



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 357 605**

51 Int. Cl.:
C07D 307/33 (2006.01)
A61K 36/53 (2006.01)
A61P 33/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06796195 .3**
96 Fecha de presentación : **30.08.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1934194**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.06.2008**

54 Título: **Compuesto contra la malaria aislado de *Gomphostemma niveum*.**

30 Prioridad: **04.10.2005 IN DE2074/04**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.04.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.04.2011

73 Titular/es: **The Director General, Defence Research & Development Organisation
Ministry of Defence, Government of India
West Block - 8, Wing-I, Sector-I,R.K
Puram, New Dehli 110 066, IN**

72 Inventor/es: **Thavaselvam, Duraipandian;
Acharya, Badri, Narayan;
Kaushik, Mahabir, Prashad;
Sekhar, Krishnamurthy;
Prasanna, Subramaniam y
Nivsarkar, Manisha**

74 Agente: **Urizar Anasagasti, José Antonio**

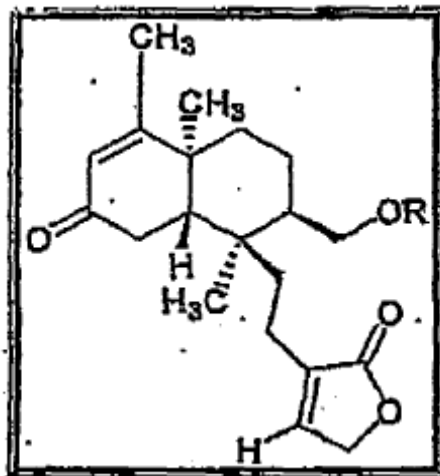
ES 2 357 605 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

CAMPO DE INVENCION

5 La presente invención proporciona un novedoso compuesto contra la malaria extraído de *Gomphostemma niveum*. La invención se relaciona también con un método para el aislamiento de tal compuesto y también a su uso en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la malaria en sujetos padeciendo de la misma. También es descrito un método para la inhibición de *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium berghi*. El compuesto de la invención ha sido extraído y aislado de los extractos de hojas secas de *Gomphostemma niveum*.



10 La malaria es una enfermedad de dimensiones epidémicas en varias partes del mundo y es endémico en tales zonas.

15 En la historia documentada, la malaria lleva a más de dos millones de muertes y casi 400 millones de casos cada año en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Greenwood et. al Nature (415), 670(2002)). La malaria es una infección parasitaria. De las diferentes tipos de malaria que se producen , la malaria cerebral causada por *Plasmodium falciparum*, es una causa significativa de mortalidad. Alrededor de la mitad de la población mundial vive en zonas donde son susceptibles a la infección de malaria. (Sachs et. al, Nature, (415, 686 (2002)).

20 Mientras que se conocen diversos fármacos fármaco contra la malaria y mientras los gobiernos de todo el mundo estan tomando medidas para eliminar la enfermedad por métodos de control del vector, la incidencia de la malaria ha empeorado en los ultimos años. Esto se debe fundamentalmente a que los parásitos de la malaria se están volviendo cada vez más resistentes a varias fármacos contra la malaria (Reed et. al, Nature (403), 906(2000)) disponibles comercialmente como la cloroquina (Ringwaid et. al, Bulletin of the world health organization, 77(1), 34, (1999)). La eliminación de la malaria como una enfermedad pandémica usando metodos de control del vector tal como el uso de insecticidas se vuelven más complejos debido a la propagación paralela de la resistencia en el vector mosquito a los insecticidas disponibles actualmente.

30 La mayoría de las fármacos tal como la clorquina, mefloquina, primarquina, etc. son productos de síntesis química..Sin embargo, en los ultimos años una significativa cantidad de esfuerzo se está haciendo para explorar recursos naturales para obtener nuevas clases de compuestos/mezclas los cuales pueden ser usados como antimaláricos. Tales esfuerzos han conducido , por ejemplo, al descubrimiento del artemisinín de la planta china *Artemisia annua* como un potencial antimalarial. El desarrollo de la resistencia en el parásito a los compuestos existentes además de la resistencia del vector para los insecticidas ha resultado en una continuo y urgente necesidad para identificar nuevas clases de antimalaríales y desarrollarlos como fármacos con un modelo variado de acción para resolver el problema de resistencia (Tulp et al, Drug discovery today (9) 450,(2004)).

40 La técnica anterior se ha centrado en el uso de fuentes de plantas para obtener fármacos antimalaríales. Por ejemplo, el descubrimiento de la quinina (Brooking, GB 106430, (1917)) y del artemisinín (Klayman, Science (228), 1049 (1985)) hasta ahora fármacos antimalaríales extremadamente potentes, ambas provenientes de fuentes vegetales, ha conducido al estudio de plantas como agentes antimalaríales. El enfoque etnofarmacológico para la búsqueda de nuevos agentes antimalaríales provenientes de fuentes vegetales ha demostrado ser más predictiva. Varios grupos de investigación están ahora trabajando para desarrollar nuevos compuestos activos como una alternativa a la cloroquina y arteter, un derivado del artemisinín. Las plantas pueden demostrar bien ser el origen de nuevas

fármacos antimalariales en vista del éxito con los dos importantes agentes quimioterapéuticos, quinina y artemisinín, ambos de los cuales son derivados de las plantas. Las plantas además de la Cichona que han sido usadas contra la fiebre y la malaria incluye Dichroa febrifuga, la cual crece en China. Sin embargo, siendo alklodian por naturaleza se ha informado que febrigugina e isofibrifugina son altamente tóxicas para uso en humanos (Jiang et. al WO2004000319, (2003)). Recientemente de nuevo en China un compuesto naturalmente derivado antimalarial Qinghaoso ha sido investigado. Recientemente Ihara et. al revelaron sobre compuestos teniendo actividad antimalarial (US 6,710,074 (2004)) a partir de síntesis. Existen varios documentos de patente y solicitudes de patente publicadas las cuales revelan diferentes clases de compuestos con actividad antimalarial, por ejemplo, el trioxano 1,2,4 sustituto (US 6,737,438 (2004)), flavonoides

