

MINISTERIO DE INDUSTRIA
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL



10 ES	11	NUMERO	452419
	21	FECHA DE PRESENTACION	
	22		

PATENTE DE INVENCION

10) PROPIEDAD INDUSTRIAL (11) NUMERO			12) FECHA			13) PAIS		
14) FECHA DE PUBLICIDAD			15) CLASIFICACION INTERNACIONAL C07D			16) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA		
17) TITULO DE LA INVENCION "PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE ACIDOS ARISTOLOQUICOS"								
18) SOLICITANTE (ES) LABORATORIOS MADAUS CERAFARM S.A.								
DOMICILIO DEL SOLICITANTE BARCELONA (España) c/. Fuego s/n								
19) INVENTOR (ES) Dr. med. Rodolfo Madaus y Dr. rer. ant. Klaus Görler								
20) TITULAR (ES) LABORATORIOS MADAUS CERAFARM S.A.								
21) REPRESENTANTE D. Jaime Isern Cuyas, Agente Oficial Propiedad Industrial								

DESCRIPCION

=====

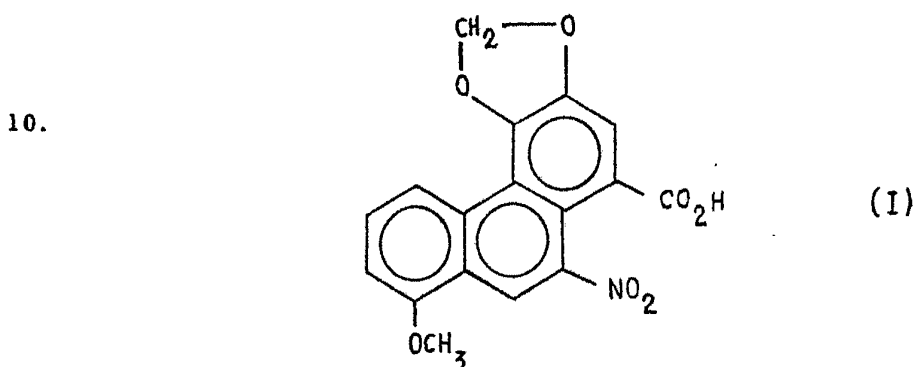
Este invento se refiere a un procedimiento para la obtención de ácidos aristolóquicos a partir de especies vegetales de Aristolochia, por extracción.

Los ácidos aristolóquicos son principios
5. activos vegetales con un grupo nitro en la estructura fenantrénica. En calidad de ácidos nitrofenantrencarboxílicos aparecen en numerosas especies de las aristolochiáceas; se trata de mezclas de ácidos, y los ácidos que aparecen en la Aristolochia clematitidis (L.) han sido
10. ampliamente aclarados en su estructura química.

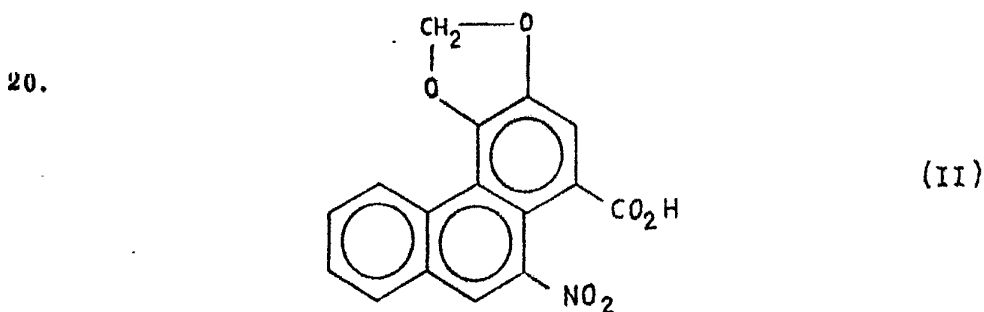
Los ácidos aristolóquicos son muy interesantes en el aspecto químico y farmacológico y constituyen medicamentos valiosos para una multitud de campos de aplicación. En particular, inhiben el crecimiento de
15. los tumores y estimulan la fagocitosis.

