

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 618 677**

51 Int. Cl.:

C07C 235/34 (2006.01)

C07D 213/79 (2006.01)

C07D 213/80 (2006.01)

C07C 69/732 (2006.01)

C07D 317/60 (2006.01)

C07D 405/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.05.2007** **E 12002538 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.12.2016** **EP 2514739**

54 Título: **Ácido beta-fenil-alfa-hidroxil-propiónico sustituido, método de síntesis y su uso**

30 Prioridad:

15.05.2006 CN 200610042787

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

21.06.2017

73 Titular/es:

**NORTHWEST UNIVERSITY (100.0%)
No. 229, Taibai North Road
Xi'an, Shaanxi 710069, CN**

72 Inventor/es:

**ZHENG, XIAOHUI;
ZHANG, QUNZHENG;
WANG, SHIXIANG y
ZHAO, XINFENG**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 618 677 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

Ácido β-fenil-α-hidroxil-propiónico sustituido, método de síntesis y su uso

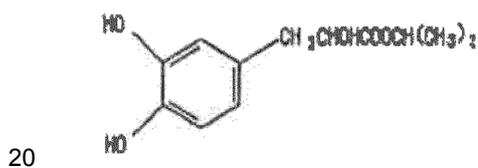
Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un derivado del ácido β-fenil-α-hidroxil-propiónico sustituido, a un procedimiento para su síntesis y a su uso para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y la prevención de enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares.

Técnica anterior

10 La Raíz de Dan-Shen (*Radix Salviae miltiorrhizae*) es un medicamento tradicional chino para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares con indudables efectos terapéuticos. En la actualidad, se supone que el ácido salviánico (denominación química: ácido β-(3,4-dihidroxifenil)-α-hidroxil-propiónico) es el principal ingrediente activo de los componentes solubles en agua de la Raíz de Dan-Shen. En ensayos farmacológicos se ha demostrado que el ácido β-fenil-α-hidroxil-propiónico es la fracción farmacológicamente activa del ácido propanoide, pero su potencia no es deseable. De este modo, se modificó el ácido β-fenil-α-hidroxil-propiónico y los derivados resultantes modificados podrían tener una potencia igual o mayor que el compuesto original, exhibiendo asimismo un efecto terapéutico mejorado en el tratamiento y la prevención de enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares. Por ejemplo, el borneol es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, en tanto que el ácido propanoide no exhibe una tendencia a atravesar la barrera hematoencefálica. Por lo tanto, se puede modificar la estructura del ácido propanoide por la incorporación de la estructura química de borneol.

El documento CN 1583710 A describe el compuesto siguiente:

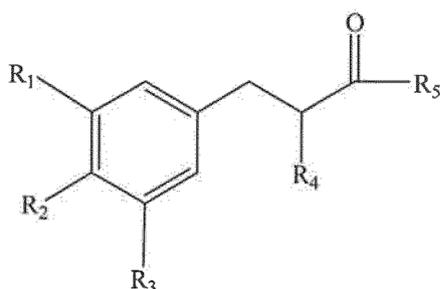


como el metabolito principal de compuestos eficaces de salvia de raíz roja.

Compendio de la invención

25 Un objeto de la presente invención es proporcionar un derivado de ácido β-fenil-α-hidroxil-propiónico sustituido y un procedimiento para su síntesis, así como el uso del derivado del ácido β-fenil-α-hidroxil-propiónico sustituido en la fabricación de un medicamento para la prevención y el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares.

En un aspecto de la presente invención, se ofrece un derivado del ácido β-fenil-α-hidroxil-propiónico sustituido, concretamente un compuesto de la fórmula (I):

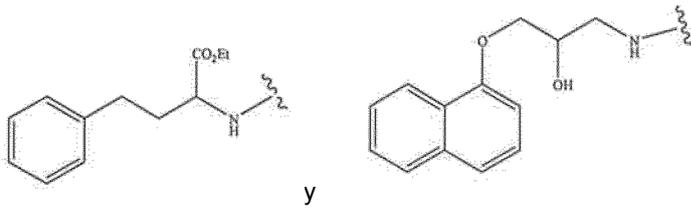


(I)

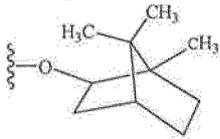
30 en donde R₁ y R₂ son, por separado, OH, y R₃ se selecciona del grupo que consiste en H, OH, F, Cl, Br, metoxi y etoxi; o, de forma alternativa, R₁ y R₂ forman, conjuntamente, -OCH₂O-, R₃ se selecciona del grupo que consiste en H, OH, metoxi, etoxi y halógenos;

R₄ es OH o aciloxi;

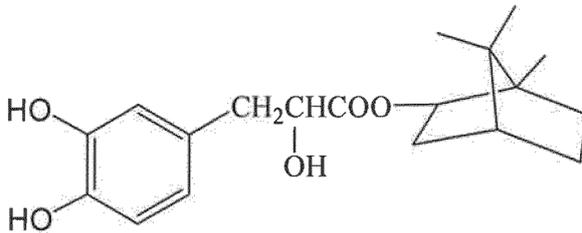
R₅ se selecciona de cicloalcoxilo,



con la condición de que cuando R₁ y R₂ son OH, R₃ es H y R₄ es OH, entonces R₅ no es



es decir, el compuesto no es el éster de β-(3,4-dihidroxi-fenil)-α-hidroxi-propionato de bornilo tal como se muestra en la fórmula (II).



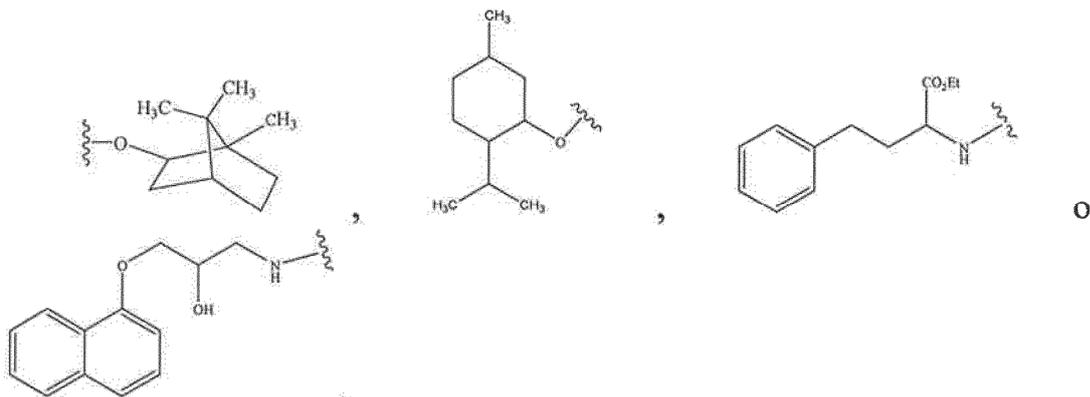
(II)

5

En una realización de la presente invención, R₄ es OH.

En una realización adicional de la presente invención, R₄ es aroiloxi o aciloxi sustituido con un resto heterocíclico. Preferiblemente, R₄ es o-acetoxi-benzoiloxi, 3-piridinil-benzoiloxi o 4-piridinil-benzoiloxi.

En una realización adicional de la presente invención, R₅ es:

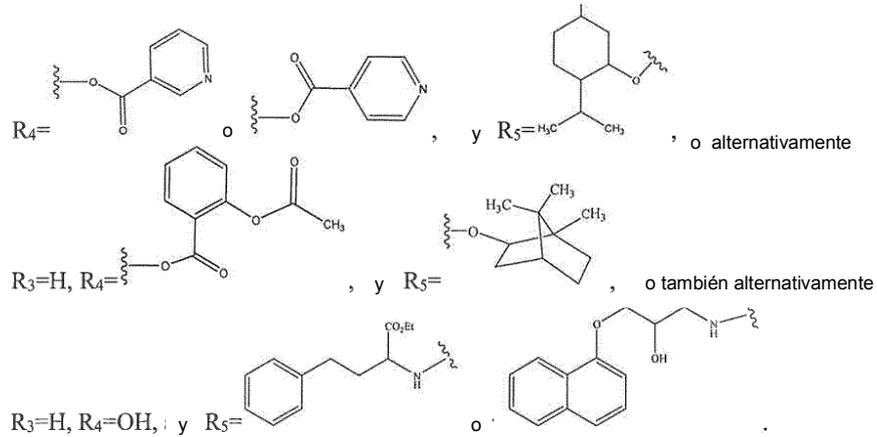


10

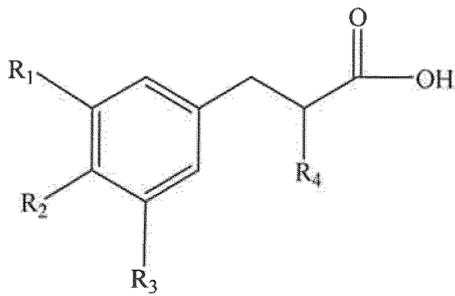
En todavía otra realización, R₁ y R₂ son, respectivamente, OH.

En todavía una realización adicional, R₁ y R₂ forman conjuntamente -OCH₂O-.

En una realización preferida, cuando R₁ y R₂ forman conjuntamente -OCH₂O-, entonces R₃ = H.



En otro aspecto de la presente invención, se ofrece un procedimiento para sintetizar un compuesto de la fórmula (I), que comprende: hacer reaccionar un compuesto de fórmula (III) con un compuesto de fórmula (IV) o un hidrato del mismo, en presencia de un catalizador:



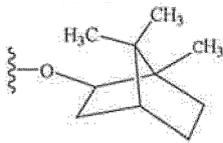
(III)

R_5-H

(IV)

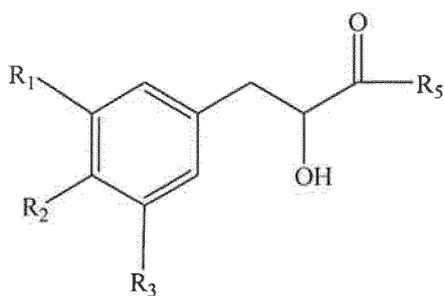
5

en donde R_1, R_2, R_3, R_4 y R_5 tienen los mismos significados que se han definido anteriormente para la fórmula (I), con la condición de que cuando R_1 y R_2 sean OH, R_3 sea H y R_4 sea OH, entonces R_5 no es



10

o, de manera alternativa, el procedimiento comprende: hacer reaccionar un compuesto de fórmula (V) con un compuesto de fórmula (VI) o un hidrato del mismo, en presencia de un catalizador:



(V)

R₄'-H

(VI)

en donde R₁, R₂, R₃ y R₅ tienen los mismos significados que se han definido anteriormente para la fórmula (I), y R₄' es aciloxi;

5 en donde dicho catalizador se selecciona de H₂SO₄ concentrado, ácido silicotúngstico, ácido fosfomolibdico, ácido p-toluenosulfónico, S₂O₈²⁻/ZrO₂, triclورو de aluminio, cloruro de cinc y/o cloruro de cinc. Resulta especialmente conveniente usar ácido p-toluenosulfónico y/o S₂O₈²⁻/ZrO₂.

La proporción molar de reacción del compuesto de fórmula (III) al compuesto de fórmula (IV) puede ser 1:0,8 a 1:1,5, preferiblemente 1:1 a 1:1,5, más preferiblemente, 1:1,25 a 1:1,5 y, de forma especialmente preferida, 1:1,5.

10 La proporción molar de reacción del compuesto de fórmula (V) al compuesto de fórmula (VI) puede ser 1:0,8 a 1:1,5, preferiblemente 1:1 a 1:1,5, más preferiblemente, 1:1,25 a 1:1,5 y, de forma especialmente preferida, 1:1,5.

15 De manera opcional, la reacción se lleva a cabo en un disolvente. El disolvente se puede seleccionar del grupo que consiste en acetato etílico, diclorometano, tetrahidrofurano, acetona, tolueno, 1,4-dioxano y N,N-dimetilformamida. Preferiblemente, el disolvente se selecciona del grupo que consiste en tetrahidrofurano, acetona, tolueno, 1,4-dioxano y N,N-dimetilformamida. Más preferiblemente, el disolvente se selecciona de tetrahidrofurano y acetona. De forma especialmente preferida, se usa tetrahidrofurano como disolvente. Estos disolventes se pueden usar solos o en cualquier combinación.

La temperatura de reacción se puede variar en función del disolvente utilizado. De manera conveniente, se controla dentro del intervalo de 0°C a 150°C. Preferiblemente, la temperatura de reacción es de 25°C a 100°C. Más preferiblemente, la temperatura de reacción es de 65°C.

20 La duración de la reacción puede ser de 2 h a 24 h, preferiblemente, de 5 h a 15 h, más preferiblemente, de 8 h a 12 h y, de forma especialmente preferida, de 8 h.

25 Cuando se utiliza S₂O₈²⁻/ZrO₂ como catalizador, el S₂O₈²⁻/ZrO₂ se puede preparar opcionalmente por el siguiente procedimiento: agregar amoniaco acuoso a una solución de ZrOCl₂ a 0 a 10°C hasta alcanzar un pH de 9 a 12, envejecer, lavar el granulado para eliminar el Cl⁻, calentar hasta sequedad en un horno, triturar, agregarlo entonces a una solución de (NH₄)₂S₂O₈ para inmersión, filtrar, secar, triturar y, a continuación, recocer a 500 a 700°C durante 2 a 5 h, lo que da como resultado S₂O₈²⁻/ZrO₂.

En un aspecto adicional de la presente invención, se ofrece el compuesto de la presente invención para usarlo en la prevención y el tratamiento de enfermedades cardiovasculares o cerebrovasculares.

