



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 284 341**

② Número de solicitud: 200502101

⑤ Int. Cl.:  
**C07C 63/66** (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

⑫ Fecha de presentación: **19.08.2005**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **01.11.2007**

Fecha de la concesión: **12.09.2008**

⑮ Fecha de anuncio de la concesión: **16.10.2008**

⑯ Fecha de publicación del folleto de la patente:  
**16.10.2008**

⑰ Titular/es: **Universidad de Granada  
Hospital Real, Cuesta del Hospicio, s/n  
18071 Granada, ES**

⑱ Inventor/es:  
**Álvarez-Manzaneda Roldán, Enrique y  
Chahboun, Rachid**

⑳ Agente: **No consta**

㉑ Título: **Procedimiento para la obtención de ácido *trans*-comúnico y derivados a partir de *Cupressus sempervirens* L.**

㉒ Resumen:  
Procedimiento para la obtención de ácido *trans*-comúnico y derivados a partir de *Cupressus, sempervirens* L, concretamente un procedimiento de aislamiento y purificación de ácido labda-8(17),12E,14-trien-19-oico, también conocido como ácido *trans*-comúnico, en su forma de sal sódica, a partir de las partes aéreas de *Cupressus sempervirens* L.

ES 2 284 341 B1

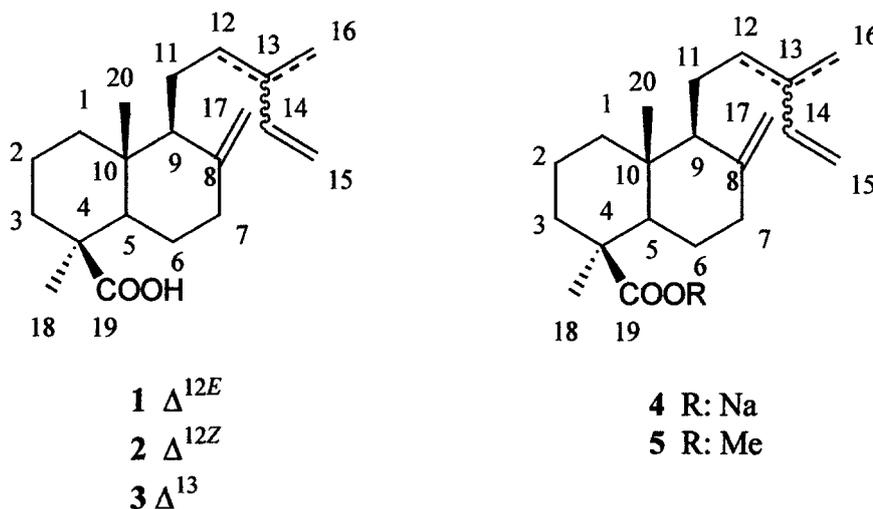
Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la obtención de ácido *trans*-comúnico y derivados a partir de *Cupressus sempervirens* L.

## 5 Objeto de la invención

La presente invención se refiere a un procedimiento de aislamiento y purificación de ácido labda-8(17),12E,14-trien-19-oico, también conocido como ácido *trans*-comúnico (1), en su forma de sal sódica (4), a partir de las partes aéreas de *Cupressus sempervirens* L. A partir de (4) se obtienen con elevada pureza el ácido 1 y el éster metílico 5.



## Estado de la técnica

Los ácidos comúnicos (1-3) son diterpenos labdánicos naturales que se encuentran ampliamente distribuidos en diversas especies vegetales y particularmente en los géneros *Juniperus* y *Cupressaceae*. Fue descrito por vez primera su aislamiento en 1961 de la corteza de *Juniperus communis* L. [V.P. Arya, C. Enzell, H. Erdtman y T. Kubota, **1961**, *Acta Chem. Scand.*, *15*, 225]. Años después se describió su presencia en los frutos de esta misma especie y en los de *Juniperus oxycedrus* L. [J. de Pascual Teresa, A. San Feliciano y J.M. Miguel del Corral, **1974**, *An. Quim.*, *70*, 1015]. Más recientemente se ha descrito su aislamiento de la madera de esta última especie y de la de *Juniperus sabina* L. [A.F. Barrero, J.F. Sánchez y J. Altarejos, **1987**, *Ars Pharm.*, *28*, 449].