Para la preparación de grandes cantidades de ácidos aristolóquicos, en nuestras latitudes se dispone como material de partida fundamentalmente de la Aristolochia clematitidis (L.); se trata en particular de la materia prima
20. vegetal de las raíces, que presenta un alto contenido de ácido aristolóquico. Las raíces contienen alrededor de cinco a seis veces más ácido que las hojas o las demás partes del vegetal, aunque el contenido efectivo está sujeto a fuertes variaciones estacionales. Una buena materia prima vegetal
25. comercial puede contener hasta 0,6 % de ácidos aristolóquicos.

La porción principal de la mezcla de ácidos aristolóquicos está constituida por los ácidos aristolóquicos de las estructuras I y II. En el caso del ácido aristolóquico I se trata de un ácido 3,4-metilendioxi-8-metoxi-10-nitrofenantren-1-carboxílico, al que compete la estructura siguiente:



15. El ácido aristolóquico II se distingue del ácido aristolóquico I en que no presenta ningún grupo metoxilo. Se trata del ácido 3,4-metilendioxi-10-nitrofenantren-1-carboxílico, de la estructura



25. En virtud de la favorable acción farmacológica indicada antes, existe una gran demanda de ácidos aristolóquicos. En el estado actual de la técnica se conocen diversos procedimientos para aislar el principio activo

a partir de la materia prima vegetal; cabe señalar aquí en particular las publicaciones siguientes:

- Según W. Schunack y colaboradores, "Pharmazie" 20, páginas 685-688 (1965), se extrae primeramente raíz
5. larga de aristoloquia (radix Aristolochia longae) con éter de petróleo y a continuación se trata el extracto con etanol o con un disolvente menos polar (benceno, cloruro de metileno). Se describe como sumamente ventajosa la extracción ácida con cloruro de metileno / ácido sulfúrico diluido o con cloruro de metileno / ácido fórmico.
10. El extracto resultante se mezcla agitando con lejía de sosa cáustica al 2 % y luego se acidula con ácido sulfúrico diluido.

- Este procedimiento tiene inconvenientes considerables, porque su éxito depende mucho de la materia prima vegetal y a veces conduce a productos untuosos.
- 15.

- En la memoria de patente japonesa 27834/71 se describe un procedimiento para la extracción de Aristolochia debilis. Según la enseñanza de esta publicación,
20. se prepara a partir de la materia prima vegetal un extracto con agua amoniacal, se somete el extracto a cromatografía en columna empleando un eluyente compuesto en su mayor parte por cloroformo y adiciones de butanol y ácido acético, se separa la fracción de producto y se aísla éste de la
25. fracción.

Este procedimiento, pero sobre todo el conocido procedimiento de extracción de la materia prima vegetal con lejía

acuosa de sosa cáustica, son desventajosos porque con ellos el material vegetal se hincha rápidamente, lo que hace que los ácidos genuinos no se disuelvan con bastante celeridad en forma de sal y en consecuencia permanezcan demasiado tiempo en el medio alcalino, donde experimentan la degradación que ya ha sido descrita por Pailer.

Según la solicitud de patente alemana 1.186.980, se extrae raíz de aristoloquia con cloroformo, cloruro de metileno o éter, de la solución así obtenida se extraen en forma de sal los ácidos aristolóquicos al mezclar agitando con una solución acuosa alcalina, se precipita otra vez el producto por acidificación y eventualmente se recristaliza.

Este procedimiento tiene el inconveniente de depender mucho del grado de secado y del estado de la materia prima vegetal utilizada. Normalmente se obtienen mezclas untuosas de substancia, cargadas de productos de desintegración.

Según la solicitud de patente alemana 1.768.090, se extrae en caliente raíz de aristoloquia con un alcohol o una cetona miscibles en agua y con un contenido de agua de 40 a 60 %, se filtra por succión en caliente la solución conteniendo agua que resulta, se enfría, se trata con 3 a 5 % de dimetilformamida, se acidifica a pH de 2 - 3 con un ácido mineral y a continuación se hacen cristalizar por reposo los ácidos aristolóquicos.

- En este procedimiento es desventajoso el que hayan de utilizarse mezclas de agua y disolventes orgánicos miscibles con el agua, porque los disolventes orgánicos en la práctica entonces no se pueden recuperar. Además, las condiciones para la precipitación o la cristalización en este método son muy críticas, sobre todo porque con pH demasiado ácido vuelven a presentarse productos de desintegración.
- 5.

