

345226

P.- 36.276  
-----  
526/67

**Memoria descriptiva**



**para solicitar PATENTE DE INVENCION porveintiocho años**

**a nombre de SOCIETE CIVILE DE RECHERCKE PHARMACEUTIQUE  
ET THERAPEUTIQUE**

**entidad / ~~de nacionalidad~~ francesa**

**con domicilio en 33, rue de Turenne, Bordeaux (Gironde),  
Francia.**

**por: " UN PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE DEPSIDOS  
Y DE FLAVONOIDES CONTENIDOS EN LAS PLAN-  
TAS" (Clase Internacional C07g)**

18-10-67



El presente invento concierne a un procedi-  
miento de obtención de dépsidos y de flavonoides conteni-  
dos en vegetales como, por ejemplo, la alcachofa, el hino-  
jo, etc. ... procedimiento que proporciona, con un rendi-  
5 miento elevado, extractos totalmente solubles en el agua  
y exentos de las impurezas usualmente presentes en los ex-  
tractos obtenidos por los procedimientos conocidos y cons-  
tituídos, entre otros, por principios amargos, de produc-  
tos de degradación de la clorofila y de esencias diversas.

10 Los dépsidos resultan de la esterificación  
de un ácido-alcohol, que posee una o varias funciones hi-  
droxiladas, por un ácido-fenol con una o varias funciones  
fenólicas. El ácido clorogénico o ácido 3-cafeilquínico  
es uno de los mejor conocidos. Resulta de la esterifica-  
15 ción de una molécula de ácido quínico por una molécula de  
ácido cafeico. Se conoce desde hace mucho tiempo la gran  
fragilidad, debida a su naturaleza fenólica, de estos com-  
puestos, que son muy fácilmente oxidables y polimerizables.

Más recientemente, se ha observado que es-  
20 tos compuestos son igualmente susceptibles de ser altera-  
dos por una degradación más sutil. Diversos autores (GA-  
RRETT, J. Amer. Chem. Soc. (1957), 79, 3401 - HASLAM J.  
Chem. Soc. (1963), 2173), han mostrado que una simple ebu-  
llición en agua provocaba transesterificaciones en el inte-  
25 rior de la molécula, es decir, migraciones de las funcio-  
nes ésteres, de un hidróxilo al otro. No es, pues, sapren-  
dente, que la preparación de estos compuestos, según los  
métodos clásicos, e incluso estableciendo condiciones que  
permiten evitar la oxidación y la polimerización, provoque,  
30 en los extractos de estas plantas, modificaciones importan-

345226



tes de los principios primarios.

Así, en lo que concierne a la alcachofa, PANIZZI (Gazz. Chim. Ital. 1965), 95,71) ha podido mostrar que el principio descrito bajo el nombre de cinarina (ácido 1,5, dicafeilquinico) es, en realidad, un artefacto de preparación y que los principios que existen naturalmente en la planta son, en realidad, otros dépsidos (ácidos 1,3- y 3,5-dicafeilquinicos).

Además, en este mismo vegetal, existen dos heterosidos flavónicos: el cinarosido y el escolimosido (MASQUELIER y MICHAUD, Bull. Soc. Pharm. Burdeos, (1956), 95, 65 - ibidem (1957), 96, 103. Una extracción demasiado brusca, que provoca una hidrólisis parcial, conduce a una disminución del contenido en escolimosido (rhamnoglucosido del luteolol) con aumento correlativo del contenido relativo en cinarosido (glucósido del luteolol).

Se asiste a un fenómeno análogo para los dépsidos monocafeilquinicos, con un aumento muy apreciable del ácido neoclorogénico (5-cafeilquinico) a expensas del ácido clorogénico (3-cafeilquinico).

Se comprueba, por lo demás, que la mayoría de los extractos de alcachofas contienen una cierta cantidad de ácido cafeico libre. Ahora bien, este compuesto no se encuentra en la planta (MICHAUD, Ann. Pharm. Fr., (1966) 24, 533). La presencia de este cuerpo es incluso un buen índice de la alteración de esta droga. La formación de ácido cafeico es debida probablemente a una saponificación parcial de ciertos derivados activos de la planta. Además, la degradación puede ir más lejos: Se comprueba, en efecto (MICHAUD, ibid. ) una disminución del contenido global en deri



vados cafeicos en los extractos mal preparados, con forma-  
ción concomitante de productos polimerizados insolubles e  
inactivos.