También se ha descrito el aislamiento de ácidos comúnicos (1-3) de la oleoresina [L. Mangoni y M. Belardini, **1964**, *Tetrahedron Lett.*, 2643] y de los frutos [A. Ahoud, P. Camero y B. Gastambide, **1964**, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 348] de *Cupressus sempervirens* L.

Estudios realizados durante los últimos años han revelado que los ácidos comúnicos (1-3) y algunos compuestos relacionados poseen significativa actividad biológica. Así, se ha comprobado cierto efecto inhibitorio en la activación del antígeno del virus Epstein-Barr (EBV-EA) [R. Tanaka, H. Ohtsu, M. Iwamoto, T. Minami, H. Tokuda, H. Nishino, S. Matsunaga y A. Yoshitaka, **2000**, *Cancer Lett.*, *161*, 165]. También se ha descrito cierta actividad antibacteriana [B. Trusheva, M. Popova, V. Baukova, I. Tsvetkova, C. Naydenski y A.G. Sabatini, **2003**, *Rivista Ital.*, *36*, 3]. Recientemente se ha patentado el uso del aceite esencial de *Cupressus sempervirens* L. en el que, entre otros muchos terpenoides, se encuentran estos ácidos, como insecticida y repelente de insectos [G. Campresse y S. Campresse, **2004**, Patente FR 2003-3149, 20030314].

Además de la actividad biológica que presentan los ácidos comúnicos (1-3) y compuestos relacionados, estos diterpenos presentan interés debido a sus características estructurales, que los convierten en productos de partida adecuados para la síntesis de productos de interés. Así, se han empleado en la preparación de productos olorosos tipo ambar-gris [A.F. Barrero, J. Altarejos, E.J. Alvarez-Manzaneda, J.M. Ramos y S. Salido, **1993**, *Tetrahedron*, *49*, 6251, 9525; A.F. Barrero, J. Altarejos, S. Salido, **1995**, Patente ES 93-9300946, 19930504], en la síntesis de lactonas antifúngicas [A.F. Barrero, J.F. Sánchez y J. Elmerabet, **1995**, *Tetrahedron Lett.*, *36*, 5251; A.F. Barrero, S. Arseniyadis, J.F. Quílez del Moral, M. Mar Herrador, M. Valdivia y D. Jiménez, **2002**, *J. Org. Chem.*, *67*, 2501] y en la preparación de compuestos con actividad antitumoral [T. Katoh, R. Tanaka, M. Takeo, K. Nishida y M. Noda, **2002**, *Chem. Pharm. Bull.*, *50*, 1625; E.J. Alvarez-Manzaneda, J.L. Romera, A.F. Barrero, R. Alvarez-Manzaneda, R. Chahboun, R. Meneses y M. Aparicio, **2005**, *Tetrahedron*, *61*, 837; A.F. Barrero, E.J. Alvarez-Manzaneda, R. Chahboun, R. Meneses, J.M. Cuerva, M. Aparicio y J.L. Romera, **2001**, *Org. Lett.*, *3*, 647].

A pesar del gran interés de este tipo de ácidos diterpénicos y de su abundancia en las fuentes vegetales que los contienen, hasta el momento no se ha descrito un procedimiento eficiente para el aislamiento y purificación del ácido *trans*-comúnico (1) contenido en *Cupressus sempervirens* L. Además, hasta la fecha sólo se ha descrito su presencia en los frutos, en la corteza y en la resina de esta especie. Nuestras investigaciones han revelado su presencia en gran cantidad en las hojas de *C. sempervirens* L, lo que permite un mayor aprovechamiento de la fuente vegetal.

### Descripción de la invención

La presente invención expone diversos procedimientos para el aislamiento y purificación del ácido *trans*-comúnico (1), en forma de sal sódica (4), a partir de los frutos de *Cupressus sempervirens* L., de las hojas de esta especie vegetal, y de la combinación de frutos y hojas, partes aéreas, de esta planta. Se describe asimismo un procedimiento eficaz para la transformación de la sal (4) en el ácido (1) y en el éster metílico (5).