- El invento que ahora aquí se expone tiene por misión crear un nuevo procedimiento para aislar de las especies vegetales de Aristolochia los ácidos aristolóquicos, cuyo procedimiento carezca de los inconvenientes de los procedimientos según el estado actual de la técnica y conduzca con sencillez a un producto sumamente puro y a un mayor rendimiento.
- 10.

- El problema se resuelve procediendo a:
- 15.
- a) extraer la materia prima vegetal con alcalinidad débil,
 - b) acidificar el extracto,
 - c) disolver en un disolvente orgánico inmiscible con el agua el precipitado formado,
 - d) extraer ~~con~~ álcali acuoso la solución obtenida,
 - e) acidificar el extracto y
 - f) separar el producto precipitado y, eventualmente, recristalizarlo.
- 20.

- Una modalidad preferida del procedimiento de este invento se caracteriza por:
- 25.
- a) extraerse la materia prima vegetal, a pH de 8 - 8,5, con solución acuosoalcalina (de preferencia, acuosa) de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot n \text{H}_2\text{O}$,

- b) acidificar el extracto hasta pH de 5 a 3 con un ácido mineral,
- c) distribuir finísimamente y disolver en un éster a base de un ácido carboxílico alifático de 1 a 10 átomos de carbono y un alcohol de 1 a 10 átomos de carbono el precipitado formado y luego filtrar la solución para descargarla de los componentes insolubles,
5. d) extraer con álcali acuoso la solución obtenida,
10. e) acidificar a pH de 5 a 3 el extracto, con un ácido mineral, y
- f) recrystalizar a partir de dimetilformamida, con adición de una mezcla de un alcohol de 1 a 10 átomos de C y un éster a base de un ácido carboxílico de 1 a 10 átomos de C y un alcohol también de 1 a 10 átomos de C, en una relación de mezcla determinada (preferentemente, 2:1), el producto precipitado.
- 15.

El precipitado de la etapa c) del procedimiento anterior es una mezcla de ácidos brutos con un contenido de agua que se halla aproximadamente entre 60 y 90 %, y de preferencia alrededor de 80 %. Este ácido bruto acuoso se distribuye finísimamente con agitación enérgica (por ejemplo, con un aparato Turrax) en un disolvente orgánico, de preferencia en un éster como los definidos antes, a base de un ácido carboxílico de 1 a 10 átomos de carbono y un alcohol de 1 a 10 átomos de carbono. Esteres ventajosos son los ésteres metílico, etílico, propílico, butílico

20.

25.

c isobutílico del ácido acético y los ésteres respectivos del ácido fórmico, del propiónico, del butírico y del valeriánico; resulta especialmente ventajoso el acetato de etilo.

5.

El precipitado se disuelve preferentemente en 100 a 200 veces la cantidad en peso de dichos ésteres (de preferencia, acetato de etilo) respecto al precipitado acuoso. Se prefiere especialmente utilizar para la solución de 150 a 200 veces la cantidad en peso de acetato de etilo respecto al precipitado acuoso.

10.

Como se ha explicado al principio, la materia prima vegetal se extrae alcalinamente tres veces en total y luego se lava una vez con agua. Esta extracción alcalina puede efectuarse con una solución acuosa de una sustancia de reacción alcalina, de preferencia una solución diluída. En calidad de sustancias de reacción alcalina se incluyen: fosfatos alcalinos secundarios y terciarios, hidocarbonatos alcalinos, soluciones acuosas de etanolamina y trietanolamina y similares. Se prefiere especialmente una solución acuosa diluída de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, y se emplea con ventaja una solución 0,03 a 0,3 molar, y especialmente 0,06 molar, de esta sal. La extracción puede realizarse también con una solución acuosa de hidocarbonato sódico, y preferentemente fosfato sódico secundario o terciario y similares.

15.

20.

25.

En principio se incluyen para la extracción primaria de los ácidos aristolóquicos de la materia prima vegetal de las raíces, como ya se ha dicho antes, soluciones

acuosas, básicas o débilmente básicas. Sin embargo, en los procedimientos conocidos surgen en todos los casos dificultades considerables para la ulterior purificación y cristalización. Unicamente por la elección adecuada de las etapas del proceso de este invento se llegan a superar estas dificultades, evitando la aparición de productos de desintegración.

5.

Se somete a la extracción una materia prima vegetal de raíces finamente molida, no desgrasada. Por la extracción en la zona de pH de 8 a 9, y preferentemente de 8 a 8,5, en medio acuoso resulta superfluo el desengrasamiento previo.