(WO2004000306 (2003)). Naptilisquinolina (US 6,627,641 (2003)), indoloquinazolas (US 6,531,487 (2003)), trioxolanos (US 6,486,199 (2002)), alcaloides de betacarbolino (US 6,143,756 (2000)), vocamina (WO9948501 (1999)), derivados de acetil glucosamina (DE3220426 (1983) etcétera. US 6,710,074, WO2004000319, US 5,362,726, US2003212098, WO2004000306, EP1076057, WO9948501, US4,290,553, US 6,143,756 y US 6,627,641 revelan un compuesto teniendo actividad anti-Plasmodium falciparum con origen natural, principalmente plantas. Los recursos naturales serán las fuentes potenciales para el futuro desarrollo de fármacos contra la malaria.

OBJETOS DE LA PRESENTE INVENCION

El principal objeto de la invención es proporcionar un nuevo principio activo de origen natural el cual tiene uso como antimalarial.

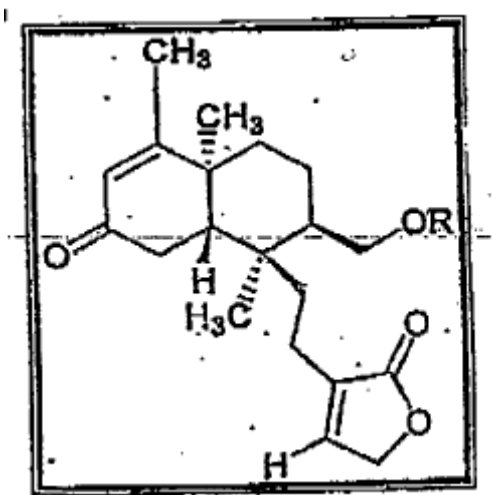
Es otro objeto de la invención proporcionar un metodo para la extracción de un novedoso compuesto animalarial proveniente de Gomphostemma niveum.

Es un objeto adicional proporcionar un metodo para el tratamiento/inhibición de la malaria; basado en P. falciparum or P. berghi usando un compuesto de origen natural.

DECLARACION DE LA INVENCION

La presente invención propuso un novedoso compuesto antimalarial, el cual ha sido extraido, aislado, identificado químicamente de la hojade Gomphostemma niveum, una planta disponible en Noreste de India, y llamada Gomphostinin. El compuesto Gomphostinin es una γ - lactona y la estructura se proporciona más abajo.

Como consecuencia, la presente invención proporciona un compuesto novedoso antimalarial en concreto, 3-[2-(2-Hidroximetilo- 1, 4a, 5 trimetilo-7-oxo-1,2,3,4,4a, 7 8, 8^a octabidronaftaleno- 1-yl)-etil]-5H -furan-2-uno de la fórmula 1 dada abajo extraida de Gomphostemma niveum y derivados farmacéuticamente aceptables del mismo.



La presente invención también, proporciona un método para la preparación del compuesto sustancialmente purificado en la Reivindicación 1 proveniente de las hojas, cortezas, raices de G. niveum, comprendiendo:

(a) someter partes de plantas secas y en polvo de Gomphosemma niveum a la extracción con un disolvente;

(b) filtrar el extracto obtenido en el paso (a) y evaporar el extracto bajo presión reducida;

(c) liofilizar el filtrado obtenido en el paso (b) para obtener una forma de polvo;

(d) aislar el compuesto de la fórmula 1 del polvo.

En una realización de la invención, el compuesto es aislado de la corteza seca, raíces u hojas del *Gomphostemma niveum*.

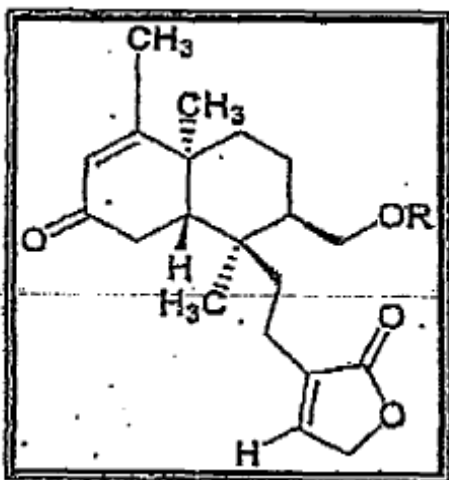
5 En otra realización de la invención, las partes de la planta son secadas al aire y entonces pulverizadas de manera convencional para obtener el polvo.

En otra realización de la invención, el disolvente se selecciona del grupo compuesto por agua, metanol, etanol, cloroformo, éter dietílico y cualquier mezcla de ellos.

10 En otra realización de la invención, el disolvente es seleccionado del grupo compuesto de una mezcla de agua y metanol, mezcla de etanol y agua, mezcla de cloroformo y una mezcla de etanol, metanol, cloroformo y éter dietílico.

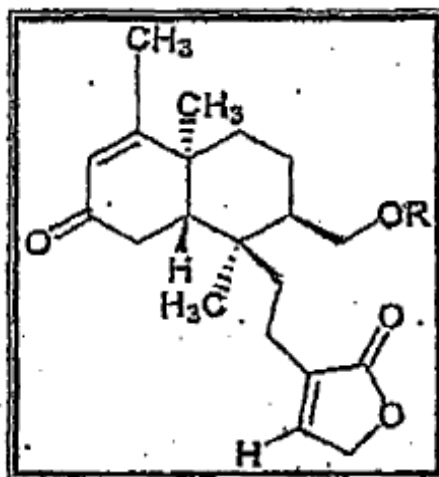
En otra realización de la invención el compuesto es aislado del extracto de la planta por cromatografía de capa fina de fase normal y cromatografía de columna, o por cromatografía de capa fina de fase inversa y cromatografía de columna.

