

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA
Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

PATENTE DE INVENCION

5 ENE. 1979

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

NUMERO	471862
FECHA DE PRESENTACION	3-Julio-1.978

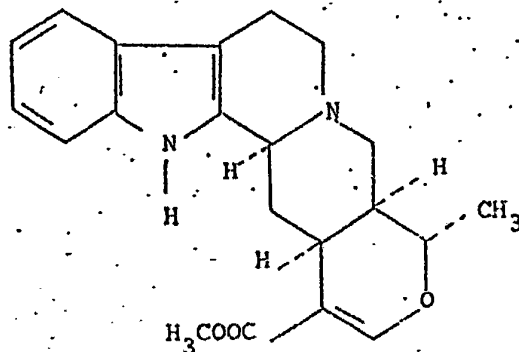
10 A1

30 PRIORIDADES: 31 NUMERO		32 FECHA 13-7-77	33 PAIS Francia
NO REGISTRADA ESTA PRIORIDAD - NO REGISTRADA ESTA PRIORIDAD - NO REGISTRADA ESTA PRIORIDAD			
47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL C07D	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA	
64 TITULO DE LA INVENCION "UN PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE TETRAHIDROALSTONINA A PARTIR DE ESPECIES VEGETALES DE LA FAMILIA DE LAS APOCINACEAS"			
71 SOLICITANTE (S) PIERRE FABRE S.A. (JPD/RH (101))			
DOMICILIO DEL SOLICITANTE 125, rue de la Faisanderie, París 16 ème, Francia			
72 INVENTOR (ES) Daniel Beziat y Philippe Hatinguais.			
73 TITULAR (ES)			
74 REPRESENTANTE DON ALBERTO DE ELZABURU MARQUEZ (P.-69.355)			

MCS//

1 La presente invención elaborada en el "Centre de
Recherche Pierre Fabre" y en una de cuyas realizaciones
ha participado M.R. Tarroux, se refiere a un nuevo proce-
5 dimiento de extracción que permite obtener la tetrahydroalstonina con rendimientos excelentes.

El producto es un alcaloide indólico que respon-
de a la siguiente fórmula general:



10 y a la denominación: Metoxi-carbonil-16-dideshidro-16-17-
- α -metil-19-oxayohimbano (20 α).

15 Estereoisómero en posición 20 de la raubasina,
se describe como poseedor de actividades adrenolíticas (Pa-
20 tente Francesa 1.397.537), hipoglicemiantes (G.H. Svoboda
y Col. Lloydia 27 (1964), 361), antihiperglicemiantes (tra-
bajos de Kocialski -J. Pharm. Sci. 1972 -61 (8) -1202-05)
y vasodilatadores cerebrales (Patente de Alemania Occiden-
tal 25 43 004).

25 Presente en diversas Apocináceas (Alstonia,
Rauwolfia Catharanthus, Uncaria), se encuentra también en
forma no hidrogenada (alstonina) en estas mismas especies.

30 Las técnicas utilizadas inicialmente para la fa-
bricación de la tetrahydroalstonina pasan en primer lugar
por el aislamiento intermedio de la base anhidronio, es de-

1 - cir la alstonina, obtenida a partir de extractos de sus-
tancias vegetales de las especies de Rauwolfia. Este ais-
lamiento presentaba numerosas dificultades prácticas y no
se efectuaba más que con pérdidas considerables debidas,
5 en particular, a la inestabilidad de la alstonina. Poste-
riormente, ha sido propuesto un procedimiento (Patente
Francesa 1.397.537) que, partiendo de especies de Rauwolfia
o de sus extractos, consistía en eliminar por extracción
líquido-líquido, los alcaloides bases secundarios o terci-
10 rios (fase orgánica) y permitía de este modo obtener una
mezcla de bases anhidronio en fase acuosa.

La reducción de estas bases anhidronio conducía
a un producto que se purificaba por numerosos tratamientos
líquido-líquido y por cromatografía en columna. Tal proce-
15 dimiento constituye por tanto una mejora con respecto a la
técnica anterior, citada previamente, pero lleva consigo,
no obstante, la pérdida sistemática de toda la tetrahydro-
alstonina existente con anterioridad en la planta, al efec-
tuar la eliminación de las bases terciarias. La presente
20 invención tiene por objeto un procedimiento de preparación
de tetrahydroalstonina a partir de especies vegetales de
la familia de las Apocináceas, que permite evitar los in-
convenientes de la técnica anterior y conduce, por tanto,
a rendimientos industriales elevados. Este procedimiento
25 se caracteriza porque se efectúan las diversas operaciones
sucesivas siguientes:

- Extracción alcohólica o hidroalcohólica direc-
ta de las especies vegetales de la familia de las Apociná-
ceas,

- Concentración del extracto alcohólico obtenido,

30

26068

1 - Reducción completa de la totalidad de dicho extracto alcohólico concentrado obtenido,

5 - Eliminación de la mayor parte de la raubasina por filtración, quedando la totalidad de la tetrahydroalstonina en solución en la fase orgánica,

10 - Tratamiento de la solución orgánica después de filtración de la raubasina para obtener la precipitación de un conjunto de alcaloides enriquecido en tetrahydroalstonina, que por ello se denominará "tetrahydroalstonina bruta",

- Primera purificación de la tetrahydroalstonina bruta anterior por precipitación en forma de citrato,

- Segunda purificación por tratamiento del citrato de tetrahydroalstonina con etanol de 95° G.L.

15 Según otra característica de la presente invención, la extracción se efectúa por medio de un disolvente escogido entre los alcoholes alifáticos que contienen de 1 a 4 átomos de carbono y de sus mezclas con agua en proporciones comprendidas sensiblemente entre 0 y 50%.

20 Según otra característica de la presente invención, la reducción completa de la totalidad del extracto alcohólico concentrado se efectúa por medio de borohidruro de un metal alcalino en particular de sodio o de potasio.

25 Según otra característica de la presente invención, dicha reducción por el borohidruro de metal alcalino se efectúa en presencia de butanol o de isobutanol y en presencia de agua, llevándose el pH de la solución de extracto alcohólico a un valor comprendido sensiblemente entre 10 y 12, por medio de un agente alcalino.

30 Según otra característica de la presente inven-

1 ción después de conseguir que la operación de reducción
sea completa, se concentra el medio reaccionante para eva-
porar el metanol, el etanol, o el propanol eventualmente
presente, con el fin de provocar la precipitación de la ma-
5 yor parte de la raubasina, que se puede eliminar así por
filtración.

Según otra característica de la presente inven-
ción, la fase orgánica obtenida después de separar la rau-
basina, se diluye por medio de hexano y se extrae en líqui-
10 do-líquido por una solución acuosa de ácido fosfórico.

Según otra característica de la presente inven-
ción, la fase fosfórica se concentra para eliminar los di-
solventes disueltos y una fracción alcaloidea (tetrahidro-
alstonina bruta) es precipitada por neutralización mediante
15 una solución alcalina.

Según otra característica de la presente inven-
ción, la tetrahydroalstonina bruta previamente secada y
triturada, se trata con cloroformo en presencia de sílice,
y los filtrados obtenidos se concentran sobre butanol anhi-
20 dro.

Según otra característica de la presente inven-
ción la fase butanólica anterior filtrada se diluye con bu-
tanol saturado de agua y una solución acuosa de ácido cítri-
co, para provocar la precipitación del citrato de tetrahi-
25 droalstonina.

Según otra característica de la presente inven-
ción, se procede a una purificación de dicho citrato de te-
trahidroalstonina por tratamiento en etanol a ebullición.

El procedimiento, objeto de la presente invención,
30 emplea, por tanto la reducción de la alstonina directamente

1 sobre el extracto bruto de diversas Apocináceas a partir de la primera fase de la extracción sin apelar a purificación alguna.

5 En numerosos casos, la cantidad de tetrahydroalstonina nativa en el vegetal representa una parte importante de la tetrahydroalstonina potencial, lo que hace el procedimiento, objeto de la presente invención, preferible a los que utilizan una separación previa de una fracción de bases anhidronio. Conforme al procedimiento de la presente
10 invención, la tetrahydroalstonina total que procede de la alstonina y de la tetrahydroalstonina nativa, se encuentra, por tanto, tratada globalmente.

El procedimiento objeto de la presente invención puede ser subdividido en 5 etapas esenciales:

15

1ª etapa: Extracción del vegetal

Esta primera etapa consiste en una extracción directa de la planta por alcoholes alifáticos que contienen de 1 a 4 átomos de carbono o por sus mezclas con agua en
20 proporciones comprendidas sensiblemente entre 0 y 50%. Una extracción semejante puede ser efectuada a partir de las raíces y/o las cortezas de las raíces y/o los tallos de Apocináceas. Las especies vegetales de la familia de las Apocináceas que son susceptibles de ser tratadas por el procedimiento objeto de la presente invención, se escogen entre las especies Vinca o Catharanthus, en particular del
25 tipo rosea, lancea y trichophyllus, las especies Rauwolfia, en particular de tipo canescens, obscura, vomitoria y análogos, y las especies Alstonia, en particular del tipo
30 Alstonia constricta.