Breve descripción de los dibujos

30 Figura 1 muestra un esquema para la síntesis de un compuesto de fórmula (II) en el Ejemplo 1 (no es realización), es decir, éster de β-(3,4-dihidroxil-fenil)-α-hidroxil-propionato de bornilo.

Figura 2 muestra el espectro de masa del producto final obtenido en el Ejemplo 1 (no es realización).

Figura 3 muestra el espectro infrarrojo del producto final obtenido en el Ejemplo 1 (no es realización).

Figura 4 muestra el espectro de RMN H¹ del producto final obtenido en el Ejemplo 1 (no es realización).

35 Figura 5 muestra el espectro de RMN C¹³ del producto final obtenido en el Ejemplo 1 (no es realización).

La presente invención se ilustra adicionalmente junto con los ejemplos de síntesis siguientes y los ensayos farmacodinámicos. No obstante, se debe entender que estos ejemplos pretenden únicamente ilustrar, pero, en ningún caso, limitar la presente invención.

Ejemplo 1 (no es realización): Síntesis (I) de éster de β -(3,4-dihidroxi-fenil)- α -hidroxil-propionato de bornilo.

(1) Síntesis de acetyl glicina

5 En un matraz de tres cuellos de 250 mL, se depositaron 0,33 mol de glicina y 100 mL de agua destilada y se agitó vigorosamente hasta la disolución y, bajo agitación, se agregaron lentamente, gota a gota, 0,67 mol de anhídrido acético. La mezcla se agitó vigorosamente de forma continua durante 50 min y, entonces, se filtró con succión. Los gránulos de lavaron y secaron, dando como resultado un cristal blanco, con un rendimiento de 86,0%.

(2) Síntesis de 2-metil-4-(3,4-diacetoxi-benzilideno)-oxazolona

10 En un matraz de tres cuellos de 250 mL, se depositaron 0,20 mol de 3,4-dihidroxi-benzaldehído, 0,24 mol de acetyl glicina y 0,26 mol de acetato sódico anhidro; a continuación, se agregaron 189 mL de anhídrido acético y se mezcló homogéneamente por agitación. La reacción se llevó a cabo durante 4 h en un baño de agua a 80°C bajo agitación, a continuación, la temperatura se elevó a 100°C y se continuó la reacción durante 1 h bajo agitación. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y, seguidamente, se introdujo en un refrigerador para enfriamiento adicional. Bajo agitación, se agregaron a la mezcla de reacción 100 mL de agua y en el fondo precipitó un cristal de color amarillo. Después de filtrar con succión, lavar y secar, se obtuvo un cristal amarillo con un rendimiento de 75,0%.

(3) Síntesis de ácido β -(3,4-diacetoxi-fenil)- α -acetamido-acrílico

20 En un matraz se depositaron 0,15 mol de 2-metil-4-(3,4-diacetoxi-benzilideno)-oxazolona, 166 mL de acetona y 166 mL de agua destilada; a continuación, se calentó lentamente hasta ebullición y se sometió a reflujo por calentamiento durante 3 h. La mezcla se decoloró usando carbón activo. Después de filtrar, el filtrado se dispuso para cristalización, luego, se filtró con succión, se lavó y se secó, dando como resultado un polvo cristalino de color crudo, con un rendimiento de 72,9%.

(4) Síntesis de ácido β -(3,4-dihidroxi-fenil)-pirúvico

25 A 0,25 mol de ácido β -(3,4-diacetoxi-fenil)- α -acetamido-acrílico se agregaron 1.500 mL de ácido clorhídrico 1 mol·L⁻¹. A continuación, la mezcla se calentó a reflujo, con agitación, durante 8 h. Después de decolorar usando carbón activo y de filtrar con succión, el filtrado se concentró para su precipitación como cristal. La mezcla se filtró con succión, se lavó y secó, dando como resultado un cristal blanco suelto, con un rendimiento de 48,1%.

(5) Síntesis de ácido β -(3,4-dihidroxi-fenil)- α -hidroxil-propiónico

30 A 0,17 mol de ácido β -(3,4-dihidroxi-fenil)-pirúvico se agregaron 112 g de amalgama de cinc y 1.808 mL de una solución 1,4 mol·L⁻¹ de ácido clorhídrico, y la reacción se llevó a cabo bajo calentamiento y tratamiento a reflujo durante 8 h. Después de filtrar, el filtrado se extrajo usando acetato etílico de forma repetida y se secó usando Na₂SO₄ anhidro. Después de retirar el acetato etílico, se obtuvo ácido β -(3,4-dihidroxi-fenil)- α -hidroxil-propiónico, con un rendimiento de 40,3%.

(6) Síntesis del éster de β -(3,4-dihidroxi-fenil)- α -hidroxil-propionato de bornilo.

35 En un matraz se depositaron 0,12 mol de ácido β -(3,4-dihidroxi-fenil)- α -hidroxil-propiónico y 0,18 mol de borneol, a continuación, 0,86 g de ácido p-toluenosulfónico o 2,00 g de S₂O₈²⁻/ZrO₂ de producción propia como catalizador, y 500 mL de tetrahidrofurano. La reacción se llevó a cabo a 65°C durante 8 h. Después de finalizar la reacción, se retiraron el catalizador, el disolvente y el borneol que no habían reaccionado para obtener una sustancia viscosa de color pardo que se separó adicionalmente usando cromatografía de columna para obtener un aceite amarillento.

40 El catalizador S₂O₈²⁻/ZrO₂ se preparó por un procedimiento que comprende las etapas siguientes; preparar una solución 1 mol·L⁻¹ de ZrOCl₂ con 0,025 mol de ZrOCl₂·8 H₂O; agitar en un baño de agua helada; agregar lentamente, gota a gota, 6 mol·L⁻¹ de amoniaco acuoso, hasta que el pH llegue a 10; envejecer durante 12 h; filtrar con succión; lavar la torta de filtro con agua destilada hasta que no sea posible determinar Cl⁻ (usando la prueba de 0,1 mol·L⁻¹ de AgNO₃); recocer la torta de filtro a 110°C durante 10 h; triturar; enjuagar en solución 0,5 mol·L⁻¹ de (NH₄)₂S₂O₈ durante 12 h; filtrar con succión; secar; triturar; y recocer en un horno de mufla a 600°C durante 3 h para obtener S₂O₈²⁻/ZrO₂.

(7) El espectro de masa, espectro infrarrojo, espectro de RMN H¹ y espectro de RMN C¹³ del aceite amarillento resultante

Figura 2 es el espectro de masa de aceite amarillento obtenido, que muestra que 351,7 es el pico del ion molecular de (M+H₂O), y el aceite tiene un peso molecular de 333,69;

50 Figura 3 muestra el IR(KBr) v/cm⁻¹: 3363,61 (OH), 2953,12 (CH₃), 2913,90 (CH₂), 1725,51 (C=O), 1608,20, 15121,53, 1450,32 (estructura básica del anillo de benceno), 1281,36 (C=O del éster), 1114,39 (C-O del hidroxilo secundario), 885,71 y 805,68 (anillo de benceno 1,2,4-trisustituido);

Figura 4 muestra la RMN H1 (CD_3COCD_3 , 500 MHz) δ : 6,57-7,64 (m, 3H, Ar-H), 4.10-4,32 (m, 1H, -CH(OH)-), 4,83 (t, 1H, -CH-), 2,79-2,92 (m, 2H, -CH₂-);

Figura 5 muestra la RMN C¹³ (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 174,790, 143,807, 143,056, 128,557, 121,549, 116,895, 115,488, 81,983, 71,646, 48,860, 47,881, 44,798, 39,871, 36,506, 27,918, 27,057, 19,653, 18,774, 13,501.

- 5 Los datos de caracterización anteriores demostraron que se obtuvo el éster de β -(3,4-dihidroxi-fenil)- α -hidroxil-propionato de borneol por síntesis.

Ejemplo 2 (no es realización): Síntesis (II) del éster de β -(3,4-dihidroxi-fenil)- α -hidroxil-propionato de borneol

10 La síntesis se llevó a cabo por el mismo procedimiento que en el Ejemplo 1, con la excepción de que al matraz de tres cuellos se agregaron 0,12 mol de ácido β -(3,4-dihidroxi-fenil)- α -hidroxil-propiónico y 0,15 mol de borneol, a continuación, 0,86 g de ácido p-toluenosulfónico como catalizador y 500 mL de tetrahidrofurano, y la reacción se efectuó a 65°C durante 12 h. Después de finalizar la reacción, se retiró el disolvente de reacción por destilación al vacío y la sustancia viscosa resultante se trató al vacío ($1,3 \times 10^{-3}$ Pa) usando una bomba de aceite en un baño de agua hirviendo para retirar el borneol y, seguidamente, se agregaron 200 mL de acetato etílico. La solución resultante se lavó con solución saturada de NaHCO_3 para retirar el ácido β -(3,4-dihidroxi-fenil)- α -hidroxil-propiónico y el ácido p-toluenosulfónico que no habían reaccionado. La capa de acetato etílico obtenida se concentró a presión reducida, dando como resultado una sustancia viscosa de color pardo que se separó adicionalmente por cromatografía de columna, obteniendo un aceite amarillento. El aceite amarillento resultante tiene los mismos espectros de masa e infrarrojo que el del Ejemplo 1.

Ejemplo 3 (no es realización): Síntesis (III) del éster de β -(3,4-dihidroxi-fenil)- α -hidroxil-propionato de borneol

20 La síntesis se llevó a cabo por el mismo procedimiento que en el Ejemplo 1, con la excepción de que al matraz de tres cuellos se agregaron 0,1 mol de ácido β -(3,4-dihidroxi-fenil)- α -hidroxil-propiónico y 0,12 mol de borneol, a continuación, 1,33 g de $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}/\text{ZrO}_2$ como catalizador y 400 mL de 1,4-dioxano, y la reacción se efectuó a 100°C durante 8 h. Después de finalizar la reacción, el catalizador $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}/\text{ZrO}_2$ se retiró por filtración con succión y el disolvente se retiró por destilación al vacío, y la sustancia viscosa resultante se trató al vacío ($1,3 \times 10^{-3}$ Pa) usando una bomba de aceite en un baño de agua hirviendo para retirar el borneol. La sustancia viscosa de color negro pardo se separó por cromatografía de columna, obteniendo un aceite amarillento que tuvo los mismos espectros de masa e infrarrojo que en el Ejemplo 1.

Ejemplo 4 (no es realización): Síntesis (IV) del éster de β -(3,4-dihidroxi-fenil)- α -hidroxil-propionato de borneol

30 La síntesis se llevó a cabo por el mismo procedimiento que en el Ejemplo 1, con la excepción de que al matraz de tres cuellos se agregaron 0,06 mol de ácido β -(3,4-dihidroxi-fenil)- α -hidroxil-propiónico y 0,09 mol de borneol, a continuación, 0,60 g de tricloruro de aluminio como catalizador y 200 mL de N,N-dimetilformamida como disolvente, y la reacción se efectuó a 150°C durante 10 h. Después de finalizar la reacción, el disolvente se retiró por destilación al vacío, y la sustancia viscosa resultante se trató al vacío ($1,3 \times 10^{-3}$ Pa) usando una bomba de aceite en un baño de agua hirviendo para retirar el borneol. La sustancia viscosa de color negro pardo se separó por cromatografía de columna, obteniendo un aceite amarillento que tuvo los mismos espectros de masa e infrarrojo que en el Ejemplo 1.

Ejemplo 5 (no es realización): Síntesis del éster de β -(4-clorofenil)- α -hidroxil-propionato de borneol

(1) Se sintetizó 2-metil-4-(4-cloro-benzilideno)-oxazolona de forma similar al Ejemplo 1(2), con la excepción de que se utilizó 4-cloro-benzaldehído en lugar de 3,4-dihidroxi-benzaldehído. Se obtuvo un cristal de color pardo con un rendimiento de 87,4%.

- 40 (2) Síntesis de ácido β -(4-clorofenil)- α -acetamido-acrílico

En un matraz, se depositaron 0,10 mol de 2-metil-4-(4-cloro-benzilideno)-oxazolona, 110 mL de acetona, 110 mL de agua y 2 mL de ácido clorhídrico concentrado, se calentó lentamente hasta ebullición y, a continuación, se continuó calentando a reflujo durante 3 h. Después de decolorar con carbón activo y filtrar, el filtrado se sometió a cristalización y se obtuvo un polvo cristalino de color naranja con un rendimiento de 81,1% por filtración con succión, lavado y secado.

- (3) Síntesis de ácido β -(4-clorofenil)-pirúvico

En un matraz, se depositaron 4,55 g de ácido β -(4-clorofenil)- α -acetamido-acrílico, 91 mL de una solución 1 mol L^{-1} de ácido clorhídrico y 45 mL de THF, y la mezcla se calentó a reflujo durante 10 h. Después de decolorar con carbón activo y filtrar, el filtrado se sometió a cristalización y se obtuvo un polvo cristalino de color blancuzco con un rendimiento de 77,3% por filtración con succión, lavado y secado.

- (4) Síntesis de ácido β -(4-clorofenil)- α -hidroxil-propiónico

En un matraz con 15,00 g de ácido β -(4-clorofenil)-pirúvico se agregaron 98 g de Zn(Hg), 219 mL de solución $2,5 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido clorhídrico y 35 mL de THF y se calentó a reflujo durante 10 h. Después de filtrar mientras la mezcla

de reacción estaba caliente, se concentró el filtrado hasta alcanzar 80 mL y se dejó reposar durante la noche. Después de filtrar con succión, lavar, secar y recrystalizar en agua hirviendo, se obtuvo un cristal flocular con un rendimiento de 64,0%.

