

142
142
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 04-001331- -00005-0000

Fecha: 2007-10-22 15:53:43 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 467 SOLICIPRORROGA Folios: 2

Clarke, Modet & Cº

COLOMBIA

SEÑORES
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
E. S. D.

REF: EXPEDIENTE No. 04001331
FECHA DE LA SOLICITUD: Enero 9, 2004
SOLICITANTE: MAGNACHEM INTERNATIONAL
LABORATORIES, INC.
TITULO: FORMULACIONES DE LACTONA Y METODOS DE
USO

ASUNTO: SOLICITUD DE PRORROGA DEL TERMINO LEGAL

DILIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, en mi condición de apoderada de la sociedad solicitante en el expediente de la referencia, atentamente solicito a usted se sirva conceder una prórroga de 30 días para dar respuesta al oficio No. 8938 notificado por fijación en lista el 27 de Julio de 2007, relacionado con la solicitud de patente que se está tramitando bajo el expediente de la referencia.

Fundamento mi solicitud en el artículo 45 de la Decisión 486 de 2.000 del Acuerdo de Cartagena.

Anexo, el recibo de pago respectivo para efectos de lo anterior, y agradezco su atención.

Señor Jefe,

DILIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

MRO/srr

p-530

43
143

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 04-001331- -00005-0000

Fecha: 2007-10-22 15:53:43 Dep. 2020 NUECREACION
Tra 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 467 SOLICIPRORROGA Folios: 2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 81,203
FECHA : OCTUBRE 2 DE 2007

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	66408802	02/10/2007	18,575,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-08	PRORROGA DE TERMINOS	72,000.00
		31 PRORROGA DE TERMINOS	72,000.00
		TOTAL :	\$ 72,000.00

SON: SETENTA Y DOS MIL PESOS

25530

RESPONSABLE : _____

Clarke, Modet & C^o

COLOMBIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



Fecha: 09/01/2004
Tra: 11 FOLIOS
Act: 444 RLS PULSTAR LQUL FOLIOS: 58

SEÑORES

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

E.

S.

D.

COD:08

RE.: SOLICITUD DE PATENTE EN COLOMBIA

EXPEDIENTE N° 04001331

TITULO: FORMULACIONES DE LACTONA Y MÉTODOS DE USO

SOLICITANTE: MAGNACHEM INTERNATIONAL LABORATORIES, INC

FECHA SOLICITUD: 09 DE ENERO DE 2004

ASUNTO: CONTESTACIÓN A REQUERIMIENTO OFICIAL

DILIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, en mi condición de apoderada de la sociedad solicitante, por el presente escrito doy respuesta a su auto notificado por estado de 27 de julio de 2007, para el cual se solicitó prórroga y vence 5 de diciembre de 2007 y me permito presentar las siguientes aclaraciones:

En primer lugar y en búsqueda de una mayor precisión y dar respuesta a las objeciones realizadas en la acción oficial, el solicitante presenta **nuevo capítulo reivindicatorio**, que reemplaza el original que obran en la solicitud, y fue redactado para remediar las observaciones efectuadas por su Despacho. Nos permitimos hacer énfasis en que este capítulo ha sido permitido en Estados Unidos, Europa, México, Singapur y Sur África. La solicitud ha sido concedida en Estados Unidos bajo el número US 6.900.242.

El nuevo capítulo reivindicatorio se ajusta a las disposiciones del artículo 34, toda vez que las modificaciones realizadas precisan que la invención está dirigida a una composición farmacéutica que comprende compuestos de la fórmula Ia y un portador farmacéuticamente aceptable.

Básicamente la principal modificación realizada consiste en eliminar del pliego reivindicatorio las cláusulas relativas a procesos de aislamiento o síntesis del compuesto (reivindicaciones 25 a 27, 30 y 31) y las reivindicaciones que hacían referencia métodos de tratamiento (reivindicaciones 9 a 24),

148
145

Clarke, Modet & C^o

COLOMBIA

suprimir las reivindicaciones que se dirigían al compuesto aislado de material vegetal y reclamar única y exclusivamente una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula Ia y un portador farmacéuticamente aceptable.

Claridad:

Congruente con esta modificación y cumpliendo con lo sugerido por el examinador se modifica el título de la invención por "Lactonas y Composiciones farmacéuticas de las mismas" ✓

Dado que el examinador advierte que no es claro como se puede aislar tal cantidad de de compuestos Ia, Ib y Ic de una planta y hace alusión al contenido de los folios 69 a 70 nos permitimos señalar que de acuerdo con la información suministrada en las páginas 11 y 12 es claro que la fórmula del compuesto Ia es una lactona alfa-metileno que corresponde al compuesto (1), la fórmula del compuesto Ib es α -metilen γ -hidroxi-butanoato de metilo que se define como compuesto (2) y la fórmula Ic es una lactona bicíclica que tiene la estructura definida como (4'). Así las cosas, los compuestos 1 y 2 mencionados en el folio 69 son los compuestos de fórmula Ia y Ib de la presente solicitud. No obstante, el solicitante ha eliminado del capítulo reivindicatorio las reivindicaciones que hacían referencia al proceso del aislamiento, limitando la invención única y exclusivamente a la composición farmacéutica. ✓

En relación a la objeción que cuestiona el término Securolide, el solicitante indica que Securolide es la marca comercial para LMSV-6 o α -metilen γ -butirolactona. Para superar esta objeción se presenta nueva descripción donde se ha eliminado la mención de la marca en cuestión y reemplazado por LMSV-6 o α -metilen γ -butirolactona, cuya estructura exacta es definida en la nueva reivindicación 14. ✓

El compuesto α -metilen γ -butirolactona fue utilizado en los ensayos descritos en los ejemplos. Así que el fármaco, compuesto o producto mencionado en los folios 81 a 88 no es otro que el compuesto de fórmula Ia, específicamente α -metilen γ -butirolactona.

Dado que el examinador advierte que las reivindicaciones de método de síntesis de los compuestos Ia, Ib y Ic no se encuentran sustentadas en la descripción y que dicho método no tiene ninguna diferencia con los existentes en el estado de la técnica, el solicitante ha decidido remover dichas reivindicaciones.

Clarke, Modet & C^o

COLOMBIA

146
1116

Respecto a las reivindicaciones el examinador ha cuestionado las antiguas reivindicaciones 25 a 27, 30 y 31. En procura de superar estas objeciones el solicitante ha eliminado dichas cláusulas del nuevo pliego reivindicatorio, que ahora está totalmente dirigido a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula Ia y un portador farmaceuticamente aceptable. ✓

Unidad de invención.

Una vez más el examinador cuestionaba la patentabilidad de las reivindicaciones 25 a 27, en este caso por carecer de unidad de invención en relación con las reivindicaciones 30 y 31. Como ya se mencionó, estas reivindicaciones fueron suprimidas del capítulo reivindicatorio presentado con este memorial.

No es una invención.

El examinador alega que las reivindicaciones 1 a 8 están dirigidas a compuestos aislados a partir de material vegetal y como tal no es patentable bajo lo establecido en el artículo 15 de la Decisión 486. En procura de superar esta objeción el solicitante ha eliminado las antiguas reivindicaciones 1 a 8 del capítulo reivindicatorio. Las reivindicaciones actuales están limitadas a reivindicar exclusivamente la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula Ia y un portador farmaceuticamente aceptable.

