con la mezcla de disolventes, se dejó salir despacio la mezcla de disolventes, y se lavó la carga de la columna con n-heptano. Se prosiguió la adición de n-heptano hasta que el eluato de lavado permaneció volumétricamente constante por agitación contra un volumen igual de agua, y la fase acuosa mostró un pH de 4-5. Se disolvieron seguidamente 5 g. de la mezcla de esterés, utilizada en el ejemplo 4, en 5 ml de una mezcla de 9 volúmenes de n-heptano y un volumen de acetato de amilo, y se añadieron sobre la capa de la columna. Después de la penetración de la solución se comenzó la elución por medio de n-heptano. El control de las fracciones de eluato tomadas tuvo lugar como en el ejemplo 5.

Se reunieron seguidamente todas las fracciones puras que contenían substancia activa, se lavaron libres de ácido con agua y con solución en bicarbonato sódico al 1%, se decoloraron con carbón de animal y se secaron sobre sulfato de magnesio. A partir de las fracciones puras concentradas se obtuvieron 1,46 g. = 29,2% de ester puro, cuya desviación óptica, índice de refracción, peso molecular, y espectros UV, IR y NMR, coincidían con los correspondientes valores del ejemplo 1.

Ejemplo 7: Se suspendieron despacio con agitación 1.500 g. de $Al_2 O_3$ de la fase de actividad I según Brockmann, en una mezcla de 570 ml. de dioxano, 250 ml. de

200 107



monoacetato de glicerina, 250 ml. de hexano y 80 ml. de acetico glacial. Después de disminuir la tonalidad de calor positiva se virtió la suspensión en una columna de 40 mm. de diámetro y 1.400 mm. de altura, se separó la mezcla de disolvente y se lavó con hexano. Se prosiguió el lavado de la columna con hexano hasta que el eluato de lavado resultante permaneció volumétricamente constante por agitación contra un volumen igual de agua, y la fase acuosa mostró un pH de 4-5. Se disolvieron seguidamente 22,3 g. de una mezcla de esteres de ácido isovaleriánico, obtenida a partir de raíces de valeriana india según el procedimiento de la solicitud de patente española nº 295.377/64, en una mezcla de 17 ml. de hexano y 3 ml. de dioxano, y se añadieron sobre la capa de columna. Después de la penetración de la solución se comenzó con la elución por medio de hexano. El control de las fracciones de eluato tomadas tuvo lugar como en el ejemplo 5.

Se reunieron seguidamente todas las fracciones puras que contenían substancia activa, se lavaron libres de ácido con agua y solución de bicarbonato sódico al 1%, se decoloraron con carbón animal y se secaron sobre sulfato de magnesio. A partir de las fracciones puras concentradas se obtuvieron 13,95 g. = 60,0% de ester puro. La desviación óptica, el índice de refracción, el peso molecular y los espectros UV, IR y NMR coincidían con los valores correspondientes del ejemplo 1.

Ejemplo 8: Se suspendieron, despacio con agitación, 500 g. de $Al_2 O_3$ de la fase de actividad I según Brockmann en una mezcla de 400 ml. de acetona, 100 ml. de monoacetato de glicerina y 20 ml. de ácido n-butirico.

302407



Después de disminuir la tonalidad de calor positiva se
virtió la suspensión en una columna de 30 mm. de diámetro
y 1.000 mm. de altura, se dejó salir la mezcla de disol-
vente, y se lavó con hexano. Se prosiguió el lavado de la
5 columna con hexano hasta que el eluato de lavado resultan-
te permaneció volumétricamente constante con agitación
contra un volumen igual de agua, y la fase acuosa mostró
un pH de 4-5. Se disolvieron seguidamente 6,3 g. de una
mezcla de esteres de ácido isovaleriánico, obtenida según
10 el procedimiento de la solicitud de patente española nº
295.377/64 a partir de raíces de valeriana india, y se
añadieron sobre la capa de la columna. Después de la pe-
netración de la solución se comenzó con la elución por me-
dio de hexano. El control de las fracciones de eluato to-
15 madas tuvo lugar como en el ejemplo 5.

Seguidamente se reunieron todas las fracciones
puras que contenían substancia activa, se lavaron libres
de ácido con agua y solución de hidroxido sódico al 1%,
se agitaron con solución tampón de fosfato (Sörrensen)
20 de pH 4,9 y después de decoloración con carbón animal, se
secaron sobre sulfato de magnesio. A partir de las frac-
ciones puras concentradas se obtuvieron 2,0 g. = 31,7% de
ester puro.