10.

Es sorprendente que las condiciones de extracción en el procedimiento de este invento no conduzcan a una descarboxilación de los ácidos aristolóquicos, como era presumible si se tenían en cuenta los conocimientos existentes hasta ahora sobre el comportamiento de los ácidos aristolóquicos.

15.

La relación materia prima vegetal: medio de extracción se ajusta a 1:5 - 1:10 (g/v) aproximadamente. La extracción puede efectuarse por el principio de la corriente turbulenta, con aportación y reciclización continuas de la materia prima vegetal y retirada por porciones del material extraído, mediante una conexión divisora hacia el decantador.

20.

La extracción, descrita en el punto d) anterior, de la solución puede efectuarse ventajosamente en forma de extracción en contracorriente.

- El extracto obtenido de la materia prima vegetal en el punto anterior a) se acidifica con un ácido, de preferencia un ácido mineral y con especial preferencia ácido sulfúrico. Según una modalidad especialmente preferida del
5. invento, se acidifica con ácido sulfúrico y agitando hasta un pH de 3 a 5, y con especial preferencia de 4,0 a 4,5. Los ácidos brutos se precipitan entonces en forma fina. Se los somete luego a tratamiento ulterior tal como se ha descrito antes.
10. La acidificación descrita en el punto anterior e) del extracto obtenido en el punto d) se efectúa ventajosamente con un ácido mineral (más preferentemente ácido sulfúrico) y agitando enérgicamente. Es favorable dejar reposar un rato el extracto acidificado, para ayudar al crecimiento de las partículas
15. de los ácidos aristolóquicos purificados. Luego se separa el precipitado (por ejemplo, mediante centrifugación o filtración) y se seca al vacío con calentamiento, por ejemplo a 70 - 80°C.
- El producto amarillo que se obtiene puede ser empleado directamente tal como está o se somete a una ulterior
20. purificación por recristalización. Esta recristalización se realiza más ventajosamente con el uso de una mezcla de dimetilformamida y agua; de preferencia se recristaliza a partir de dimetilformamida a la que se añade una cantidad determinada de una mezcla de un alcohol de C₁-C₁₀ y el éster de un ácido carboxílico de C₁-C₁₀ y un alcohol de C₁-C₁₀ en una relación de
25. mezcla determinada, preferentemente 2:1.

Se prefiere especialmente la dimetilformamida con adición de 10 a 30 %, y preferentemente 20 %, de metanol / acetato de etilo en mezcla 2:1.

5. Los rendimientos en ácidos cristalizados oscilan mucho en dependencia de la materia prima original utilizado y se hallan por lo general entre 0,1 y 0,5 % respecto al material de partida.

10. Los ácidos cristalizados se componen fundamentalmente de ácido aristolóquico I y ácido aristolóquico II en la relación de 2:1, aunque pueden presentarse variaciones de ± 20 % según la materia prima inicial.

El concepto aquí empleado de "ácidos minerales" abarca todos los ácidos inorgánicos no oxidantes que se utilizan de ordinario. Cabe citar como ejemplos el ácido sulfúrico, el ácido fosfórico, el ácido clorhídrico y similares.

15. Como materia prima vegetal se incluyen todas las especies de aristoloquia que presenten un contenido de ácidos aristolóquicos. A ellas pertenecen, por ejemplo, Radix Aristolochia longae, Aristolochia clematidis, Aristolochia debilis, Aristolochia contorta, Aristolochia kaempfer, Aristolochia manshuriensis, Aristolochia fangdu, Aristolochia westlandi, Aristolochia griffithii y Aristolochia argentina.

20. Se prefiere especialmente el empleo de la Aristolochia clematidis.

Sobre los procedimientos del estado actual de la técnica el procedimiento de este invento tiene la ventaja de que por vía más sencilla conduce a un rendimiento hasta del 100 % en principio activo y de mejor calidad que antes.