Nos permitimos recordar a ese despacho que la prohibición a que hace referencia el artículo 15 se limita exclusivamente a la materia existente de la naturaleza o aislada de ella, no ha sus réplicas sintéticas que de ninguna manera pueden ser consideradas ni materia aislada de la naturaleza ni materia existente en la naturaleza. Si el legislador Andino hubiera querido incluir las réplicas como parece entender el examinador, no hubiera eliminado del texto de la Decisión 344 dicha palabra.

Sin embargo, con el ánimo de no alargar el momento de la concesión el solicitante accede a eliminar del pliego reivindicatorio las cláusulas 28 y 29. ✓

Excepciones a la patentabilidad.

Ese Despacho cuestiona la patentabilidad de las reivindicaciones 9 a 24 por estar relacionadas con métodos terapéuticos. Estas reivindicaciones también han sido eliminadas del capítulo reivindicatorio.

147
147

Clarke, Modet & C^o
COLOMBIA

Novedad.

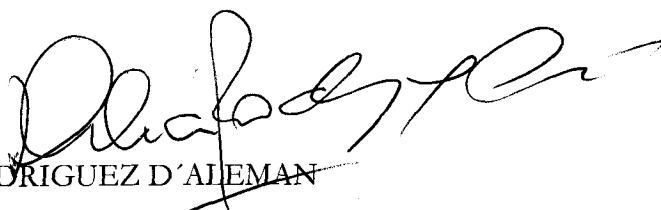
El examinador cuestiona las reivindicaciones 30 y 31 porque la publicación "ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY" 4th había anticipado el método que ellas se reclamaba y por tanto afectaba la novedad de dichas cláusulas. Como se ha indicado en párrafos anteriores estas reivindicaciones han sido suprimidas y de ninguna manera la publicación citada enseña ni sugiere la existencia de las composiciones que aquí se reivindican las cuales están basadas específicamente en el compuesto de fórmula Ia y un portador farmacéuticamente aceptable.

Siendo que el solicitante ha eliminado todas las reivindicaciones cuestionadas por esa Superintendencia y ha limitado el alcance de la invención a una única formulación farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula Ia y un portador farmacéuticamente aceptable, se entiende que ahora el nuevo capítulo descriptivo y el nuevo capítulo reivindicatorio cumplen con los requisitos de patentabilidad establecidos en la Decisión 486. ✓

Por lo tanto, se solicita respetuosamente a la Oficina de Patentes Colombiana retirar todas las objeciones.

Agradezco continuar con el presente trámite.

Señor Jefe,


DILIA RODRIGUEZ D'ALEMAN
MRO/srch

FORMULARIO ÚNICO DE CORRECCIONES Y MODIFICACIONES
2000-10

1) SOLICITUD DE:

☐ Corrección de error material

☒ Modificación a una solicitud

2) SOLICITANTE

Nombre: **MAGNACHEM**
INTERNATIONAL
LABORATORIES, INC.

Dirección: Suite 49, 4226 N.E.
1st Avenue, Boca Raton, FL
33431 Estados Unidos

Nacionalidad o Domicilio: Boca
Raton, Florida, Estados Unidos

Lugar de Constitución: Florida,
Estados Unidos

Teléfono:

Fax:

E. Mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT: ☐

C.E. ☐ OTRO ☐

NÚMERO _____

**3) REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre: **DILIA MARÍA**
RODRÍGUEZ D'ALEMAN

Dirección: Carrera 11 N°. 86-
53 Piso 6 Bogotá D.C.

Teléfono: 6181088 Fax:
6350824

E. Mail:
info@clarkemodet.com.co

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT: ☐

C.E. ☐ OTRO ☐

NÚMERO: 41.654.882
TP: 20824 CSJ

4) NUMERO DE EXPEDIENTE: 04001331

5) DESCRIPCIÓN DE LA CORRECCIÓN O MODIFICACIÓN SOLICITADA:

Se presenta nuevo título, descripción y capítulo reivindicatorio.

6) Comprobante de pago No.

7) Anexos:

☒ Comprobante de la tasa

☐ Poderes, si fuere el caso

☐ Certificado de Existencia y Representación legal, cuando el solicitante sea persona jurídica

8)

Nombre: DILIA RODRÍGUEZ D'ALEMAN

Firma

C.C.: 41.654.882 TP: 20824 CSJ

149
149

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 97,196
FECHA : NOVIEMBRE 28 DE 2007

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 04-201331-00007-0000

Fecha: 2007-11-28
Pag: 14
Act: 444

***** CONSIGNACION *****

POSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	72395998	28/11/2007	8,640,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-03	CAMBIO DE MODALIDAD Y MODIFICA	
		12 MARCAS Y LEMAS COMERCIALES	99,000.00
		TOTAL :	\$ 99,000.00

SON: NOVENTA Y NUEVE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

150
150

FORMULACIONES DE LACTONA Y METODOS DE USO

CAMPO DE LA INVENCION

Las invenciones de la presente son generalmente del
5 campo de las lactonas activas farmacéuticamente, sus
formulaciones farmacéuticas, y método de uso de las mismas, y
métodos para la preparación sintética de lactonas funcionales
químicamente de las mismas útiles como agentes anti-
infecciosos y anti-cáncer.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

A pesar del desarrollo de muchos compuestos diferentes
que son útiles en el tratamiento de las infecciones, cáncer,
y de otros trastornos, persiste una necesidad por el
15 desarrollo de nuevos compuestos que puedan ser efectivos en
dosificaciones inferiores, más selectivas, que tengan menos
efectos colaterales o capaces de tratar enfermedades o
trastornos en donde se ha desarrollado resistencia a los
compuestos conocidos.

20 Los agentes quimioterapéuticos son usados para el
tratamiento de infecciones, cáncer, trastornos de
proliferación anormal (endometriosis, restenosis, psoriasis),
y otros trastornos. La mayoría de los agentes
quimioterapéuticos tienen efectos colaterales debido a la
25 falta de especificidad. Por ejemplo, el cáncer es una de las

causas que conducen a la muerte. Una de las modalidades primarias de tratar cáncer, la quimioterapia, es usada específicamente para limitar el crecimiento y la replicación celular. La mayor parte de los agentes de quimioterapia también afectan a las células de proliferación rápida y neoplásticas de los tejidos normales, por ejemplo médula ósea, folículos pilosos, etc.), los cuales dan como resultado varios efectos colaterales negativos que incluyen la pérdida del cabello, náuseas, vómitos, y supresión de la función de la médula ósea. Además, la efectividad de estos agentes disminuye frecuentemente con el tiempo debido al desarrollo de resistencia.

Por consiguiente, es un objeto de esta invención proporcionar una nueva clase de compuestos efectivos como agentes anti-infecciosos y/o antiproliferativos.

Es otro objeto de esta invención proporcionar un agente anti-neoplástico efectivo, con citotoxicidad específica, a fin de minimizar los efectos colaterales.

Es un objeto adicional de la presente invención proporcionar agentes anti-infecciosos que sean específicos y diferentes de muchos otros fármacos actualmente en uso, para proporcionar un método alternativo de tratamiento para organismos resistentes a fármacos.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

Se han descubierto los compuestos de las fórmulas Ia y Ic que tienen una estructura lactona y un grupo metileno en la posición alfa de la estructura lactona. Los compuestos de lactona pueden hacerse reaccionar con un agente nucleofílico para abrir el anillo lactona para un compuesto de fórmula Ib. La lactona de fórmula Ia y sus derivados funcionales han sido aislados desde *Securidaca virgata*. Estos compuestos son mencionados como LMSV-6 o alfa metileno gamma butirolactona.