La desviación óptica, el índice de refracción,
25 el peso molecular y los espectros UV, IR y NMR coincidían
con los valores correspondientes del ejemplo 1.

Ejemplo 9: Se suspendieron despacio con agita-
ción, 300 g. de Al_2O_3 de fase de actividad I según
Brockmann en una mezcla de 240 ml. de acetona, 60 ml. de
30 monoacetato de glicerina y 6 ml de ácido propiónico. Des-

302407



pués de disminuir la tonalidad de calor positiva se vir-
tió la suspensión en una columna de 30 mm. de diámetro y
500 mm. de altura, se dejó salir la mezcla de disolvente
y se lavó con hexano. Se prosiguió el lavado de la colum-
5 na con hexano hasta que el eluato de lavado resultante per-
maneció volumétricamente constante con agitación contra un
volumen igual de agua, y la fase acuosa mostró un valor
de pH de 4-5.

Se disolvieron seguidamente 3 g. de una mezcla
10 de esteres de ácido isovaleriánico obtenida, a partir de
raíces de valeriana india, según el procedimiento de la so-
licitud de patente española nº 295.377/64, en 10 ml. de
hexano y se añadieron sobre la capa de la columna. Des-
pués de la penetración de la solución se comenzó con la
15 elución por medio de hexano. El control de las fracciones
de eluato tomadas tuvo lugar como en el ejemplo 5.

Todas las fracciones puras que contenían substan-
cia activa se reunieron seguidamente, se lavaron libres de
ácido una vez con solución de hidróxido sódico al 1% y
20 dos veces con agua y una vez con solución de fosfato de
hidrógeno y potasio (según Sörrensen: pH 4,9), se decolo-
ró con carbón animal y se secó sobre sulfato de magnesio.
A partir de las fracciones puras concentradas se obtuvieron
0,9.099 g. = 30,33% de ester puro.

25 La desviación óptica, el índice de refracción,
el peso molecular y los espectros UV, IR y NMR coincidían
con los correspondientes valores del ejemplo 1.

La presente solicitud que corresponde a la pre-
sentada en la República Federal Alemana, el 27 de julio
30 de 1.963, bajo el número K 50367 IVa/30h, se acoge a los

302407



beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre
Propiedad Industrial.

5

N O T A

Los puntos de invención propia y nueva que se
presentan para que sean objeto de esta solicitud de Paten
10 te de Invención en España, por VEINTE años, son los si-
guientes:

1. - Un procedimiento para aislar un ester de
ácido isovaleriánico con efecto sedante central, caracte-
rizado, por que se cromatografía un extracto de valeriana
15 no acuoso sobre óxido de aluminio, parcialmente inactiva-
do por tratamiento con ácidos carboxílicos con 1 a 7 áto-
mos de carbono, eventualmente con adición de un ester o
acetona o dioxano o mezclas de éstos, en un medio anhidro,
y se eluye el ester que actúa centralmente sedativo con
20 un disolvente no acuoso, preferiblemente con un disolven-
te de la primera zona de la serie eluotropa o con una mez-
cla isoeluotropa correspondiente.

2. - Un procedimiento para aislar un ester de
ácido isovaleriánico con efecto sedante central.

25 Tal y como se ha descrito en la Memoria que an-
tecede, representado en el dibujo que se acompaña y para
los fines que se han especificado.

302407



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

Madrid,

14 NOV. 1964

P. A.

Alberio de Elizaburu
Por Pedat

302407
302407

G.D.S.