(5) Síntesis del éster de β -(4-clorofenil)- α -hidroxil-propionato de borneol

- 5 En un matraz de tres cuellos, se depositaron 0,12 mol de ácido β -(4-clorofenil)- α -hidroxil-propiónico y 0,15 mol de borneol; a continuación, se agregaron 0,86 g de ácido p-toluenosulfónico como catalizador y 500 mL de tetrahidrofurano, y la reacción se llevó a cabo a 65°C durante 12 h. Después de finalizar la reacción, se retiró el disolvente de reacción por destilación al vacío, la sustancia viscosa obtenida se trató al vacío ($1,3 \times 10^{-3}$ Pa) usando una bomba de aceite en un baño de agua hirviendo para retirar el borneol, a continuación, se agregaron 200 mL de acetato etílico para obtener una solución. La solución resultante se lavó con solución saturada de NaHCO₃ para retirar el ácido β -(4-clorofenil)- α -hidroxil-propiónico y el ácido p-toluenosulfónico que no habían reaccionado. La fase orgánica obtenida se concentró al vacío dando como resultado una sustancia viscosa de color pardo que se separó por cromatografía de columna para obtener un aceite amarillento.

15 IR(KBr) v/cm^{-1} : 3461,45 (OH), 2981,99 (CH₃), 2935,46 (CH₂), 1731,08 (C=O), 1598,03, 1492,10, 1453,90 (estructura de base del anillo de benceno), 1269,86 (C=O del éster), 1106,22 (C-O del hidroxilo secundario), 846,84 (para-disustituido).

RMN H¹ (500 MHz, CDCl₃) δ : 6,57-7,64 (m, 3H, Ar-H), 4,10-4,32 m, 1H, -CH(OH)-), 4,83 (t, 1H, -CH-), 2,79-2,92 (m, 2H, -CH₂-), 1,205 (t, 3H, -CH₃-);

20 RMN C¹³ (500 MHz, CDCl₃) δ : 13,5, 19,5, 19,5, 23,3, 30,2, 32,5, 40,8, 45,4, 49,4, 50,6, 71,3, 82,4, 128,7, 128,7, 129,1, 129,1, 131,5, 137,5, 170,8.

Ejemplo 6 (no es realización): Síntesis del éster de β -(3-metoxi-4-hidroxil-fenil)- α -hidroxil-propionato de borneol

(1) La 2-metil-4-(3-metoxi-4-acetoxi-benzilideno)-oxazolona se sintetizó de manera similar al Ejemplo 1(2), con la excepción de que se utilizó 3-metoxi-4-hidroxil-benzaldehído en lugar de 3,4-dihidroxil-benzaldehído. Se obtuvo un cristal amarillo con un rendimiento de 73,5%.

- 25 (2) El ácido β -(3-metoxi-4-acetoxi-fenil)- α -acetamido-acrílico se sintetizó de manera similar al Ejemplo 1(3), con la excepción de que se usó 2-metil-4-(3-metoxi-4-acetoxi-benzilideno)-oxazolona en lugar de 2-metil-4-(3,4-diacetoxi-benzilideno)-oxazolona. Se obtuvo un polvo cristalino suelto de color crudo, con un rendimiento de 71,6%.

30 (3) El ácido β -(3-metoxi-4-hidroxil-fenil)-pirúvico se sintetizó de manera similar al Ejemplo 1(4), con la excepción de que se usó ácido β -(3-metoxi-4-acetoxi-fenil)- α -acetamido-acrílico en lugar de ácido β -(3,4-diacetoxi-fenil)- α -acetamido-acrílico. Se obtuvo un polvo cristalino suelto, de color amarillento, con un rendimiento de 64,2%.

(4) El ácido β -(3-metoxi-4-hidroxil-fenil)- α -hidroxil-propiónico se sintetizó de manera similar al Ejemplo 5(4), con la excepción de que se utilizó ácido β -(3-metoxi-4-hidroxil-fenil)-pirúvico en lugar de ácido β -(3,4-dihidroxil-fenil)-pirúvico. Se obtuvo un aceite o cristal de color amarillento, con un rendimiento de 77,8%.

- 35 (5) El éster de β -(3-metoxi-4-hidroxil-fenil)- α -hidroxil-propionato de borneol se sintetizó de manera similar al Ejemplo 5(5), con la excepción de que se utilizó ácido β -(3-metoxi-4-hidroxil-fenil)- α -hidroxil-propiónico en lugar de ácido β -(3,4-dihidroxil-fenil)- α -hidroxil-propiónico. Se obtuvo un cristal de color amarillento, con un rendimiento de 59,8%.

IR(KBr) v/cm^{-1} : 3363,61 (OH), 2953,12(CH₃), 2913,90 (CH₂), 1725,51(C=O), 1608,20, 1521,53, 1450,32 (estructura de base del anillo de benceno), 1281,36 (C=O del éster), 1114,39 (C-O del hidroxilo secundario), 885,71, 805,68 (anillo de benceno 1,2,4-trisustituido) 1237,58, 1027,61 (éter alquílico de arilo);

40 RMN H¹ (400 MHz, CD₃COCD₃) δ : 6,679-6,869 (m, 3H, Ar-H), 4,920-4,983 (m, 1H, -CH-), 4,257-4,286 (t, 1H, -CH(OH)-), 3,819 (s, 3H, -OCH₃), 2,804-2,978 (m, 2H, -CH₂-);

RMN C¹³ (400 MHz, CD₃COCD₃) δ : 13,5, 19,5, 19,5, 23,3, 30,2, 32,5, 41,1, 45,4, 49,4, 50,6, 56,1, 71,3, 82,4, 113,1, 116,8, 121,4, 133,0, 142,9, 151,3, 170,8.

Ejemplo 7: Síntesis del éster de β -(benzo[1,3]dioxol-5-il)- α -(nicotinoiloxi)-propionato de mentilo

- 45 (1) La 2-metil-4-(benzo[1,3]dioxol-5-il-metileno)-oxazolona se sintetizó de manera similar al Ejemplo 1(2), con la excepción de que se utilizó benzo[1,3]dioxol-5-carbaldehído en lugar de 3,4-dihidroxil-benzaldehído. Se obtuvo un cristal amarillo con un rendimiento de 76,5%.

50 (2) El ácido β -(benzo[1,3]dioxol-5-il)- α -acetamido-acrílico se sintetizó de manera similar al Ejemplo 1(3), con la excepción de que se usó 2-metil-4-(benzo[1,3]dioxol-5-il-metileno)-oxazolona en lugar de 2-metil-4-(3,4-diacetoxi-benzilideno)-oxazolona. Se obtuvo un polvo cristalino suelto de color crudo, con un rendimiento de 78,7%.

(3) El ácido β -(benzo[1,3]dioxol-5-il)-pirúvico se sintetizó de manera similar al Ejemplo 1(4), con la excepción de que se usó ácido β -(benzo[1,3]dioxol-5-il)- α -acetamido-acrílico en lugar de ácido β -(benzo[1,3]dioxol-5-il)- α -acetamido-acrílico. Se obtuvo un polvo cristalino suelto, de color amarillento, con un rendimiento de 65,4%.

5 (4) El ácido β -(benzo[1,3]dioxol-5-il)- α -hidroxil-propiónico se sintetizó de manera similar al Ejemplo 5(4), con la excepción de que se utilizó ácido β -(benzo[1,3]dioxol-5-il)-pirúvico en lugar de ácido β -(3,4-dihidroxil-fenil)-pirúvico. Se obtuvo un aceite o cristal de color amarillento, con un rendimiento de 78,7%.

(5) El éster de β -(benzo[1,3]dioxol-5-il)- α -hidroxil-propionato de mentilo se sintetizó de manera similar al Ejemplo 5(5), con la excepción de que se utilizó ácido β -(benzo[1,3]dioxol-5-il)- α -hidroxil-propiónico en lugar de ácido β -(3,4-dihidroxil-fenil)- α -hidroxil-propiónico. Se obtuvo un aceite de color amarillento.

10 (6) Síntesis del éster de β -(benzo[1,3]dioxol-5-il)- α -(nicotinoiloxi)-propionato de mentilo

En un matraz de tres cuellos, se disolvieron 0,12 mol de éster de β -(benzo[1,3]dioxol-5-il)- α -hidroxil-propionato de mentilo en 0,15 mL de acetona y, a continuación, se agregó una cantidad del catalizador DCC/DMAP. A un baño de hielo se agregó gota a gota una solución de 0,15 mol de ácido nicotínico disuelto en 5 mL de acetona. La reacción se llevó a cabo en el baño de hielo durante 2 h y, a continuación, a temperatura ambiente, durante 1 h. Después de finalizar la reacción, se efectuó una filtración con succión al vacío, se retiró el disolvente de reacción por destilación, y se agregaron 200 mL de acetato etílico a la sustancia viscosa resultante. La solución obtenida se lavó con solución saturada de NaHCO_3 para retirar el ácido nicotínico y el catalizador que no habían reaccionado. La fase orgánica se concentró al vacío dando como resultado una sustancia viscosa de color pardo que se separó por cromatografía de columna para obtener un aceite de color amarillento, el éster de β -(benzo[1,3]dioxol-5-il)- α -(nicotinoiloxi)-propionato de mentilo, con un rendimiento de 45,5%.

IR(KBr) ν/cm^{-1} : 3056,56 (H-C=C), 2967,42 (CH_3), 2940,54 (CH_2), 1723,02 (C=O), 1597,32, 1520,17, 1462,10 (estructura de base del anillo de benceno), 1452,62, 1480,34, 1585 (estructura de base del anillo de piridina), 1268,53 (C=O del éster), 1235,79, 1017,23 (éter alquílico de arilo), 1125,33 (C-O del hidroxilo secundario), 884,43 y 798,62 (1,2,4-trisustituido);

25 RMN ^1H (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 7,56-9,00 (m, 4H, piridinio-H), 6,679-6,869 (m, 3H, Ar-H), 6,06 (s, 2H, $-\text{OCH}_2\text{O}-$), 5,10 (m, 1H, $-\text{CH}(\text{O})-$), 4,920-4,983 (m, 1H, $-\text{OCH}(\text{clcy})-$), 2,804-2,978 (m, 2H, $-\text{CH}_2-$);

RMN ^{13}C (500 MHz, CD_3COCD_3) δ : 20,7, 21,0, 21,0, 22,3, 25,7, 28,5, 33,9, 37,8, 39,6, 47,1, 72,6, 75,6, 101,2, 112,7, 115,2, 121,0, 122,1, 126,0, 132,7, 136,4, 146,0, 148,7, 150,4, 151,4, 165,9, 170,8.

Ejemplo 8: Síntesis del éster de β -(benzo[1,3]dioxol-5-il)- α -(isonicotinoiloxi)-propionato de mentilo

30 La síntesis se llevó a cabo de manera similar al Ejemplo 7, con la excepción de que se usó ácido isonicotínico en lugar de ácido nicotínico. Se obtuvo un producto final en forma de aceite amarillento, con un rendimiento de 47,83%, que fue el éster de β -(benzo[1,3]dioxol-5-il)- α -(isonicotinoiloxi)-propionato de mentilo.

IR(KBr) ν/cm^{-1} : 2966,27 (CH_3), 2943,14 (CH_2), 1720,82 (C=O), 1592,37, 1517,09, 1467,10 (estructura de base del anillo de benceno), 1452,24, 1484,56, 1598,23 (estructura de base del anillo de piridina), 1267,67 (C=O del éster), 1237,58, 1027,61 (éter alquílico de arilo), 1103,14 (C-O del hidroxilo secundario), 880,43 y 795,81 (1,2,4-trisustituido);

RMN ^1H (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 7,56-9,00 (m, 4H, piridinio-H), 6,679-6,869 (m, 3H, Ar-H), 6,06 (s, 2H, $-\text{OCH}_2\text{O}-$), 5,10 (m, 1H, $-\text{CH}(\text{O})-$), 4,920-4,983 (m, 1H, $-\text{OCH}(\text{clcy})-$), 2,804-2,978 (m, 2H, $-\text{CH}_2-$);

40 RMN ^{13}C (500 MHz, CD_3COCD_3) δ : 20,7, 21,0, 21,0, 22,3, 25,7, 28,5, 33,9, 37,8, 39,6, 47,1, 72,6, 75,6, 101,2, 112,7, 115,2, 122,9, 122,9, 126,0, 132,7, 136,4, 146,0, 148,7, 150,3, 150,3, 165,9, 170,8.

Ejemplo 9: Síntesis del éster de β -(benzo[1,3]-dioxol-5-il)- α -(2-acetoxi-benzoiloxi)-propionato de bornilo

Las etapas (1) a (4) de la síntesis fueron idénticas a las etapas (1) a (4) del Ejemplo 7.

(5) El éster de β -(benzo[1,3]-dioxol-5-il)- α -hidroxil-propionato de bornilo se sintetizó de manera similar al Ejemplo 5(5), con la excepción de que se utilizó borneol en lugar de mentol, y se obtuvo un aceite amarillento.

45 (6) El éster de β -(benzo[1,3]-dioxol-5-il)- α -(2-acetoxi-benzoiloxi)-propionato de bornilo se sintetizó de manera similar al Ejemplo 7(6), con la excepción de que se utilizó ácido 2-acetoxi-benzoico en lugar de ácido nicotínico, y se usó éster de β -(benzo[1,3]-dioxol-5-il)- α -hidroxil-propionato de bornilo en lugar de éster de β -(benzo[1,3]-dioxol-5-il)- α -hidroxil-propionato de mentilo. Se obtuvo un aceite o cristal de color pardo claro a amarillo, con un rendimiento de 43,8%.