1 Conforme al procedimiento de la invención, esta
etapa de extracción puede ser efectuada, por ejemplo, de
modo ventajoso con metanol y/o etanol sin recurrir a una
operación cualquiera de desengrasado preliminar por un di-
5 solvente apolar de tipo hexano, ciclohexano, benceno, to-
lueno, etc. En la práctica, además del metanol y el etanol,
es posible igualmente obtener una extracción completa de
la alstonina y de la tetrahydroalstonina con butanol, iso-
butanol y propanol a ebullición. Conviene notar además que
10 soluciones alcohólicas de estos disolventes que contienen
de 0 a 50% aproximadamente de agua, conducen igualmente a
buenos rendimientos de extracción.

15 2ª etapa: Reducción del extracto alcohólico total
concentrado:

 Esta etapa de reducción ha sido realizada, por
ejemplo, de modo ventajoso mediante un borohidruro de un
metal alcalino, en particular del borohidruro de sodio o de
potasio, en un disolvente tal como el metanol. En este ca-
20 so particular de reducción por el borohidruro, es indispen-
sable, cuando el extracto alcohólico a reducir ha sido rea-
lizado con metanol, etanol o propanol, añadir butanol o iso-
butanol, agua, así como un agente alcalino tal como la so-
sa y la potasa, para llevar el pH a una zona comprendida
25 sensiblemente entre 10 y 12.

 Si estas condiciones no son respetadas, es decir
si la reducción se realiza directamente sobre el concentra-
do alcohólico sin adición de butanol o isobutanol y sin mo-
dificación del pH, la formación de espumas es tal que la
30 velocidad de adición del borohidruro se hace extremadamente

1 - limitada y el reactor no puede trabajar más que en produc-
tividad muy reducida. Conviene notar aquí que el final de
la reducción puede ser detectado por técnicas muy sencillas
y sensibles, tales como la cromatografía de capa delgada.

5 Después de haber verificado que la reducción es
completa, el medio de reacción se concentra de modo que
se evapore el metanol o el etanol eventualmente presente.
El extracto hidrogenado está constituido entonces por un
medio heterogéneo del cual precipita la raubasina a medida
10 que se va efectuando la concentración. Esta raubasina se
elimina fácilmente por simple filtración o filtración con
succión quedando la totalidad de la tetrahydroalstonina en
solución orgánica.

15 3ª etapa: Obtención de la tetrahydroalstonina bruta:

20 A la fase orgánica obtenida en la etapa anterior
se adiciona la mitad del volumen de hexano y después se
extrae en líquido-líquido 2 veces con una solución de áci-
do fosfórico.

 La fase fosfórica se concentra luego de modo que
se eliminan los disolventes disueltos, y después se neutra-
liza con una solución de sosa.

25 La masa de alcaloides que precipita se aísla por
filtración y después se seca en una estufa ventilada. Ella
constituye la tetrahydroalstonina bruta.

 Esta etapa permite:

 - Una purificación importante (supresión de los
30 productos liposolubles y de los productos hidrosolubles re-
siduales no básicos),

1 - Un almacenamiento en forma concentrada, sólida y no degradable, de alcaloides distintos de la raubasina contenidos en la planta; una tonelada de raíces suministra aproximadamente 10 kg de alcaloides totales.

5 - Obtener cuantitativamente la tetrahydroalstonina en la masa de alcaloides precipitada.

4ª etapa: Obtención del citrato de tetrahydroalstonina:

10 La tetrahydroalstonina bruta obtenida en la tercera etapa es finamente pulverizada y después se extrae 2 veces con cloroformo en presencia de sílice. Los filtrados clorofórmicos agrupados son concentrados seguidamente en presencia de butanol hasta eliminación completa del cloroformo. Después de enfriar, un producto precipitado es eliminado por filtración, quedando la tetrahydroalstonina en la fase orgánica.

15 Entonces, el citrato de tetrahydroalstonina es obtenido de modo ventajoso en forma cristalina por dilución de esta última fase con ayuda de butanol saturado de agua y adición de una solución de ácido cítrico, manteniéndose la mezcla obtenida a 10°C.

