

PATENTE DE INVENCION

Br. 4042/74.

434246

Int. Cl.: C07C // A61K

Memoria Descriptiva

sobre:

PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE NUEVOS TERPENOS

Solicitante: INVERNI & DELLA BEFFA A.p.A., entidad italiana,
residente en Via Ripamonti 99, MILAN, Italia.

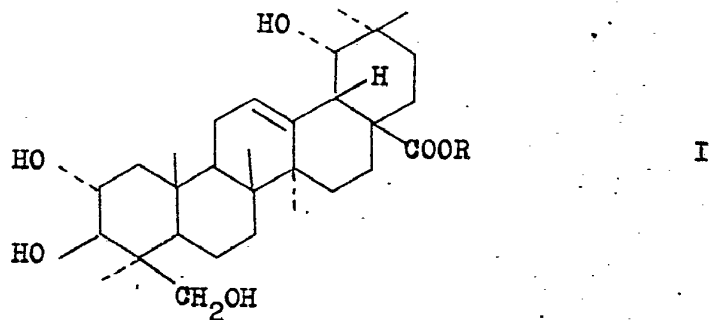
Esta invención se relaciona con un procedimiento para preparar nuevos compuestos farmacéuticamente activos, a partir de extractos de plantas.

Las plantas del género Terminalia (de la familia Combretaceae) están distribuidas por regiones de

5

Africa, Asia, Australia y América tropical. Se ha descubierto ahora que pueden obtenerse extractos que poseen valiosas propiedades farmacéuticas a partir de plantas de una especie particular de este género, en especial Terminalia sericea.

5 Estos extractos tienen un elevado contenido en compuestos terpénicos y, además de los compuestos conocidos ácido arjúnico y arjunetina, han resultado contener dos compuestos desconocidos hasta el presente que serán denominados como ácido serícico y sericosido. Estos compuestos son, respectivamente,
10 el ácido $2\alpha, 3\beta, 19\alpha, 24$ -tetrahidroxi-olean-12-en-28-oico y su éster D-glucopiranosido, y pueden representarse por la fórmula (I):



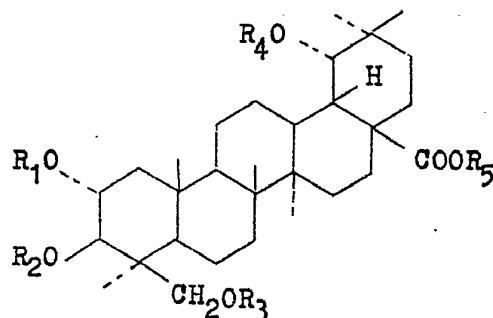
15 en la cual, y en el caso del ácido serícico, R es hidrógeno y, en el caso del sericosido, R es glucosa.

20 Se ha encontrado que el ácido serícico y el sericosido poseen valiosas propiedades cicatrizantes y anti-inflamatorias que los hacen particularmente útiles para el tratamiento de desórdenes dermatológicos, por ejemplo incorporándolos en productos cosméticos, y para el tratamiento de las úlceras estomacales. El ácido serícico y el sericosido se pueden convertir también en derivados que poseen valiosas propiedades farmaco-

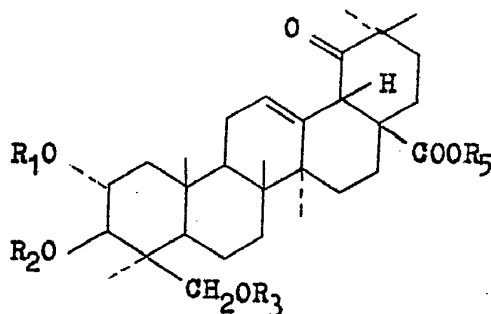
lógicas similares.

Por lo tanto, y según un aspecto de la presente invención, se proporcionan compuestos de fórmula general (II) o (III):

5



II



III

10

en donde $-OR_1$, $-OR_2$, $-OR_3$ y $-OR_4$ representan, cada uno, un grupo hidroxilo libre o esterificado y $-COOR_5$ representa un grupo carboxilo libre o esterificado, y sales farmacéuticamente aceptables de tales compuestos que son capaces de formar sales.

15

R_1 , R_2 , R_3 y R_4 , que pueden ser iguales o diferentes, pueden ser, por ejemplo, radicales acilo de ácidos mono- o poli-carboxílicos, alifáticos o aromáticos, sustituidos o insustituidos, conteniendo en particular dichos radicales hasta 12 y con preferencia hasta 7 átomos de carbono.

Los radicales acilo de ácidos mono- o poli-carboxíli-

cos alifáticos (tanto sustituidos como insustituidos) pueden ser de cadena recta o ramificada o cíclicos y, en adición, pueden ser saturados o insaturados. Ejemplos de radicales acilo de ácidos monocarboxílicos alifáticos, saturados, insustituidos, incluyen acetilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, valerilo, hexanoilo y heptanoilo. En particular se prefieren los radicales que contienen hasta 4 átomos de carbono.

Ejemplos de radicales acilo de ácidos policarboxílicos incluyen hemimaleilo, hemifumarilo y hemisuccinilo.

Ejemplos de radicales acilo de ácidos carboxílicos aromáticos, incluyen benzoilo y fenilacetilo.

Cuando tales radicales están sustituidos, el o los sustituyentes pueden elegirse, por ejemplo, entre halógeno (es decir, fluor, cloro, bromo o yodo), grupos nitro, hidroxilo, éter, ceto y amino. Los radicales acilo de ácidos mono- o policarboxílicos aromáticos pueden estar sustituidos, además o alternativamente, por uno o más radicales alifáticos (opcionalmente sustituidos, por ejemplo por uno o más de los sustituyentes antes indicados) y conteniendo preferiblemente hasta 6 átomos de carbono como en metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, valerilo y hexilo.