El estudio de la composición de los frutos de distintas especies de *Juniperus* y *Cupressus* ha revelado que *J. oxycedrus* y *C. sempervirens* contienen un único isómero. Así, del extracto hexánico de las arcéstidas de *J. oxycedrus* se obtuvo únicamente ácido mirceo-comúnico (3) (4.2% del peso de planta); mientras que en el correspondiente a las arcéstidas de *C. sempervirens* sólo se encontró ácido *trans*-comúnico (1), aislado en forma de sal sódica (2.3% del peso de planta). El procedimiento consistió en la extracción en sistema Soxhlet del material vegetal seco y triturado durante 12 horas, separación de las ceras mediante precipitación de las soluciones concentradas enfriadas a 0°C, y posterior precipitación de la sal del ácido mediante adición de solución acuosa alcalina sobre la solución hexánica concentrada.

Tanto la elevada proporción de ácido *trans*-comúnico (1) encontrado en los frutos de *C. sempervirens* L., como la gran abundancia de esta especie vegetal, nos animaron a investigar la composición de los correspondientes extractos de las hojas. Inicialmente se estudió el extracto hexánico, que mediante un procedimiento similar al utilizado en las arcéstidas permitió también el aislamiento de una importante cantidad de sal sódica (4) del ácido *trans*-comúnico (1.9% del peso de planta).

Con objeto de desarrollar procesos menos laboriosos y por tanto, más rentables, se investigó también el aislamiento de ácido *trans*-comúnico (1) del extracto hexánico de toda la parte aérea de *C. sempervirens* L., constituida por frutos, hojas y pequeñas ramas. Tras extraer en sistema Soxhlet todo el material vegetal, seco y triturado, se obtuvo, siguiendo el procedimiento ya comentado para frutos y hojas, la correspondiente sal sódica (4) del ácido *trans*-comúnico (2.0% del peso en planta).

Se han investigado también otros disolventes y condiciones que permitan obtener el ácido *trans*-comúnico (1) y sus derivados mediante procesos más sencillos y rentables. Los mejores resultados se han alcanzado utilizando cloruro de metileno. Inicialmente se ensayó la extracción en sistema Soxhlet del material vegetal, triturado y seco, durante 6 horas. Tras evaporar el disolvente, se procedió al descerado mediante precipitaciones sucesivas de las soluciones hexánicas concentradas a 0°C. La sal sódica (4) se obtuvo siguiendo el mismo procedimiento indicado en el caso de la extracción con hexano. Así se obtuvo en el caso de los frutos una cantidad de sal sódica de ácido *trans*-comúnico, correspondiente a un 1.9% del peso de planta, mientras que las hojas proporcionaron el equivalente a un 1.5% del peso de planta y el conjunto de partes aéreas un 1.6% del peso de planta.

Con objeto de simplificar el proceso de extracción, se ensayó la maceración con cloruro de metileno. Tras someter el material vegetal triturado y seco a maceración en este disolvente durante 4 horas, y operando con la solución resultante de modo similar al ya indicado para la extracción con cloruro de metileno en Soxhlet, se obtuvo la correspondiente sal (4). El estado de pureza de la sal obtenida mediante maceración resultó superior al de la obtenida mediante maceración en sistema Soxhlet. Los frutos rindieron un 2.1% en peso de planta, las hojas un 1.8%, y el conjunto de partes aéreas aproximadamente un 1.9% en peso de planta.

### Modo de realización

*Obtención de labda-8(17),12E,14-trien-19-oato sódico (4) a partir de las arcéstidas de C. sempervirens L. mediante extracción con hexano en sistema Soxhlet*

500 g de material vegetal, seco y finamente triturado, se extrae en sistema Soxhlet con hexano (3 L) durante 12 horas. Transcurrido este tiempo se evapora el disolvente hasta aproximadamente un 20% del volumen inicial. La solución resultante se mantiene durante 12 horas a 0°C, filtrando el precipitado resultante, constituido por ceras. El filtrado obtenido se somete dos veces más a esta operación. A continuación, sobre la solución hexánica descerada se añade, bajo agitación, NaOH 2N (500 mL), separándose un sólido incoloro, constituido por la sal (4). Se filtra a vacío, lavando con pequeñas porciones de hexano frío, primero, y agua fría después, obteniéndose 11.5 g de producto (2.3% del peso de planta). Mediante dos recristalizaciones en MeOH-H<sub>2</sub>O se obtiene un sólido cristalino de punto de fusión constante.