10 Los compuestos purificados han demostrado actividad en ensayos para actividades antibacterianas y antifúngicas, y para tratar trastornos en la proliferación tales como cáncer. Con base en ensayos in vitro, las lactonas son útiles para tratar trastornos en la proliferación que incluyen, por

15 ejemplo, cáncer de seno, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer estomacal, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer ovárico, cáncer de esófago, y leucemia. Son también efectivos para el tratamiento de infecciones bacterianas y fúngicas, que incluyen el

20 tratamiento de la enfermedad de úlcera péptica, gingivitis y periodontitis.

El método para elaborar un compuesto de las Fórmulas Ia y Ic generalmente involucra: a) proporcionar un precursor que tenga una estructura lactona, y b) hacer reaccionar al

25 precursor con uno o más reactivos químicos para proporcionar

un producto que tenga un grupo metileno en la posición alfa de la estructura lactona. El producto puede ser tratado con un agente nucleofílico tal como un alcohol, alcóxido, amina, o cualquier otro neutral o nucleófilo aniónico para generar
5 un compuesto de fórmula Ib.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

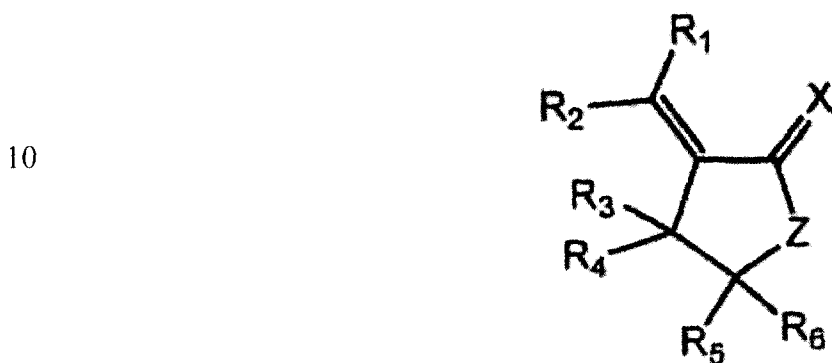
I. Composiciones de lactona

A. Lactonas aisladas desde *Securidaca virgata*.

10 Se describen lactonas con un grupo metileno exocíclico y sus respectivos derivados con un hidroxilo en posición gama. Las lactonas y los derivados de las mismas pueden sintetizarse o aislarse desde recursos naturales. En una modalidad, las lactonas y los derivados pueden ser aislados
15 por medio de métodos cromatográficos, desde un vegetal cuyo nombre científico taxonómico es *Securidaca virgata*, el cual pertenece a *Polygalaceae* como su familia botánica. Como se usa en la presente, el término "lactonas" abarca cualquier producto químico orgánico que tenga una estructura lactona
20 anular de cinco elementos en la cual el átomo de oxígeno del grupo C=O puede ser reemplazado por un átomo de azufre o por un agrupamiento de nitrógeno. El término "derivados" como se usa en la presente se refiere a cualquier compuesto que sea elaborado desde las lactonas al hacer reaccionar las lactonas
25 con uno o más reactivos químicos. El término también se

refiere a cualquier producto obtenible por medio de la
abertura del anillo de las lactonas con un agente
nucleófilico orgánico o inorgánico para formar, por ejemplo,
un ácido, éster, amida, o cualquier otro producto de los
5 mismos.

En una modalidad, la lactona tiene la siguiente
estructura química:



Fórmula Ia

15 en donde

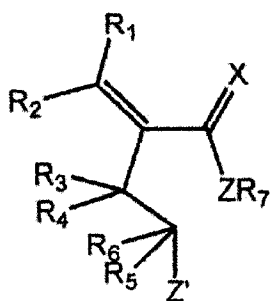
R₁-R₆ tomados independientemente o R₃-R₆ tomados juntos
son un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo
hidroxilo, o cualquier otro agrupamiento orgánico que
contenga cualquier número de átomos de carbono,
20 preferiblemente 1 - 8 átomos de carbono, y opcionalmente que
incluya un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno,
azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales,
ramificados, o cíclicos, agrupamientos de R₁-R₆
representativos que son alquilo, alquilo substituido,
25 alquenilo, alquenilo substituido, alquinilo, alquinilo

substituido, fenilo, fenilo substituido, arilo, arilo
substituido, heteroarilo, heteroarilo substituido, halo
hidroxilo, alcoxi, alcoxi substituido, fenoxi, fenoxi
substituido, aroxi, aroxi substituido, alquiltio, alquiltio
5 substituido, feniltio, feniltio substituido, ariltio, ariltio
substituido, ciano, isociano, isociano substituido,
carbonilo, carbonilo substituido, carboxilo, carboxilo
substituido, amino, amino substituido, amido, amido
substituido, sulfonilo, sulfonilo substituido, ácido
10 sulfónico, fosforilo, fosforilo substituido, fosfonilo,
fosfonilo substituido, poliarilo, poliarilo substituido,
grupos C1-C20 cíclicos, C1-C20 cíclicos substituidos,
heterocíclicos, heterocíclicos substituidos, aminoácidos,
péptidos o polipéptidos;

15 Z es un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno,
azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales,
ramificados o cíclicos; y

X es un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno,
azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales,
20 ramificados, o cíclicos.

En otra modalidad, el compuesto tiene la siguiente
estructura química:



5

Fórmula Ib

en donde

R_1 - R_7 tomados independientemente o R_3 - R_6 tomados juntos pueden ser un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, o cualquier otro agrupamiento orgánico que contenga cualquier número de átomos de carbono, preferiblemente 1 - 8 átomos de carbono, e incluye opcionalmente un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados, o cíclicos, agrupamientos R_1 - R_6 representativos que son alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, fenilo, fenilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, halo, hidroxilo, alcoxi, alcoxi sustituido, fenoxi, fenoxi sustituido, aroxi, aroxi sustituido, alquiltio, alquiltio sustituido, feniltio, feniltio sustituido, ariltio ariltio sustituido, ciano, isociano, isociano sustituido, carbonilo, carbonilo sustituido, carboxilo, carboxilo sustituido, amino, amino sustituido, amido, amido

159
BT

substituido, sulfonilo, sulfonilo substituido, ácido sulfónico, fosforilo, fosforilo substituido, fosfonilo, fosfonilo substituido, poliarilo, poliarilo substituido, un grupo C1-C20 cíclico, C1-C20 cíclico substituido, 5 heterocíclico, heterocíclico substituido, aminoácido, péptido, o polipéptido;

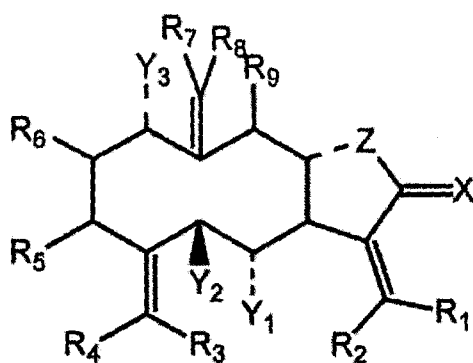
X es un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados, o cíclicos;

10 Z es un heteroátomo tal como agrupamientos de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados, o cíclicos; y

Z' puede ser un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, o cualquier otra composición 15 orgánica que contenga desde 1 - 8 átomos de carbono e incluir opcionalmente un agrupamiento de heteroátomo tal como oxígeno, azufre, o nitrógeno, en formatos estructurales lineales, ramificados, o cíclicos.