5 Estos diversos fenómenos (transesterifica-  
ción, hidrólisis) frecuentes, constituyen por lo menos una  
de las causas de las diferencias comprobadas entre los ve-  
getales y los extractos actualmente obtenidos por las vías  
tradicionales.

10 Se planteaba, pues, el problema, de prepa-  
rar tales extractos que contienen sus principios en la for-  
ma más parecida a aquella bajo la cual existen en las plan-  
tas originales. Por otra parte, los extractos vegetales  
contienen, junto a dichos principios, sustancias que son  
15 juzgadas con frecuencia indeseables, tales como los prin-  
cipios amargos, las esencias, los productos de degradación  
de las clorofilas, etc. ...

El interés económico e industrial de este  
procedimiento ha conducido a la solicitante a buscar su so-  
lución.

20 En el curso de los trabajos efectuados a  
este efecto, se ha comprobado, y esta comprobación consti-  
tuye la base del presente invento, que era posible eliminar  
los fenómenos molestos citados y, especialmente, la trans-  
esterificación y la hidrólisis, agotando las plantas que  
25 contienen dépsidos o flavonoides por disolventes alcohóli-  
cos, de donde resulta que es posible extraerlos ulterior-  
mente por agua después de haber añadido a las soluciones  
alcohólicas disolventes hidrófobos, siendo realizada la fa-  
se acuosa en frío, concentrando luego el extracto acuoso,  
30 y luego recogiendo el residuo por medio de un disolvente



alcohólico, de donde resulta que los principios buscados son precipitados por reactivos en los cuales son insolubles, pero en los cuales las últimas trazas de impurezas indeseables son solubles. En el curso de los ensayos, se ha comprobado que, de una manera general, era ventajoso utilizar el éter etílico como agente de precipitación.

En estas condiciones, el procedimiento de extracción de dépsidos y de flavonoides, de las plantas que los contienen, consiste fundamentalmente, según el presente invento, en utilizar disolventes alcohólicos como disolventes de extracción, en añadir al extracto disolventes hidrófobos tales como, por ejemplo, el éter etílico, el éter de petróleo o el hexano, en agotar por medio del agua la mezcla formada, en concentrar la fase acuosa obtenida, en recoger el residuo por medio de un disolvente alcohólico, por ejemplo el metanol; el precipitar los principios buscados por medio de reactivos deshidratados, como el éter etílico deshidratado, en los cuales son insolubles y que disuelven las sustancias indeseables, en decantar el líquido que sobrenada, en poner el precipitado recogido en suspensión en el disolvente deshidratado que ha servido para la precipitación, y luego en separarlo de nuevo, siendo renovada esta doble operación - puesta en suspensión en el reactivo de precipitación deshidratado, separación - eventualmente varias veces, y finalmente, en secar el residuo.

La extracción por los alcoholes puede tener lugar a la temperatura ambiente o a la temperatura de ebullición del disolvente alcohólico o a cualquier temperatura intermedia, por maceración, digestión, lixiviación, u otros.

18-10-67

345226  
- 5 -



El volúmen de extracto obtenido puede ser disminuído eventualmente por evaporación bajo presión reducida o por cualesquiera otros medios conocidos no destructivos.

5 Como reactivos hidrófobos se utilizan ventajosamente mezclas de éter etílico y de éter de petróleo, en proporciones variables determinadas en función del contenido en agua del vegetal. Se obtiene luego, por agotamiento con agua, soluciones éter-alcóholicas, por extrac-  
10 ción a contracorriente o por cualquier otro medio, una fase acuosa que representa de un quinto hasta un vigésimo del peso de planta fresca de partida.

La concentración de la fase acuosa puede ser realizada por cualesquiera medios no agresivos, en particular por evaporación bajo presión reducida a una temperatura inferior a 40°C. El extracto de consistencia visco-  
15 sa así obtenido representa de 3 a 5 por ciento del peso de planta empleado. La disolución de este residuo en el disolvente alcohólico se hace, de preferencia, a la temperatura ambiente o a la temperatura de ebullición del disolvente alcohólico, o a cualquier temperatura intermedia. En el caso particularmente ventajoso en que se utiliza el metanol para esta operación, se utiliza una cantidad comprendida entre, aproximadamente, 30 y 100 veces el peso del ex-  
20 tracto acuoso concentrado obtenido anteriormente.

La precipitación puede ser efectuada a la temperatura ambiente o a una temperatura inferior; se utiliza, de preferencia, a este efecto, éter etílico deshidra-  
25 tado, por ejemplo, por contacto con sulfato de sodio seco.