50 IR(KBr) ν/cm^{-1} : 2981,99 (CH_3), 2935,46 (CH_2), 1731,08 (C=O), 1598,03, 1492,10, 1453,90 (estructura de base del anillo de benceno), 1269,86 (C=O del éster), 1106,22 (C-O del hidroxilo secundario), 880,43 y 795,81 (1,2,4-trisustituido), 746,84 (orto-disustituido);

RMN ^1H (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 7,18-8,00 (m, 4H, Ar-H), 6,679-6,869 (m, 3H, Ar-H), 6,06 (s, 2H, $-\text{OCH}_2\text{O}-$), 5,10 (m, 1H, $-\text{CH}(\text{O})-$), 4,920-4,983 (m, 1H, $-\text{OCH}(\text{clcy})-$), 2,804-2,978 (m, 2H, $-\text{CH}_2-$);

RMN ^{13}C (500 MHz, CD_3COCD_3) δ : 13,5, 19,5, 19,5, 20,3, 23,3, 30,2, 32,5, 37,8, 45,4, 49,4, 50,6, 56,1, 72,6, 82,1, 112,7, 115,2, 120,9, 121,0, 121,5, 125,5, 130,3, 132,7, 133,5, 146,0, 148,7, 153,6, 165,9, 169,0, 170,8.

5 Ejemplo 10: Síntesis de β -(benzo[1,3]-dioxol-5-il)- α -hidroxil-N-(3-fenil-1-etoxi-carbonil-propil)-propionamida

Las etapas (1) a (4) de la síntesis fueron idénticas a las etapas (1) a (4) del Ejemplo 7.

(5) Síntesis del éster de 2-amino-4-fenil-butirato etílico

A 16,50 g de homofenilalanina se agregaron 350 mL de etanol anhidro y, bajo agitación, se añadió gas seco de HCl. La adición se interrumpió después de 1,5 h y se cambió el aparato de reacción. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 1,5 h. Tras finalizar la reacción, se retiró por destilación la mayor parte del etanol para precipitar una gran cantidad de un cristal blanco y, después de filtrar con succión, lavar y secar se obtuvieron 19,2 g de cristal blanco en agujas. El cristal blanco se disolvió en una solución acuosa y utilizando una solución de NaOH se ajustó el pH de la solución resultante. La solución se extrajo usando éter etílico. A continuación, se retiró el disolvente, dando como resultado 14,92 g de un líquido incoloro o amarillento, con un rendimiento de 78,2%.

15 (6) Síntesis de β -(benzo[1,3]-dioxol-5-il)- α -hidroxil-N-(3-fenil-1-etoxi-carbonil-propil)-propionamida

En un matraz se depositaron 0,40 g de ácido β -(benzo[1,3]dioxol-5-il)- α -hidroxil-propiónico y 12 mL de CH_3CN , y el matraz se enfrió externamente con una mezcla de hielo y agua. Se agregaron 0,62 g de éster de 2-amino-4-fenil-butirato etílico y 0,02 g de DMAP, bajo la agitación generada por una barra de agitación magnética. Después de agitar la mezcla hasta su clarificación, se agregaron 0,45 g de DCC. La temperatura de reacción se elevó de manera natural hasta temperatura ambiente por agitación y se llevó a cabo la reacción a temperatura ambiente durante 5 h. Después de retirar el disolvente por destilación al vacío, se agregó acetato etílico. La solución obtenida en acetato etílico se lavó con solución de NaHCO_3 , solución acuosa de HCl y agua y, a continuación, se destiló al vacío para obtener un producto crudo del compuesto deseado. Después de purificar el producto crudo por cromatografía, se obtuvieron 0,39 g de un sólido blanco, con un rendimiento de 51,3%.

25 IR(KBr) v/cm^{-1} : 3417,2 (hidroxilo de alcohol), 3255,79 (NH), 2967,53 (CH_3), 2934,21 (CH_2), 1723,79 ($\text{C}=\text{O}$), 1669,97 ($\text{C}=\text{O}$ de amida), 1593,37, 1515,19, 1463,13 (estructura de base del anillo de benceno), 1239,98, 1026,76 (éter alquílico de éter), 1111,35 ($\text{C}-\text{O}$ del hidroxilo secundario), 884,45 y 792,17 (1,2,4-trisustituido); 698,69, 750,62 (anillo de benceno monosustituido);

30 RMN ^1H (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 6,18-7,50 (m, 8H, Ar-H), 6,13 (s, 2H, $-\text{OCH}_2\text{O}-$), 4,82 (m, 1H, $-\text{CH}(\text{NH})-$), 4,55 (m, 1H, $-\text{CH}(\text{OH})-$), 4,12 (q, 2H, $-\text{OCH}_2-$), 2,804-2,978 (m, 2H, $-\text{PhCH}_2-$), 2,30-2,54 (m, 4H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 1,31 (t, 3H, $-\text{CH}_3$);

RMN ^{13}C (500 MHz, CD_3COCD_3) δ : 14,1, 30,3, 32,3, 41,7, 52,7, 61,3, 73,3, 101,2, 112,7, 115,2, 121,0, 126,1, 128,1, 128,1, 128,9, 128,9, 132,7, 138,0, 146,0, 148,7, 171,5, 172,7.

Ejemplo 11: Síntesis de 2-hidroxil-3-(benzo[1,3]-dioxol-5-il)-N-[2-hidroxil-3-(1-naftoxi)-propil]-propionamida

Las etapas (1) a (4) de la síntesis fueron idénticas a las etapas (1) a (4) del Ejemplo 7.

35 (5) Síntesis de éter epoxi-propílico de 1-naftilo

En un matraz de tres cuellos y fondo redondo, de 500 mL, se depositaron 10,03 g de 1-naftol, 3,1 g de NaOH, 20,4 g de epíclorhidrina (S/R) y 0,5 g de KI; a continuación, se agregaron 330 mL de etanol. Seguidamente, el matraz se introdujo en un reactor de microondas. La reacción se llevó a cabo a 30°C con agitación y 300 W de irradiación de microondas durante 12 min. A continuación, se retiró la mezcla de reacción y se filtró con succión, y el filtrado se concentró para obtener una sustancia oleosa. Se agregó H_2O a la sustancia oleosa y la mezcla se extrajo con éter etílico. Las capas etílicas se combinaron y lavaron con una solución de NaOH y, entonces, se lavaron una vez con H_2O . La capa de éter se secó usando sulfato de magnesio anhidro y se concentró para obtener 12,95 g del producto, con un rendimiento de 93,2%.

(6) Síntesis de 1-amino-3-(1-naftoxi)-2-propanol

45 En un matraz de reacción especial para microondas, se depositaron 450 mL de amoniaco acuoso concentrado, se agregaron entonces 3,0 g de éter epoxi-propílico de 1-naftilo y la reacción se llevó a cabo a 40°C bajo agitación magnética y 300 W de irradiación de microondas durante 14 min. Tras finalizar la reacción, la mezcla de reacción se concentró al vacío, se agregó acetato etílico y se ajustó el pH a acidez con hidrocioruro concentrado. Después de filtrar con succión, se obtuvo hidrocioruro de 1-amino-3-(1-naftoxi)-2-propanol que, a continuación, se secó para dar un sólido blanco. El sólido se disolvió en agua por calentamiento y se ajustó a pH alcalino. Después de enfriar, precipitó una gran cantidad de sólido blanco. El precipitado se filtró con succión y se secó, dando como resultado 2,0 g de sólido blanco, con un rendimiento de 63%.

(7) Preparación de 2-hidroxil-3-(benzo[1,3]-dioxol-5-il)-N-[2-hidroxil-3-(1-naftoxi)-propil]-propionamida

En 15 mL de acetona se disolvieron 0,43 g de 1-amino-3-(1-naftoxi)-2-propanol, a continuación, se agregaron 0,45 g de DCC y 0,10 g de DMAP y, bajo agitación magnética, se agregó, gota a gota, ácido β -(benzo[1,3]-dioxol-5-il)- α -hidroxil-propiónico disuelto en 5 mL de acetona. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 1 h y se produjo una gran cantidad de sólido blanco. Tras finalizar la reacción, la mezcla de reacción se filtró con succión y el filtrado se concentró hasta sequedad, se agregó entonces acetato etílico al producto seco resultante y se lavó con solución de NaHCO_3 . La capa de éster se concentró hasta sequedad, obteniendo de este modo una sustancia oleosa de color pardo que se purificó por cromatografía líquida preparativa. Se obtuvieron 0,27 g de un aceite amarillento, con un rendimiento de 32,8%.

10 IR(KBr) ν/cm^{-1} : 3409,82 (hidroxilo de alcohol), 3251,72 (NH), 2969,37 (CH_3), 2944,74 (CH_2), 1723,49 (C=O), 1664,74 (C=O de éster), 1591,77, 1519,90, 1469,21 (estructura de base del anillo de benceno), 1235,78, 1029,63 (éter alquílico de éter), 1101,15 (C-O del hidroxilo secundario), 885,53 y 794,61 (1,2,4-trisustituido); 3050 (estructura de base de naftaleno), 798,69, 780,62 (anillo de naftaleno monosustituido);

15 RMN ^1H (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 6,75-8,30 (m, 10H, Ar-H), 6,13 (s, 2H, $-\text{OCH}_2\text{O}-$), 3,55 (m, 2H, $-\text{CH}_2(\text{NH})-$), 4,55 (m, 1H, $-\text{COCH}(\text{OH})-$), 4,35 (m, 1H, $-\text{CH}(\text{OH})-$), 4,02 (q, 2H, $-\text{OCH}_2-$), 2,90-3,07 (m, 2H, $-\text{PhCH}_2-$);

RMN ^{13}C (500 MHz, CD_3COCD_3) δ : 41,7, 45,1, 68,5, 71,3, 73,3, 101,2, 104,3, 112,7, 115,2, 120,4, 121,0, 122,2, 125,4, 126,1, 126,6, 127,4, 127,6, 132,7, 134,5, 146,0, 148,7, 156,8, 172,7.

Ejemplo de referencia 12: Ensayo farmacodinámico

20 1. Efectos del éster de β -(3,4-dihidroxil-fenil)- α -hidroxil-propionato de bornilo (mencionado en lo sucesivo, de forma abreviada, "éster de salviánico de bornilo"; no es realización) sobre el flujo de sangre de la microcirculación cerebral en ratas con oclusión de la arteria cerebral media.

60 ratas SD, con un peso corporal de 220 ± 20 g, se distribuyeron aleatoriamente en un grupo de control normal, un grupo de control de modelo, un grupo de inyección de ácido salviánico (i.p., 1 mL/kg) y un grupo de éster de β -(3,4-dihidroxil-fenil)- α -hidroxil-propionato de bornilo a dosis baja, media y alta, respectivamente (i.p. 5, 15 y 35 mL/kg). Las ratas de los grupos normal y de modelo recibieron el mismo volumen de solución salina fisiológica por vía i.p. Las ratas se anestesiaron por inyección intraperitoneal de pentotal sódico al 1% en una cantidad de 40 mg/kg, se colocaron en posición supina, con la cabeza fija, y se seccionó la piel a lo largo de la línea cervical media. Se insertó una cánula traqueal y se les permitió respirar de manera espontánea. Se aislaron la vena yugular común y la arteria carótida común, introduciendo una sutura para un uso posterior. Los animales se fijaron a un sistema estereotáxico para ratas, se practicó una ventana craneal de 6 x 8 mm en la sien derecha con un taladro dental y, tras la hemostasia, se seccionó con tijeras y abrió la duramadre cerebral para exponer la piamadre cerebral. La ventana se cubrió y selló con cemento de vidrio y dental y se fijó en la ventana craneal la sonda láser de un flujómetro láser Doppler de la microcirculación de sangre. A continuación, los animales se fijaron en posición lateral, se levantó la arteria carótida común, se ligó en la zona proximal, se cortó cuidadosamente con tijeras y se introdujo en la arteria una sutura de nailon con un diámetro aproximado de 0,3 mm. Antes de insertar la sutura, se marcó la distancia entre el corte de la arteria y la paropia de las ratas. Cuando la sutura de nailon introducida se aproximó a la posición marcada, fue necesario ralentizar la velocidad de introducción de la sutura, observando al mismo tiempo el flujo de sangre de la microcirculación cerebral que muestra el flujómetro láser Doppler de microcirculación cerebral. Cuando la sutura alcanza la arteria cerebral media, se puede registrar un brusco descenso del flujo sanguíneo de la microcirculación. Después de observar el descenso del flujo sanguíneo de la microcirculación, se continuó haciendo penetrar la sutura en aproximadamente 1 mm y se ligaron de manera segura el extremo distal de la sección y la sutura en la arteria. Se eliminó el resto de la sutura. Al final del ensayo, se analizó si la sutura de nailon bloquea el punto de inicio de la arteria cerebral media y se anulaban los datos correspondientes a animales cuya arteria no estuviera bloqueada. Los animales del grupo de control no recibieron tratamiento. Después de preparar la ventana craneal, se fijó la sonda del flujómetro láser Doppler de la microcirculación de sangre de tipo J 12200 en la ventana craneal y se mantuvo la sonda sin desplazamiento ni rotación durante toda la prueba. Se registraron los flujos de microcirculación antes de la ligadura y 5, 15, 30, 45 y 60 min después de la misma; los datos de los animales incluidos en los grupos de tratamiento farmacológico se registraron en los mismos puntos de tiempo. El flujo sanguíneo de microcirculación observado al cabo de 1 min en cada uno de los momentos se designó como el flujo sanguíneo de microcirculación de ese punto de tiempo correspondiente.