15 La presente invención también proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento de la malaria comprendiendo una cantidad farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula 1 o un derivado del mismo farmacéuticamente aceptable o un derivado de la misma farmacéuticamente aceptable.



20 En una realización de la invención, el uno o más aditivos farmacéuticamente aceptables son seleccionados del grupo compuesto de coadyuvantes, vehículos, excipientes, diluyentes, agentes aromatizantes, emulsionantes, potenciadores de viscosidad, aglutinantes, estabilizadores, disolventes y otros similares.

25 La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de la fórmula 1 en un método para el tratamiento de la malaria, en un sujeto padeciendo de la misma comprendiendo administrar a dicho sujeto una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula 1



y uno o más aditivos farmacéuticamente aceptables.

La malaria siendo tratada/curada podría ser malaria causada por *P. falciparum* o *P. berghei*.

5 El compuesto de la fórmula 1 o la composición farmacéutica conteniendo dicho compuesto puede ser administrada oralmente.

Objetos adicionales, características y ventajas de la presente invención serán aparentes a aquellos expertos en la materia a partir de la siguiente descripción detallada de las realizaciones preferidas que ejemplifican la mejor manera de poner en práctica de la invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS ACOMPAÑANTES

10 Fig. 1 es el diagrama ORTEP de 3-[2-(2-Hidroximetilo-1, 4a, 5-trimetilo-7-oxo-1,2,3,4,4a, 7 8,8a-octahidronaftaleno-1-yl)-ethyl]-5H-fuan-2-uno de la fórmula 1 siendo el compuesto de la invención.

Fig. 2 es el espectro IR del compuesto de la fórmula 1.

Fig. 3 is el espectro EIMS del compuesto de la fórmula 1.

15 Fig. 4 son los datos de fragmentación de masa del compuesto de la fórmula 1.

Fig. 5 es el espectro BSI MS del compuesto de la fórmula 1.

Fig. 6 es el espectro ESI MSMS del compuesto de la fórmula 1.

Fig. 7 es el espectro NMR de protones del compuesto de la fórmula 1.

Fig. 8 es el C^{13} NMR de compuesto de la fórmula 1.

20 Fig. 9 es el espectro DEFT 135 del compuesto de la fórmula 1.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCÓN

25 La malaria es un importante infección parasitaria para humanos debido a su alta morbilidad y mortalidad una amenaza para alrededor de dos mil millones de personas que viven en áreas de alta incidencia. *P. faciparum*, el agente causante de la forma maligna de la malaria, tiene alta adaptabilidad por mutación y es resistente a varios tipos de fármacos anti-malariales, un serio atraso a programas antimalariales ya que excluye el uso de fármacos baratos y previamente eficaces como cloroquina. Nuevas familias de compuestos activos son necesitadas asi como poliquimioterapia asociando moléculas con independiente mecanismo de acción a fin de reducir el riesgo de resistencia.

30 El éxito del fármaco antimalarial quinina y el descubrimiento del artesiminin, el ármaco antimalarial más potente ambos de origen vegetal han conducido/llevado al estudio de plantas como agentes antimalariales. El extracto acuoso de hojas secas en polvo de *G. niveum* muestra actividad antimalarial. El uso del extracto crudo para el tratamiento de la malaria puede no ser eficiente y fiable. También tiene la importante desventaja de cultivar la planta del Nordeste indio, antes que la utilización de un componente activo y aislado puro. Por ello la necesidad es aislar e identificar el componente activo
35 presente en el extracto crudo de *G. niveum*.

Gomphostinin y sus derivados son compuestos antimalariales teniendo la capacidad de inhibir el

crecimiento de los parásitos de la malaria. Gomphostinin y sus derivados están mostrando importante actividad inhibitoria contra el *P. falciparum*

5 in-vitro y *P. berghi* in-vivo. El compuesto es preferentemente administrado oralmente. Los compuestos bioactivos pueden también ser administrados al paciente en combinación con aditivos farmaceuticos como diluyentes de vehiculo, disolventes, filtro, lubricante, o aglutinantes o estabilizador de excipiente.

A partir de una selección preliminar ha sido observado que el extracto acuoso de hoja acuosode *G. niveum* tiene actividad antimalarial.

10 Sin embargo el componente o componentes responsables de actividad antimalarial es desconocido. En vista de la evidencia de actividad antimalarial del extracto de hoja, los presentes inventores purificaron e identificaron el compuesto responsable. Usando fraccionación bioguiada y técnicas cromotográficas, un compuesto blanco cristalino fue aislado y purificado del extracto acuoso de las hojas secas de *G.niveum* mostrando efecto de disminución contra *P. falciparum* in-vitro y *P. bergei* in-vivo. La estructura de Gomphostinin muestra ser un compuesto novedoso. La nomenclatura IUPAC del compuesto 3-[2-(2-

15 Hidroximetilo-1, 4a, 5-trimetil-7-oxo-1, 2, 3, 4, 4a, 7 8, 8a-cctanhidronaftaleno-1-yl)-etil]-5H-furan-2- uno. El mecanismo por el cual Gomphostinin exhibe su actividad antimalarial no ha sido dilucidado todavía. Sin embargo, ha sido demostrado que Gomphostinin es efectivo in vitro contra los parásitos de la malaria *P falciparum* y *P. bergei*. Gomphostinin ofrece otro enfoque para la prevenciónprevención y tratamiento de la malaria, el cual es seriamente necesitado en vista de la resistencia de *P. falciparum* a múltiples fármacos antimalariales conocidas.