Sólido cristalino incoloro. P.F. 227-228°.  $[\alpha]_D^{24}$  (MeOH).

IR (KBr): 3085, 2936, 2843, 1642, 1547, 1467, 1404, 1350, 1298, 1256, 1188, 989, 888 cm<sup>-1</sup>.

## ES 2 284 341 B1

RMN-<sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 300 MHz): δ 0.71 (3H, s, Me-10), 1.09 (3H, s, Me-4), 1.73 (3H, s, Me-13), 4.41 (1H, sa, H-17), 4.75 (1H, sa, H-17'), 4.82 (1H, da, J = 10.9 Hz, H-15), 5.01 (1H, da, J = 17.5 Hz, H-15'), 5.42 (1H, ta, J = 6.5 Hz), 6.30 (1H, dd, J = 17.5 y 10.9 Hz).

5 RMN-<sup>13</sup>C (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 75 MHz): δ 41.0 (C-1), 21.6 (C-2), 39.8 (C-3), 45.7 (C-4), 57.7 (C-5), 27.4 (C-6), 40.5 (C-7), 150.1 (C-8), 57.7 (C-9), 41.2 (C-10), 24.0 (C-11), 135.4 (C-12), 133.7 (C-13), 142.6 (C-14), 109.9 (C-15), 11.9 (C-16), 107.0 (C-17), 31.0 (C-18), 184.5 (C-19), 13.9 (C-20).

10 *Obtención de labda-8(17),12E,14-trien-19-oato sódico (4) a partir de las hojas de C. sempervirens L. mediante extracción con hexano en sistema Soxhlet*

Se sigue un procedimiento similar al descrito para las arcéstidas, pero realizando ahora cinco veces el proceso de descerado. A partir de 500 g de hojas secas se obtienen 9.5 g de (4) (1.9% del peso de planta), que se purifica adecuadamente después de dos recristalizaciones.

15 *Obtención de labda-8(17),12E,14-trien-19-oato sódico (4) a partir de las partes aéreas, frutos y hojas, de C. sempervirens L. mediante extracción con hexano en sistema Soxhlet*

20 Se utiliza como material vegetal el conjunto de las hojas, frutos y pequeñas ramas que resultan de la poda de *C. sempervirens* L. Utilizando un procedimiento análogo al descrito en los dos casos anteriores y, tras descerar cinco veces, se obtienen 10.0 g de (4) (2.0% del peso de planta). Tras efectuar tres recristalizaciones en MeOH-H<sub>2</sub>O se obtuvo el producto en un elevado grado de pureza.

25 *Obtención de labda-8(17),12E,14-trien-19-oato sódico (4) a partir de las arcéstidas de C. sempervirens L. mediante extracción con cloruro de metileno en sistema Soxhlet*

30 500 g de material vegetal, seco y finamente triturado, se extrae en sistema Soxhlet con cloruro de metileno (3 L) durante 6 horas. Se elimina el disolvente mediante evaporación a vacío, y el residuo resultante se disuelve en 600 mL de hexano y se mantiene a 0°C durante 12 horas, filtrando el precipitado resultante, constituido por ceras. El filtrado obtenido se somete a esta operación tres veces más. A continuación, sobre la solución hexánica descerada se añade, bajo agitación, NaOH 2N (500 mL), separándose un sólido incoloro, constituido por la sal (4). Se filtra a vacío, lavando con pequeñas porciones de hexano frío, primero, y agua fría a continuación, obteniéndose 9.5 g de producto (1.9% del peso de planta). Mediante tres recristalizaciones en MeOH-H<sub>2</sub>O se obtuvo la sal en un elevado grado de pureza.

35 *Obtención de labda-8(17),12E,14-trien-19-oato sódico (4) a partir de las hojas de C. sempervirens L. mediante extracción con cloruro de metileno en sistema Soxhlet*

40 Se sigue idéntico procedimiento al descrito para las arcéstidas, pero realizando cinco descerados sucesivos. A partir de 500 g de hojas secas se obtiene 7.5 g de (4) (1.5% del peso de planta). Tres recristalizaciones en MeOH-H<sub>2</sub>O proporcionan el producto con elevada pureza.