Tabla 1. Efectos sobre el flujo sanguíneo de la microcirculación cerebral en ratas con oclusión de la arteria cerebral media (n=10)

Grupo	Dosis	Flujo sanguíneo microcirculatorio (mL)				
		5 min	15 min	30 min	45 min	60 min
Control	/	65,3±5,7	67,4±7,4	67,8±6,8	65,1±5,9	64,2±8,5
Modelo	/	10,2±2,3	11,4±3,4	13,2±4,1	14,0±3,4	14,9±6,5
Ácido salviánico	1 mL/kg	10,8±3,6	20,1±6,9**	31,2±9,5**	33,0±6,8**	29,4±6,9**
Medicamento de prueba	5 mg/kg	11,4±5,4	12,4±4,6	12,9±5,1	16,1±4,1	16,0±6,9
Medicamento de prueba	15 mg/kg	9,4±3,7	12,8±5,6	20,7±3,2*	25,0±5,2**	24,4
Medicamento de prueba	35 mg/kg	10,8±2,7	19,4±5,1**	32,7±6,2**	35,4±8,2**	35,2±5,8**

En comparación con el grupo de modelo: *P<0,05; **P<0,01

5 Los resultados experimentales demuestran que, tras bloquear la arteria cerebral media, disminuyó rápidamente el flujo sanguíneo de la microcirculación cerebral en la región de aporte de sangre (lóbulos frontal y parietal), manteniendo un nivel relativamente bajo. Sólo después de haber mantenido bloqueada la arteria durante 30 min aumentó ligeramente el flujo sanguíneo de la microcirculación cerebral, lo que indicó que los modelos de isquemia estuvieron correctamente establecidos. Mientras tanto, el flujo sanguíneo de la microcirculación cerebral aumentó ligeramente 30 min o 15 min después de la administración del éster de β -(3,4-dihidroxil-fenil)- α -hidroxil-propionato de bornilo a las dosis de 15 mg/kg y 35 mg/kg, respectivamente. Estos resultados señalan que la dilatación arteriolar y el incremento del flujo sanguíneo de la microcirculación pueden tener posibles efectos positivos sobre las enfermedades cerebrovasculares causadas por isquemia, pero es necesario investigar el correspondiente mecanismo de acción.

2. Efectos protectores del éster de salvianato de bornilo sobre el daño cardiaco por isquemia- reperusión (I/R)

15 52 ratas SD, con un peso corporal de 220 ± 20 g, se distribuyeron aleatoriamente en un grupo de control de modelo, un grupo de inyección de ácido salviánico (i.m., 1 mL/kg) y un grupo de éster de β -(3,4-dihidroxil-fenil)- α -hidroxil-propionato de bornilo a dosis baja, media y alta (i.p., 5, 15 y 35 mg/kg). Las ratas de los grupos normal y de control de modelo recibieron el mismo volumen de solución salina fisiológica por vía i.p. La administración a todos los grupos de ratas se llevó a cabo durante 5 días consecutivos. Cuando las ratas recibieron la última administración, se les anestesió al mismo tiempo con pentobarbital sódico al 1,5% (i.p., 45 mg/kg), y se insertó un catéter en la arteria carótida derecha que se conectó, a través de un transductor, a un sistema de registro fisiológico de ocho canales. Se introdujo una cánula traqueal y se mantuvo el ritmo de ventilación en 60 veces/minuto. Se abrió el tórax y se usó una sutura 6/0 para formar un asa en un punto situado 1 a 2 mm de la raíz de la arteria coronaria descendente anterior; se introdujo a través del asa un tubo de plástico y el asa se estrechó. Se registró la variación del electrocardiograma.

20 Un aumento o descenso de ST indicó el éxito de la ligadura. El color del tejido miocárdico por debajo de la sutura de ligadura se oscureció. 30 minutos más tarde, se retiró el tubo de plástico para restaurar el flujo sanguíneo de la arteria coronaria y provocar una hiperemia del tejido local durante la reperusión. En los grupos sometidos a isquemia durante 30 min y reperusión durante 30 min, se registraron las áreas de infarto de miocardio antes del ensayo, después de la isquemia durante 1 min y 30 min, y después de la reperusión durante 30 min; en los grupos sometidos a isquemia durante 30 min y reperusión durante 2 h, se tomaron muestras de tejido cardiaco que se fijaron con formalina al 10%, se incluyeron en parafina, se cortaron en serie con un grosor de 4 μ m y se sometieron por separado a ensayos de inmunohistoquímica; las ratas incluidas en el grupo de operación simulada se sometieron solamente a la introducción de la sutura, pero no se ligaron sus arterias coronarias.

Efectos sobre las áreas de infarto de miocardio causado por I/R del músculo cardiaco

35 Después de someter a las ratas a isquemia y reperusión durante 30 minutos, se ligaron nuevamente las coronarias descendentes anteriores y, a continuación, fueron sacrificadas, se extrajeron rápidamente los corazones y se inyectó en las cámaras cardiacas azul de Evans al 1% a través de la aorta para diferenciar las regiones isquémicas de las no isquémicas. Después de seccionar la aurícula y el ventrículo derecho del corazón, los corazones se refrigeraron a -20°C durante 30 min, se depositaron en un canal para corte en secciones hecho a medida y se cortaron a lo largo del eje longitudinal para formar secciones muy finas de 2 mm. Estas secciones se sumergieron en solución tampón de ácido fosfórico TTC al 1% (pH 7,4) y se incubaron a 37°C durante 30 min para distinguir las regiones en riesgo y las regiones necróticas. A continuación, las secciones se fijaron con formaldehído al 10% durante 24 h para potenciar el color de tinción para la fotografía de contraste. Después del tratamiento anterior, el tejido miocárdico se dividió en: miocardio normal en azul, miocardio isquémico en rojo pálido, y miocardio necrótico en gris. Se utilizó un software de análisis computadorizado para calcular el porcentaje del área de la región con infarto de miocardio (nec) basado en el área de la región de miocardio en riesgo (aar, es decir, miocardios isquémicos, incluidas la región con infarto isquémico y la región sin infarto isquémico) (nec/aar), y el porcentaje del área de la región de infarto de miocardio, basado en el área total del miocardio (nec/lv) para indicar el grado de infarto, así como el porcentaje del área de miocardio en riesgo basado en el área del ventrículo izquierdo (aar/lv).

Tabla 2. Efectos causados por la I/R del músculo cardiaco sobre las áreas de infarto de miocardio

Grupo	Dosis	Número de animales	aar/lv (%)	nec/lv (%)	nec/aar (%)
Control de modelo	/	12	67,10±11,40	50,52±15,65	64,10±13,03
Ácido salviánico	1 mL/kg	10	50,21±7,10*	41,41±5,49*	49,87±7,83*
Medicamento de prueba	5 mg/kg	9	64,09±18,10	48,45±17,11	61,72±14,65
Medicamento de prueba	15 mg/kg	10	63,02±15,98	48,23±15,34	62,63±13,82
Medicamento de prueba	35 mg/kg	11	51,97±13,04*	40,21±12,65*	50,01±9,03*

En comparación con el grupo de control de modelo: *P<0,05

Los resultados demostraron que, comparados con el grupo de control de modelo, los valores de aar/lv, nec/lv y nec/aar en el grupo de dosis alta se redujeron en 22,5%, 20,4% y 22% (P<0,01), respectivamente, lo cual indica que es posible reducir el área de infarto de miocardio provocada por la I/R del miocardio.

Efectos sobre la expresión de proteínas Bax, Bcl-2, caspasa-3, MMP-2 y PPAR γ

Para la tinción, se utilizaron los métodos convencionales de la inmunohistoquímica ABC y SP. Bax: anticuerpo policlonal anti-conejo (Santa CruzBio, Inc.) a una dilución de 1:200; Bcl-2: anticuerpo policlonal anti-conejo (TBD Tianjin Biotechnological Center), a una dilución de 1:100; caspasa-3: anticuerpo policlonal anti-conejo (Normarkers Fromont, CA), a una dilución de 1:200; PPAR γ : anticuerpo policlonal anti-cabra (Santa CruzBio, Inc.), a una dilución de 1:500. Los procedimientos específicos se llevaron a cabo de acuerdo con las instrucciones de los kits ABC y SP. Para el desarrollo del color se usó DAB y se utilizó resina neutra para el montaje. Se utilizó PBS en lugar del primer anticuerpo como control negativo. Las células con expresión positiva de los polipéptidos de prueba fueron de color pardo-amarillo, en donde la proteína MMP-2 estuvo presente en el citoplasma, Bcl-2 se expresó en la membrana nuclear y el citoplasma, Bax lo hizo principalmente en el citoplasma y parcialmente en el núcleo, y caspasa-3 se expresó principalmente en el núcleo y parcialmente en el citoplasma. Se usó el sistema de análisis de imágenes CMIAS para la selección aleatoria de campos de secciones muy finas y la selección automática de puntos para análisis, y el análisis estadístico se efectuó usando los valores medios de densidad óptica o los valores integrales de densidad óptica de las secciones muy finas de tejido miocárdico.

Tabla 3. Efectos sobre la expresión de proteínas de Bax, Bcl-2, caspasa-3, MMP-2 y PPAR γ (n=10)

Grupo	Dosis	Valor de DO				
		Bax	Bcl-2	Caspasa-3	MMP-2	PPAR γ
Control de modelo	/	0,13±0,04	0,14±0,03	0,37±0,11	0,16±0,04	0,17±0,02
Ácido salviánico	1 mL/kg	0,08±0,02*	0,18±0,04	0,21±0,12**	0,12±0,05	0,34±0,08**
Medicamento de prueba	5 mg/kg	0,12±0,03	0,15±0,03	0,35±0,14	0,14±0,05	0,16±0,05
Medicamento de prueba	15 mg/kg	0,09±0,05	0,15±0,06	0,32±0,08	0,14±0,03	0,18±0,06
Medicamento de prueba	35 mg/kg	0,07±0,03*	0,21±0,04*	0,20±0,07**	0,11±0,03*	0,18±0,10

En comparación con el grupo de control de modelo: *P<0,05, **P<0,01.

Los resultados demostraron que la expresión de Bcl-2 y Bax se modificó efectivamente en la I/R de células del miocardio, lo cual indica que intervienen en la regulación de la apoptosis celular. El éster de β -(3,4-dihidroxil-fenil)- α -hidroxil-propionato de bornilo podría reducir la expresión de las proteínas Bax y caspasa-3 y aumentar la expresión de la proteína Bcl-2, lo que señala que el éster de β -(3,4-dihidroxil-fenil)- α -hidroxil-propionato de bornilo podría iniciar el mecanismo de auto-protección de las células contra los daños, induciendo la expresión de Bcl-2 y reduciendo los niveles de Bax y caspasa-3, revertir la apoptosis celular y el proceso de necrosis estimulado por la I/R del miocardio, mostrando de este modo efectos protectores sobre las células del miocardio.

MMP-2 se asocia con el daño de la I/R del músculo cardiaco, obtenida por la escisión de troponina I que, a su vez, conduciría directamente a la apoptosis celular. El inhibidor específico de MMP-2 podría mejorar la función cardiaca de ratas con I/R del miocardio, y los resultados han indicado que el éster de β -(3,4-dihidroxil-fenil)- α -hidroxil-propionato de bornilo sería capaz de provocar un descenso de la proteína MMP-2, lo cual podría ser un mecanismo adicional del éster de β -(3,4-dihidroxil-fenil)- α -hidroxil-propionato de bornilo para proteger el miocardio contra el daño I/R.

3. Efectos del éster de salvanato de bornilo sobre la presión arterial y la función del ventrículo izquierdo en ratas anestesiadas

- Las ratas se anestesiaron con una inyección intraperitoneal de uretano al 20%, 5 mL/kg, y fueron inmovilizadas; se practicó una incisión en la piel del cuello de las ratas, se aislaron los músculos cervicales anteriores, se expuso la tráquea y se insertó una cánula traqueal; se aisló la arteria carótida común, se introdujo un catéter cardiaco a través de la arteria carótida común hasta el ventrículo izquierdo, se midió la presión intraventricular izquierda con un transductor de presión (T-200) de un polígrafo multicanal RM-6000 y el amplificador de portadora (AP-601G) del polígrafo multicanal RM-6000; a continuación, se introdujeron las señales de presión intraventricular izquierda en el amplificador diferencial (ED-601G) del polígrafo multicanal RM-6000 para registrar la frecuencia máxima de incremento y descenso de la presión intraventricular izquierda (dp/dt_{\max} - dp/dt_{\max}); se aisló la arteria femoral derecha y se midió la presión arterial usando la cánula; se conectó un electrodo de registro del electrocardiograma para registrar un electrocardiograma de tipo II. Todos los datos se introdujeron en un sistema de adquisición y procesamiento de datos PowerLab/8Sp a través del polígrafo multicanal RM-6000 y fueron registrados, analizados y procesados por el sistema PowerLab/8Sp.
- El abdomen se abrió 1,5 cm por debajo del hueso xifoides para aislar el duodeno, usando tijeras de oftalmología se practicó una pequeña incisión en el duodeno, alejada de los vasos sanguíneos, se insertó un catéter y la incisión se fijó por sutura. Al final de la operación y un periodo de espera adicional de 30 min, se registraron los datos normales una vez estabilizados los índices que se debían monitorizar.
- Los medicamentos de prueba se administraron por vía duodenal a través del catéter y los índices de controlaron 5, 15, 30, 60, 90 y 120 min después de la administración. Se calcularon las tasas de variación de los índices de acuerdo con la fórmula siguiente, los cuales se usaron para los análisis estadísticos entre grupos.

$$\text{Tasa de variación (\%)} = \frac{(\text{Tras la administración} - \text{Antes de la administración})}{\text{Antes de la administración}} \times 100$$

3.1 Efectos sobre la frecuencia cardiaca de ratas anestesiadas

- Los resultados experimentales indicaron que las dosis de 4,5 mg/kg, 9 mg/kg y 18 mg/kg del éster de salvanato de bornilo no mostraron efectos importantes sobre la frecuencia cardiaca de las ratas anestesiadas; no se observan diferencias significativas en comparación con el grupo de control en blanco; por el contrario, el hidrocloreuro de verapamilo redujo significativamente la frecuencia cardiaca y se puede observar una diferencia significativa en comparación con el grupo de modelo ($P < 0,05$ o $P < 0,01$) (Tabla 4).