30 Para la puesta en práctica del presente pro



cedimiento, es preferible utilizar la planta fresca en las pocas horas que siguen a su recogida, por que los procedimientos de desecación alteran generalmente la naturaleza de los principios contenidos en los vegetales. Sin embargo, el procedimiento es igualmente aplicable a plantas secas: en este caso, se podrá abstener uno de formar, en primer lugar, un extracto acuoso, puesto que el agua ha sido eliminada por la desecación; se prepara, pues, un extracto alcohólico por cualquier procedimiento de extracción apropiado, en particular por digestión en caliente en el metanol. La precipitación se efectúa luego como en el caso del tratamiento de plantas frescas después de haber concentrado o no el extracto alcohólico.

El procedimiento según el invento puede ser utilizado para extraer los dépsidos y los flavonoides contenidos en cualesquiera plantas que contienen dépsidos, flavonoides o sus mezclas y, en particular, en vegetales tales como: Cynara scolymus L., Cynara cardunculus L., Onopordon illyricum L., Scolymus hispanicus L., galactites tomentosa Moench, foeniculum vulgare (Miller) Gaertner, Foeniculum piperitum De Candolle, etc. ...

Se han descrito a continuación diversos ejemplos de puesta en práctica del procedimiento según el invento, para la extracción de los dépsidos y de los flavonoides, contenidos en algunas de las plantas citadas.

#### E J E M P L O 1

Un kg de hojas frescas de alcachofas (Cynara Scolymus L.) han sido cortadas en grueso y proyectadas enseguida en 2,5 litros de alcohol etílico hirviente. Se ha dejado así en contacto durante 30 minutos con el alco-



21

hol hirviente. El alcohol ha sido entonces decantado, fil  
trado en caliente, y el residuo recogido varias veces en  
las mismas condiciones por un litro de etanol hirviente du  
rante 30 minutos hasta que el disolvente no extraía más  
5 que cantidades despreciables de los principios buscados.  
Las coladuras etanólicas han sido reunidas y se les ha aña  
dido 1,2 litros de éter etílico y 0,6 litros de éter de pe  
tróleo por 0,6 litros de extracto alcohólico. Esta mezcla  
ha sido extraída por agua, y se ha separado una fase acuo-  
10 sa de aproximadamente 1,2 litros para la totalidad de la  
preparación. Después de la filtración, esta fase acuosa  
ha sido concentrada bajo presión reducida a una temperatu-  
ra próxima a 35°C hasta un peso de 40g aproximadamente. Se  
han añadido al residuo 300 ml de metanol hirviente y des-  
15 pués de agitación, se ha dejado reposar de 12 a 24 horas.  
Después de haber recogido la solución metanólica, se ha re  
cogido el residuo varias veces por 100 ml de metanol hir-  
viente. Las fracciones metanólicas reunidas han sido pre-  
cipitadas por 3 a 5 veces su volúmen de éter etílico deshi-  
20 dratado por contacto con sulfato de sodio secado. Se ha  
producido entonces un importante precipitado blanco, apenas  
coloreado, que se ha dejado depositar durante cierto tiem-  
po. Se ha decantado el líquido que sobrenadaba en el pre-  
cipitado y se ha recogido este último por centrifugación.  
25 Se ha vuelto a poner varias veces en suspensión en el éter  
deshidratado y se ha separado cada vez por centrifugación.  
Finalmente, el último residuo de centrifugación, todavía  
empapado de éter, ha sido expuesto a los rayos infrarrojos  
con vistas a un secado rápido. Se han obtenido así de 20  
30 a 22 g de un polvo blanco apenas coloreado de gamuza clara,



que contiene de 12 a 14 g por ciento de polifenoles reductores totales expresados en ácido caféico y 1,5 a 2,0 g por ciento de flavonoides totales expresados en luteolol, con la distribución aproximada siguiente:

5	Flavonoides: Cynarosido:	1,13	}	3,20 g
	Scolymosido:	2,07		
	Dépsidos: ácidos dicafeoilquínicos:	5,2	}	21,3 g
	ácido clorogénico	12,7		
10	ácido neoclorogénico	2,1		
	dépsido no identificado	1,3		
	Cynarina	0		
	ácido caféico no esterificado	0	}	24,5 g
15				por 100 g de extracto