20 La fracción activa es extraida de partes de planta secas, tales como hojas, corteza y raices de *Gomphostemma niveum*, preferentemente hojas secas al aire. El disolvente usado para la extracción puede ser uno cualquiera o más de agua, metanol, etanol cloroformo o éter dietílico. El compuesto activo es aislado de los extractos de la planta por fase normal de cromatografía de capa fina y cromatografía de columna o por fase inversa de cromatografía de capa fina y cromatografía de columna. En el metodo de la invención, el compuesto activo fue analizado por cromatografía de columna líquida de alto rendimiento y también por cromatografía líquida de fase inversa de altorendimiento. El compuesto activo aislado fue recristalizado y la estructura determinada por cristalografía de rayos X asi como por espectroscopia. Tras la recristalización, la eficacia del compuesto fue probada contra los parásitos de la malaria *Plasmodium falciparum* in-vitro y *plasmodium bergei* in-vivo, particularmente en comparación con fosfato de cloroquina.

30 **Ejemplo 1: Extracción de Gomphostinin**

Las hojas de *G. niveum* son recogidas en el mes de Junio y Septiembre de Dhimaji. Assam localizado en la parte Nordeste de India. Hojas en polvo secadas al aire de *Gniveum* (100 gm) son extraidas con 1000 ml de agua en condición de reflujo durante 6 horas. El extracto concentrado es fraccionado en gtres partes con 200 ml de éter dietílico. Las porciones de éter dietílico son mezcladas y concentradas para secarse (B) bajo presión reducida.

35 **Ejemplo 2: Aislamiento de Gomphostinin**

40 Alrededor de 10 g de B es empaquetado en una columna de gel de sílice y eluado en sistema de acetato hexano-etiloacetato. Las fracciones de columna son analizadas subsecuentemente para su actividad inhibitoria contra *P. falciparum* y *P. Bergei*. Otros disolventes usados para la elución de diferentes componentes desde la fracción de éter son 500 ml de (1-8 fracciones), 10% etilacetato en hexano (1 lit), 40% etilacetato en hexano (1 lit) 50% etilacetato en hexano (1.5 lit). El resultado indicó que el compuesto en fracciones de columna eluado usando 50% de hexano en etilacetato es capaz de disminuir los parásitos malariales y por tanto posee la capacidad de curar la malaria. Gomphostenin es obtenido como sustancia blanca cristalina de la anterior fracción de columna al secar y recristalizar desde éter dietílico .

45 **Ejemplo 3: Análisis de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC)**

50 Un método HPLC es desarrollado para rápida evaluación de procesos de extracción y aislamiento usando agua, acetonitrilo en la proporción 60:40 como fase movil a una velocidad de flujo de 1 ml por minuto. Una columna de SGB Nucleosil C8 (250*4.6, 5u) es usada y la longitud de onda de un detector UV se establece en 254 nm. Un mg del compuesto es disuelto en un ml de metanol y 5µl de la solución es inyectada al sistema de HPLC. El pico aparece en 5.6 min es debido a Gomphostinin.

55 **Ejemplo 4: Recristalizacion de Gomphostinin**

Tras el aislamiento por cromatografía de columna y asegurando la pureza por análisis de HPLC, 50 mg del compuesto es disuelto en 2ml de éter dietílico . La solución es dejada reposando durante la noche en un tubo de prueba para permitir la lenta evaporación de éter dietílico. Cristales finos aparecen los cuales son llevados para cristalografía de rayos x.

Example 5: cristalografía de rayos x

Un pequeño cristal es seleccionado del fondo del tubo de ensayo y puesto en la sonda de cristalografía de rayos x. La estructura química del compuesto fue determinada a través de cristalografía de rayos X. La estructura de cristalografía de rayos x (Fig 1) indica la presencia de un anillo de lactona de cinco miembros. La nomenclatura IUPAC del compuesto será 3-[2-(2-Hidroxi-4,5-trimetil-7-oxo-1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahidro-naftalen-1-il)-etil]-

5H-furan-2-uno.

Ejemplo 6: Análisis espectroscópico

El espectro de infrarrojos (IR) (Fig 2) de Gomphostinin registrado en pellet de KBr mostró fuertes absorciones de carbonilo a 1667 y 1733 cm^{-1} . Absorciones a 1733 y 1759 cm^{-1} son características para lactonas donde mientras absorción a 1667 cm^{-1} es debida a un grupo carbonilo el cual no esta en conjugación con la lactona.

Un espectro de masa de ionización de electrón (EI) espectro (Fig 3) de Gomphostinin es obtenida usando un espectrómetro de masa Finnigan Mat. Los espectros de masa EI de gomphostenin dieron un ión M^+ a m/z 332 e iones fragmentados a m/z 317, 299, 287, 222, 221, 191, 175, 161, 150, 147, and 135 (Fig 4). Una espectrometría de masa de ionización de electro spray se llevó a cabo usando un espectrómetro de masas cuádruple-tiempo-de-vuelo de Micromass. El compuesto es inyectado al espectrómetro de masas usando el sistema de Waters HPLC y ESI+ es usado como modo de ionización. El espectro ESI-MS de gomphostinin dio un $(M+H)^+$ ion a m/z 333 (Fig 5). La medida de masa de alta resolución (Fig 6) de ión a 333 Da es llevada a cabo por el espectrómetro de micro masa Q-ToF usando sulfadimetoxina de masa de referencia en spray de bloqueo (311.0814 Da), manteniendo la energía de colisión a 25 V, voltaje de cono de muestra a 40V, argón como gas de colisión. La masa medida exacta 333.2053 corresponde a una fórmula empírica $C_{20}H_{28}O_4$ con un error de 1.3 mDa unidades.