Radicales acilo particularmente preferidos para R_1 , R_2 , R_3 y R_4 , son acetilo, benzoilo y hemisuccinilo.

Cuando cualquiera de los radicales R_1 , R_2 , R_3 y R_4 representa un radical acilo derivado de un ácido policarboxílico, el restante grupo o grupos carboxilo (-COO-) pueden estar en forma del ácido libre (-COOH) o en forma de un derivado, por ejemplo una sal de adición de ácido con un catión farmacéuticamente aceptable o un éster, por ejemplo, con un alcohol alifático que contiene hasta 7 átomos de carbono,

tal como, por ejemplo, metanol, etanol, propanol, isopropanol, n-butanol, pentanol, hexanol y heptanol.

5 R_5 puede ser, por ejemplo, hidrógeno o un radical alifático de cadena recta, ramificada o cíclica, sustituido o insustituido, en particular aquellos radicales que contienen hasta 12 y con preferencia hasta 7 átomos de carbono. Ejemplos de tales radicales incluyen: metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, pentilo, ciclopentilo, hexilo, ciclohexilo y heptilo.

10 Cuando tales radicales están sustituidos, el o los sustituyentes pueden elegirse, por ejemplo, entre halógeno (es decir, fluor, cloro, bromo o yodo) y grupos nitro, hidroxilo, éter, ceto y amino. Cualquiera de los grupos amino puede estar sustituido además por uno o dos radicales alifáticos (que pueden ser iguales o diferentes), por ejemplo los radicales anteriormente especificados.

15 Ejemplos particularmente preferidos de radicales representados por R_5 incluyen hidrógeno; los radicales alquilo indicados anteriormente; radicales aminoalquilo o radicales mono- ó trialquilaminoalquilo ($-R'-NR''R'''$) en donde $-R'-$ es un radical alquileno de cadena recta o ramificada, conteniendo preferiblemente hasta 7 átomos de carbono (por ejemplo, como en aminometilo, 1,1- ó 1,2-aminoetilo, aminopropilo, aminobuti-
20 lo, aminopentilo, aminohexilo ó aminoheptilo) y R'' y R''' que pueden ser iguales o diferentes, se eligen entre átomo de hidró-
25 geno y grupos alquilo (por ejemplo, los grupos alquilo anteriormente indicados); y residuos glicosilo, en particular D-glucosilo.

30 Los compuestos de fórmula general (II) y (III) que contienen grupos carboxilo (por ejemplo, cuando R_5 es hidrógeno

o cuando R_1 , R_2 , R_3 ó R_4 contiene un grupo carboxilo libre), se pueden convertir a sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, por ejemplo con metales que proporcionan cationes farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, sodio, potasio, calcio, magnesio, aluminio o hierro.

Igualmente, los compuestos que contienen grupos amino sustituidos o insustituidos se pueden convertir a sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables con ácidos que proporcionan cationes farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, los ácidos clorhídrico y sulfúrico).

La invención incluye también composiciones farmacéuticas que comprenden, como ingrediente activo un compuesto de fórmula general (II) ó (III) o una sal farmacéuticamente aceptables del mismo, en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable, así como los procedimientos para producir tales composiciones, los cuales comprenden mezclar el ingrediente activo con el excipiente. Ejemplos de excipientes son almidón, lactosa, propilenglicol, trietanolamina, agua y agentes anti-fermentativos.

Según la presente invención, se proporciona un procedimiento para producir un compuesto de fórmula general (II) o (III), que comprende extraer tejido de una planta de la especie Terminalia sericea y en particular las raíces o corteza de las raíces con un disolvente orgánico, aislar ácido serícico y/o sericosido del extracto y, si se desea, convertir el ácido serícico o sericosido aislado a otro compuesto de fórmula general (II) ó (III).

El disolvente orgánico puede ser, por ejemplo, un alcohol, preferiblemente un alcohol inferior con hasta 6 átomos de carbono y más preferiblemente con hasta 4 átomos de

5 carbono, tales como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol o uno de los butanoles), una cetona, (con preferencia una cetona dialquílica inferior, en donde los grupos alquilo inferior contienen hasta 6, con preferencia hasta 4 átomos de carbono), tales como acetona, metiletilcetona y diisopropilcetona, o un éster (preferiblemente un éster formado con un alcohol inferior que contiene hasta 6 átomos de carbono y más preferiblemente hasta 4 átomos de carbono, tal como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, los butanoles y alcohol amílico y un ácido alcanoico inferior con hasta 4 átomos de carbono, tal como los ácidos fórmico, acético, propiónico o butílico).

Disolventes particularmente útiles son etanol, acetona y acetato de etilo.

15 Cuando el disolvente orgánico es miscible con agua, se pueden emplear mezclas del disolvente y agua.

20 Con preferencia, y antes de aislar el ácido serícico y/o sericosido del extracto, se separan las sustancias grasas y resinosas, por ejemplo por evaporación del disolvente orgánico del extracto y puesta en contacto del residuo así obtenido con un hidrocarburo líquido, para formar un extracto parcialmente purificado.

25 Preferiblemente, el residuo se diluye con agua o con una mezcla de alcohol/agua antes de que se ponga en contacto con el hidrocarburo. Las sustancias grasas y resinosas se disuelven preferentemente en el hidrocarburo y, por lo tanto, se pueden separar por decantación de la solución hidrocarbonada resultante.