En aún otra modalidad, las lactonas que tienen un grupo 20 alfa-metileno puede tener la estructura que se muestra a continuación:

14

158
B8

Fórmula Ic

en donde

5
 10
 15
 20
 25

R_1 - R_9 tomados independientemente o R_5 y R_6 tomados juntos pueden ser un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo hidroxilo, o cualquier otro agrupamiento orgánico que contenga cualquier número de átomos de carbono, preferiblemente 1 - 8 átomos de carbono, e incluye opcionalmente un heteroátomo tal como agrupamientos de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados, o cíclicos, siendo los agrupamientos de R_1 - R_6 representativos, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, fenilo, fenilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, halo, hidroxilo, alcoxi, alcoxi sustituido, fenoxi, fenoxi sustituido, aroxi, aroxi sustituido, alquiltio, alquiltio sustituido, feniltio, feniltio sustituido, ariltio, ariltio sustituido, ciano, isociano, isociano sustituido, carbonilo, carbonilo sustituido, carboxilo, carboxilo

15

substituido, amino, amino substituido, amido, amido
substituido, sulfonilo, sulfonilo substituido, ácido
sulfónico, fosforilo, fosforilo substituido, fosfonilo,
fosfonilo substituido, poliarilo, poliarilo substituido,
5 grupos C1-C20 cíclico, C1-C20 cíclico substituido,
heterocíclico substituido, aminoácido, péptido, o
polipéptido;

Y_1 , Y_2 , e Y_3 tomados independientemente o Y_1 e Y_2 tomados
juntos pueden ser un átomo de hidrógeno, un átomo de
10 halógeno, un grupo hidroxilo, o cualquier otro agrupamiento
orgánico que contenga cualquier número de átomos de carbono,
preferiblemente 1 - 8 átomos de carbono, e incluye
opcionalmente un heteroátomo tal como un agrupamiento de
oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales
15 lineales, ramificados, o cíclicos, siendo agrupamientos
representativos de R_1 - R_6 , alquilo, alquilo substituido,
alquenilo, alquenilo substituido, alquinilo, alquinilo
substituido, fenilo, fenilo substituido, arilo, arilo
substituido, heteroarilo, heteroarilo substituido, halo,
20 hidroxilo, alcoxi, alcoxi substituido, fenoxi, fenoxi
substituido, aroxi, aroxi substituido, alquiltio, alquiltio
substituido, feniltio, feniltio substituido, ariltio, ariltio
substituido, ciano, isociano, isociano substituido,
carbonilo, carbonilo substituido, carboxilo, carboxilo
25 substituido, amino, amino substituido, amido, amido

160

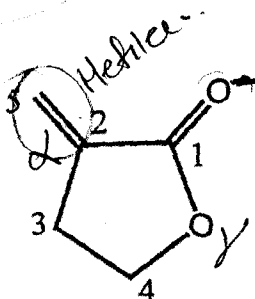
substituido, sulfonilo, sulfonilo substituido, ácido sulfónico, fosforilo, fosforilo substituido, fosfonilo, fosfonilo substituido, poliarilo, poliarilo substituido, un grupo C1-C20 cíclico, C1-C20 cíclico substituido, 5 heterocíclico, heterocíclico substituido, aminoácido, péptido, o polipéptido;

Z es un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos estructurales lineales, ramificados, o cíclicos; y

10 X es un heteroátomo tal como un agrupamiento de oxígeno, azufre, o nitrógeno en formatos lineales, ramificados, o cíclicos.

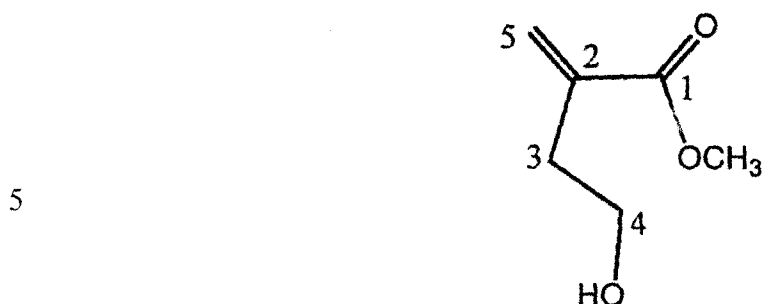
En una modalidad, la lactona es LMSV-6, el cual es una lactona alfa-metilénica (1) que tiene la estructura:

15



20 En otra modalidad, el éster es α -metilen- γ -hidroxi-butanoato de metilo (2) que se muestra en la estructura siguiente:

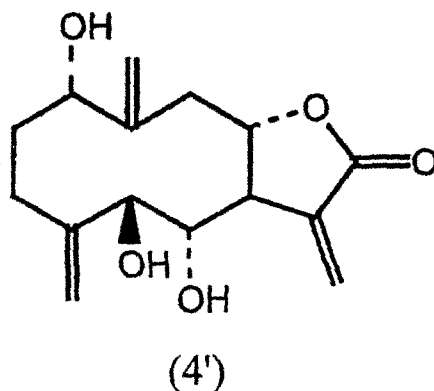
17



En aún otra modalidad, la lactona es un compuesto
bicíclico que tiene la estructura siguiente:

10

15



B. Excipientes

La lactona y los derivados funcionales pueden ser
formulados usando técnicas estándares para administración
entérica, parenteral, o tópica. Las dosificaciones efectivas
pueden determinarse con base en los ensayos in vitro
conocidos por los expertos en la materia, tales como los
ensayos descritos en los ejemplos.

Vehículos aceptables farmacéuticamente adecuados para
liberación parenteral incluyen solución salina estéril,

solución salina regulada de fosfato, y formulaciones de micropartículas estándares para inyección, que incluyen microesferas poliméricas, microcápsulas, liposomas, y emulsiones. Estas pueden incluir polímeros degradables, tales como ácido poliláctico y ácido poliglicólico, y copolímeros de los mismos, polianhídridos, poliortoésteres, polihidroxialcanoatos. Para inyección, las lactonas serán típicamente formuladas como soluciones o suspensiones en un portador líquido.

10 Para liberación tópica, la lactona puede ser formulada en un ungüento, loción, gel, nebulización, o formulaciones de liberación sostenida o controlada (tal como un parche transdérmico).

 Para liberación entérica, la lactona puede ser formulada en una tableta, cápsula, suspensión o solución, disuelta o encapsulada en un excipiente tal como una azúcar como lactosa, un compuesto inerte tal como estearato de magnesio, derivados de parafina, glicoles o goma arábica. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente agentes colorantes, saborizantes, conservadores, dispersantes o emulsificantes, o materiales modificadores de las propiedades de estabilidad o de liberación de las formulaciones.