El espectro de protones NMR (Fig 7) de Gomphostenin dio resonancias correspondientes a 28 protones. El espectro contiene señales debidas a 3 grupos metil a 0.80, 1.05 y 1.89 ppm. El grupo metil teniendo señal 1.89 ppm está unido a un carbono hibridizado sp^2 es decir $C=C$. El espectro completo de carbono desacoplado de protones (Fig 8) de Gomphostenin indica la presencia de 20 carbonos. Análisis de DEPT 135 (Fig 9) en combinación con carbono NMR indica la presencia de tres metilo, siete metileno, cuatro metino y seis carbonos cuaternarios. La Señal a 199 ppm se debe a un grupo carbonilo presente en conjugación con un doble vínculo de carbono. La señal a 174 ppm indica la presencia de un grupo carbonilo de una lactona el cual es detectado en estudios de infrarrojos. Señales a 172, 144, 133 y 125 ppm indican la presencia de 2 uniones dobles carbono-carbono. Señal a 133 ppm es un carbono cuaternario. Por ello el grupo metil que tiene corrimiento de protón NMR a 1.89 ppm está unido a este carbono. El número de carbono e hidrogeno obtenido de los estudios de NMR coinciden con la fórmula empírica calculada de los estudios espectrométricos de masas.

Ejemplo 7**Evaluacion In-vitro de actividad antimalarial**

Dos variedades de cepa sensible a cloroquina y una cepa de *P. falciparum* aislada de pacientes de la region de India de Jagadapur y mantenido in Vitro. Los cultivos son mantenidos según los procedimientos normales de cultivo.

Los parásitos son desarrollados en RBCs humanos O +ve con la adición de medios de cultivo RPMI 1640 con 10% de suero humano como suplemento. Las células son incubadas a 37°C a 5% de atmosfera de CO_2 y la parasitemia es revisada después de 24 horas y los medios cambiados. Cuando la parasitemia excedió el 10% de celulas parasitadas el cultivo es subcultivado con la adición de RBC fresco. El crecimiento del parásito es sincronizado por el método de lisis de sorbitol y parásitos de estado de anillo sincronizado son usado para prueba. La prueba in-vitro es hecha en 100 μ de medio completo por pocillo con la adición de 10 μ l de eritrocitos con 2% estados de anillo de parásitos. Todas las pruebas son llevadas en duplicados en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos de fondo plano y se hacen dobles diluciones para cada uno de los compuestos de ensayo con pocillos individuales de control unicamente con el RPMI 1640 y suplemento de suero humano. El crecimiento de los parásitos en la presencia de cada uno de los compuestos de prueba, cloroquina y pocillos de control son controlados por el exámen de las manchas de sangre por tinción de Giemsa hecha tras 24 horas de incubación. El recuento se hace para la presencia de schizonts maduros entre 200 parásitos asexuales y la inhibición media de la maduración de schizont es calculada por medio de la fórmula $(1-N_t/N_c) \times 100$ donde N_t y N_c representan el numero de schizont presente en la prueba y control respectivamente. Los valores de IC 50 y IC 90 son calculados usando el paquete estadístico comercial Sigmapstat.

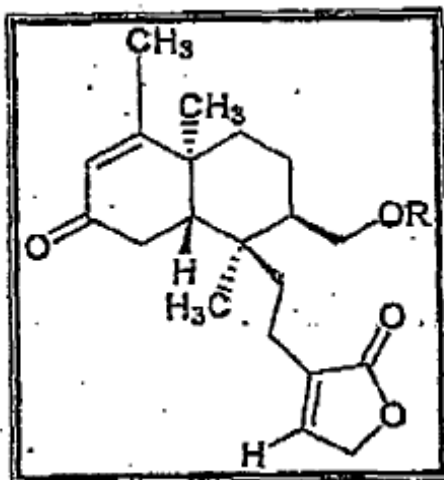
ES 2 357 605 T3

Gomhostinin fue analizado para determinar el valor de IC50, la concentración media del compuesto que efectivamente inhibe el crecimiento a un 50% del organismo de ensayo expuesto a él dentro de un periodo establecido de tiempo. Como controles se determinaron también cloroquina y arteter IC50 . Los resultados son mostrados en la Tabla 1.

| | Ic₅₀ en µg/ml | Ic₉₀ en µg/ml |
|-----------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Extracto crudo | 153,23 | 752,29 |
| Gomphostenin | 8,23 | 24,29 |
| Cloroquina | 12,87 | 23,69 |

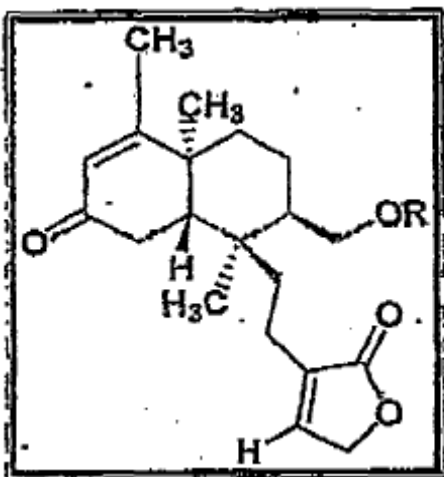
REIVINDICACIONES

1. 3-[2-(2-Hidroximetil-1, 4a, 5-trimetil-7-oxo- 1,2,3,4,4a, 7 8, 8a-octahidronaftalen-1- il)-etil]-5H-furan-2-uno de la fórmula 1 proporcionada abajo



o derivados farmacéuticamente aceptables del mismo.