#### E J E M P L O 2

Un kg de polvo de hojas secas de alcachofa ha sido añadido a 2 litros de metanol en ebullición que se ha mantenido durante 30 minutos. Después de la separación del alcohol, se ha recogido el residuo varias veces por un litro de metanol en las mismas condiciones, hasta que este disolvente no extraía más que cantidades despreciables de los principios buscados. Los extractos alcohólicos reunidos han sido precipitados por 3 a 5 veces su volumen de éter deshidratado por contacto con sulfato de sodio secado. Se ha producido entonces un importante precipitado blancuzco que se ha dejado depositar durante un cierto tiempo. Se ha decantado el líquido que sobrenadaba en el precipitado y se ha recogido este último por centrifugación. Se ha vuelto a poner varias veces en suspensión en



el éter deshidratado y se ha separado cada vez por centrifugación. Finalmente, el último residuo de centrifugación, todavía empapado de éter, ha sido expuesto a los rayos infrarrojos con vistas a un secado rápido. Se han obtenido así de 140 a 150 g de un polvo poco coloreado que contiene de 7 a 7,5 g por cien depolifenoles reductores totales expresados en ácido caféico, y 1,25 a 1,50 g por cien de flavonoides totales expresados en luteolol.

E J E M P L O 3

10 Un kg de hojas frescas de hinojo (*Foeniculum vulgare* (Miller) GAERTNER) han sido irregularmente cortadas y proyectadas enseguida en 2,5 litros de alcohol etílico hirviente. Se ha dejado así en contacto con el alcohol hirviente durante 30 minutos. El alcohol ha sido decantado y luego filtrado en caliente, y el residuo ha sido recogido varias veces en las mismas condiciones por un litro de etanol hirviente durante 30 minutos hasta que el disolvente no extraía más que cantidades despreciables de los principios buscados. Las coladuras etanólicas han sido reunidas y se les ha añadido 1,2 litros de éter etílico y 0,6 litros de éter de petróleo por 0,6 litros de extracto alcohólico. Esta mezcla ha sido extraída por el agua, y se ha separado una fase acuosa de aproximadamente 1,2 litros para la totalidad del preparado. Después de la filtración, esta fase acuosa ha sido concentrada bajo presión reducida a una temperatura próxima a 35°C hasta un peso de 40 g aproximadamente. Se han añadido al residuo 300 ml de metanol hirviente y después de agitación, se ha dejado reposar de 12 a 24 horas. Después de haber recogido la solución metanólica, se ha recogido el residuo varias veces por 100 ml de metanol



hirviente. Las fracciones metanólicas reunidas han sido precipitadas por 3 a 5 veces su volúmen de éter etílico deshidratado por contacto con sulfato de sodio secado. Se ha producido entonces un importante precipitado blanco amarillento que se ha dejado depositar durante un cierto tiempo. Se ha decantado el líquido que sobrenadaba en el precipitado y se ha recogido éste último por centrifugación. Finalmente, el último residuo de centrifugación, todavía empapado de éter, ha sido expuesto a los rayos infrarrojos con vistas a un secado rápido. Se han obtenido así de 25 a 27,5 g de un polvo amarillo claro que contiene de 12 a 14 g por 100 g de polifenoles reductores totales expresados en ácido caféico.

Los extractos así obtenidos según el invento son enteramente solubles en el agua y no presentan ningún amargor. En el caso mas particular del extracto de alcachofa obtenido por el procedimiento anterior, ésta ausencia de amargor es una gran ventaja.

Se conoce el inconveniente, mayor entre los niños, del intenso amargor de la alcachofa y de sus preparados. El extracto según el invento no presenta más que un ligero gusto acidulado y astringente debido a la naturaleza misma de los principios que lo constituyen, pero sin ningún amargor.

Las propiedades biológicas y farmacológicas de este extracto son múltiples. Al contener a la vez los derivados caféicos y los flavonoides primarios presentes en la droga, el extracto presenta las propiedades colestéricas e hipocolesterolemiantes de los dépsidos caféicos, al mismo tiempo que las propiedades diuréticas de los heteróxidos del luteolol. Su actividad sobre el parénquima he



pático ha podido ser verificada en la rata por determinación del aumento de la coléresis de este animal por fístula del colédoco. A la dosis de 91 mg/kg de extracto (equivalentes a 15,2 mg/kg de ácido caféico), el aumento de la coléresis es del orden de 30%. A la dosis de 182 mg/kg de extracto (equivalentes a 30,4 mg/kg de ácido caféico), el aumento de la coléresis es del orden de 52%.