30 Se ha encontrado que el ácido serícico es generalmente más soluble en disolventes hidrocarbonados clorados

que en agua y también se ha encontrado que el sericosido es en general más soluble en disolventes acuosos que en los hidrocarburos clorados. El aislamiento del ácido serícico y sericosido del extracto parcialmente purificado obtenido como antes se ha descrito, incluye por lo tanto preferiblemente una etapa de fraccionamiento en la cual el extracto se fracciona en una fracción que contiene ácido serícico y otros terpenos no glucosidados (fracción A) y una fracción que contiene sericosido y otros glucósidos terpénicos poniendo en contacto una solución del extracto parcialmente purificado en agua o una mezcla de agua y un alcohol (unos de los alcoholes antes indicados por ejemplo) con un disolvente de hidrocarburo clorado tal como, por ejemplo, cloroformo, cloruro de metileno o dicloroetano, y separando las soluciones acuosas y de hidrocarburo clorado así obtenidas.

La solución acuosa se puede diluir entonces con alcohol para dar una concentración alcohólica no inferior al 60 % y se puede tratar para separar material proteínico añadiendo una solución neutra o básica de acetato de plomo y filtrando para separar cualquier precipitado formado. El filtrado se puede evaporar luego para formar un concentrado acuoso eliminando el disolvente alcohólico, tras lo cual se extraen repetidamente los glucósidos terpénicos del concentrado con una mezcla de butanol y benceno (preferiblemente 3:1 a 4:1).

La solución en la mezcla de butanol/benceno se puede evaporar entonces a un pequeño volumen y verterse el residuo en éter isopropílico. El precipitado así obtenido contiene una mayor parte de los glucósidos terpénicos (fracción B).

El ácido serícico y el sericosido se pueden obtener a partir de las fracciones A y B respectivamente por recris-

talización o separación cromatográfica.

Podrá apreciarse que los extractos que contienen ácido serícico y sericosido, de Terminalia sericea, indicados anteriormente, y en particular las fracciones purificadas referidas como fracciones A y B, constituyen aspectos de la presente invención.

El ácido serícico y el sericosido se pueden transformar en otros compuestos de fórmulas generales (II) y (III) por métodos conocidos de esterificación, hidrólisis, oxidación y formación de sales, formando tales métodos otro aspecto de la presente invención.

Así, por ejemplo, el ácido serícico se puede convertir a sericosido por esterificación con α -bromo-(tetraacetil)-glucosa seguido por eliminación sucesiva de los radicales acetilo, y el sericosido se puede convertir a ácido serícico por saponificación.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención:

EJEMPLO 1

A - Separación de las fracciones A y B

Se extractan bajo reflujo, cuatro veces, utilizando 600 litros de alcohol acuoso cada vez, 200 kg de raíces de plantas, finamente molidas, de la especie Terminalia sericea. Los extractos reunidos se evaporan in vacuo a 100 litros y el residuo acuoso se extracta tres veces con ligroina utilizando 100 litros de ligroina cada uno. La ligroina, que contiene ácidos grasos, resina y β -sitosterol separados del residuo, se decanta y se diluye el residuo en solución etanólica con 300 litros de agua y se extracta tres veces con dicloroetano utilizando 100 litros cada vez.

La solución dicloroetánica así obtenida se evapora

hasta sequedad in vacuo y se obtienen 2,5 kg de residuo que contiene ácido serícico y otros tripteranos libres (fracción A).

5 El residuo acuoso que permanece después de la extracción con dicloroetano, se diluye con 500 litros de alcohol y se añaden 10 kg de acetato de plomo neutro disuelto en 30 litros de alcohol. Se forma un precipitado abundante que se deja reposar durante la noche para que sedimente. El precipitado se centrifuga y se desecha y la fase agua-alcohol se concentra in vacuo a unos 200 litros. El concentrado acuoso se extrae 10 tres veces con una mezcla de t-butanol/benceno en la proporción de 3:1 (v/v) utilizando 100 litros cada vez.

La fase orgánica se separa y se lava con una solución al 10 % de carbonato sódico y se evapora luego in vacuo a 20 litros. El concentrado butanólico así obtenido se vierte, 15 con fuerte agitación, en 150 litros de éter dietílico. Se forma un precipitado que comprende glucósidos tripterténicos que se centrifuga y se seca. Se obtienen 5 kg de producto, conteniendo sericosido y otros glucosidos tripterténicos (fracción B).

20 B - Preparación de ácido serícico purificado mediante cristalización

Se disuelve 1 kg de fracción A en 5 litros de alcohol. La solución se decolora con carbón, se evapora a 3 litros y se deja reposar durante la noche.

25 Cristalizan 300 g de ácido serícico en bruto que, mediante cristalización sucesiva en alcohol acuoso diluido o ácido acético, permite la obtención de 200 g de ácido serícico puro que tiene un p.f. de 278 - 282°C; $[\alpha]_D^{30} = +37,8$ (c = 0,32 EtOH 95).

30 Se pueden obtener más cantidades de ácido serícico reuniendo los licores madre, los cuales se evaporan entonces

5 hasta sequedad para obtener un residuo que se acetila en acetona, empleando anhídrido acético. Se obtienen 80 g de triacetato de ácido serícico que, después de la recrystalización en ácido acético glacial, funde a 183°C y tiene un $[\alpha]_D = + 4^\circ$ (c = 2, EtOH 95) IR 3630 cm^{-1} 1745 cm^{-1} .

10 Por saponificación con potasa alcohólica, el triacetato de ácido serícico se puede convertir a ácido serícico, en un estado de pureza tal que sus propiedades son totalmente idénticas a las del ácido obtenido por cristalización, como antes se ha descrito.