5. El ejemplo que sigue ilustra el invento.

EJEMPLO DE LA OBTENCION DE ACIDO ARISTOLOQUICO

- Se extraen en el Turrax con una solución acuosa de fosfato sódico secundario (11,9 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ por litro), durante 1 hora cada vez y a la temperatura del ambiente,
10. 100 g de materia prima vegetal finamente molida de Radix Aristolochia clematidis. La primera y la segunda extracción se realizan con 2 litros cada vez de dicha solución, mientras la tercera extracción se realiza con 1 litro. Después de extraerla por tres veces se centrifuga la materia prima vegetal
15. y a continuación se lava con 1 litro de agua. Los extractos se reúnen con las aguas de lavado y después de realizar una clarificación se ajustan a pH 4 con ácido sulfúrico agitando energicamente. Se separa por centrifugación el precipitado de una noche de reposo y luego se añade el residuo agitando 600 cc de acetato
20. de etilo y se extrae durante media hora en el Turrax a temperatura ambiente. A continuación se clarifica la fase de acetato de etilo y se extrae tres veces en contracorriente con 300 cc cada vez de una solución 0,1 N de hidróxido sódico. De las soluciones alcalinas reunidas se precipitan los ácidos

aristóloquicos por acidificación con ácido sulfúrico hasta pH 4. Luego se separa por centrifugación el precipitado que se ha de jado reposar por una noche y se seca.

Rendimiento: 0,540 g

5. Durante la extracción de la materia prima vegetal con la solución acuosa de fosfato sódico no hay necesidad de reajustar el pH. Después de las extracciones primera y segunda el pH se halla entre 7 y 7,5, y en la tercera extracción sube hasta pH 8.

10. El ácido bruto resultante se recrystaliza a partir de dimetilformamida con adición de 20% (referida a la N,N-dimetilformamida utilizada) de mezcla 2:1 de metanol y acetato de etilo.

Intervalo de fusión: 273 a 280^o (desc.).

Espectro infrarrojo: Véase la figura 1.

- . -

15.

N O T A

Descrito el objeto del presente invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones:

REIVINDICACIONES

=====

1. Procedimiento para la obtención de ácidos aristolóquicos a partir de especies vegetales de Aristolochia por extracción alcalina, caracterizado por:

- a) extraerse la materia prima vegetal con alcalinidad débil,
- 5. b) acidificarse el extracto,
- c) distribuirse finamente y disolverse en un disolvente orgánico inmiscible con el agua el precipitado formado,
- d) extraerse con álcali acuoso la solución obtenida,
- e) acidificarse el extracto y
- 10. f) separarse el producto precipitado y, eventualmente, recristalizársele.

2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por:

- a) extraerse la materia prima vegetal, a pH de 8 a 8,5, con solución acuosa de Na_2HPO_4 ,
- 15. b) acidificarse el extracto con un ácido mineral, hasta pH de 5 a 3,
- c) distribuirse finamente y disolverse en un éster de un ácido carboxílico de 1 a 10 átomos de carbono el precipitado formado,
- 20. d) extraerse con solución acuosa de hidróxido sódico la solución obtenida,
- e) acidificarse el extracto con ácido sulfúrico, hasta pH de 5 a 3, y

- f) recristalizarse a partir de N,N-dimetilformamida con adición de una mezcla de un alcohol de 1 a 10 átomos de C y un éster de un ácido carboxílico de 1 a 10 átomos de C y de un alcohol de 1 a 10 átomos de C, en una relación de mezcla determinada (de preferencia, 2:1), el producto precipitado.
- 5.
3. Procedimiento según las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado por disolverse en acetato de etilo el precipitado de la etapa c).
- 10.
4. Procedimiento según la reivindicación 3, caracterizado por disolverse el precipitado en una cantidad de acetato de etilo 150 a 200 veces mayor, respecto al precipitado acuoso de la etapa c).
- 5.
15. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado en que la extracción descrita en el punto a) anterior se efectúa con pH de 8,0 a 9,0, y preferentemente de 8,5.
- 6.
20. Procedimiento según la reivindicación 2, caracterizado por efectuarse la recristalización con empleo de N,N-dimetilformamida con adición de 20 % de una mezcla de 2 partes de metanol y 1 parte de acetato de etilo.
7. Procedimiento según la reivindicación 2, caracterizado en que las diversas acidificaciones descritas en los puntos b) y e) anteriores se efectúan preferentemente hasta pH

de 4 a 4,5.

8. Procedimiento para la obtencion de ácidos aristolóquicos.

5. Según sedescribe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 16 hojas foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, a 15 de Octubre de 1976

p.a.

J.AIME IVERN

o. p.

Firmado: JOSE L. MORA