5ª etapa: Purificación del citrato de tetrahydroalstonina:

25 Esta purificación consiste en una puesta en suspensión en etanol puro a ebullición. Después de enfriar, se seca el polvo blanco obtenido. Este constituye el citrato de tetrahydroalstonina puro monohidrato.

30 En comparación con las técnicas de extracción de

1 tetrahidroalstonina anteriormente conocidas, el procedi-
miento objeto de la presente invención presenta las venta-
jas determinantes siguientes:

- 5 - Inutilidad de efectuar un desengrasado de la
planta,
- Reducción directa del extracto, lo que evita
las pérdidas inherentes a tratamientos eventuales interme-
dios destinados, por ejemplo, a obtener una fracción de
base anhidronio (inestabilidad muy grande de la alstonina),
10 - Supresión de las técnicas de purificación por
cromatografía en columna que hacen uso de grandes cantida-
des de disolventes y de absorbentes, y que son largas y
costosas,
- Posibilidad de obtener conjuntamente por esta
15 técnica la raubasina (véase Patente francesa 77/3209 de P.
Fabre S.A.) de donde resulta una mejor rentabilidad de la
extracción,
- Obtención de un citrato de tetrahidroalstonina
puro cuyas propiedades físicoquímicas corresponden a la de-
20 finición del alcaloide.

El procedimiento objeto de la presente invención
está descrito con mayor detalle en los ejemplos no limita-
tivos siguientes:

25 I. Extracción del vegetal:

I.1) Ejemplo tipo:

10 kg de raíces de Vinca rosea con una concentra-
ción de 0,38% en tetrahidroalstonina total (alstonina + te-
trahidroalstonina), convenientemente trituradas, son extra-
30 dos con 70 litros de metanol a ebullición durante aproxima-

1 -damente 3 horas. Después de separación del extracto, se efectúan una segunda y una tercera extracción en las mismas condiciones, siendo recirculado el tercer extracto para la operación siguiente.

5 Los extractos alcohólicos se concentran entonces a presión atmosférica hasta un volumen pequeño de aproximadamente 2 a 4 litros.

I.2) Primera variante:

10 Una variante del ejemplo I.1) consiste en una extracción por isobutanol en Soxhlet durante 6 horas, efectuándose la concentración eventual del extracto en las mismas condiciones que las anteriormente indicadas.

I.3) Segunda variante:

15 Otra variante del ejemplo I.1) consiste en 3 extracciones sucesivas con butanol saturado de agua, a ebullición, de aproximadamente 3 horas cada una, y en las proporciones indicadas en el Ejemplo I.1). El tercer extracto hidroalcohólico se encuentra, igualmente, recirculado con vistas a la operación siguiente. Los 2 primeros extractos hidroalcohólicos son reagrupados y concentrados a un volumen de aproximadamente 4 litros.

25 I.4) Tercera variante:

La extracción puede ser efectuada igualmente como se indica en el ejemplo I.3) con isobutanol saturado de agua. Se obtiene de un modo semejante al ejemplo 1) un concentrado isobutanólico.

30

26068

1 II. Etapa de reducción:II.1) Ejemplo tipo:

5 El concentrado metílico obtenido en el ejemplo I.1) se diluye con 20% de agua y 40% de butanol y el pH de esta solución se ajusta a un valor aproximadamente igual a 11 por adición de lejía de sosa. Se añade entonces lentamente y en 3 fracciones, una solución de 53 g de borohidruro de potasio en 0,424 litros de agua hecha básica por 10 20 ml de lejía de sosa. Después de 2 horas de agitación, el fin de la reacción es controlado con facilidad por cromatografía en capa delgada, por ejemplo. El pH se lleva entonces a un valor aproximadamente igual a 8, por ejemplo por medio de una solución fosfórica al 5%, y después se 15 evapora el metanol. Después de enfriar, la mezcla se somete a una filtración lo que permite eliminar la mayor parte de la raubasina, quedando la totalidad de la tetrahydroalstonina en la fase orgánica.

20 II.2) Primera variante:

El concentrado obtenido en el ejemplo I.1) se diluye con 20% de agua, 20% de butanol, se ajusta a un pH igual a 12 por medio de lejía de sosa, y se adiciona a la solución borohidruro como anteriormente en el ejemplo II.1). 25 Después de neutralización y concentración, la raubasina bruta precipita. Se elimina por filtración con succión, como anteriormente, quedando la tetrahydroalstonina en solución orgánica.

