

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA

Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

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

NUMERO	481.109/7
FECHA DE PRESENTACION	30-MAYO-1979

A1

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES: 31 NUMERO 25618	32 FECHA 31-5-1978	33 PAIS GRAN BRETAÑA
---------------------------------------	-----------------------	-------------------------

47 FECHA DE PUBLICIDAD	61 CLASIFICACION INTERNACIONAL A61K 35/78	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
------------------------	----------------------------------------------	--------------------------------------

54 TITULO DE LA INVENCION
 " UN METODO DE PREPARACION DE UN EXTRACTO DE STEPHANIA CEPHARANTHA "

71 SOLICITANTE (S)
 LABORATOIRE DEBAT

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
 60, rue de Monceau - 75008 PARIS - Francia

72 INVENTOR (ES)
 Jacques Debat; Jean Lemoine y Françoise Lier née Gabillault, todos de nacionalidad francesa.

73 TITULAR (ES)
 El mismo solicitante

74 REPRESENTANTE
 DON BERNARDO UNGRIA GOIBURU

CM.-

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

1 La Stephania cepharantha es una planta de la familia
de las Menispermaceas que crece en China y Japón. Ha sido
descrita por R.R. Paris y H. Moyse en "Matière Médicale",
5 vol. 2, pág. 178 (Masson ed., París 1967).

También es sabido, especialmente por la publicación
de R.R. Paris y H. Moyse, que los extractos de la raíz de
Stephania cepharantha preparados por extracción con una mez-
cla de agua y alcohol (por ejemplo una mezcla de agua y
10 etanol 50:50 en volumen) a 60-100°C, han sido propuestos en
la medicina popular para el tratamiento de la tuberculosis
y la lepra.

Ahora se ha hallado que el extracto de los tallos de
Stephania cepharantha es: (i) diferente del extrato de las
15 raíces de la misma planta antes citado y (ii) útil en tera-
pia, especialmente en el tratamiento de las enfermedades
infecciosas, debido a sus propiedades bacteriostáticas,
antálgicas y antiflogísticas.

OBJETO DE LA INVENCION

20 El objeto de esta invención es proporcionar un mé-
todo de extracción de los tallos de Stephania cepharantha
para obtener un nuevo extracto que es útil en el tratamien-
to de sujetos humanos que padecen en especial de enferme-
dades infecciosas.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

25 De acuerdo con esta invención, los tallos de la plan-
ta se extraen con un disolvente como mínimo. El producto
así obtenido se purifica después, si es necesario, y a con-
tinuación se recupera por un método conocido.

30 La extracción puede realizarse empleando de 30 a 150g

1 de planta seca molida por litro de disolvente. Los disolven-
tes que pueden utilizarse son agua, alcoholes (como metanol,
etanol, propanol e isopropanol), cetonas (como acetona, metil-
5 etilcetona y metilpropilcetona), éteres (como éter dimetil-
lico, éter dietílico y éter diisopropílico), ésteres (como
acetato de etilo), hidrocarburos (como pentano, hexano, ci-
clopentano, ciclohexano, éter de petróleo y benceno), hidro-
carburos halogenados (como cloroformo y cloruro de metileno)
y mezclas de los mismos.

10 REALIZACIONES PREFERIDAS DE LA INVENCION

Los disolventes preferidos para extraer los tallos de
Stephania cepharantha son el cloroformo, el metanol y una
mezcla de metanol y agua 75:25 en volumen.

15 El extracto, que se obtiene por extracción en un di-
solvente y después evaporación a sequedad a presión reduci-
da, contiene generalmente componentes alcaloideos y compo-
nentes no alcaloideos. Los métodos preferidos para la recu-
peración de los alcaloides se encuentran en los Ejemplos 2
y 3, permitiendo el método del Ejemplo 3 aislar los componen-
20 tes alcaloideos de los no alcaloideos.

EJEMPLO 1

Preparación del extracto total

25 En un aparato Soxhlet se extraen durante 4 horas 140 g
de tallos secos y molidos de Stephania cepahrantha con 3 li-
tros de metanol. La materia insoluble se desprecia y la so-
lución metanólica se evapora a sequedad a presión reducida
para obtener un producto seco que se recoge en una cantidad
mínima de agua y después se liofiliza. Se obtienen 85 g de
30 extracto total (al que se asigna la clave AJ-01). El rendi-
miento es del 42,5 % en peso respecto al material vegetal

1 de partida.