- 15 -

M Ch

302407

002407

HOJA UNICA



Fig: 1

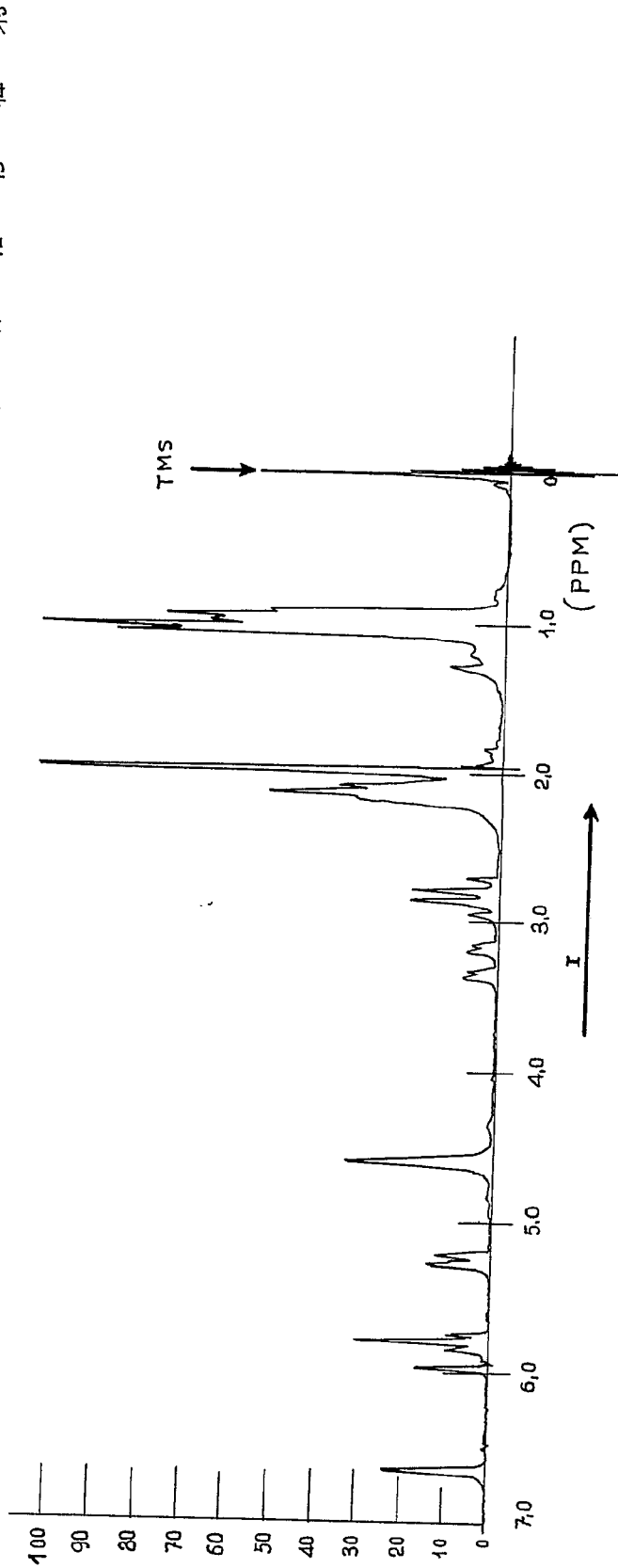
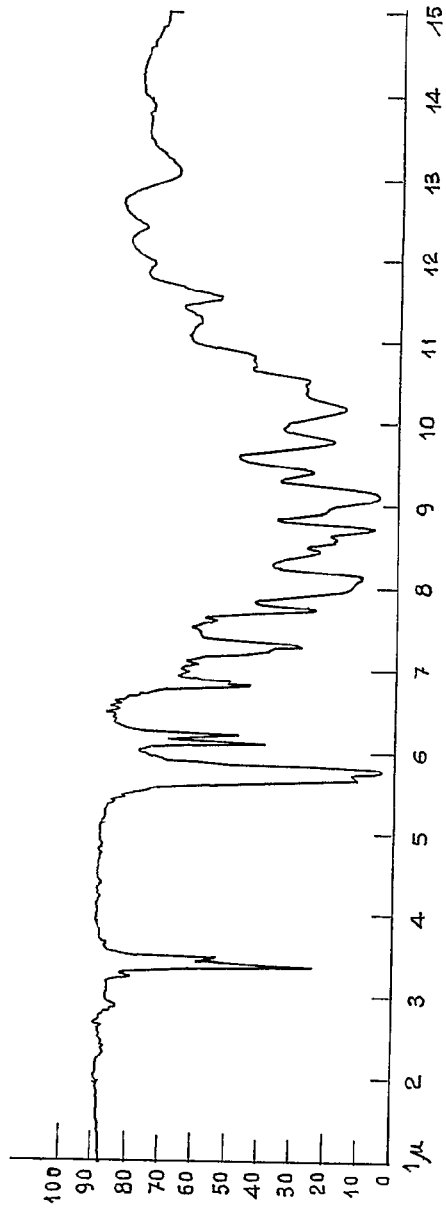