C - Preparación de ácido serícico mediante un procedimiento cromatográfico

15 Se disuelve 1 kg de fracción A en 3 volúmenes de cloroformo y se cromatografía sobre una columna que contiene 15 kg de gel de sílice eluyendo con una mezcla disolvente que comprende cloroformo/etanol 95:5. Las fracciones que contienen los componentes individuales se recogen y reúnen y, después de la cristalización en metanol, se obtienen 250 g de ácido serícico puro que tiene un p.f. de 278 - 282°C junto con 20 g de ácido arjúnico con p.f. 220 - 222°C.

D - Preparación de sericosido por cristalización.

20 Se disuelve 1 kg de fracción B en 6 litros de alcohol. La solución se decolora con carbón y se evapora a 3 litros.

25 Se añade 1 litro de agua caliente (a unos 50°C) y el líquido se deja reposar durante la noche. Cristalizan 600 g de sericosido en bruto que, después de cristalizaciones repetidas en alcohol diluido, suministran 250 g de sericosido puro que tiene las siguientes características:

p.f. 206 - 208°C y $[\alpha]_D = + 5,4$ (c = 2, piridina).

30 E - Preparación de sericosido por cromatografía

Se disuelve 1 kg de fracción B en 3 litros de una mezcla 8:2 (v/v) de cloroformo-etanol y se cromatografía sobre 30 kg de gel de sílice por elución con dicha mezcla disolvente. Se reúnen las fracciones que contienen los productos puros individuales y se concentran hasta sequedad. Después de la cristalización en metanol, se obtienen respectivamente 320 g de sericosido que tiene un p.f. de 206 - 208°C y 310 g de arjuntina.

EJEMPLO 2

Preparación de sericato de metilo

Se disuelven 10 g de ácido serícico en 50 ml de cloroformo y se trata con una solución de diazometano en cloruro de metileno hasta la reacción completa. La solución se concentra in vacuo hasta sequedad y el residuo se cristaliza en acetona.

EJEMPLO 3

Preparación de metilsericato de tribenzoilo

Se disuelven 10 g de metilsericato en 50 ml de piridina anhidra y se añaden 9,24 g de cloruro de benzoilo. La mezcla de reacción se deja reposar durante una noche y a continuación se vierte en agua. Precipita el metilsericato de tribenzoilo que, después de cristalización en metanol, tiene un p.f. de 199°C.

EJEMPLO 4

Preparación de 19-ceto-metilsericato de triacetilo

Se disuelven 10 g de triacetilsericato de metilo (preparado de forma análoga al metilsericato de tribenzoilo) en 500 ml de acetona anhidra y se añade reactivo de Jones hasta completarse la reacción. La solución acetónica se diluye con 1.500 ml de agua tras lo cual el producto precipita en for-

ma amorfa. El producto se recoge por filtración y se recristaliza en metanol acuoso. Después de secar, se obtienen 9 g de 19-ceto-metil-sericato de triacetilo que tiene un p.f. de 200°C y $[\alpha]_D = +33$ (c = 0,5, EtOH).

5

EJEMPLO 5

Preparación de sericato de dietilaminoetilo

Se disuelven 10 g de sericato de potasio en 50 ml de dimetilformamida y se trata con 3 g de cloruro de dietilaminoetilo. La mezcla de reacción se mantiene a 50°C durante 5 horas, se vierte luego en 600 ml de agua. Se forma un precipitado abundante que se filtra, se lava con agua y se recristaliza en isopropanol acuoso. El producto funde a 105-108°C y tiene un $[\alpha]_D = +19,7^{\circ}$ (c = 1, EtOH).

10

EJEMPLO 6

Preparación de sericato de metiltetracetilo

Se disuelven 20 g de triacetilsericato de metilo en 30 ml de anhídrido acético y se añade 1 ml de ácido perclórico concentrado. La mezcla de reacción se deja reposar durante 1 hora, tras lo cual se vierte en 500 ml de agua.

20

El producto precipita el cual, después de la filtración, se cristaliza en etanol.

El producto funde a 223°C.

EJEMPLO 7

Preparación de 18 α -sericato de metiltetracetilo

Se disuelven 10 g de sericato de metiltriacetilo en 50 ml de ácido bromhídrico al 40 % en ácido acético y se deja a temperatura ambiente durante 30 horas. La mezcla de reacción se vierte en agua. El producto se filtra y precipita y, después de secarlo, se cristaliza en hexano. Se obtienen 6 g de 18 - sericato de metiltetracetilo que tiene un p.f. de 194°C y

25

30

$[\alpha]_D = +12,6^\circ$ (c = 0,4 en EtOH).

EJEMPLO 8

Preparación del derivado 2,3,24-trihemisuccinilo del ácido serícico

5 Se disuelven 10 g de ácido serícico en 50 ml de piridina anhidra y se añaden 10 g de anhídrido succínico.

La mezcla de reacción se recalienta a 80°C durante 6 horas, se enfría luego y se diluye con 800 ml de cloroformo.

10 La solución se lava con ácido clorhídrico acuoso al 10 % hasta eliminarse la piridina y luego se concentra hasta sequedad y se deshidrata sobre Na_2SO_4 .

El residuo se cristaliza en ácido acético glacial y se obtienen 11 g de ácido trihemisuccininil-serícico con un p.f. de 105-108°C y $[\alpha]_D = +2,65^\circ$ (c = 2, EtOH).

15 Siguiendo los procedimientos generales de los ejemplos 2 a 8 anteriores, pero empleando otros reactantes adecuados, pueden prepararse otros compuestos de fórmulas generales (II) 6 (III).