EJEMPLO 2

Extracción de los componentes alcaloideos

a) Extracción

5

10

15

Se tratan 1,2 kg de tallos secos (a 37°C en estufa) y molidos de Stephania cepharantha con 1,2 litros de NH_4OH (que contiene 150 g/litro de NH_3) y se extraen con 9 litros de CHCl_3 en un aparato Soxhlet. La solución clorofórmica que se recupera se concentra después a 3 litros a presión reducida y se extrae con agua acidulada (5 veces con 500 ml de agua conteniendo 20 g/litro de ácido cítrico). Después de agregar NH_4OH hasta pH 8, las bases libres que contiene la solución se extraen cinco veces con 200 ml cada vez de cloroformo. La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico anhidro y se evapora a sequedad a presión reducida para dar 11,76 g de un producto seco denominado extracto alcaloide total. Rendimiento: 9,8 % en peso respecto al material vegetal de partida.

b) Purificación

20

25

30

El extracto alcaloide total se somete a extracción con metanol en un aparato Soxhlet. La solución metanólica se evapora a sequedad a presión reducida. El residuo de la evaporación se trata con agua que contiene 20 g/l de ácido cítrico y la materia insoluble se separa por filtración y se desprecia. Se agrega NH_4OH a la fase acuosa hasta pH 8 y después se lava tres veces con 200 ml de cloroformo cada vez. Después de acidular con ácido cítrico, se precipitan los alcaloides cuaternizados mediante el reactivo de Mayer para dar, después de filtrar y secar, 51 g de yodomercuratos de alcaloides que se transforman en los cloruros de los alcaloides cuaternizados por cromatografía con una resina cambiado-

1 ra de ion (Amberlite IRA 400 en forma de cloruro). Por elu-
ción y liofilización se obtienen los componentes alcaloideos.

EJEMPLO 3

Extracción de los componentes alcaloideos y no alcaloideos

5 Se extraen 100 g de los tallos secos (a 37°C en una
estufa) y molidos de Stephania cepharantha con 1 litro de
una mezcla a ebullición de metanol y agua 75:25 en volumen.
Después de filtrar la materia insoluble, el filtrado se con-
10 centra a 250 cm³ a presión reducida. La fase acuosa que se
obtiene se filtra y se cromatografía en una resina no iónica
(300 ml de Amberlite XAD-2).

El filtrado, que contiene el material no adsorbido,
se liofiliza. El producto así obtenido contiene los componen-
tes no alcaloideos.

15 Por elución del material adsorbido con una mezcla de
etanol y agua 90:10 en volumen se obtiene, después de con-
centrar a presión reducida y liofilizar, un producto que
contiene los componentes alcaloideos.

20 Los extractos de Stephania cepharantha de esta inven-
ción han sido ensayados para determinar sus propiedades far-
macológicas. Los ensayos relativos al producto AJ-01 (el ex-
tracto del Ejemplo 1) están resumidos a continuación.

1°) Toxicidad

25 El producto AJ-01 administrado a los animales por vía
intravenosa e intraperitoneal, en solución en suero fisioló-
gico (agua conteniendo 9 g/l de NaCl) es bien tolerado. La
DL₀ (es decir, la dosis máxima no letal) por vía intravenosa
y vía intraperitoneal en ratones es superior a 500 mg/kg.

30 2°) Actividad bacteriostática

El producto AJ-01 presenta actividad bacteriostática

1 contra las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Por
ejemplo, los valores de la CMI (concentración mínima de inhi-
bición) del AJ-01 son 2 mg/ml frente a Staphylococcus aureus
5 London y 44 mg/ml frente a una cepa de Proteus (Proteus 1557
del catálogo de la colección del Centre International de
Distribución de Souches et d'Information sur les Types Micro-
biens" de Lausanne).

3°) Actividad antiflogística

10 La actividad antiflogística del AJ-01 fué estudiada en
ratas hembra (con un peso de 100 g), por el ensayo del edema
causado por carragenano. Los resultados dados en la Tabla I
para el AJ-01 y la fenilbutazona (producto de referencia)
indican que el AJ-01 inhibe de forma estadísticamente signi-
ficativa el desarrollo del edema causado por carragenano a
15 una dosis de 100 mg/kg, siendo máxima la acción 3 horas des-
pués de la administración.