 El compuesto activo puede ser usado en combinación con un segundo agente antimicrobiano aceptable farmacéuticamente, tal como nitroimidazol, antibióticos, por ejemplo, tinidazol

y metronidazol; tetraciclinas, por ejemplo, tetraciclina, doxiciclina y minociclina; penicilinas, por ejemplo amoxicilina y mezlociclina, cefalosporinas, por ejemplo, cefaclor, cefadroxil, cefadrina, cefuroxima, axetil
5 cefuroxima axetil, cefalexina, proxetil cefpodoxima, ceftazidima y ceftriaxona; carbapenemos, por ejemplo, imipenemo y meropenemo; aminoglicósidos, por ejemplo paromomicina, antibióticos macrólidos, por ejemplo, eritromicina, claritromicina y azitromicina; antibióticos
10 lincosamidas, por ejemplo, clindamicina; rifanicina g, rifampicina, y nitrofurantoina.

Combinaciones de los compuestos con un agente farmacéutico abatidor de la acidez, pueden ser usados en el tratamiento de trastornos relacionados con la acidez, tales
15 como inhibidores del bombeo ácido, por ejemplo omeprazol y lansoprazol, o antagonistas de H_2 , por ejemplo, ranitidina, cimetidina, y famotidina.

II. Síntesis de Lactonas

La síntesis de las lactonas y sus derivados respectivos
20 involucran la etapa de formar un grupo alfa-metileno. Generalmente, el método para elaborar un compuesto de Fórmulas Ia y Ic involucra: a) proporcionar un precursor que tenga una estructura lactona, y b) hacer reaccionar al precursor con uno o más reactivos químicos para proporcionar
25 un producto que tenga un grupo metileno en la posición alfa

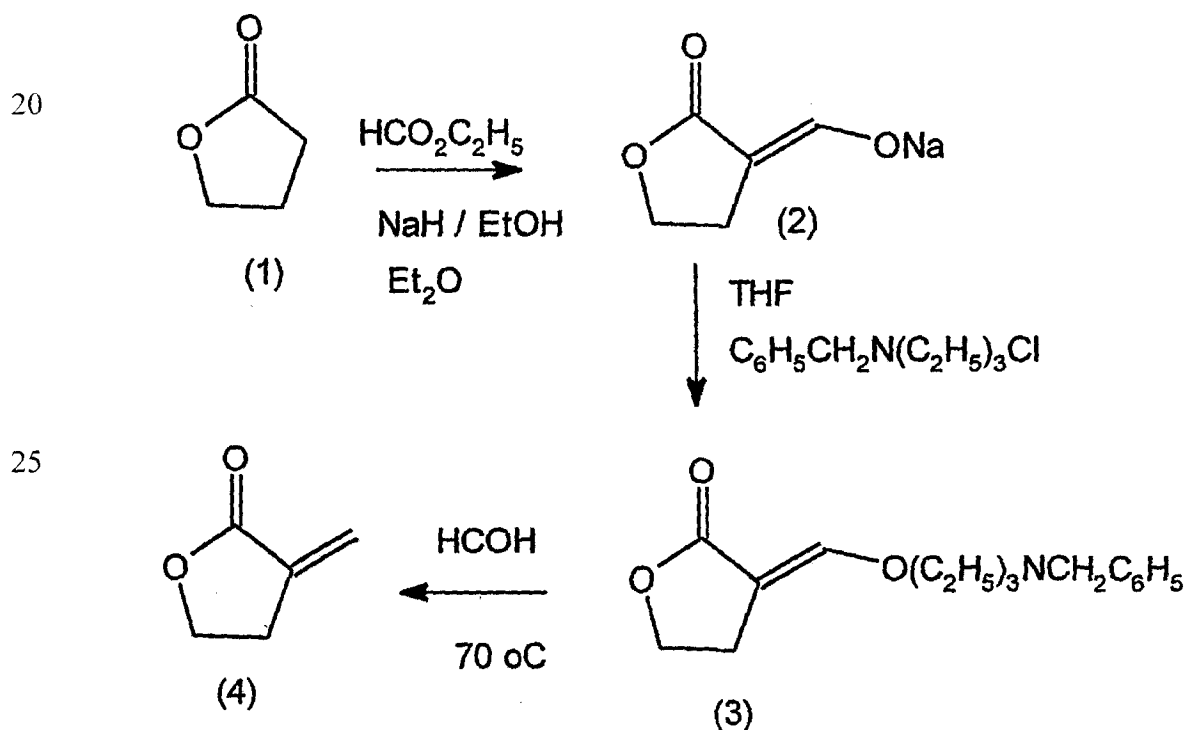
de la estructura lactona. El producto puede ser tratado con un agente nucleofílico tal como un alcohol, alcoxada, amina, o cualquier otro nucleófilo neutro o aniónico para generar un compuesto de Fórmula Ib.

- 5 Los métodos de formar el grupo metileno son técnicas estándares bien documentadas en química orgánica sintética (ver, por ejemplo, March, "Advanced Organic Chemistry", 4^a. Edición, 1992, Wiley- Interscience Publication, New York). Las lactonas pueden ser sintetizadas, por ejemplo, al iniciar
- 10 desde una lactona de cinco elementos y luego derivatizar la posición alfa para añadir un grupo metileno sobre la molécula.

Por ejemplo, como se muestra en el Esquema de Reacción 1, hacer reaccionar un compuesto que tenga la estructura (1)

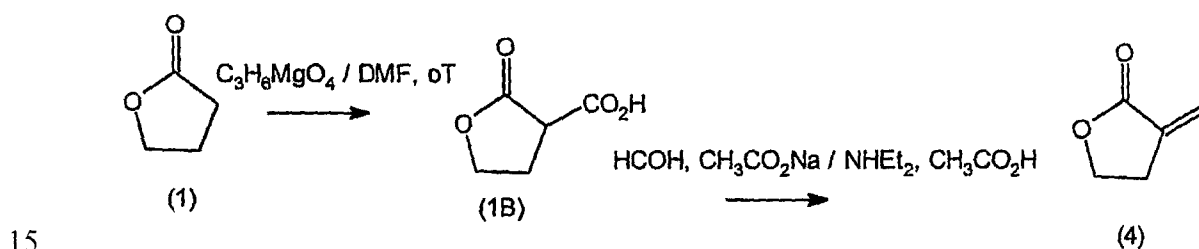
15 con una base, un alcohol y un éster, produce un enolato, el cual es un precursor para lactonas de estructura (4) (Ver el Esquema de Reacción 1).

Esquema de Reacción 1



165
165

La lactona (4) puede ser derivatizada adicionalmente usando técnicas sintéticas estándares disponibles en el arte de síntesis orgánica (ver, por ejemplo, March, *Supra*). Por ejemplo, lactonas funcionalizadas con un grupo carboxilo (4) pueden prepararse por ejemplo, al hacer reaccionar la estructura (1) con un agente para la carboxilación en alfa de lactonas (MMC, carbonato de Mg-metilo), y un aldehído en la presencia de una base tal como trietilamina para producir la lactona de estructura (4), la cual es la lactona como se encuentra naturalmente aislada (Esquema de Reacción 2).