Terapéuticamente, el nuevo extracto de alcachofa puede ser utilizado solo o en asociación, para el tratamiento de las afecciones hepáticas con retención biliar, o incluso de las alteraciones funcionales hepáticas, ya sea en el adulto (estreñimiento, alteraciones con incidencias alérgicas, etc. ...), en los niños (urticarias, vómitos acetónicos, etc. ...). Finalmente, puede ser útil en los casos de sobrecarga alimenticia o de intolerancia medicamentosa del hígado. Sus otras propiedades le permiten ser utilizado para obtener la disminución del índice de colesterol hemático o para el aumento de la diuresis.

El nuevo medicamento es administrado, de preferencia, por vía interna (oral, rectal, etc.) por ejemplo en forma:

- De comprimidos con dosis de 0,125 g de extracto de alcachofa,
- de granulados azucarados que contienen 2,5 g por 100 g de producto activo,
- de paquetes de polvo o de comprimidos efervescentes que contienen 0,125 g de extracto,
- de ampollas bebibles que contienen 0,125 g de producto activo.

La posología útil puede ir de 0,375 g a



0,750 g de extracto por día en los adultos y de 0,125 g a 0,500 g de extracto por vía en los niños.

Esta solicitud, que corresponde a la presentada en Francia, el 23 de Septiembre de 1966, bajo el nº PV 77.503 y solicitud de patente especial de Medicamento, el 20 de diciembre de 1966, nº 88223.

- N O T A -

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

1.- Un procedimiento de obtención de depósitos y de flavonoides contenidos en las plantas, caracterizado porque se tratan las plantas por disolventes alcohólicos, como disolventes de extracción, se añaden al extracto disolventes hidrófobos, tales como, por ejemplo, éter etílico, éter de petróleo o hexano, se agota por medio de agua la mezcla formada, se concentra la fase acuosa obtenida, se recoge el residuo por un disolvente alcohólico, por ejemplo metanol, se precipitan los principios buscados por reactivos deshidratados como el éter etílico deshidratado, en los cuales son insolubles y que disuelven las sustancias indeseables, se decanta el líquido que sobrenada, se pone el precipitado recogido en suspensión en



el disolvente deshidratado que ha servido para la precipitación, luego se separa de nuevo, siendo renovada esta doble operación -puesta en suspensión en el reactivo de precipitación deshidratado, separación-eventualmente, varias veces, y finalmente se seca el residuo.

2.- Un procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se utilizan plantas recién cortadas.

3.- Un procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se prepara un extracto alcohólico de plantas secas, concentrado o no, se separa el alcohol, se recoge el residuo por un disolvente alcohólico, por ejemplo el metanol, se precipitan los principios buscados por reactivos deshidratados como el éter etílico deshidratado, en los cuales son insolubles y que disuelven las sustancias indeseables, se decanta el líquido que sobrenada, se pone el precipitado recogido en suspensión en el disolvente deshidratado que ha servido para la precipitación, luego se separa de nuevo, siendo renovada esta doble operación -puesta en suspensión en el reactivo de precipitación deshidratado, separación-eventualmente varias veces, y finalmente se seca el residuo.

4.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque la extracción alcohólica se efectúa a una temperatura comprendida, incluidos estos límites, entre la temperatura ambiente y la temperatura de ebullición del disolvente alcohólico.

5.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque se disminuye el volumen del extracto por evaporación bajo vacío.

345226



5 6.- Un procedimiento según las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque, como reactivos hidrófobos, se utilizan mezclas de éter etílico y de éter de petróleo, en proporciones variables determinadas en función del contenido en agua del vegetal.

7.- Un procedimiento según las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque se realiza la concentración de la fase acuosa por evaporación bajo presión reducida, a una temperatura inferior a 40°C.

10 8.- Un procedimiento según las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque se disuelve el residuo de la fase acuosa a una temperatura comprendida, incluidos estos límites, entre la temperatura ambiente y la temperatura de ebullición del disolvente alcohólico.

15 9.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque el disolvente alcohólico es el metanol.

20 10.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado porque se precipita a una temperatura como máximo igual a la temperatura ambiente.

11.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado porque el agente de precipitación es el éter etílico deshidratado.

25 12.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 11, caracterizado porque se seca por radiación infrarroja.

345226



13.- "UN PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE  
DEPSIDOS Y DE FLAVONOIDES CONTENIDOS EN LAS PLANTAS"

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

5 Esta Memoria consta de dieciseis hojas es-  
critas por una sola de sus caras.

Madrid,

21 OCT. 1967

P. A.

*Alberto de Echeburu*  
Por Echeburu

345226

*E.F.G.*