*Obtención de labda-8(17),12E,14-trien-19-oato sódico (4) a partir de las partes aéreas, frutos y hojas, de C. sempervirens L. mediante extracción con cloruro de metileno en sistema Soxhlet*

45 Se sigue un procedimiento similar al empleado con las hojas, efectuando cinco descerados. A partir de 500 g de material vegetal se obtienen 8.0 g de (4) (1.6% del peso de planta). Tres recristalizaciones en MeOH-H<sub>2</sub>O son suficientes para lograr elevada pureza.

50 *Obtención de labda-8(17),12E,14-trien-19-oato sódico (4) a partir de las arcéstidas de C. sempervirens L. mediante maceración con cloruro de metileno*

55 500 g de planta seca y triturada se somete a maceración en cloruro de metileno (2.5 L) a temperatura ambiente durante 4 horas. Se separa el material vegetal mediante filtración y se elimina el disolvente evaporando a vacío. El residuo resultante se disuelve en hexano (500 mL) y se mantiene a 0°C durante 12 horas. El precipitado, constituido por ceras, se filtra y la solución hexánica se somete al mismo proceso dos veces más. A la solución final se adiciona, bajo agitación, NaOH 2N (450 mL), separándose un sólido incoloro, constituido por la sal (4). Se filtra a vacío, lavando con pequeñas porciones de hexano frío, primero, y agua fría luego, obteniéndose 10.5 g de producto (2.1% del peso de planta). Mediante dos recristalizaciones en MeOH-H<sub>2</sub>O se obtuvo la sal en un elevado grado de pureza.

60 *Obtención de labda-8(17),12E,14-trien-19-oato sódico (4) a partir de las hojas de C. sempervirens L. mediante maceración con cloruro de metileno*

65 Operando del mismo modo al descrito para las arcéstidas, pero realizando cuatro desceraciones, se obtienen 9.0 g de (4) (1.8% del peso de planta) a partir de 500 g de planta. Dos recristalizaciones en MeOH-H<sub>2</sub>O permitieron obtener la sal con elevada pureza.

## ES 2 284 341 B1

*Obtención de labda-8(17),12E,14-trien-19-oato sódico (4) a partir de las partes aéreas, arcéctidas y hojas, de C. sempervirens L. mediante maceración con cloruro de metileno*

5 Se sigue un procedimiento análogo al descrito en los dos apartados anteriores, efectuando tres descercaciones. 500 g de material vegetal rindieron 9.5 g de (4) (1.9% del peso de planta). Tras recristalizar dos veces en MeOH-H<sub>2</sub>O se obtuvo la sal pura.

*Ácido labda-8(17),12E,14-trien-19-oico (1)*

10 7 g (21.58 mmoles) de labda-8(17),12E,14-trien-19-oato sódico (4) se suspenden en H<sub>2</sub>O (250 mL) y se añade, con agitación, HCl 2N hasta pH 3. La mezcla resultante se extrae con *t*-butil metil éter (3 x 60 mL). Las fases orgánicas reunidas se secan sobre sulfato sódico anhidro, se filtran y evaporan a vacío, rindiendo el ácido (1), como un aceite incoloro (6.2 g, 95%).

15  $[\alpha]_D^{37}$  (CHCl<sub>3</sub>).

IR (film): 3600-2800, 3087, 2938, 2845, 1702, 1642, 1543, 1469, 1400, 1354, 1300, 1250, 1185, 991, 884 cm<sup>-1</sup>.

20 RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  0.65 (3H, s, Me-10), 1.22 (3H, s, Me-4), 1.74 (3H, s, Me-13), 4.46 (1H, sa, H-17), 4.83 (1H, sa, H-17'), 4.86 (1H, da, J = 10.7 Hz, H-15), 5.04 (1H, da, J = 17.3 Hz, H-15'), 5.40 (1H, ta, J = 6.4 Hz), 6.30 (1H, dd, J = 17.3 y 10.7 Hz).