Fig: 2

ESCALA VARIABLE

Arden

302407

Fig: 1

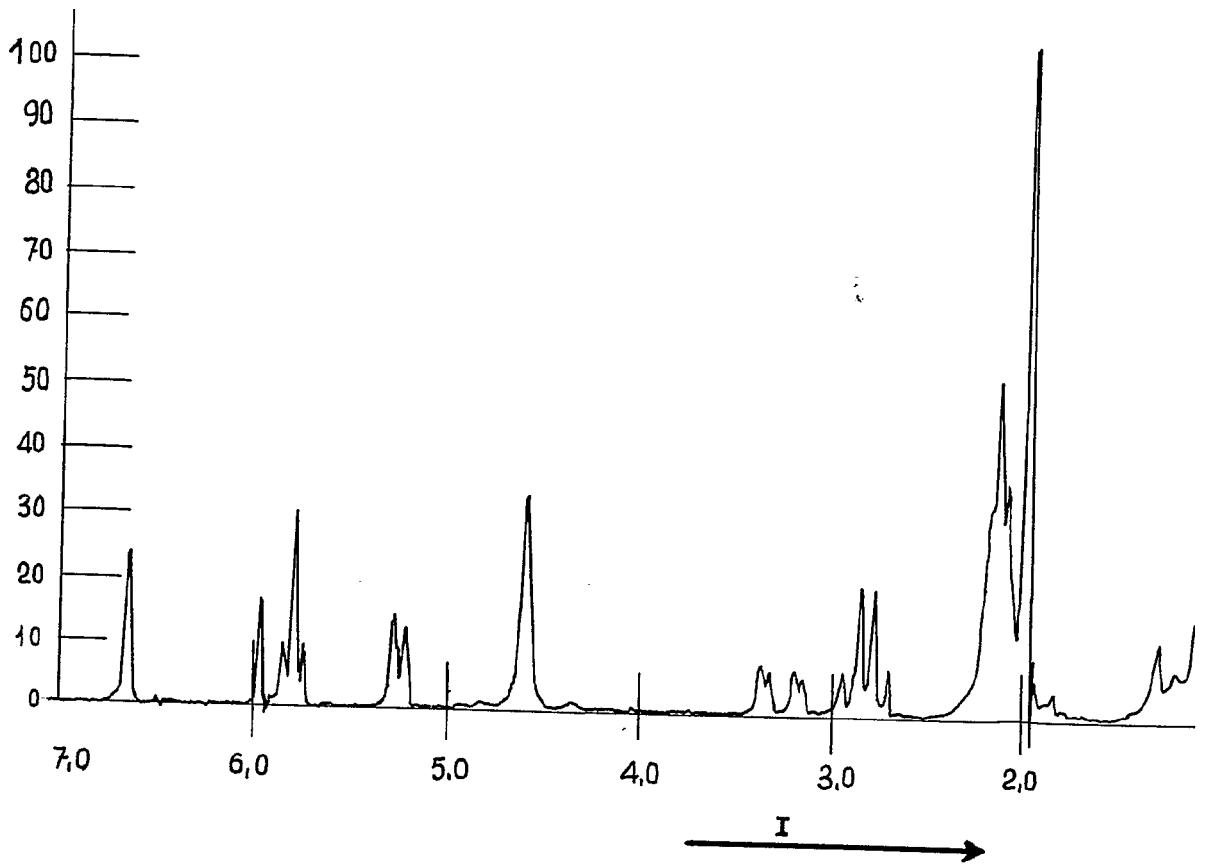
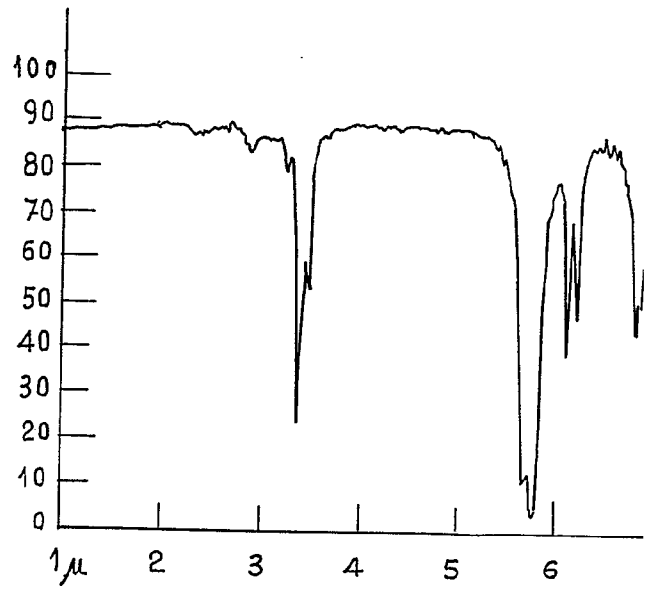