- 5 2. Un método de preparación de compuesto sustancialmente purificado en Reivindicación 1 a partir de hojas, cortezas, raíces de *G. niveum*, comprendiendo



- (a) someter partes partes secas y en polvo de *Gomphostemma niveum* ala extracción con un disolvente;
 (b) filtrar el extracto obtenido en el paso (a) y evaporar el extracto bajo presión reducida;
 10 (c) lyophilizing el filtrado obtenido en el paso (b) para obtener una forma de polvo;
 (d) aislar el compuesto de la fórmula 1 del polvo.
3. Un metodo como se reivindica en Reivindicación 2 en el que el compuesto es aislado de las hojas secas de *Gomphastemma niveum*.
- 15 4. Un método como se reivindica en Reivindicación 2 en el que el disolvente es elegido del grupo compuesto de agua, metanol, etanol, cloroformo, éter dietílico y cualquiera mezcla de los mismos.
5. Un método como se reivindica en Reivindicación 4 en el cual el disolvente es agua.
6. Un método como se reivindica en Reivindicación 4 en el cual el disolvente es metanol.
7. Un método como se reivindica en Reivindicación 4 en el cual el disolvente es etanol.
8. Un método como se reivindica en Reivindicación 4 en el cual el disolvente es una mezcla de agua y

metanol;

una mezcla de etanol y agua;

una mezcla de metanol y cloroformo;

5 una mezcla de etanol y cloroformo; una mezcla de éter dietílico y cloroformo; o una mezcla de etanol, metanol, cloroformo y éter dietílico.

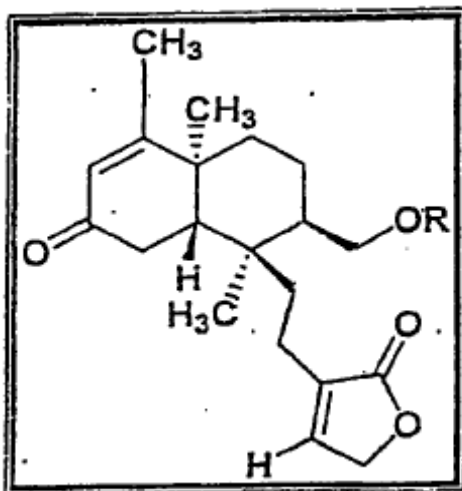
9. Un método como se reivindica en Reivindicación 4 en el cual el disolvente es cloroformo.

10. Un método como se reivindica en Reivindicación 2 en donde el compuesto es aislado del extracto de la planta por medio de fase normal de cromatografía de capa fina y cromatografía de columna, o por fase inversa de cromatografía de capa fina y cromatografía de columna.

10 11. Un método como se reivindica en Reivindicación 2 en donde las partes de las plantas son seleccionadas del grupo consistente de hojas, raíces y cortezas.

12. Un método como se reivindica en Reivindicación 2 en donde las partes de la planta son secadas al aire y entonces pulverizadas de manera convencional para obtener el polvo.

15 13. Una composición farmacéutica para la cura/tratamiento de la malaria comprendiendo una cantidad farmacéuticamente razonable/aceptable de un compuesto de fórmula 1



y uno o más aditivos farmacéuticamente aceptables.

20 14. Una composición como se reivindica en Reivindicación 13 en donde dicho uno o más aditivos farmacéuticamente aceptables son seleccionados del grupo formado de ayuvantes, vehículos, excipientes, diluyentes, agentes aromatizantes, emulgentes, potenciadores de viscosidad, aglutinantes, estabilizadores, disolventes y otros similares.

15. Una composición farmacéutica como se define en reivindicación 13 para el uso en el tratamiento de la malaria.

25 16. Uso de una composición farmacéutica como se define en Reivindicación 13 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la malaria.