4°) Actividad antálgica

20 El estudio se realizó por el método de Koster, median-
te la administración intraperitoneal a ratones macho de 0,2
ml de una solución acuosa de ácido acético (30 g/l), 30 mi-
nutos después de la administración intraperitoneal u oral de
los productos a ensayar (AJ-01 y aspirina como sustancia de
referencia). Los resultados se encuentran en la Tabla II,
donde se han registrado el número de retortijones y el por-
centaje de variación respecto a los animales de control.

25 Los resultados de los ensayos farmacológicos indican
que el extracto de tallos de Stephania cepharantha de acuerdo
con esta invención, tales como el AJ-01, son útiles para el
tratamiento de sujetos humanos que padecen enfermedades infec-
30 ciosas, dolores e inflamaciones.

1

La invención incluye dentro de sus límites una composición terapéutica que contiene, en asociación con un excipiente fisiológicamente aceptable, una cantidad farmacéuticamente efectiva de un extracto de la invención.

5

Estas composiciones pueden administrarse por vía oral en forma de grageas, píldoras, jarabes y ampollas bebibles, localmente en forma de ungüentos o pulverizaciones o por inyección.

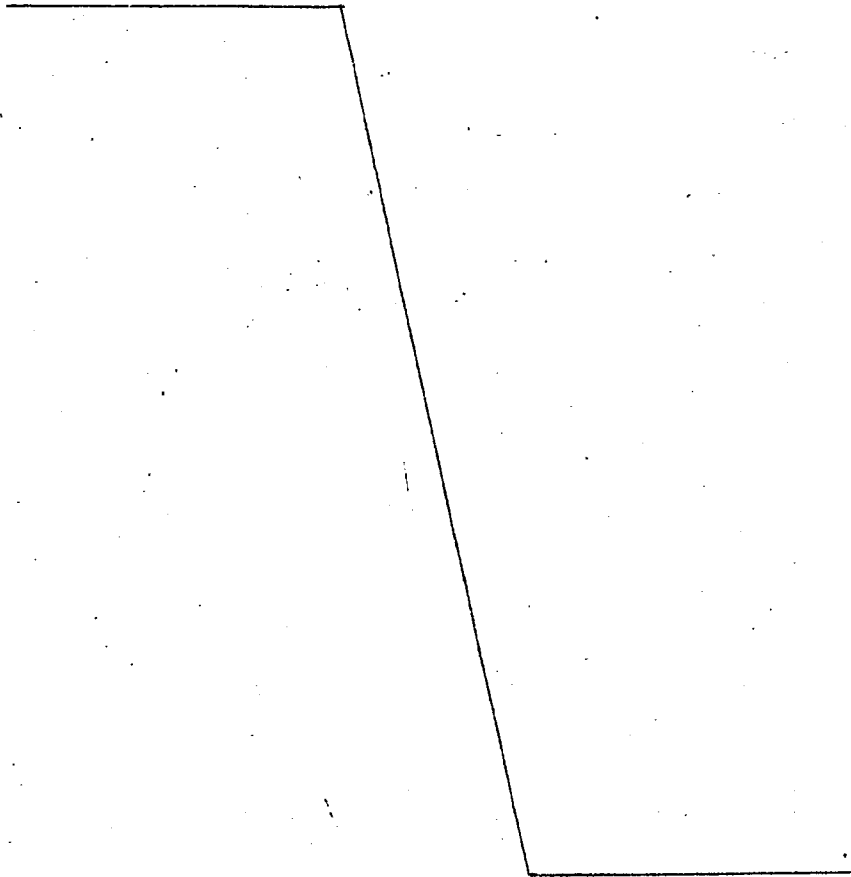
10

15

20

25

30



1

TABLA I

Ensayo sobre el edema producido por carragenano

Producto (dosis)	Número de animales por lote	Medida pletismográfica del volumen de carragenano y del pr		
		T + 1 h	T + 2 h	T +
Control	10	4,3 ± 1,3	7,2 ± 1,6	10,6
Fenilbutazona (20 mg/kg)	8	4,6 ± 0,3	3,8 ± 0,7	5,2
		(+ 7 %)	(- 48 %)	(-
AJ-01 (20 mg/kg)	10	4,0 ± 0,4	5,9 ± 1,4	10,6
		(- 8 %)	(- 18 %)	(
AJ-01 (100 mg/kg)	8	3,6 ± 1,6	5,5 ± 0,8	7,3
		(- 16 %)	(- 24 %)	(-

(a): El porcentaje de variación respecto a los animales de control, está da

(b): Estadísticamente significativo (p < 0,05).