25 RMN-<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz):  $\delta$  41.2 (C-1), 21.4 (C-2), 40.1 (C-3), 45.9 (C-4), 59.1 (C-5), 27.0 (C-6), 40.6 (C-7), 149.8 (C-8), 57.9 (C-9), 41.0 (C-10), 24.3 (C-11), 135.4 (C-12), 133.9 (C-13), 142.7 (C-14), 110.2 (C-15), 12.1 (C-16), 107.2 (C-17), 29.9 (C-18), 181.3 (C-19), 14.1 (C-20).

*Labda-8(17),12E,14-trien-19-oato de metilo (5)*

30 5 g (15.41 mmoles) de labda-8(17),12E,14-trien-19-oato sódico (4) se suspenden en acetona (200 mL) y se añade yodometano (3.28 g, 23.11 mmoles). La mezcla resultante se calienta a reflujo durante 24 horas. Se elimina el disolvente a vacío y el residuo se fracciona en *t*-butil metil éter (100 mL) y H<sub>2</sub>O (100 mL), y la fase acuosa se extrae con más *t*-butil metil éter (2 x 50 mL). Las fases orgánicas reunidas se secan sobre sulfato sódico anhidro, se filtran y evaporan, proporcionando (5) (4.8 g, 98%), como un sólido cristalino.

35 Sólido cristalino incoloro. P.F. 105-106°C (MeOH.  $[\alpha]_D^{45}$  (CHCl<sub>3</sub>).

IR (KBr): 3092, 3038, 2934, 2840, 1720, 1642, 1605, 1543, 1468, 1402, 1348, 1300, 1259, 1195, 985, 885 cm<sup>-1</sup>.

40 RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz):  $\delta$  0.56 (3H, s, Me-10), 1.19 (3H, s, Me-4), 1.77 (3H, s, Me-13), 3.62 (3H, s, MeO-19), 4.44 (1H, sa, H-17), 4.80 (1H, sa, H-17'), 4.87 (1H, da, J = 10.5 Hz, H-15), 5.01 (1H, da, J = 17.8 Hz, H-15'), 5.40 (1H, ta, J = 6.8 Hz), 6.33 (1H, dd, J = 17.8 y 10.5 Hz).

45 RMN-<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz):  $\delta$  39.2 (C-1), 19.9 (C-2), 38.3 (C-3), 44.2 (C-4), 56.5 (C-5), 26.1 (C-6), 38.4 (C-7), 147.8 (C-8), 56.4 (C-9), 40.1 (C-10), 23.1 (C-11), 133.5 (C-12), 133.2 (C-13), 141.5 (C-14), 109.7 (C-15), 11.8 (C-16), 107.6 (C-17), 28.7 (C-18), 177.4 (C-19), 12.5 (C-20), 50.8 (C-21).

50

55

60

65

# ES 2 284 341 B1

## REIVINDICACIONES

5 1. Procedimiento para la obtención de ácido *trans*-comúnico y derivados a partir de *Cupressus sempervirens* L., **caracterizado** por el aislamiento de labda-8(17),12*E*,14-trien-19-oato sódico (4) de las arcéstidas de esta especie mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:

- 10 a. Extracción de la planta seca y triturada con hexano en sistema Soxhlet.
- b. Concentración de la solución resultante.
- c. Sucesivos enfriamientos a 0°C de la solución concentrada y posterior filtración.
- d. Adición de solución acuosa de NaOH a la solución hexánica última.
- 15 e. Filtración del precipitado resultante.
- f. Recristalización en MeOH-H<sub>2</sub>O del sólido obtenido

20 2. Procedimiento para la obtención de ácido *trans*-comúnico y derivados a partir de *Cupressus sempervirens* L., **caracterizado** por el aislamiento de labda-8(17),12*E*,14-trien-19-oato sódico (4) de las hojas de esta especie mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:

- 25 a. Extracción de la planta seca y triturada con hexano en sistema Soxhlet.
- b. Concentración de la solución resultante.
- c. Sucesivos enfriamientos a 0°C de la solución concentrada y posterior filtración.
- d. Adición de solución acuosa de NaOH a la solución hexánica última.
- 30 e. Filtración del precipitado resultante.
- f. Recristalización en MeOH-H<sub>2</sub>O del sólido obtenido.