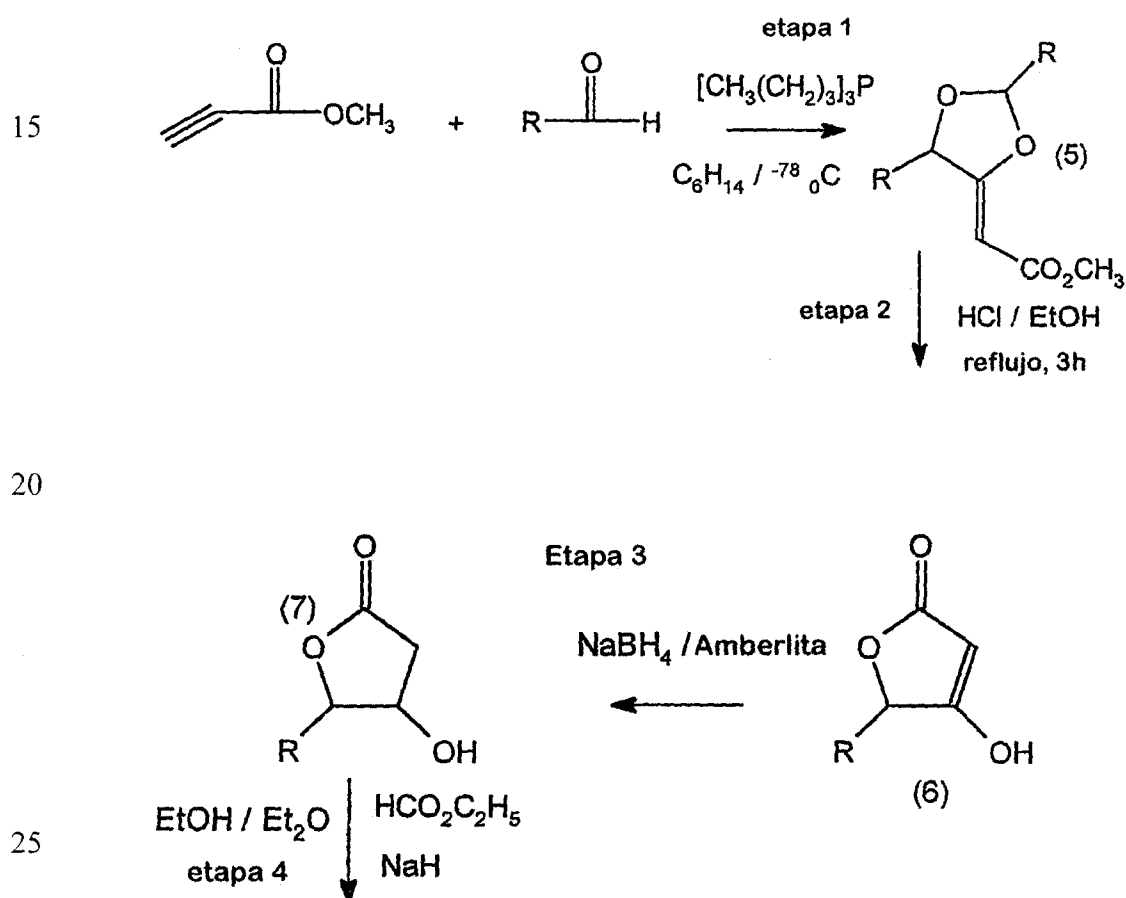
En el Esquema de Reacción 2 una lactona (4) funcionalizada con un grupo metileno, se prepara al hacer reaccionar un compuesto que tenga la estructura (1) con carbonato de Mg-metilo (MMC), un aldehído en un regulador con una base NN-Dimetilformamida [DMF-HCON(CH₃)₂], para producir una lactona funcionalizada con ácido carboxílico, y la lactona (1B) es entonces tratada con un aldehído y Dietilamina, Acetato de Sodio, Acido acético para producir la

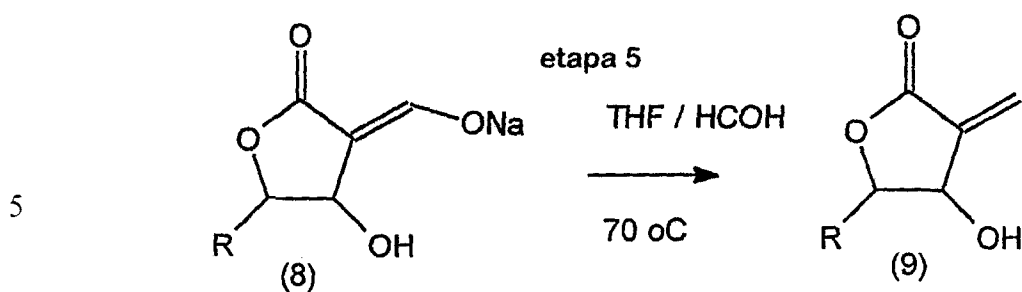
22

lactona (4).

Otros derivados de lactona funcionalizados pueden ser preparados fácilmente. Por ejemplo, una lactona derivada funcionalizada (9) puede prepararse al hacer reaccionar un compuesto que tenga la estructura (5) con un ácido inorgánico y un alcohol por calentamiento a reflujo para producir una enol-lactona, la cual es entonces reducida con una base para producir un producto de estructura (7). La reacción de (7) con una base, un alcohol y un éster produce un enolato, el cual es un precursor para lactonas funcionalizadas de compuesto (9) (Esquema de Reacción 3).

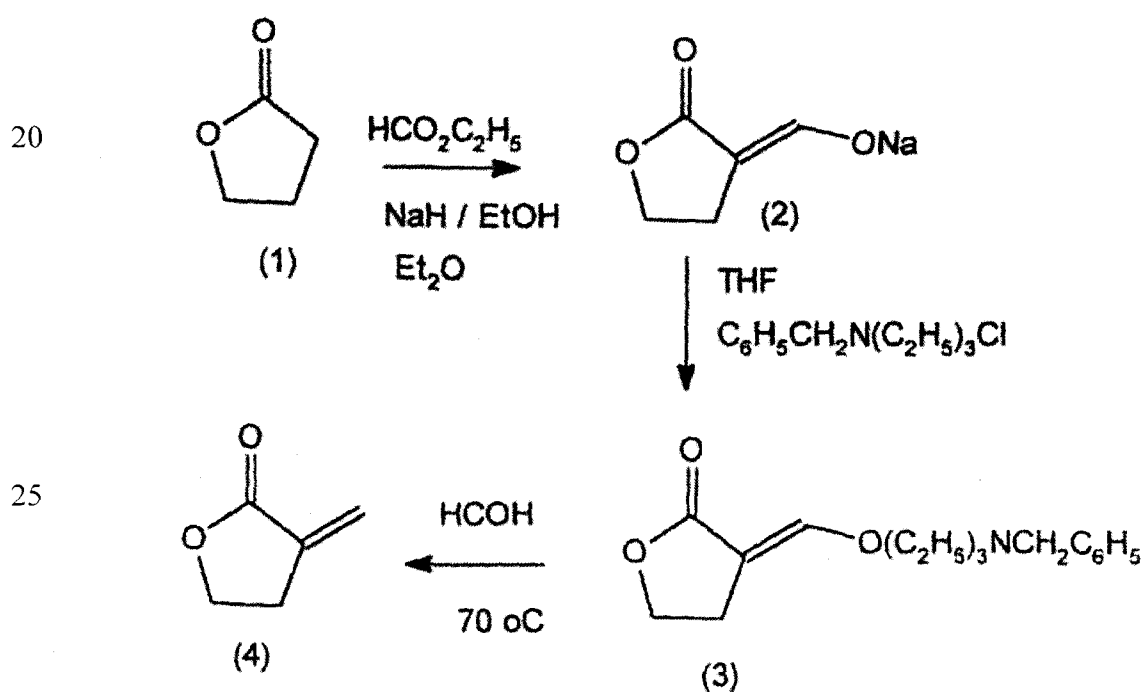
Esquema de Reacción 3



167
167

Pueden prepararse más lactonas funcionalizadas por medio de métodos sintéticos fácilmente disponibles en el arte (ver, por ejemplo, March, "Advanced Organic Chemistry", 4^a. Edición, 1992, Wiley-Interscience Publication, New York). Por ejemplo, pueden prepararse lactonas funcionalizadas (4) al hacer reaccionar un compuesto que tenga la estructura (1) con una base, un alcohol y un éster para producir un enolato, el cual es un precursor para la lactona de estructura (4) (Esquema de Reacción 4)