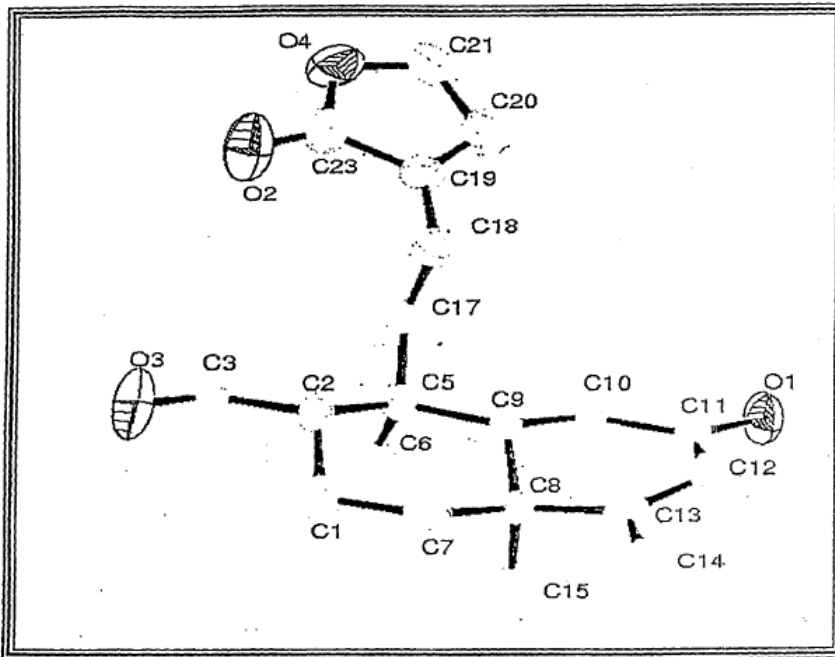


Fig 1. Diagrama ORTEP de Gomfostinina de cristalografía de rayos-X

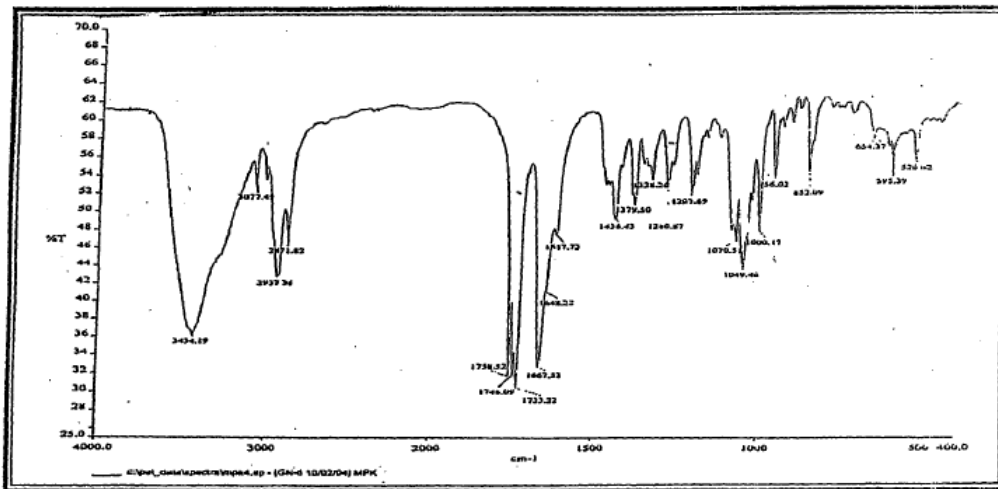


Fig 2. Espectro I. R. de Gomfostinina

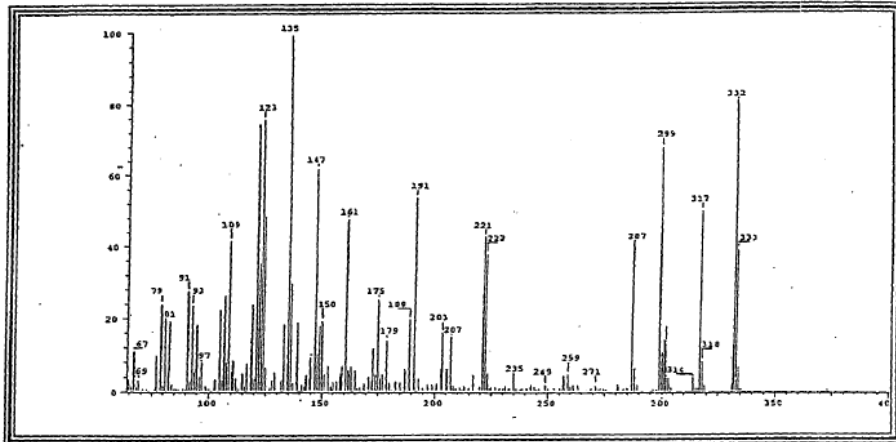


Fig 3. Espectro EIMS de Gomfostinina

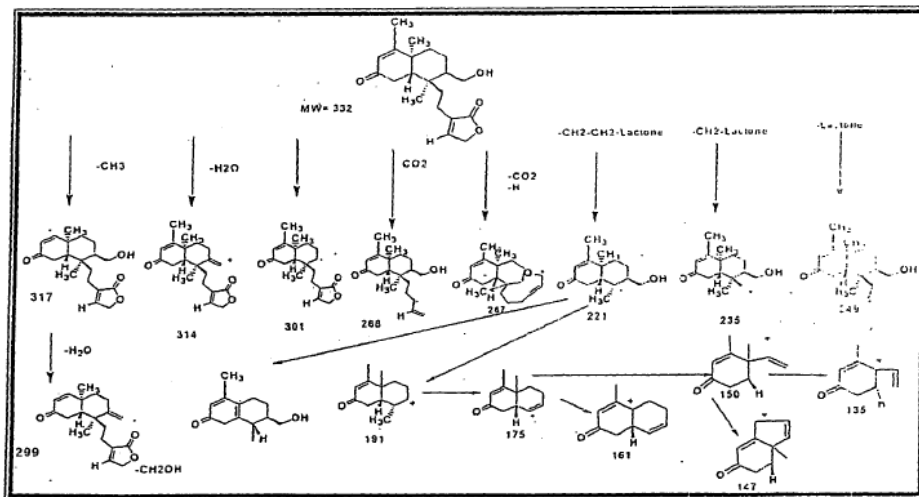


Fig 4. Fragmentaciones másicas de Gomfostinina

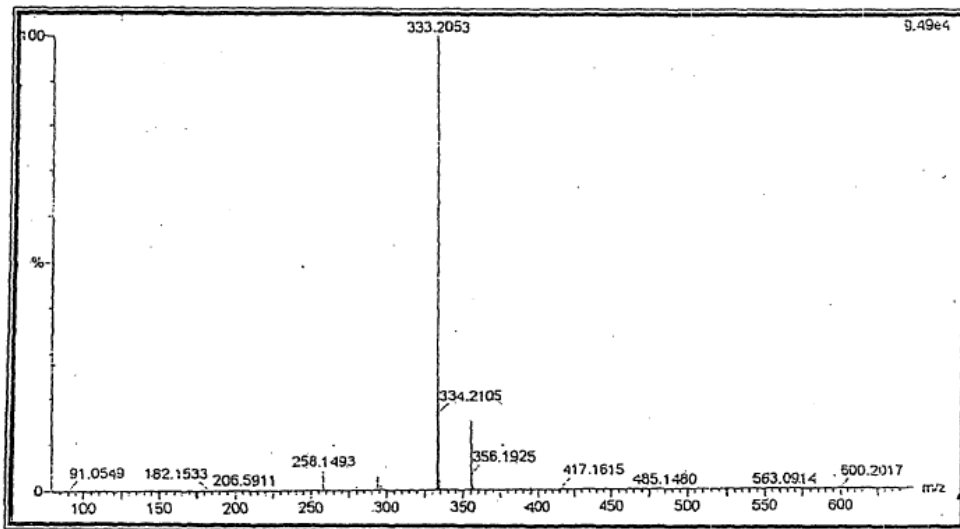