35 3. Procedimiento para la obtención de ácido *trans*-comúnico y derivados a partir de *Cupressus sempervirens* L., **caracterizado** por el aislamiento de labda-8(17),12*E*,14-trien-19-oato sódico (4) del conjunto de las arcéstidas y hojas de esta especie mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:

- 40 a. Extracción de la planta seca y triturada con hexano en sistema Soxhlet.
- b. Concentración de la solución resultante.
- c. Sucesivos enfriamientos a 0°C de la solución concentrada y posterior filtración.
- 45 d. Adición de solución acuosa de NaOH a la solución hexánica última.
- e. Filtración del precipitado resultante.
- 50 f. Recristalización en MeOH-H<sub>2</sub>O del sólido obtenido.

4. Procedimiento para la obtención de ácido *trans*-comúnico y derivados a partir de *Cupressus sempervirens* L., **caracterizado** por el aislamiento de labda-8(17),12*E*,14-trien-19-oato sódico (4) de las arcéstidas de esta especie mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:

- 55 a. Extracción de la planta seca y triturada con cloruro de metileno en sistema Soxhlet.
- b. Evaporación del disolvente a vacío.
- 60 c. Disolución en hexano del residuo resultante.
- d. Sucesivos enfriamientos a 0°C de la solución hexánica y posterior filtración.
- e. Adición de solución acuosa de NaOH a la solución hexánica última.
- 65 f. Filtración del precipitado resultante.
- g. Recristalización en MeOH-H<sub>2</sub>O del sólido obtenido.

## ES 2 284 341 B1

5. Procedimiento para la obtención de ácido *trans*-comúnico y derivados a partir de *Cupressus sempervirens* L., **caracterizado** por el aislamiento de labda-8(17),12*E*,14-trien-19-oato sódico (4) de las hojas de esta especie mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:

- 5 a. Extracción de la planta seca y triturada con cloruro de metileno en sistema Soxhlet.
- b. Evaporación del disolvente a vacío.
- 10 c. Disolución en hexano del residuo resultante.
- d. Sucesivos enfriamientos a 0°C de la solución hexánica y posterior filtración.
- e. Adición de solución acuosa de NaOH a la solución hexánica última.
- 15 f. Filtración del precipitado resultante.
- g. Recristalización en MeOH-H<sub>2</sub>O del sólido obtenido.

20 6. Procedimiento para la obtención de ácido *trans*-comúnico y derivados a partir de *Cupressus sempervirens* L., **caracterizado** por el aislamiento de labda-8(17),12*E*,14-trien-19-oato sódico (4) del conjunto de las arcéstidas y hojas de esta especie mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:

- a. Extracción de la planta seca y triturada con cloruro de metileno en sistema Soxhlet.
- 25 b. Evaporación del disolvente a vacío.
- c. Disolución en hexano del residuo resultante.
- d. Sucesivos enfriamientos a 0°C de la solución hexánica y posterior filtración.
- 30 e. Adición de solución acuosa de NaOH a la solución hexánica última.
- f. Filtración del precipitado resultante.
- 35 g. Recristalización en MeOH-H<sub>2</sub>O del sólido obtenido.

40 7. Procedimiento para la obtención de ácido *trans*-comúnico y derivados a partir de *Cupressus sempervirens* L., **caracterizado** por el aislamiento de labda-8(17),12*E*,14-trien-19-oato sódico (4) de las arcéstidas de esta especie mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:

- a. Extracción de la planta seca y triturada mediante maceración con cloruro de metileno a temperatura ambiente.
- 45 b. Filtración del material vegetal y evaporación del disolvente a vacío.
- c. Disolución en hexano del residuo resultante.
- d. Sucesivos enfriamientos a 0°C de la solución hexánica y posterior filtración.
- 50 e. Adición de solución acuosa de NaOH a la solución hexánica última.
- f. Filtración del precipitado resultante.
- 55 g. Recristalización en MeOH-H<sub>2</sub>O del sólido obtenido.