20 Los siguientes datos farmacéuticos se ofrecen para ilustrar las propiedades anti-inflamatorias y cicatrizantes de los compuestos de la invención:

Actividad antiulcerosa-ulcera gástrica en ratas, inducida por el método de Shay

25 La actividad antiulcerosa del ácido serícico y sericósido fue determinada administrando los compuestos a ratas a las cuales se indugeron úlceras gástricas por el método de Shay. Los compuestos se administraron en dosis de 200 mg/kg por vía oral, 5 veces, a las 42, 30, 25 y 6 horas antes de ligar el píloro e inmediatamente después de la operación y, como se muestra 30 tra en la tabla 1, el índice de úlceras disminuyó en un 48 y 45%

respectivamente, en comparación con los controles .

T A B L A 1

Sustancia mg/kg	Número de úlceras de cada clase(2)					Índice de úlceras	Variación del porcentaje de úlceras en relación a los controles	Número de estómagos no ulcerados (%)
	I	II	III	IV	V			
Controles(goma arábica 10%)	13	338 (338)	36 (180)	10 (180)	9 (180)	75	-	-
Sericosido	13	369 (369)	15 (75)	1 (10)	0 (60)	39,5	-48	7,6
ácido serférico 200	13	279 (279)	12 (60)	3 (30)	2 (40)	45	-45	-

- (1) Dosis administrada oralmente 5 veces, 42, 30, 25 y 6 horas antes e inmediatamente después de ligar el píloro.
- (2) En paréntesis, el producto del número de úlceras y el valor numérico atribuido a las clases individuales según el criterio de evaluación de T.O. Keyrilainen y M.K. Paasonen (Acta Pharmocol. et. Toxicol. 13, 22, 1.957)

respectivamente, en comparación con los controles .

T A B L A 1

Sustancia	Tratamiento mg/kg	Número de animales	Número de úlceras de cada clase(2)					Indice úlceras
			I	II	III	IV	V	
Controles(goma arábica 10%)	-	13	338 (338)	36 (180)	10 (100)	9 (180)	9 (180)	75
Sericosido	200	13	369 (369)	15 (75)	1 (10)	0 (0)	3 (60)	39,5
ácido serícico	200	13	279 (279)	12 (60)	3 (30)	2 (40)	9 (180)	45

- (1) Dosis administrada oralmente 5 veces, 42, 30, 25 y 6 horas antes e inmediatamente después de ligar el píloro.
- (2) En paréntesis, el producto del número de úlceras y el valor numérico atribuido a las clases individuales según el criterio de evaluación de T.O. Keyrilainen y M.K. Paasonen (Acta Pharmacol. et. Toxicol. 13, 22, 1.957)

Índice de úlcera	Variación del porcentaje de úlceras en relación a los controles	Número de estómagos no ulcerados (%)
75	-	-
39,5	-48	7,6
45	-45	-

Valor LD₅₀ en ratones

El valor LD₅₀ en ratones, (determinado con administración intraperitoneal) para el ácido serfícico y el sericosido, fue como sigue:

5 ácido serfícico >1.000 mg/kg.
sericosido >1.000 mg/kg.

Actividad antiinflamatoria contra el edema en ratas inducido por carragenina.

10 Las actividades antiinflamatorias del sericosido y ácido serfícico fueron determinadas midiendo el grado en el cual podría inhibirse el edema causado por la administración subplantar de carragenina a ratas por la administración oral e intraperitoneal, anterior, de las sustancias.

Se obtuvieron los siguientes resultados:

15 1. Administración oral

Tratamiento	Dosis mg/kg (1)	Número de animales	Volumen del edema en ml. (media ± S.D) (2)	% de inhibición del edema
Controles	-	10	0,30± 0,005	-
Sericosido	200	10	*0,22± 0,010	26
ácido serfícico	200	10	*0,23± 0,009	23

* Significativamente diferente (P < 0,05) de la media obtenida con los controles según el ensayo "t" de Student.

(1) Dosis administradas oralmente durante 3 días; al tercer día la administración se efectuó dos horas antes de la inyección subplantar de carragenina.

(2) Volumen máximo del edema medio 3 horas después de la inyección subplantar de carragenina.

2. Administración intraperitoneal

Tratamiento	Dosis mg/kg (1)	Número de ani- males	Volumen del edema en ml.(media± S.D.) (2)	% de inhibi- ción del edema
Controles	-	10	0,31± 0,010	-
Sericosido	100	10	0,10±0,008 (x)	67
Acido serfícico	100	10	0,11± 0,006(x)	64
Controles	-	10	0,31± 0,006	-
Sericosido	50	10	0,20 ± 0,005(x)	35
Acido serfícico	50	10	0,23± 0,008(x)	25

(x) Significativamente diferente ($P < 0,05$) de la media obtenida con los controles según el ensayo "t" de Student.

5 (1) Administración endoperitonealmente 30 minutos antes de la inyección de carragenina.

(2) Volumen máximo medido después de 3 horas.