3.2 Efectos sobre la presión arterial media, la presión sistólica y la presión diastólica de ratas anestesiadas

- En el grupo que recibió la dosis de 18 mg/kg de éster de salvanato de bornilo, la presión arterial media, la presión sistólica y la presión diastólica de las ratas anestesiadas se redujeron de forma significativa tras la administración y se registraron diferencias significativas ($P < 0,05$ o $P < 0,01$) en los puntos de tiempo de 15, 60, 90 y 120 min en comparación con el grupo de control en blanco; en el grupo de 9 mg/kg de éster de salvanato de bornilo, la presión arterial media, la presión sistólica y la presión diastólica de las ratas anestesiadas mostraron tendencia a descender, y se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$ o $P < 0,01$) con respecto al grupo de control en blanco a los 15 y 60 min; en el grupo de 4,5 mg/kg de éster de salvanato de bornilo, la presión arterial media, la presión sistólica y la presión diastólica de las ratas anestesiadas no mostraron una variación importante ni se registraron diferencias significativas con respecto al grupo de control en blanco; por el contrario, el hidrocloreuro de verapamilo pudo reducir de manera significativa la presión arterial media, la presión sistólica y la presión diastólica de las ratas anestesiadas y se observaron diferencias significativas ($P < 0,01$) con respecto al grupo de control en blanco a los 5, 15, 30, 60, 90 y 120 min (Tablas 5, 6 y 7).

3.3 Efectos sobre la presión intraventricular izquierda en ratas anestesiadas

- En el grupo de 18 mg/kg de éster de salvanato de bornilo, la presión intraventricular izquierda de las ratas anestesiadas se redujo de forma significativa tras la administración y se registraron diferencias significativas ($P < 0,05$ o $P < 0,01$) a los 15, 30, 60, 90 y 120 min en comparación con el grupo de control en blanco; en el grupo de 9 mg/kg de éster de salvanato de bornilo, la presión intraventricular izquierda de las ratas anestesiadas mostró tendencia a descender, y se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$ o $P < 0,01$) con respecto al grupo de control en blanco a los 60 min; en el grupo de 4,5 mg/kg de éster de salvanato de bornilo, la presión intraventricular izquierda de las ratas anestesiadas no mostró una variación importante tras la administración, y no se registraron diferencias significativas con respecto al grupo de control en blanco; por el contrario, el hidrocloreuro de verapamilo redujo de manera significativa la presión intraventricular izquierda de las ratas anestesiadas y se observaron diferencias significativas ($P < 0,01$) con respecto al grupo de control en blanco (Tabla 8).

3.4 Efectos sobre dp/dt y -dp/dt de ratas anestesiadas

En el grupo de 18 mg/kg de éster de salviaato de bornilo, la dp/dt de las ratas anestesiadas se redujo de forma significativa tras la administración y se registraron diferencias significativas ($P < 0,05$ o $P < 0,01$) a los 15, 30, 60, 90 y 120 min en comparación con el grupo de control en blanco; en el grupo de 9 mg/kg de éster de salviaato de bornilo, la dp/dt de las ratas anestesiadas mostró tendencia a descender, y se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$ o $P < 0,01$) con respecto al grupo de control en blanco a los 60 y 120 min; en el grupo de 4,5 mg/kg de éster de salviaato de bornilo, la dp/dt de las ratas anestesiadas no se vio afectada significativamente por la administración, y no se registraron diferencias significativas con respecto al grupo de control en blanco; por el contrario, el hidrocloreuro de verapamilo redujo de manera significativa la dp/dt de las ratas anestesiadas y se observaron diferencias significativas ($P < 0,01$) con respecto al grupo de control en blanco.

En los grupos de 9 mg/kg y 18 mg/kg de éster de salviaato de bornilo, la -dp/dt de las ratas anestesiadas mostró una tendencia a la reducción y se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$ o $P < 0,01$) con respecto al grupo de control en blanco a los 60 y 120 min; en el grupo de 4,5 mg/kg de éster de salviaato de bornilo, la -dp/dt de las ratas anestesiadas no se vio afectada significativamente por la administración, y no se registraron diferencias significativas con respecto al grupo de control en blanco; por el contrario, el hidrocloreuro de verapamilo redujo de manera significativa la -dp/dt de las ratas anestesiadas y se observaron diferencias significativas ($P < 0,01$) con respecto al grupo de control de modelo (Tablas 9, 10).

Los resultados experimentales indican que el éster de salviaato de bornilo podría reducir la presión intraventricular izquierda, dp/dt y -dp/dt, lo cual permite suponer que el éster de salviaato de bornilo tiene los efectos de reducir la eficiencia cardiaca negativa de la contractilidad del miocardio; los efectos de reducción de la eficiencia cardiaca negativa podrían ser la razón del descenso de la presión arterial media, la presión sistólica y la presión diastólica de las ratas anestesiadas.

Por otra parte, los resultados experimentales demostraron que se produjo una reducción de la dp/dt_{max} , pero la frecuencia cardiaca no se modificó de manera significativa, es decir, la dp/dt_{max} no estuvo directamente correlacionada con la frecuencia cardiaca. El mecanismo de estos fenómenos requiere estudios adicionales.

4. Efectos protectores del éster de salviaato de bornilo sobre la isquemia aguda de miocardio en la rata

60 ratas de sexo masculino se distribuyeron aleatoriamente en un grupo de operación simulada (0,5% de Poloxámero, 10 mL/kg), un grupo de control de modelo (0,5% de Poloxámero, 10 mL/kg), un grupo de verapamilo (comprimido de verapamilo, 10 mg/kg) y grupos de éster de salviaato de bornilo (10 mg/kg, 20 mg/kg y 40 mg/kg). 0,5 h después de la administración intragástrica de estas sustancias a las ratas, se registró un electrocardiograma estándar de II derivaciones (antes del modelaje) y se midió la altura del segmento ST-T. A continuación, las ratas del grupo de operación simulada se sometieron a la aplicación de una malla en la arteria coronaria, sin ligadura, en tanto que las ratas de otros grupos se sometieron a una ligadura de la arteria coronaria, de acuerdo con el método siguiente, con el fin de establecer modelos de isquemia aguda de miocardio. Las ratas se anestesiaron con éter, se fijaron en posición supina y se registraron sus electrocardiogramas normales (antes del modelaje). Se practicó una incisión en la piel del tórax izquierdo bajo condiciones asépticas, se aislaron los cuartos músculos intercostales de manera roma, se extruyó el corazón por la aplicación de una ligera presión sobre el tórax derecho, se ligó la arteria coronaria descendente anterior izquierda en una posición de 2 a 3 mm del origen de la arteria coronaria izquierda y entre el cono de la arteria pulmonar y la aurícula cardiaca izquierda; seguidamente, el corazón se introdujo nuevamente en la cavidad torácica y se suturó la incisión. Para prevenir infecciones, se aplicó penicilina de forma tópica. Después de la operación, se registró de inmediato el electrocardiograma de post-isquemia (0 min después del modelaje) y se midió la altura del segmento ST-T. 24 horas después de la operación, los animales se anestesiaron nuevamente por inyección intraperitoneal de 5 mL/kg de uretano al 20% y se registró otra vez el electrocardiograma (24 h después del modelaje), midiendo la altura del segmento ST-T; se extrajeron muestras de sangre de la aorta abdominal, se separaron los sueros y se determinaron las actividades de lactato deshidrogenasa (LDH), creatina quinasa (CK), isoenzima de creatina quinasa (CK-MB) y superóxido dismutasa (SOD), así como el contenido de malondialdehído (MDA); se extrajo el corazón abriendo el tórax y se lavó con solución salina fisiológica fría, se retiraron las aurículas cardiacas, los ventrículos cardiacos se cortaron de forma transversal para obtener 3 a 4 secciones muy finas, éstas se sumergieron en solución NBT al 0,25% y se tiñeron en un baño de agua a 37°C durante 10 min, se cortaron y pesaron los músculos cardiacos infartados y se calculó el porcentaje en peso de los músculos cardiacos infartados con respecto a los músculos cardiacos de todo el ventrículo del corazón (Tablas 11 a 14).

Los resultados demostraron que en todos los grupos tratados con dosis de éster de salviaato de bornilo, se redujo la proporción de los músculos cardiacos infartados en la totalidad del ventrículo, observándose efectos relativamente potentes en los grupos de dosis media y alta ($P < 0,05$ o $P < 0,01$); en todos los grupos de dosis, las actividades de lactato deshidrogenasa (LDH), creatina quinasa (CK) e isoenzima de creatina quinasa (CK-MB) disminuyeron 24 h después; la superóxido dismutasa (SOD) aumentó en las ratas con isquemia aguda de miocardio, especialmente en el grupo de dosis alta ($P < 0,05$); en los grupos de dosis media y alta, se observó una tendencia a la disminución del contenido en suero de MDA, pero no se registraron diferencias significativas con respecto al grupo de control de modelo; 24 h después de la ligadura de la arteria coronaria, se observó una elevación del segmento ST-T en el

electrocardiograma, sobre todo en el grupo de dosis alta ($P < 0,05$). Los resultados indicaron que el éster de salvanato de bornilo podría reducir el área del infarto de miocardio en la rata, mostrando efectos protectores sobre la isquemia aguda de miocardio en ratas.

Tabla 4. Efectos sobre la frecuencia cardiaca (latidos/min)

Grupo	Dosis	Antes de la administración					Después de la administración				
		5'	15'	30'	60'	90'	120'				
Control en blanco (n=10)	2.5mL/kg	344.28±46.02	355.13±44.09	349.22±47.61	354.23±47.61	361.39±48.94	359.78±54.27				
Control de Tween (n=10)	2.5mL/kg	2.23±5.30	5.66±7.27	4.44±10.34	6.18±11.78	8.06±15.53	7.37±15.32				
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	18mg/kg	322.67±58.28	326.83±50.06	328.47±46.72	337.91±49.80	332.98±55.18	327.03±57.06				
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	9mg/kg	357.28±56.29	358.56±44.88	4.05±20.61	6.63±18.47	5.03±19.64	3.30±20.73				
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	4.5mg/kg	373.43±41.28	374.04±47.60	374.93±47.51	361.94±43.56	359.61±39.30	354.09±47.98				
Control de verapamilo (n=10)	11.4mg/kg	363.19±46.67	345.03±33.81	324.96±36.20	322.02±51.09	329.61±55.70	328.05±58.98				

En comparación con el grupo de control de Tween: *p < 0.05, **p < 0.01

Tabla 5: Efectos sobre la presión de contracción (mmHg)

Grupo	Dosis	Antes de la administración					Después de la administración				
		5'	15'	30'	60'	90'	120'				
Control en blanco (n=10)	2.5mL/kg	121.76±23.27	123.75±26.54	118.91±32.99	118.80±51.50	118.40±33.16	124.51±35.18				
Control de Tween (n=10)	2.5mL/kg	3.55±5.90	4.98±9.25	-0.09±15.39	0.07±10.36	-0.17±12.98	5.80±24.03				
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	18mg/kg	122.64±26.97	124.75±24.75	121.92±23.44	120.80±29.92	121.05±27.12	119.48±25.05				
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	9mg/kg	128.34±28.96	120.90±26.54	117.76±22.90	106.97±32.22	104.23±32.16	113.34±24.47				
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	4.5mg/kg	131.10±24.38	127.88±23.92	122.58±23.46	115.46±23.90	120.90±31.83	120.85±32.13				
Control de verapamilo (n=10)	11.4mg/kg	137.10±28.79	115.30±19.35	98.48±16.13	94.47±17.17	99.15±23.91	102.58±27.01				

En comparación con el grupo de control de Tween: *p < 0.05, **p < 0.01

Tabla 6: Efectos sobre la presión diastólica (mmHg)

Grupo	Dosis	Después de la administración						
		Antes de la administración	5'	15'	30'	60'	120'	
Control en blanco (n=10)	2.5mL/kg	63.92±12.98	66.51±13.71	68.12±15.60	66.35±18.40	66.54±17.95	66.18±8.51	68.44±20.16
Control de Tween (n=10)	2.5mL/kg	67.56 ±14.29	66.26±14.25	67.66±13.23	66.42±13.11	65.95±15.55	66.05±15.27	65.27±14.84
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	18mg/kg	73.04±11.87	72.55±16.58	71.46±14.24	68.87 ±14.57	66.68±11.95	60.98±16.13	61.54±13.73
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	9mg/kg	69.21±15.19	68.02±18.77	66.18±19.00	62.90±17.46	59.10±16.07	63.12±19.81	62.58±22.20
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	4.5mg/kg	68.47±11.97	68.68±15.82	70.87±15.08	71.78±15.67	76.78±14.34	74.71±18.13	72.46±20.46
Control de verapamilo (n=10)	11.4mg/kg	75.39±19.27	59.69±12.55	50.08±9.88	48.00±9.98	48.81±11.47	49.38±13.27	51.84±13.93
			-19.04±12.70**	-31.18±15.04**	-33.98±15.67**	-32.54±19.02**	-32.10±18.74**	-29.18±17.73**