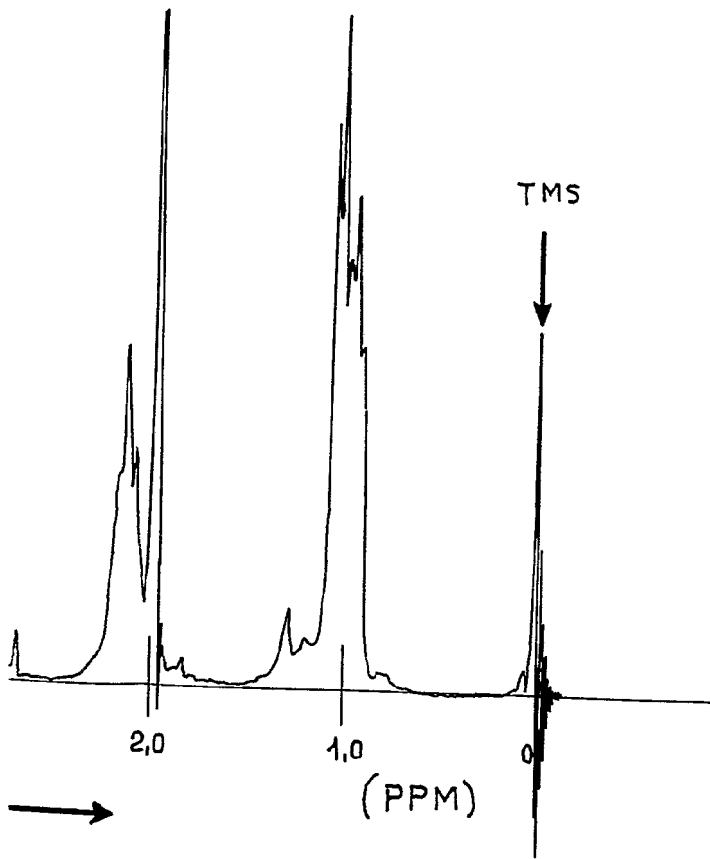
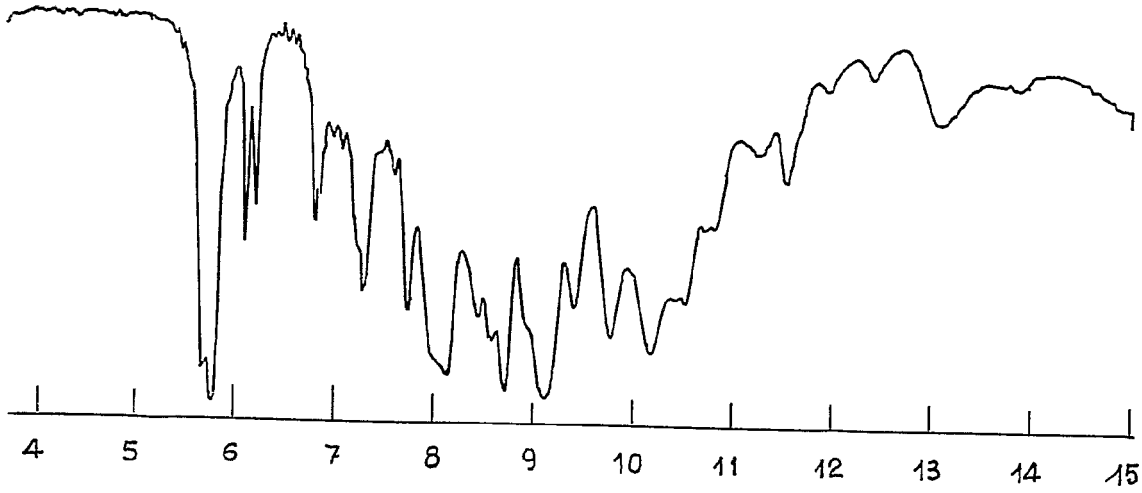
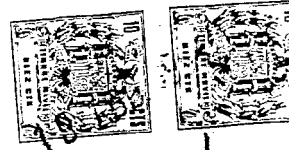
Fig: 2

ESCALA VARIABLE

002407

P-27 100

HOJA UNICA



2

[Handwritten signature]