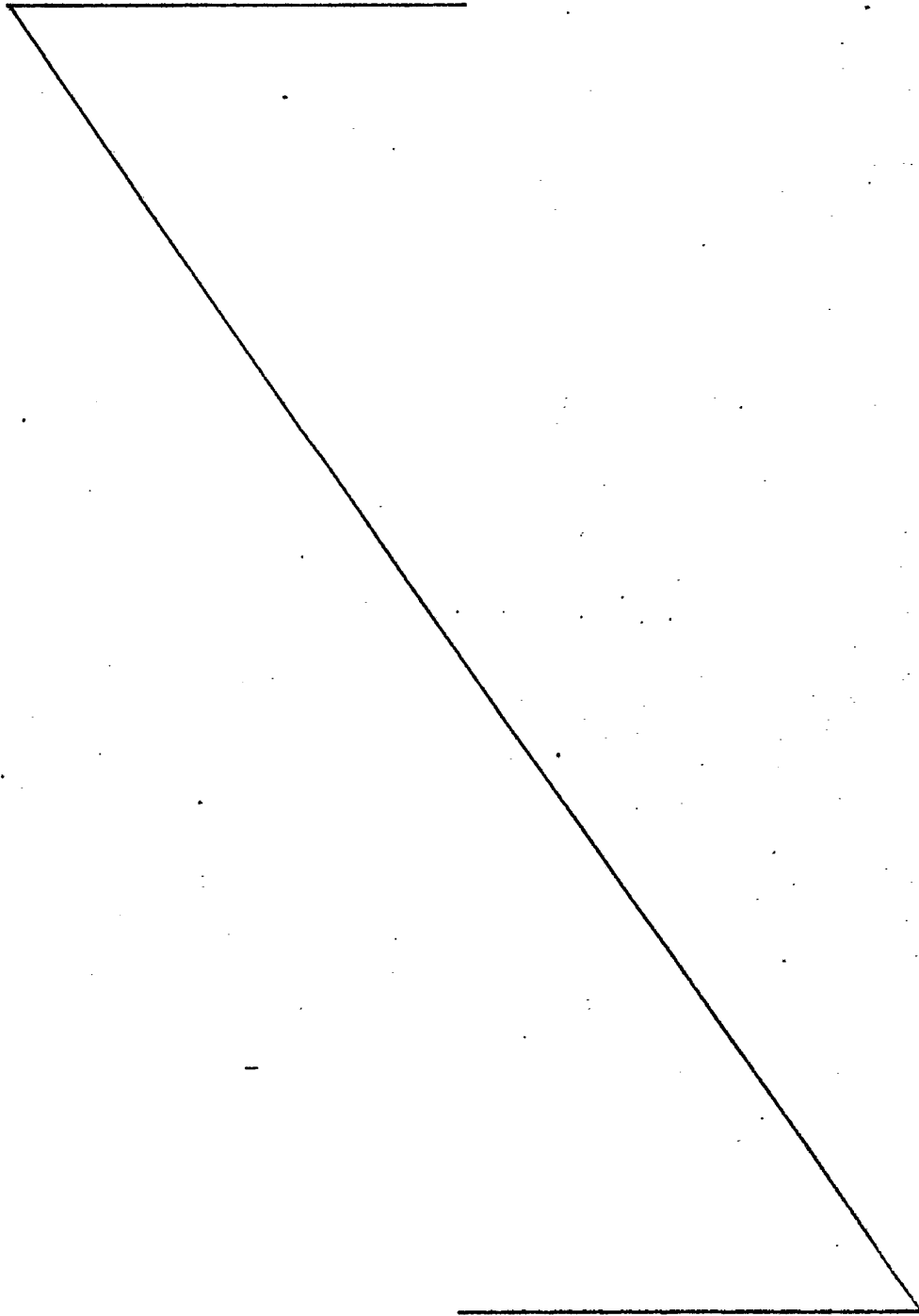
Actividad cicatrizante sobre heridas experimentales en ratas

10 La actividad cicatrizante del ácido serfícico y sericosido sobre heridas experimentales, fue determinada en ratas según el método de Morton & Malone (Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 196, 117, 1.972).

15 El tratamiento de las heridas se efectuó con una suspensión al 10 % de los principios activos en agua conteniendo 2 % de carboximetilcelulosa (CMC). Las suspensiones se emplearon en dosis de 0,1 ml para cada aplicación, efectuándose un tratamiento por día.

20 A partir de los datos mostrados en la siguiente tabla 2, se puede observar que el ácido serfícico y el serico-

sido poseen una actividad curativa significativa, en comparación con los controles, especialmente en los primeros días de tratamiento.



T A B L A 2

Actividad cicatrizante sobre heridas experimentales en ratas

Tratamiento	ml/rata dia	Número de animales	% de remarginación			Media \pm Día V	S.D. Día VI
			Día I	Día II	Día III		
Control (2% CMC)	0,1	14	5,2 \pm 1,1	12,8 \pm 1,5	21,9 \pm 3,1	39,63 \pm 2,3	57,4 \pm 2,1
Sericosido	0,1	14	13,9 \pm 1,4*	23,7 \pm 1,5*	36,8 \pm 2,0*	53,30 \pm 2,8*	68,2 \pm 2,1*
Acido sericico	0,1	14	10,4 \pm 1,3*	23,7 \pm 2,3*	36,9 \pm 2,7*	48,00 \pm 1,5*	59,0 \pm 2,2

Nota: Tratamiento local efectuado cada uno de los días en que se tomaron las mediciones (I, II, III, IV y VI).

* Significativamente ($p < 0,05$) diferente de los controles (2% CMC) basado en el ensayo "y" de Student.

T A B L A 2

Actividad cicatrizante sobre heridas experimentales en ratas

Tratamiento	ml/rata día	Número de animales	% de remarginación		
			Día I	Día II	Día I
Control (2% CMC)	0,1	14	5,2 \pm 1,1	12,8 \pm 1,5	21,9 \pm
Sericosido	0,1	14	13,9 \pm 1,4 *	23,7 \pm 1,5*	36,8 \pm
Acido sericico	0,1	14	10,4 \pm 1,3 *	23,7 \pm 2,3*	36,9 \pm

Nota: Tratamiento local efectuado cada uno de los días en que se tomaron las mediciones (I, II, III, IV y VI).