En comparación con el grupo de control de Tween: *p < 0.05, **p < 0.01

Tabla 7: Efectos sobre la presión arterial media (mmHg)

Grupo	Dosis	Después de la administración						
		Antes de la administración	5'	15'	30'	60'	120'	
Control en blanco (n=10)	2.5mL/kg	81.80±15.30	84.93±16.35	86.66±18.78	83.87±22.97	83.96±22.23	83.59±23.20	87.13±25.01
Control de Tween (n=10)	2.5mL/kg	86.51±18.19	85.05±18.38	86.69±16.88	84.92±16.37	84.24±20.76	84.38±19.01	83.34 ±18.04
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	18mg/kg	91.44±15.44	91.15±20.31	86.21±18.29	83.71±15.31	76.31±21.36	74.94 ±21.07	78.81 ±17.04
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	9mg/kg	90.23±16.25	89.05±20.26	86.74±20.25	82.79±18.98	77.89±18.11	82.38±23.18	82.00±25.04
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	4.5mg/kg	88.67±14.74	87.97±18.89	90.18±17.91	91.15±17.95	96.51±16.69	93.79±20.11	91.18±22.76
Control de verapamilo (n=10)	11.4mg/kg	95.96±22.22	78.22±14.31	66.21±11.57	63.49±11.93	65.37±14.57	65.97±16.34	68.75±17.93
			-17.07±11.03**	-29.16±13.09**	-32.04±13.81**	-29.68±18.40**	-29.33±17.82**	-26.65±17.62**

En comparación con el grupo de control de Tween: *p < 0.05, **p < 0.01

Tabla 8. Efectos sobre la presión intraventricular izquierda (mmHg)

Grupo	Dosis	Después de la administración						
		Antes de la administración	5'	15'	30'	60'	90'	120'
Control en blanco (n=10)	2.5mL/kg	124.84±14.88	127.99±16.77	128.87±18.64	126.10±22.02	126.30±21.69	125.79±22.94	128.12±24.71
Control de Tween (n=10)	2.5mL/kg	126.46±14.18	125.76±13.38	127.22±12.98	125.33±14.26	124.91±16.52	124.32±15.43	122.50±15.26
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	18mg/kg	131.93±16.79	131.90±18.96	126.28±18.51	124.81±18.94	120.67±23.43	117.91±22.68	119.85±22.26
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	9mg/kg	128.29±18.38	128.87±25.63	127.06±25.57	123.59±25.06	119.77±23.09	122.40±26.58	121.85±26.36
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	4.5mg/kg	128.68±20.18	128.67±18.24	130.13±18.12	129.67±17.48	134.39±19.12	130.91±17.22	129.15±18.53
Control de verapamilo (n=10)	11.4mg/kg	137.79±18.96	128.71±14.20	120.22±12.98	116.59±13.59	115.68±15.37	115.10±16.60	118.39±16.55
			-6.24±4.79**	-12.21±7.42**	-14.73±8.91**	-15.14±12.14**	-15.59±12.52**	-13.34±11.53**

En comparación con el grupo de control de Tween: *p < 0.05, **p < 0.01

Tabla 9. Efectos sobre la tasa de variación de la presión intraventricular izquierda, MAX (mmHg/s)

Grupo	Dosis	Después de la administración						
		Antes de la administración	5'	15'	30'	60'	90'	120'
Control en blanco (n=10)	2.5mL/kg	5121.1±940.7	5300.2±1071.0	5363.7±1193.1	5258.2±1366.8	5139.2±926.2	5094.3±946.1	5408.2±1342.3
Control de Tween (n=10)	2.5mL/kg	5246.5±14.18	5252.7±13.38	5408.4±12.98	5318.1±14.26	5269.2±16.52	5295.0±15.43	5205.3±15.26
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	18mg/kg	5695.0±1086.8	5694.7±1264.7	5470.3±1416.7	5186.9±1177.3	4905.3±1047.7	4676.5±941.1	5012.6±777.5
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	9mg/kg	5435.8±1200.0	5388.9±1187.0	5321.6±1133.0	5179.1±1270.9	4966.9±1297.4	5113.5±1356.4	4959.8±1399.0
Éster ác. propanoide de borneol (n=10)	4.5mg/kg	5380.2±913.7	5429.3±1279.7	5435.9±1216.6	5408.8±1352.2	5760.1±1393.5	5706.1±1390.6	5512.7±1250.1
Control de verapamilo (n=10)	11.4mg/kg	5455.9±1418.1	4857.7±1002.4	4284.9±793.2	4152.8±901.5	3919.4±784.0	3759.0±814.5	4044.6±844.9
			-9.7±7.0**	-19.6±11.8**	-22.1±14.0**	-25.4±17.3**	-28.1±19.0**	-23.1±18.4**

En comparación con el grupo de control de Tween: *p < 0.05, **p < 0.01

Tabla 10. Efectos sobre la tasa de variación de la presión intraventricular izquierda, -MAX (mmHg/s)

Grupo	Dosis	Antes de la administración		Después de la administración						
		5'	15'	30'	60'	90'	120'			
Control en blanco (n=10)	2.5mL/kg	-3790.6±596.7	-3865.0±679.8	-3891.5±775.2	-3879.0±906.5	-3881.4±781.9	-3858.7±715.1	-3985.4±899.9		
Control de Tween (n=10)	2.5mL/kg	-3753.7±603.1	-3690.5±526.4	-3767.3±551.9	-3692.4±698.4	-3673.8±721.5	-3658.5±653.0	-3573.1±702.5		
Ester ác. propanoide de borneol (n=10)	18mg/kg	-4092.0±905.4	-4103.4±981.2	-3991.9±948.6	-3923.8±879.8	-3744.3±851.5	-3659.3±896.3	-44±15.4		
Ester ác. propanoide de borneol (n=10)	9mg/kg	-3881.3±735.6	-3908.5±1013.0	-3792.8±979.5	-3696.8±997.3	-3569.5±857.8	-3629.7±1013.3	-3541.7±917.7		
Ester ác. propanoide de borneol (n=10)	4.5mg/kg	-4246.1±669.3	-4152.9±764.8	-4141.1±755.6	-4090.5±704.6	-4146.8±820.5	-4156.0±947.7	-3995.2±837.9		
Control de verapamilo (n=10)	11.4mg/kg	-4215.6±1058.0	-3812.9±779.3	-3548.9±707.7	-3416.6±767.5	-3436.8±691.1	-3247.4±773.2	-3452.2±630.9		
			-8.5±6.6*	-14.5±9.9**	-17.8±11.8**	-16.2±16.0**	-20.9±16.9**	-16.3±11.4*		

En comparación con el grupo de control de Tween: *p < 0.05, **p < 0.01

Tabla 11. Efectos sobre el área de infarto de miocardio en ratas

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Peso del ventrículo (g)	Peso de la región no infartada (g)	Peso de la región infartada (g)	Porcentaje (%)
Operación simulada	/	10	0,66±0,03			
Control de modelo	/	10	0,68±0,05	0,45±0,03	0,23±0,04	33,77±4,31
Éster salvianato bornilo	10	10	0,68±0,09	0,47±0,07	0,20±0,05	30,09±5,69
Éster salvianato bornilo	20	10	0,68±0,08	0,49±0,09	0,18±0,05*	25,73±6,35**
Éster salvianato bornilo	40	10	0,63±0,07	0,45±0,06	0,18±0,04*	28,95±5,57**
Verapamilo	10	10	0,65±0,09	0,46±0,08	0,18±0,04*	27,60±5,03**

En comparación con el grupo de control de modelo: *P<0,05, **P<0,01

Tabla 12. Efectos sobre las actividades de LDH y CK en suero de ratas como isquemia de miocardio

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	CK (U/L)	CK-MB (U/L)	LDH (U/L)
Operación simulada	/	10	653,1±164,9**	565,3±122,2**	1091,7±259,7**
Control de modelo	/	10	1058,5±150,0	1422,6±182,3	2351,4±220,83
Éster salvianato bornilo	10	10	1214,2±160,2*	1267,0±274,4	1663,7±374,43**
Éster salvianato bornilo	20	10	894,5±176,3*	1074,1±116,8**	2022,7±202,63**
Éster salvianato bornilo	40	10	778,0±177,1**	906,3±99,9**	1712,5±209,1**
Verapamilo	10	10	752,2±102,8**	776,6±127,6**	1160,8±145,0**

En comparación con el grupo de control de modelo: *P<0,05, **P<0,01

5 Tabla 13. Efectos sobre las actividades de SOD y MDA en suero de ratas con isquemia de miocardio

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	SOD (U/mL)	MDA (nmol/mL)
Operación simulada	/	10	155,08±21,45**	6,86±5,67*
Control de modelo	/	10	95,46±26,05	18,20±12,10
Éster salvianato bornilo	10	10	117,66±31,97	21,69±27,94
Éster salvianato bornilo	20	10	111,32±20,36	10,60±11,156
Éster salvianato bornilo	40	10	119,63±23,53*	9,43±6,57
Verapamilo	10	10	126,16±28,10*	11,86±5,93

En comparación con el grupo de control de modelo: *P<0,05, **P<0,01

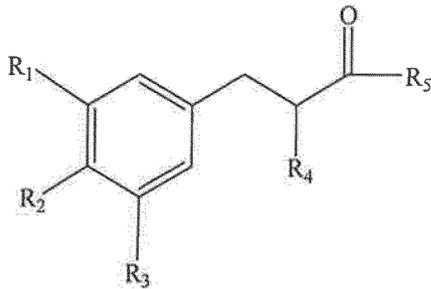
Tabla 14. Efectos sobre el segmento ST-T del ECG de ratas con isquemia de miocardio

Grupo	Dosis (mg/kg)	Número de animales	Elevación del segmento ST-T (mV)		
			Antes del modelaje Tasa de variación (%)	0 min tras el modelaje	24 h tras el modelaje
Operación simulada	/	10	0,18±0,08 Tasa de variación (%)	0,15±0,25 140,08±161,56	0,12±0,06 22,34±21,51**
Control de modelo	/	10	0,20±0,09 Tasa de variación (%)	0,19±0,41 155,67±158,10	0,23±0,10 92,67±91,35
Éster salvianato bornilo	10	10	0,21±0,06 Tasa de variación (%)	0,24±0,24 95,00±78,34	0,17±0,09 49,00±36,27
Éster salvianato bornilo	20	10	0,17±0,07 Tasa de variación (%)	0,13±0,16 91,61±116,85	0,11±0,10 60,77±39,69
Éster salvianato bornilo	40	10	0,21±0,06 Tasa de variación (%)	0,36±0,17 103,87±148,26	0,18±0,07 29,01±18,99*
Verapamilo	10	10	0,23±0,04 Tasa de variación (%)	0,36±0,17 34,36±35,86*	0,18±0,07 19,17±20,94*

En comparación con el grupo de control de modelo: *P<0,05, **P<0,01

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):

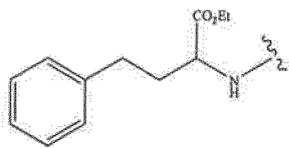


(I)

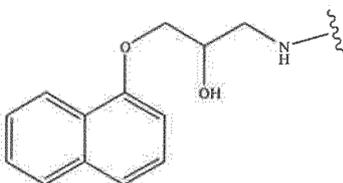
5 en donde R_1 y R_2 son, por separado, OH, y R_3 se selecciona del grupo que consiste en H, OH, F, Cl, Br, metoxi y etoxi; o, de manera alternativa, R_1 y R_2 forman juntos $-OCH_2O-$, y R_3 se selecciona del grupo que consiste en H, OH, metoxi, etoxi y halógenos;

R_4 es OH, aciloxi, aroiloxi o aciloxi sustituido con un resto heterocíclico;

R_5 se selecciona de cicloalcoxilo,

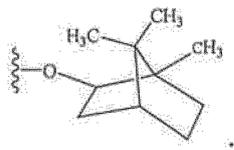


y



10

con la condición de que cuando R_1 y R_2 son OH, R_3 es H y R_4 es OH, entonces R_5 no es

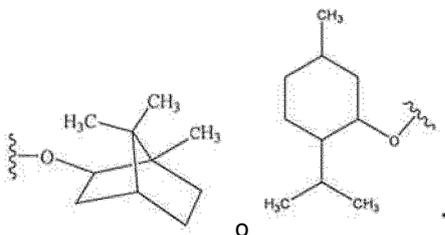


2. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R_4 es OH.

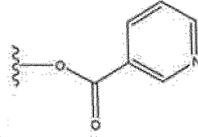
15

3. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R_4 es o-acetoxi-benzoiloxi, 3-piridin-benzoiloxi o 4-piridin-benzoiloxi.

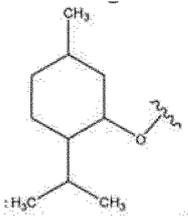
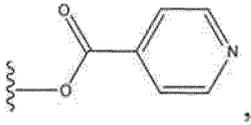
4. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R_5 es:



5. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R₁ y R₂ forman juntos -OCH₂O-.