10

15

20

25

30

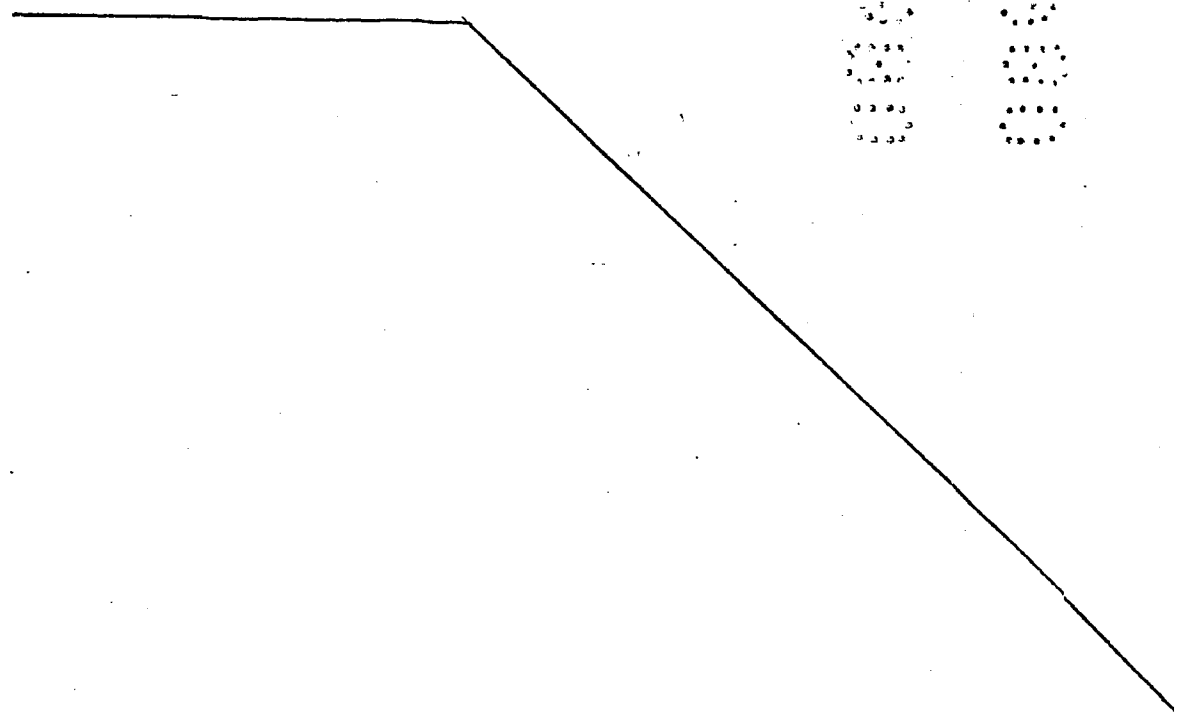


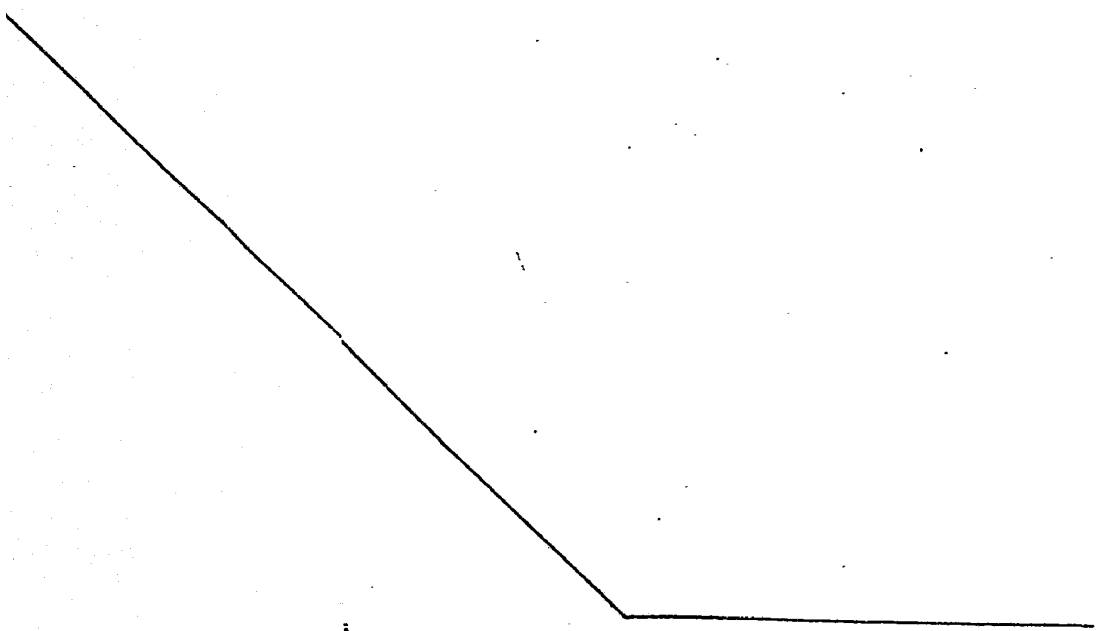
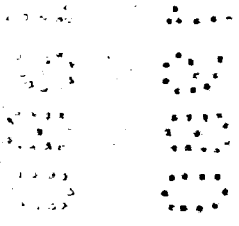
TABLA I