*) Significativamente ($p < 0,05$) diferente de los controles (2% CMC) basado en el ensayo "y" de Student.

atas

Día III	Media \pm Día V	S.D. Día VI
21,9 \pm 3,1	39,63 \pm 2,3	57,4 \pm 2,1
36,8 \pm 2,0 [*]	53,30 \pm 2,8 [*]	68,2 \pm 2,1 [*]
36,9 \pm 2,7 [*]	48,00 \pm 1,5 [*]	59,0 \pm 2,2

Actividad contra eritema por rayos ultravioleta

El eritema por rayos ultravioleta en los cobayos se realizó según el método de Winder et al. (Arch. Int. Pharmacodyn. 106, 261, 1.968).

5

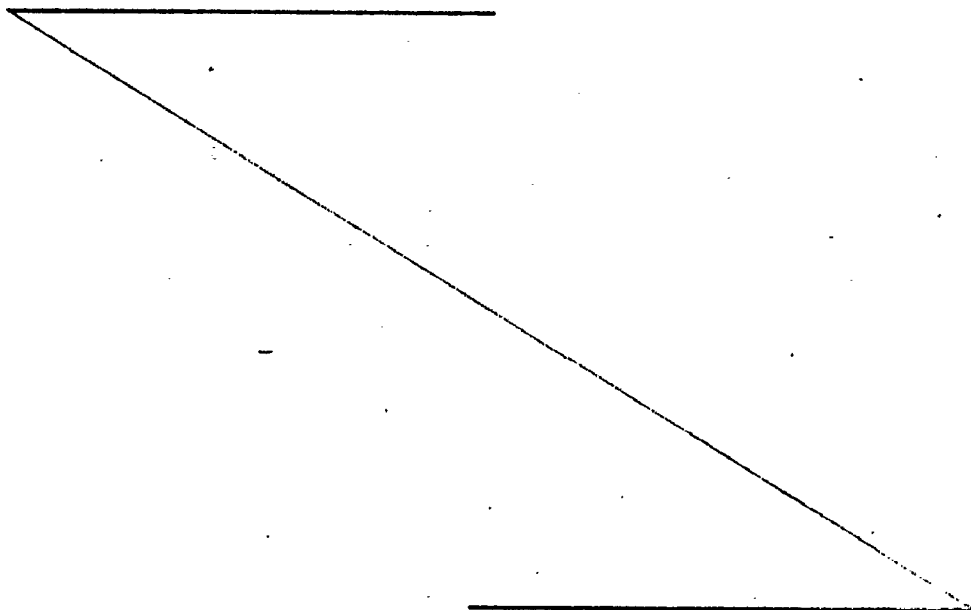
El sericosido y ácido serficio fueron aplicados a la piel depilada de cobayos machos albinos (peso medio 300-400 gramos) en forma de un gel al 5 % (utilizando 200 mg del mismo) una hora antes de la irradiación. Los animales fueron depilados 18 horas antes de la irradiación y se irradiaron durante 3 minutos con una lámpara de vapor de mercurio de 500 W., a una distancia de 18 cms.

10

Los controles se trataron con un gel similar que no contenía los ingredientes activos, sericosido o ácido serficio.

15

Los compuestos bajo examen fueron capaces de reducir el eritema con una actividad más pronunciada a las 8 horas, como se demuestra por los resultados indicados en la siguiente tabla 3.



T A B L A 3

Eritema UV en el cobayo

Tratamiento	Número de animales	Evaluación del eritema**				
		2 h.	4 h.	6 h.	8 h.	22 h.
Controles	10	1,15±0,17	2,40±0,30	2,55±0,34	2,35±0,18	1,05±0,23
Sericosido	10	0,75±0,17 (34,8)	1,70±0,23 (29,2)	1,95±0,22 (23,5)	1,30±0,25* (44,7)	0,70±0,15 (33,3)
Acido serí- cico	10	0,95±0,12 (17,4)	1,80±0,21 (25)	2,05±0,22 (19,6)	1,35±0,18* (42,5)	0,60±0,10 (42,8)

* Significativamente ($p < 0,05$) diferente de los controles, según el ensayo de Duncan (análisis de la variación).

** 0 = sin eritema; 0,5 = enrojecimiento moderado; 1 = enrojecimiento marcado; 2 = eritema evidente.

Nota: Entre paréntesis aparece el % de inhibición en comparación con los controles.

Preparados farmacéuticos

Los siguientes ejemplos de preparados farmacéuticos se produjeron mezclando los ingredientes activos con los excipientes indicados, y sirven para ilustrar la forma en la cual los compuestos de la invención pueden ponerse en las formas adecuadas para su administración local y oral.

Gel al 1 % para aplicación local

- 15 1) Sericosido 1 g.
Excipientes (propilenglicol, Carbopol 934, alcohol etílico, trietanolamina, agua, antifermentativo)q.s. 100 g.

2) Acido serficio 1 g.
Excipientes (propilenglicol, Carbopol 934,
alcohol etilico, trietanolamina, agua, an
tifermentativo)q.s. 100 g.

Unguento al 1 % para aplicaci3n local.

5 Sericosido 1 g.

Excipientes (glicerina, alcohol cetilico, tri
gliceridos vegetales saturados, aceite de la-
nolina, propilenglicol, agua)q.s. 100 g.

Suspensi3n para administraci3n oral

10 Acido serficio 1 g.

Excipientes (alginato s3dico, almid3n de maiz,
sacarosa, agua, antifermentativo)q.s. 100 g.

Polvo para aplicaci3n local

1) Sericosido 2 g.

15 Excipientes (Microlan, almid3n de maiz,
estearato de magnesio, talco)q.s. 100 g.

2) Acido serficio 2 g.

Excipientes (Microlan, almid3n de maiz, es
tearato de magnesio, talco)q.s. 100 g.