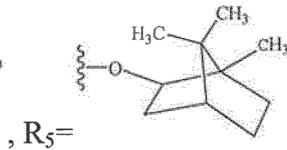
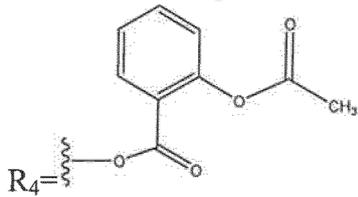


6. El compuesto según la reivindicación 5, en el que R₃ = H, R₄ =

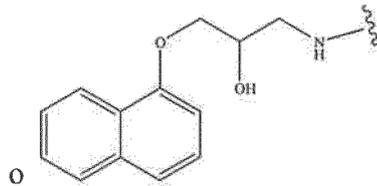
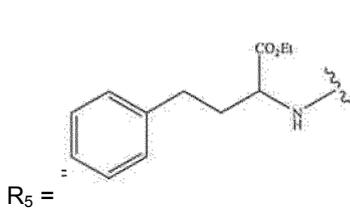


R₅ =

5 7. El compuesto según la reivindicación 5, en el que R₃ = H,

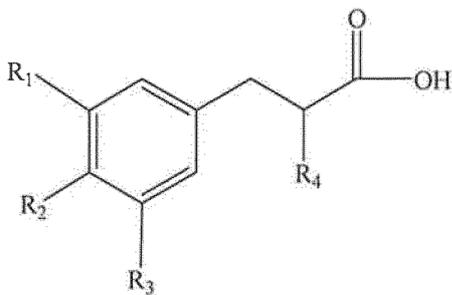


8. El compuesto según la reivindicación 5, en el que R₃ = H, R₄ = OH,



R₅ =

10 9. Un procedimiento para sintetizar un compuesto según la reivindicación 1, que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (III) con un compuesto de fórmula (IV) o un hidrato del mismo, en presencia de un catalizador:

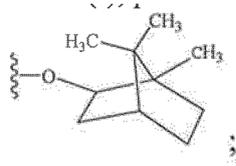


(III)

R₅-H

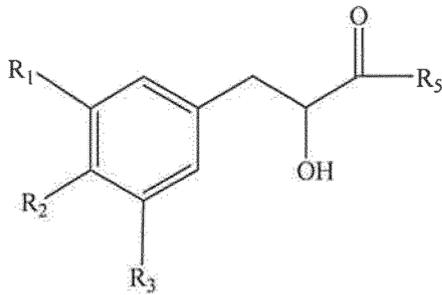
(IV)

en donde R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 tienen los mismos significados que en la fórmula (I), con la condición de que cuando R_1 y R_2 son OH, R_3 es H y R_4 es OH, entonces R_5 no es



o

- 5 que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (V) con un compuesto de fórmula (VI) o un hidrato del mismo, en presencia de un catalizador:



(V)

$R_4'-H$

(VI)

en donde R_1 , R_2 , R_3 y R_5 tienen los mismos significados que en la fórmula (I) y R_4' es aciloxi;

- 10 en donde el catalizador es H_2SO_4 concentrado, ácido silicotúngstico, ácido fosfomolibdico, ácido p-toluenosulfónico, $S_2O_8^{2-}/ZrO_2$, tricloruro de aluminio, cloruro de cinc y/o cloruro de magnesio.

10. El procedimiento según la reivindicación 9, en el que la reacción se lleva a cabo en un disolvente.

11. El procedimiento según la reivindicación 10, en el que el disolvente es acetato etílico, diclorometano, tetrahydrofurano, acetona, tolueno, 1,4-dioxano y N,N-dimetilformamida, solos o en cualquier combinación.

- 15 12. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para usar en la prevención o el tratamiento de enfermedades cardiovasculares o cerebrovasculares.

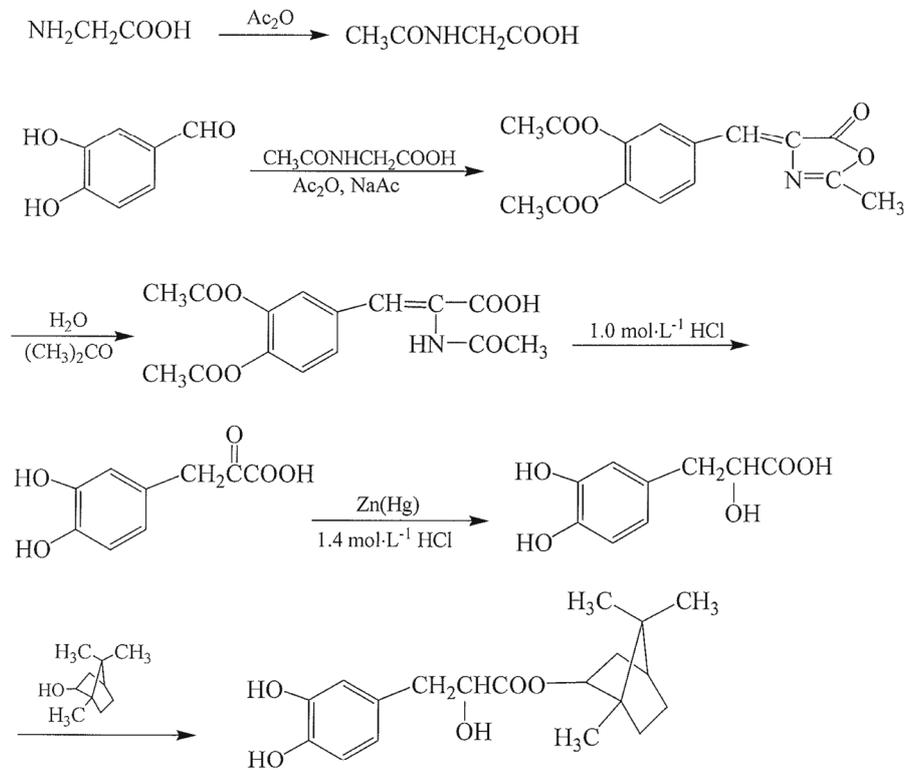


Fig.1

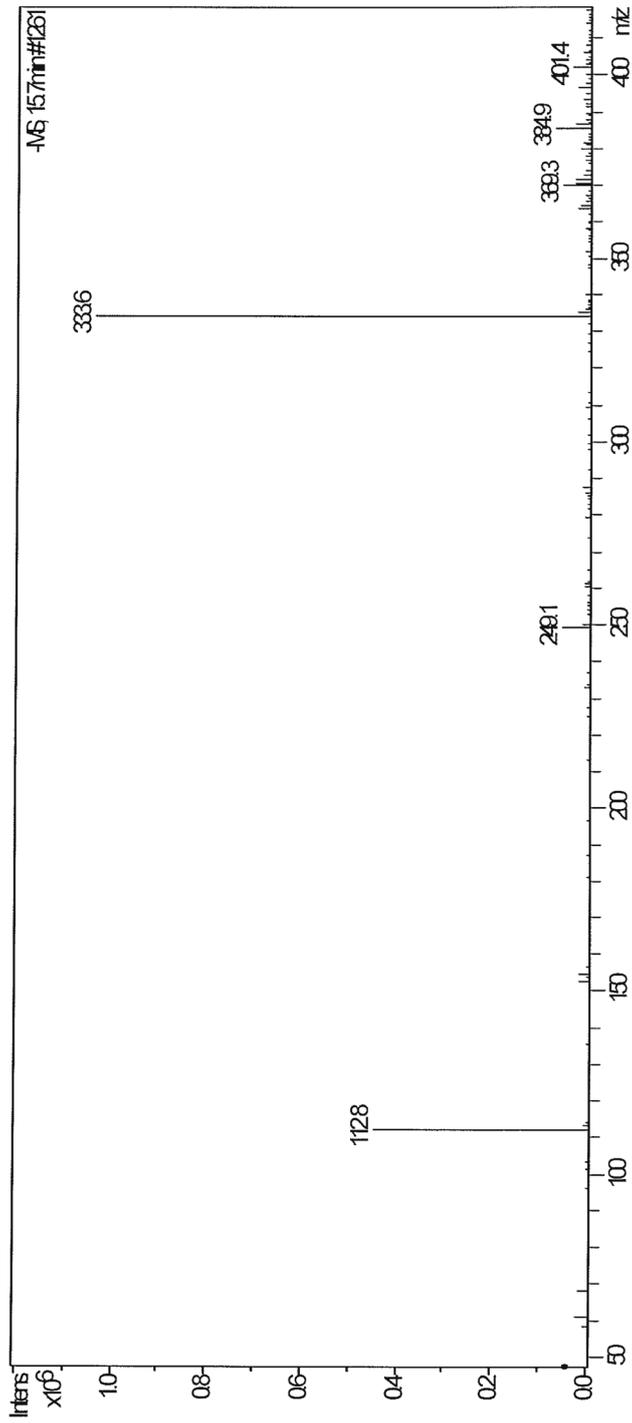


Fig.2

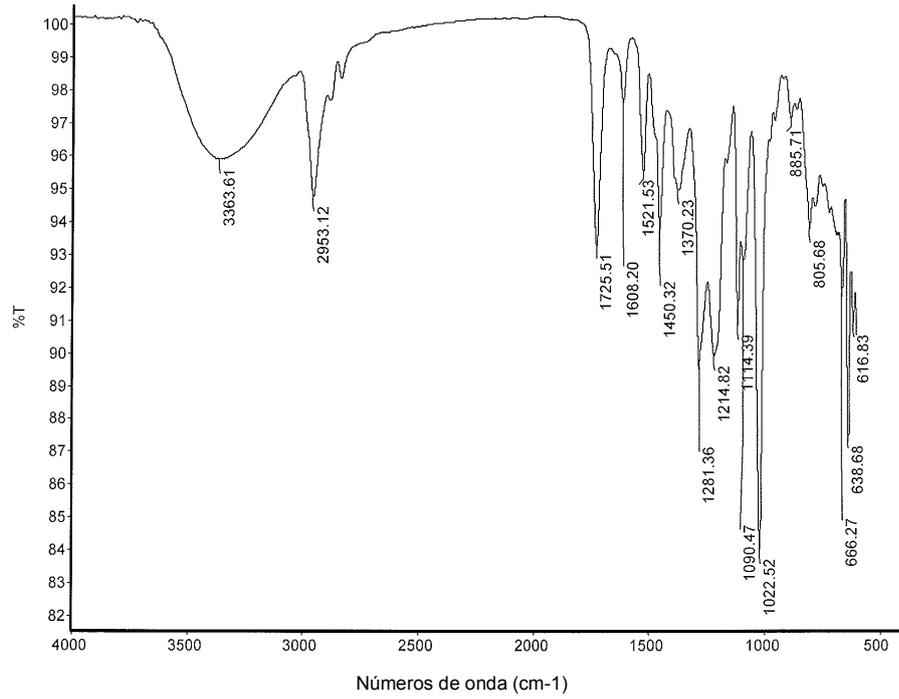


Fig.3

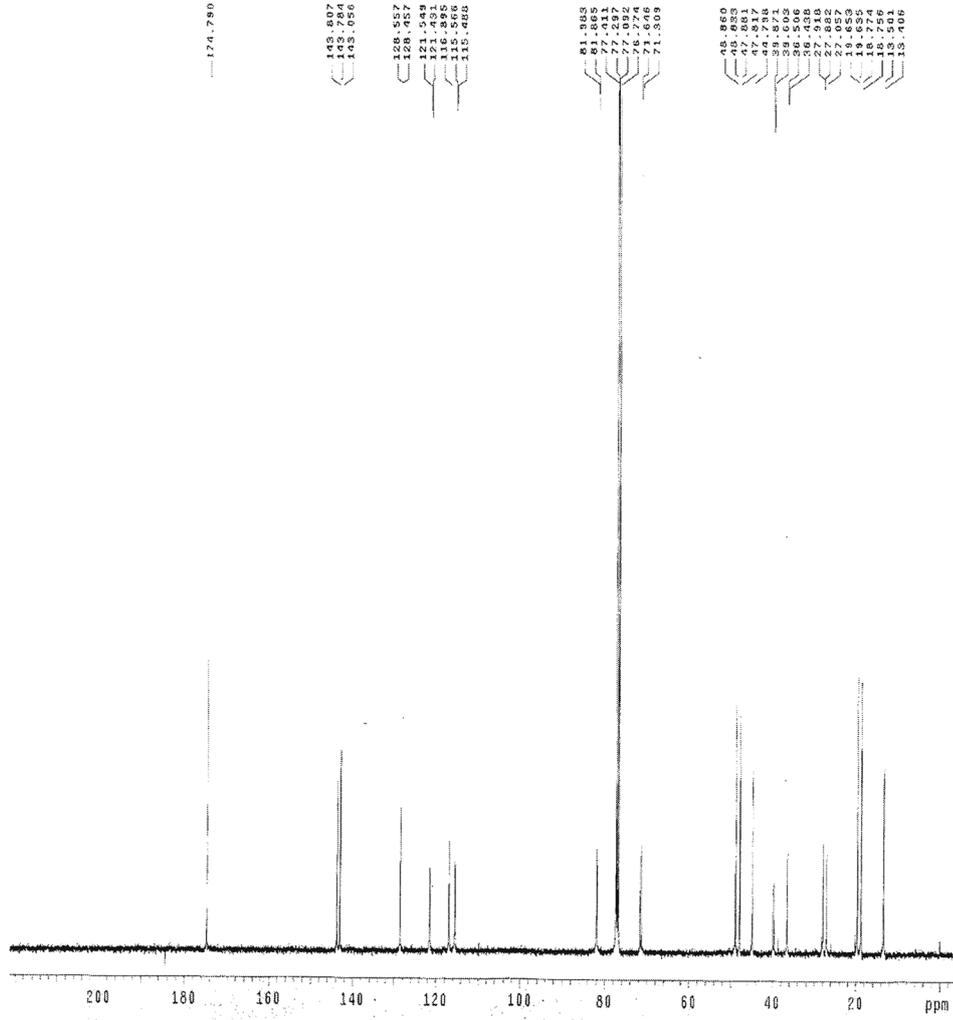


Fig.5