Esquema de Reacción 4



24

Las sales aceptables farmacéuticamente de compuestos de lactona de Fórmulas Ia-c, ya sea en la forma de un ácido o de una base tal como amina, pueden prepararse de una manera convencional al tratar una solución o suspensión del compuesto de Fórmulas Ia-c con aproximadamente un equivalente químico de una base o ácido aceptables farmacéuticamente. Se emplearon técnicas de recristalización y de concentración convencionales al aislar la sal.

III. Métodos de Tratamiento

10 A. Trastornos a ser Tratados

Con base en las actividades determinadas como se describe en los ejemplos, las lactonas son útiles como anti-infecciosos y anti-proliferativos. En particular, las lactonas pueden ser administradas en una cantidad efectiva para inhibir el crecimiento bacteriano o fúngico, enfermedades virales o para tratar una enfermedad bacteriana o fúngica. Ejemplos de trastornos bacterianos preferidos a ser tratados incluyen la enfermedad de úlcera péptica, gastritis, dispepsia, enfermedad periodóntica y gingivitis.

20 Las composiciones fungicidas comprenden una cantidad efectiva fungicidamente de un compuesto de fórmula 1 o una sal del mismo y un portador farmacéuticamente inerte. Ejemplos de composiciones farmacéuticas pueden ser tabletas como tales, o recubiertas de azúcar, cápsulas de gelatina, gránulos,

25 supositorios, preparaciones inyectables, ungüentos, cremas o

geles.

Las composiciones fungicidas son también útiles particularmente sobre *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* y otras *Candidas* tales como *Candida glabrata*,
5 *krusei*, *tropicallis*, *pseudotropicalis* y *parapsilosis*, sobre *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Cryptococcus neoformans*, *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophyte* y para combatir particularmente candidosis digestiva, urinaria, vaginal,
10 cutánea, criptococcosis, por ejemplo, criptococcosis neuromeningea, pulmonar o cutánea, aspergilosis broncopulmonar, y pulmonar y aspergilosis invasiva del sistema inmunodepresivo. Las composiciones pueden ser usadas también en la prevención de afecciones micóticas en las
15 supresiones inmunológicas congénitas o adquiridas.

Las lactonas pueden también ser administradas para tratar trastornos proliferativos, incluyendo cánceres. Tipos representativos de cánceres que han mostrado inhibición en el crecimiento o proliferación celular incluyen cáncer de seno,
20 cáncer de pulmón, cáncer ovárico, cáncer de esófago, y leucemia. Otros tipos de trastornos proliferativos anormales en cuyo tratamiento pueden ser útiles las lactonas, incluyen endometriosis y restenosis, causadas por sobreproliferación de tejido endotelial después de angioplastia.

25 La lactona funcionalizada (9) anterior es

178
120

particularmente útil como un inhibidor de proteasa aspártica, y se ha demostrado para inhibir la proteasa aspártica de HIV-1, y con lo cual se limita el proceso viral, y en particular el procesamiento post-translacional particular de los
5 productos genéticos virales (gag / gag-pol).

Estas lactonas son también útiles al modular la respuesta al dolor a través de su actividad como un neurotransmisor.

B. Dosificaciones

10 La cantidad efectiva será determinada con base en la enfermedad o trastorno a ser tratados, el modo de administración y la formulación. Las dosificaciones efectivas pueden determinarse rutinariamente con base en las dosificaciones efectivas determinadas usando ensayos *in vitro* (de a de a)
15 tal como los descritos en los ejemplos.

La alta actividad de LMSV-6 contra *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, y su bajo peso molecular son ventajosos. Las ventajas de LMSV-6 ^{Folia 160 pg 11} incluyen su facilidad y velocidad para promover la
20 respuesta farmacológica; su posibilidad para atravesar los protectores de la membrana celular, donde el peso molecular alto es el principal impedimento, y su potente actividad contra *Pseudomonas*, la cual es uno de los microorganismos más resistentes al fármaco.

25 El método para combatir infecciones fúngicas comprende

27

administrar una cantidad efectiva fúngicamente de un compuesto de fórmula I o una sal de adición de ácido del mismo por la ruta bucal, rectal, parenteral, o por la ruta local como una aplicación tópica sobre la piel y membranas mucosas, pero la ruta preferida es la ruta bucal. La dosis diaria usual es 1 a 5 mg/kg dependiendo del método de administración, de la condición tratada y del compuesto específico.

Los compuestos pueden ser administrados solos, pero generalmente serán administrados en mezcla con un portador farmacéutico seleccionado con respecto a la ruta de administración pretendida y la práctica farmacéutica estándar. Por ejemplo, pueden ser administrados oralmente o en la forma de tabletas que contengan excipientes tales como almidón o lactosa, o en cápsulas ya sea solos o en mezcla con excipientes, o en la forma de elíxires o suspensiones que contengan agentes saborizantes y colorantes. En el caso de animales, los compuestos están contenidos ventajosamente en un alimento o líquido para bebida animal en una concentración de aproximadamente 5 a 5000 ppm, preferiblemente aproximadamente 25 hasta aproximadamente 500 ppm. Pueden ser inyectados parenteralmente, por ejemplo, intramuscular, intravenosa o subcutáneamente. Para administración parenteral, son mejor usados en la forma de una solución estéril que puede contener otros solutos, por ejemplo,

172
172

suficiente sal o glucosa para hacer una solución isotónica. En el caso de animales, los compuestos pueden ser administrados intramuscular o subcutáneamente a niveles de dosificación de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 50 mg/kg/día, preferiblemente aproximadamente 0.2 a aproximadamente 10 mg/kg/día dados en una sola dosis diaria o hasta dividida en 4 dosis.

Los compuestos pueden ser administrados a humanos para el tratamiento de infecciones por H. pylori ya sea por las rutas parenteral u oral y pueden ser administrados oralmente a niveles de dosificación de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 50 mg/kg, ventajosamente aproximadamente 0.5 a 50 mg/kg/día dados en una sola dosis o dividida hasta en 4 dosis. Para administración intramuscular o intravenosa, los niveles de dosis son de aproximadamente 0.1 hasta 100 mg/kg/día, preferiblemente aproximadamente 0.5 a aproximadamente 50 mg/kg/día. Aunque la administración intramuscularmente puede ser en una sola dosis o hasta dividida en 4 dosis, la administración intravenosa puede incluir un goteo continuo. Necesariamente, pueden tener lugar variaciones, dependiendo del peso y de la condición del sujeto que es tratado y de la ruta particular de administración seleccionada como lo sabrán los expertos en la materia.