Fig 5. Espectro ESI MS de Gomfostinina

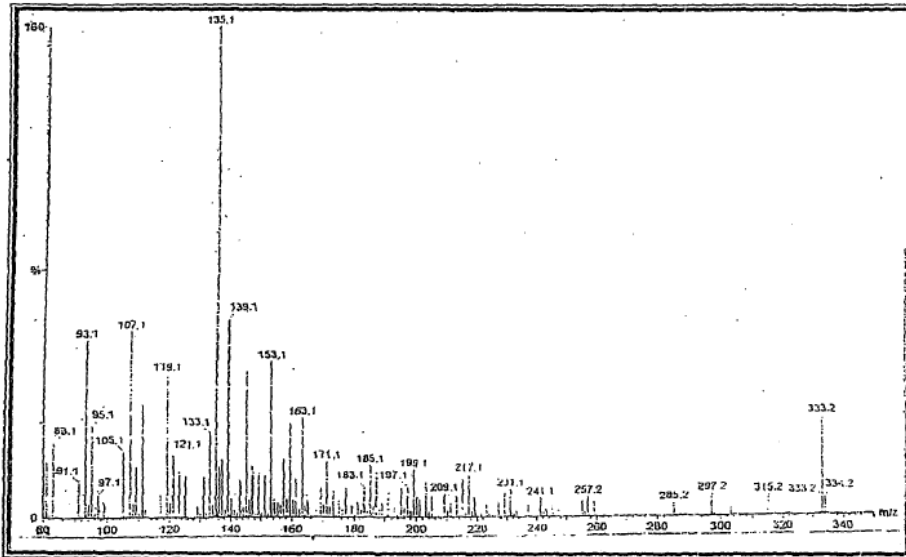


Fig 6. Espectro ESI MSMS de Gomfostinina

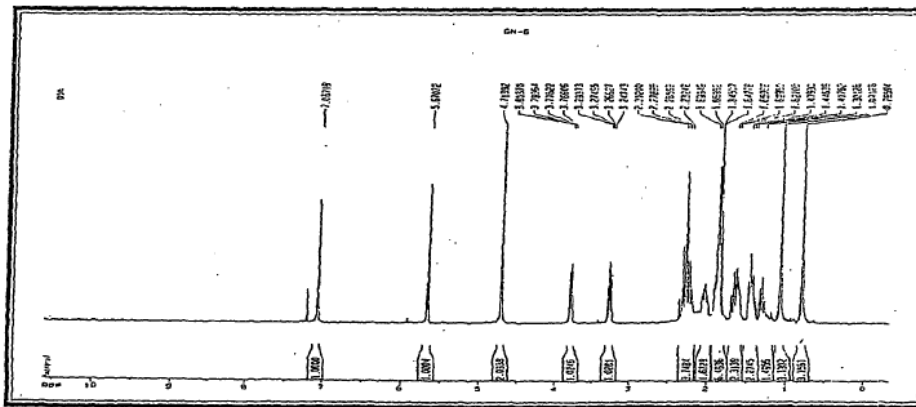


Fig 7. Espectro NMR Protón de Gomfostinina

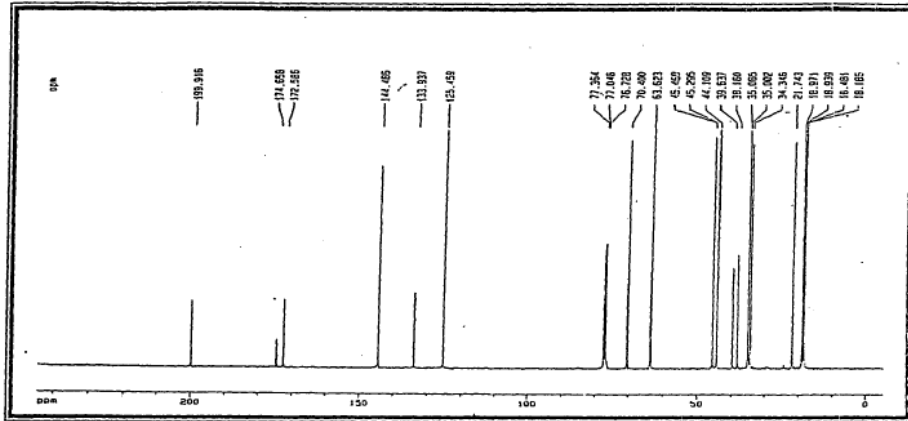


Fig 8. Espectro NMR C¹³ de Gomfostinina

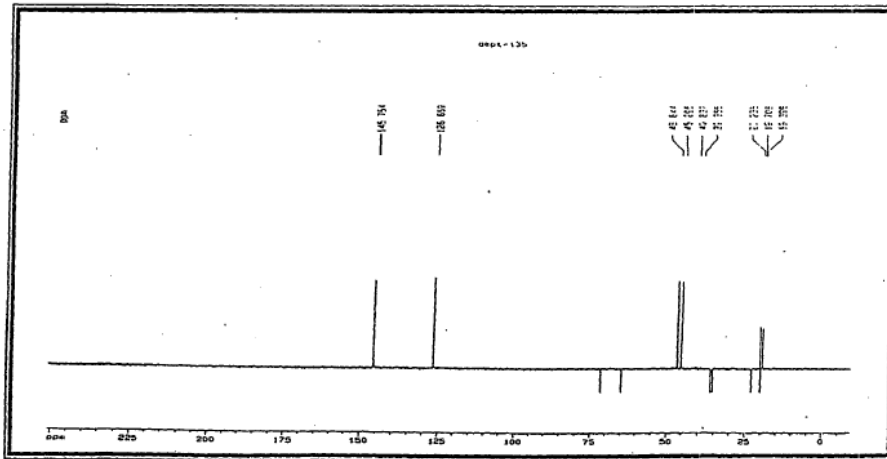


Fig 9. Espectro DEPT 135 de Gomfostinina