8. Procedimiento para la obtención de ácido *trans*-comúnico y derivados a partir de *Cupressus sempervirens* L., **caracterizado** por el aislamiento de labda-8(17),12*E*,14-trien-19-oato sódico (4) de las hojas de esta especie mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:

- 60 a. Extracción de la planta seca y triturada mediante maceración con cloruro de metileno a temperatura ambiente.
- b. Filtración del material vegetal y evaporación del disolvente a vacío.
- 65 c. Disolución en hexano del residuo resultante.
- d. Sucesivos enfriamientos a 0°C de la solución hexánica y posterior filtración.

## ES 2 284 341 B1

- e. Adición de solución acuosa de NaOH a la solución hexánica última.
- f. Filtración del precipitado resultante.
- 5 g. Recristalización en MeOH-H<sub>2</sub>O del sólido obtenido.

9. Procedimiento para la obtención de ácido *trans*-comúnico y derivados a partir de *Cupressus sempervirens* L., **caracterizado** por el aislamiento de labda-8(17),12*E*,14-trien-19-oato sódico (4) del conjunto de las arcéstidas y las

10 hojas de esta especie mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:

- 10 a. Extracción de la planta seca y triturada mediante maceración con cloruro de metileno a temperatura ambiente.
- b. Filtración del material vegetal y evaporación del disolvente a vacío.
- 15 c. Disolución en hexano del residuo resultante.
- d. Sucesivos enfriamientos a 0°C de la solución hexánica y posterior filtración.
- 20 e. Adición de solución acuosa de NaOH a la solución hexánica última.
- f. Filtración del precipitado resultante.
- 25 g. Recristalización en MeOH-H<sub>2</sub>O del sólido obtenido.

10. Procedimiento para la obtención de ácido *trans*-comúnico y derivados a partir de *Cupressus sempervirens* L., según las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado** porque la transformación de labda-8(17),12*E*,14-trien-19-oato sódico (4) en ácido labda-8(17),12*E*,14-trien-19-oico (1) se realiza mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:

- 30 a. Suspensión de la sal (4) en H<sub>2</sub>O.
- b. Adición de HCl 2N sobre la anterior suspensión hasta pH 3.
- c. Extracción de la mezcla anterior con *t*-butil metil éter.
- 35 d. Secado de la fase orgánica y evaporación del disolvente.

11. Procedimiento para la obtención de ácido *trans*-comúnico y derivados a partir de *Cupressus sempervirens* L., según las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado** porque la transformación de labda-8(17),12*E*,14-trien-19-oato sódico (4) en labda-8(17),12*E*,14-trien-19-oato de metilo (5) se realiza mediante un proceso que comprende las siguientes etapas:

- a. Suspensión de la sal (4) en acetona.
- 45 b. Adición de yodometano a la mezcla anterior y calentamiento a reflujo.
- c. Evaporación del disolvente a vacío.
- d. Fraccionamiento del residuo resultante en H<sub>2</sub>O-*t*-butil metil éter.
- 50 e. Extracciones sucesivas de la fase acuosa.
- f. Secado de la fase orgánica y evaporación del disolvente.
- 55 g. Recristalización en MeOH del sólido resultante.

60

65



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 284 341

② Nº de solicitud: 200502101

③ Fecha de presentación de la solicitud: 19.08.2005

④ Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: C07C 63/66 (2006.01)

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	KORAY SAKAR, M. et al.: "Diterpenoids of Juniperus foetidissima Unripe Berries", Fitoterapia (1994), vol. 65, nº 4, pp.: 304-306, todo el documento.	1-11
A	FONSECA, F.N. et al.: "Phenylpropanoid Derivatives and Biflavones at Different Stages of Differentiation and Development of Araucaria angustifolia", Phytochemistry (2000), vol. 55, pp.: 575-580, todo el documento.	1-11
A	KITAJIMA, J. et al.: "Studies on the Constituents of the Crude Drug "Fritillariae Bulbus."III On the Diterpenoid Constituents of Fresh Bulbs of Fritillaria thunbergii MIQ", Chem. Pharm. Bull. (1982), vol. 30, pp.: 3912-3921, todo el documento.	1-11
A	HASEGAWA, S. et al.: "Diterpenes from the Seed of Sciadopitys verticillata", Phytochemistry (1985), vol. 24, nº 9, pp.: 2041-2046, todo el documento.	1-11

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

25.09.2007

Examinador

A. Maquedano Herrero

Página

1/1