a producido por carragenano

ida pletismográfica del volumen del edema después de la administración de carragenano y del producto a ensayar en el instante T (a)

<u>1 h</u>	<u>T + 2 h</u>	<u>T + 3 h</u>	<u>T + 4 h</u>	<u>T + 5 h</u>
3 ± 1,3	7,2 ± 1,6	10,6 ± 2,1	12,7 ± 2,2	13 ± 1,3
6 ± 0,3	3,8 ± 0,7	5,2 ± 1,5	7,2 ± 1,6	8,3 ± 1,5
(+ 7 %)	(- 48 %)	(- 51 %)	(- 43 %)	(- 36 %)
0 ± 0,4	5,9 ± 1,4	10,6 ± 1,4	12,7 ± 1,1	12,7 ± 1,1
(- 8 %)	(- 18 %)	(0 %)	(0 %)	(- 2 %)
6 ± 1,6	5,5 ± 0,8	7,3 ± 1,9	10 ± 1,2	11,5 ± 1
(- 16 %)	(- 24 %)	(- 31 %)(b)	(- 21 %)(b)	(- 12 %)

animales de control está dado entre paréntesis



1

TABLA II

Ensayo con ácido acético

	<u>Producto (dosis)</u>	<u>Número de animales</u>	<u>Número de retortijones</u>	<u>Variación respecto a los animales de control</u>
5	Control	10	28,1 ± 6,8	-
	Aspirina, 200 mg/kg, p.o.	10	17,7 ± 5,0 (a)	- 37 %
	AJ-01, 100 mg/kg, i.p.	10	25,0 ± 7,2	- 11 %
10	AJ-01 250 mg/kg, i.p.	10	19,1 ± 4,0 (a)	- 32 %

(a) estadísticamente significativo ($p < 0,05$).

En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:

15

- REIVINDICACIONES -

1. Un método para la preparación de un extracto de Stephania cepharantha, útil en terapia, especialmente como agente bacteriostático, antiflogístico y antálgico, cuyo método comprende:

20

a) secar en una estufa a la temperatura adecuada los tallos de dicha planta;

b) moler los tallos secos procedentes de la etapa anterior;

25

c) extraer los tallos molidos procedentes de la etapa anterior con un disolvente como mínimo, seleccionado del grupo formado por agua, alcoholes, cetonas, ésteres, éteres hidrocarburos, hidrocarburos halogenados y mezclas de los mismos, utilizándose aproximadamente 1 litro de disolvente por cada 30 a 150 g de tallos secos molidos;

30

d) recuperar el extracto procedente de la etapa ante-

1 rior por evaporación a sequedad a presión reducida de la so-
lución obtenida.

2. Un método según la Reivindicación 1 donde el di-
solvente está seleccionado entre el grupo formado por cloro
5 formo, metanol y una mezcla de metanol y agua 75:25 en vo-
lumen.

3. Se reivindica por último como objeto sobre el que
ha de recaer la Patente de Invención que se solicita: UN ME
10 TUDO DE PREPARACION DE UN EXTRACTO DE STEPHANIA CEPHARAN-
THA.

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la pre-
sente memoria descriptiva que consta de diez páginas meca-
nografiadas.

Madrid, 30 de Mayo de 1.979

BERNARDO UNGRIA

15

20

25

30