30 II.3) Segunda variante:

El concentrado butanólico obtenido en el ejemplo

1 -I.3) se diluye con metanol (20%) y agua (20%) y la solución se ajusta a un pH igual a 10. La reducción y el final de esta etapa de reducción son efectuados como anteriormente (Véase ejemplo tipo II.1)).

5

II.4) Tercera variante:

La reducción se efectúa como en el ejemplo II.3) pero a partir del concentrado isobutanólico obtenido en el ejemplo I.4).

10

III. Obtención de la tetrahydroalstonina bruta:

A las fases orgánicas que sobrenadan (aproximadamente 2,5 l) obtenidas en II.1), II.2), II.3) ó II.4) se añade la mitad de volumen de hexano (aproximadamente 1,25 l) y después se extraen en líquido-líquido 2 veces con 2,5 l de una solución de ácido fosfórico al 2,5% (2,5 ml de ácido fosfórico d = 1,70, completados a 100 ml con agua destilada).

15

Las fases fosfóricas agrupadas son concentradas seguidamente a su mitad para eliminar los disolventes disueltos, y después el conjunto se neutraliza por adición de una solución de sosa.

20

El precipitado se aísla por filtración, se lava 2 veces con 0,2 litros de agua y después se seca en estufa ventilada, a 90°C.

25

Este producto constituye la tetrahydroalstonina bruta, que representa aproximadamente 1,2% del peso de las raíces tratadas, con una concentración de aproximadamente 25% de tetrahydroalstonina.

30

26068

1 IV. Obtención del citrato de tetrahidroalstonina

La masa de alcaloide (120 g) obtenido en III se tritura y después se pone en suspensión en 0,96 litros de cloroformo. Con agitación se añaden 120 g. de sílice (60 -
5 - 60 - 230 mallas), manteniendo la agitación durante 5 minutos, y después se filtra por placa de vidrio fritado del número 4. El sólido filtrado se somete después a una segunda extracción idéntica con cloroformo. Los filtrados cloro
fórmicos agrupados se concentran seguidamente en presencia
10 de 0,4 litros de butanol hasta eliminación completa del cloroformo.

Después de reposo a 10°C durante 14 horas, la solución butanólica se filtra y el precipitado obtenido se elimina.

15 A la solución butanólica se añaden consecutivamente 0,24 litros de butanol saturado de agua y 0,096 litros de solución cítrica que contiene 30 g de ácido cítrico puro.

Después de un reposo de 3 horas a la temperatura
20 de 10°C, se recupera el cristalizado de citrato de tetrahidroalstonina por filtración por placa de vidrio fritado del nº 2, se lava directamente sobre el filtro con 0,2 litros de butanol saturado de agua llevado previamente a 10°C y se filtra con succión del mejor modo.

25 V. Purificación del citrato de tetrahidroalstonina:

El cristalizado de citrato de tetrahidroalstonina obtenido en IV se recoge en 0,72 litros de etanol de
30 95° y se lleva a ebullición durante 5 minutos. Después de

1 -enfriar a 10°C se recupera por filtración un producto blanco que se lava con 80 ml de etanol puro y después se seca a 70° bajo 20 mm de Hg.

Peso obtenido: 33,5 gramos.

5 Este producto constituye el monohidrato de citrato de tetrahydroalstonina puro y posee las características siguientes:

- Examen cromatográfico:

10 Una sola mancha $R_f = 0,79$ en el sistema sílice y metanol

Eter etílico - hexano (20 - 80 - 120)

En este mismo sistema la raubasina tiene un R_f de 0,57.

- Concentración de perclórico: 99,6%.

15 - Espectro UV: max. 289, 281, 272 nm.

Punto de fusión: 250°C (con descomposición).

- Análisis elemental :

	C	H	N	% de H ₂ O
20 Calculado	57,64%	6,09%	4,98%	3,2%
Encontrado	57,70%	5,93%	5,05%	3,1%

25 Ha de entenderse que la presente invención no se limita a los modos de puesta en práctica anteriormente descritos, sino que es perfectamente posible imaginar diversas variantes de este procedimiento de extracción que permiten obtener la tetrahydroalstonina en forma de citrato y a partir de éste, por medio de métodos conocidos, la tetrahydroalstonina base, sus sales y derivados.