20 Ampolla para inyecci3n

1) Acido serficio 10 mg

Excipientes (propilenglicol, alcohol etf-
lico, agua esteril libre de pir3genos)q.s. 1 ml.

2) Sericosido 20 mg.

25 Excipientes (propilenglicol, alcohol etf-
lico, agua esteril libre de pir3genos)q.s. 2 ml.

Confecciones

1) Sericosido 20 mg.

30 Excipientes (almid3n de maiz, lactosa,
talco, estearato de magnesio, alginato s3
dico, azucar, goma ar3biga, carbonato de
magnesio)q.s. 250 mg.

2) Acido sericico 10 mg.

Excipientes (almidón de maiz, lactosa, talco, estearato de magnesio, alginato sódico, azucar, goma arábica, carbonato de magnesio)q.s. 200 mg.

Gel transparente

Acido sericico 10 g.

Excipientes (propilenglicol, trietanolamina, agua, antifermentativo)q.s. para 200 g.

Gel transparente

Sericosido 5 g.

Excipientes (propilenglicol, trietanolamina, agua, antifermentativo)q.s. para 200 g.

Tabletas

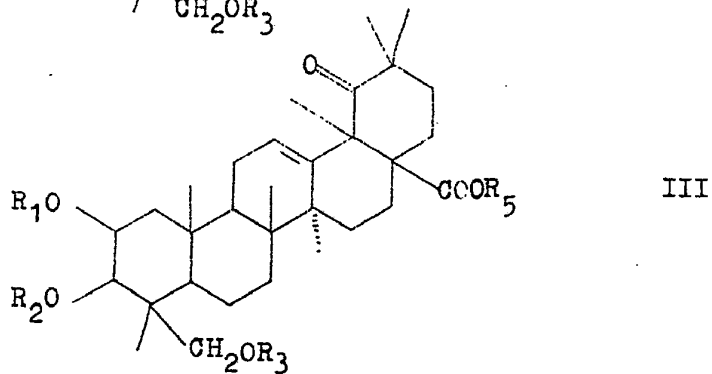
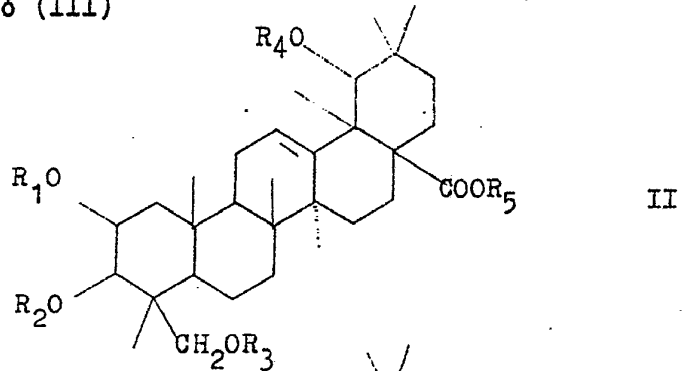
Sericosido 100 mg.

Excipientes (almidón, lactosa)q.s. para 500 mg.

N O T A

Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarse en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a una solicitud de Patente presentada en Inglaterra con el nº 4042/74 de 29 de enero de 1.974; acogiéndose por lo tanto a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España, sobre: PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE NUEVOS TERPENOS; caracterizándose por lo siguiente:

1.- Procedimiento para la obtención de nuevos terpenos, en especial sericosido y ácido serícico, de fórmula general (II) ó (III)



5

10

15

en donde $-OR_1$, $-OR_2$, $-OR_3$ y $-OR_4$, que pueden ser iguales o diferentes, representa cada uno un grupo hidroxilo libre o esterificado y $-COOR_5$ representa un grupo carboxilo libre o esterificado; y en donde R_1 , R_2 , R_3 y R_4 , que pueden ser iguales o diferentes, representa cada uno un átomo de hidrógeno o un radical acilo de un ácido mono- o poli-carboxílico, alifático o aromático, sustituido o insustituido; y R_5 representa un átomo de hidrógeno, un radical alifático sustituido o insustituido o un grupo glicosilo; caracterizado porque comprende extraer tejido de una planta de la especie Terminalia sericea con un disolvente orgánico, aislar ácido serícico y/o sericosido del extracto y, si se desea, convertir el ácido

serícico o sericosido aislado en otro compuesto de fórmula general (II) ó (III).

5 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el disolvente orgánico comprende un alcohol, una cetona o un éster.

3.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el disolvente orgánico comprende etanol, acetona o acetato de etilo.

10 4.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque antes de aislar ácido serícico y/o sericosido del extracto, se evapora el disolvente orgánico y el residuo resultante se pone en contacto con un hidrocarburo líquido para separar las sustancias grasas y resinosas.

15 5.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el aislamiento del ácido serícico y/o sericosido comprende una etapa de fraccionamiento en la cual una solución del extracto en agua o una mezcla de agua y un alcohol se pone en contacto con un disolvente de hidrocarburo clorado y se separa las soluciones acuosas y en hidrocarburo clorado así obtenidas.

20 6.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el aislamiento del ácido serícico y/o sericosido comprende la etapa de recristalización fraccionada o separación cromatográfica.

25 7.- Procedimiento según las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el sericosido o ácido serícico resultante, se somete a uno o más de las siguientes operaciones, realizadas en cualquier orden adecuado: (i) oxidación, 30 (ii) reducción, (iii) hidrólisis, (iv) esterificación y (v) sa

lificación.

8.- Procedimiento para la obtención de nuevos terpenos, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

5

Esta Memoria consta de 26 hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

INVERNI & DELLA BEFFA S.p.A. 28 FEB. 1975

L. GÓMEZ ACEBO Y MODET
Firmados L. Gómez Acebo y MoDET