30

26068

1

- REIVINDICACIONES -

5

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

10

1ª.- Un procedimiento de preparación de tetrahidroalstonina a partir de especies vegetales de la familia de las Apocináceas, caracterizado porque se efectúan las diversas operaciones sucesivas siguientes: extracción alcohólica o hidroalcohólica directa de dichas especies vegetales, concentración del extracto alcohólico obtenido, reducción completa de la totalidad de dicho extracto alcohólico concentrado obtenido, eliminación por filtración del precipitado de raubasina y tratamiento de la fase orgánica para obtener la tetrahidroalstonina bruta, tratamiento de la tetrahidroalstonina bruta en fase orgánica para obtener el citrato de tetrahidroalstonina, recuperación del citrato de tetrahidroalstonina por medio de etanol de 95º para obtener un producto puro.

15

20

25

2ª.- Un procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque la extracción alcohólica o hidroalcohólica se aplica directamente a raíces y/o cortezas de raíces y/o tallos de Apocináceas.

30

3ª.- Un procedimiento según una de las reivindicaciones 1ª y 2ª, caracterizado porque las especies vegetales de la familia de las Apocináceas tratadas se escogen entre las especies Vinca ó Catharanthus, en particular de

1 tipo rosea, lancea ó trichophyllus, las especies Rauwolfia, en particular de tipo canescens, vomitoria, serpentina y análogos y las especies Alstonia, en particular de tipo cónstricta.

5 4ª.- Un procedimiento según una de las reivindicaciones 1ª a 3ª, caracterizado porque la extracción se efectúa por medio de un disolvente escogido entre los alcoholes alifáticos que contienen de 1 a 4 átomos de carbono y sus mezclas con agua en proporciones de aproximadamente 10 te 0 a 50%.

5ª.- Un procedimiento según una de las reivindicaciones 1ª a 4ª, caracterizado porque la reducción completa de la totalidad del extracto alcohólico concentrado se efectúa por medio de borohidruro de un metal alcalino, en particular de sodio o de potasio. 15

6ª.- Un procedimiento según la reivindicación 5ª, caracterizado porque dicha reducción por el borohidruro de metal alcalino se efectúa en presencia de butanol o de isobutanol y en presencia de agua, llevándose el pH de la solución de extracto alcohólico a un valor sensiblemente comprendido entre 10 y 12 por medio de un agente alcalino. 20

7ª.- Un procedimiento según la reivindicación 6ª, caracterizado porque después de conseguir que la operación de reducción sea completa, se regula el pH a un valor próximo a 8. 25

8ª.- Un procedimiento según las reivindicaciones 6ª y 7ª, caracterizado porque después de conseguir que la operación de reducción sea completa se concentra el medio de reacción de modo que se evapore el metanol o el etanol 30

1 eventualmente presente, con el fin de provocar la precipitación de la raubasina bruta que se elimina por filtración.

5 9ª.- Un procedimiento según una de las reivindicaciones 1ª a 8ª, caracterizado porque a la fase orgánica que sobrenada obtenida después de reducción se adiciona hexano y se extrae en líquido-líquido con una solución fosfórica.

10 10ª.- Un procedimiento según la reivindicación 9ª, caracterizado porque las soluciones fosfóricas agrupadas se concentran para eliminar los disolventes y son neutralizadas por medio de un agente alcalino para precipitar una masa de alcaloides denominada tetrahydroalstonina bruta.

15 11ª.- Un procedimiento según una de las reivindicaciones 1ª a 10ª, caracterizada porque la tetrahydroalstonina bruta triturada y secada se trata con cloroformo en presencia de sílice.

20 12ª.- Un procedimiento según la reivindicación 11ª, caracterizado porque los filtrados clorofórmicos son concentrados en presencia de butanol anhidro hasta eliminación del cloroformo, filtrándose seguidamente los líquidos butanólicos enfriados.

25 13ª.- Un procedimiento según la reivindicación 12ª, caracterizado porque a los filtrados butanólicos se adiciona butanol saturado de agua después de una solución cítrica, permitiendo de este modo la cristalización del citrato de tetrahydroalstonina.

30 14ª.- Un procedimiento según una de las reivindicaciones 1ª a 13ª, caracterizado porque el citrato de tetrahydroalstonina así obtenido se trata con etanol puro

1 a ebullición y luego se filtra después de enfriar a 10°C.

5 15ª.- Un procedimiento según la reivindicación 14ª, caracterizado porque el precipitado de citrato de tetrahidroalstonina obtenido después de tratamiento con etanol de 95%, se seca bajo vacío a una temperatura del orden de 70°.

16ª.- Un procedimiento de preparación de tetrahidroalstonina a partir de especies vegetales de la familia de las Apocináceas.

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

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

Madrid, 03.JUL.1978

15

Alberto de Elzaburu
Por todos

20

25

DNM 30

26068