El segundo agente antimicrobiano y agente abatidor de

acidez pueden ser administrados con los compuestos en la misma manera que se discutió anteriormente para los compuestos de la invención. Así, dependiendo del agente particular, la administración puede ser oralmente en 5 aproximadamente 0.1 a aproximadamente 500 mg/kg, por ejemplo, a aproximadamente 1 a 3 gramos por día del segundo agente antimicrobiano, y aproximadamente 40 a 80 mg por día del agente abatidor de acidez, o por inyección a aproximadamente 0.1 a aproximadamente 200 mg/kg/día.

10 La presente invención se comprenderá adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplo 1: Aislamiento de lactona desde *Securidaca virgata*.

Se colectaron raíces de *Securidaca virgata* en San 15 Cristóbal de la República Dominicana. Una muestra testigo de las partes aéreas se envió al National Botanic Garden a fin de ser identificada. Secada al aire, las raíces trituradas y molidas (253 gramos) fueron extraídas en un aparato Soxhlet. El extracto frío se filtró y luego se concentró al vacío (55 20 °C) para dar como resultado un líquido con consistencia de jarabe (29.76 g) que significaron 11.76 % de rendimiento. Este jarabe (28 g, probado microbiológicamente) se trató con 300 ml de ácido sulfúrico 0.5 M y se agitó por 4 horas y luego se extrajo en una extracción líquido-líquido con

174
174

cloroformo sucesivamente hasta que el jarabe se separó de la materia soluble del cloroformo ácido. Luego se basificó la fase hidrosoluble con hidróxido de amonio al 20 % (pH = 8-9) y la fase hidrosoluble se extrajo otra vez con cloroformo. El
5 extracto de cloroformo se concentró al vacío (50 °C, para producir un extracto de 5.92 g (rendimiento = 21.14 % con respecto al extracto crudo y 2.33 % con respecto a las raíces extraídas). Los 5.92 g tuvieron una pureza de 95.34 %
de LMSV-6. El extracto de cloroformo final (5.92 g) fue
10 cromatografiado en alúmina básica (63 - 150 µm) y se eluyó con una mezcla de éter de petróleo-acetato de etilo (30:70).

Se concentraron las fracciones colectadas para tener una sustancia líquida clara pura LMSV-6(1). Las fracciones cromatográficas 72-97 (674 mg) de la columna cromatográfica
15 líquida en donde (1) que se aislaron fueron otra vez cromatografiada para obtener un líquido coloreado en ámbar (2). Los compuestos (1) y (2) fueron entonces probados en bioensayos.

El análisis espectroscópico produjo los siguientes datos
20 para el compuesto (1):

DATOS FISICOS

DENSIDAD RELATIVA: 1.070 g/ml pH = 5.853

1.070 g/ml 20ul
ml

INDICE DE REFRACCION = 1.471

DATOS ESPECTRALES

175
175

Espectrometría de masa: MS m/z (rel. Int.): ión molecular 98.0 [M⁺], (54), 68 (100), fórmula molecular C₅H₆O₂.

Espectroscopía Infraroja (IR): 1761.6 cm⁻¹ (lactona), 1667 cm⁻¹ (C=C) 810 cm⁻¹ (C=CH₂).

5 Resonancia Magnética Nuclear Protónica (NMR ¹H, 200 MHz, CDCl₃: δ 2.98 ppm (2H multiplete), 4.37 ppm (1H triplete, J = 7.4 Hz), 5.65 (1H triplete, J = 2.6 Hz), 6.22 (1H triplete, J= 2.6,)

Resonancia Magnética Nuclear con Carbono 13 (NMR ¹³C 200
10 MHz, CDCl₃): δ 170.7 (C-1), 133.3 (C-2), 27.4 (C-3), 65.5 (C-4), 122.2 (C-5).

Experimentos de Doble Resonancia Magnética Nuclear Protónica (Irradiaciones) Experimentos de doble Resonancia Magnética Nuclear Protónica mostraron acoplamiento entre cada
15 uno de los protones existentes. Protones exocíclicos metilénicos δ (5.65 y 6.22), la irradiación de C-3 mostró acoplamiento con C-4 y de esta manera se determinó la conectividad de todos los protones de (1).

El análisis espectroscópico produjo los siguientes datos
20 para el compuesto (2):

Espectrometría de Masa: 130.0 (M⁺, 3), 113 (M⁺ -OH, 12), C₆H₁₀O₃.

Resonancia Infraroja (IR): 3614.6 cm⁻¹ (OH), 1629 cm⁻¹ (C=C) 1150.9 (-CO-OCH₃), 810 cm⁻¹ (C=CH₂).

176
176

Espectrometría por Resonancia Magnética Nuclear Protónica (200 MHz, CDCl₃): δ 2.54 ppm (2H td J = 6.26 Hz), 3.73 (s), 3.72 (2H, t J= 6.26 Hz), 5.65 (1H t, J = 1.2 Hz), 6.21 (1H t, J = 1.2 Hz).

- 5 *Espectrometría por Resonancia Magnética Nuclear con Carbono*¹³ (200 MHz, CDCl₃): δ 167.8 (C-1), 137.2 (C-2), 35.4 (C-3), 61.3 (C-4), 127.3 (C-5), 51.93 (C-6).

Las ampollitas que consisten de una composición farmacéutica que contiene el compuesto de la fórmula 1

- 10 (LMSV-6) tuvieron los siguientes ingredientes:

Cantidad Original: 750 Amp		
<u>Material crudo</u>	<u>Peso</u>	<u>UM</u>
LMSV-6	51.7900 ml	6.27 %
Aceite de sésamo	760.8200 ml	92.20 %
15 Alcohol Bencílico		
U.S.P.	12.3750 ml	1.50 %
Volumen total	824.9850 ml	99.97 %

Ejemplo 2: Ensayos para Actividad Antibacteriana

- El material obtenido en el Ejemplo 1 se cribó para
20 actividad antibiótica contra *Staphylococcus aureus*,
Pseudomonas aeruginosa, *Escherichia coli*, y *Klebsiella pneumoniae*.

Materiales y Métodos:

Solvente: Regulador de Fosfato 0.1 N, pH = 8.0

177
177

Antibiótico: LMSV-6 Puro

Medio de recubrimiento: 2 ml/100 ml

Inóculo: 4 ml/ Caja de Petri

Preparación del Medio de Cultivo:

5 Medio de Cultivo para *Staphylococcus aureus* (USP 23 < 81
>)

Peptona	1.0 g
Caseína pancreática digestiva	4.0 g
Extracto de levadura	3.0 g
10 Extracto de Carne de Res	1.5 g
Dextrosa	1.0 g
Agar	15.0 g

PH después de esterilización 6.6 ± 0.01

15 Medio de Cultivo para *Pseudomona aeruginosa* (USP 23 < 81
>)

Caseína digestiva pancreática	17.0 g
Papaína digestiva de soya	3.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Fosfato de potasio dibásico	2.5 g
20 Dextrosa	2.5 g
Agar	20.0 g
Agua c.b.p.	1.0 Lt.

PH después de esterilizado de 7.2 ± 0.1

Medio de Cultivo para *Escherichia coli* y *Klebsiella*

34

178
178

pneumoniae (USP 23) <81>

- 5
- Peptona5.0 g
- Extracto de Levadura1.5 g
- Extracto de Carne de Res1.5 g
- Cloruro de Sodio3.5 g
- Dextrosa1.0 g
- Fosfato de Potasio Dibásico3.68 g
- Fosfato de Potasio Monobásico1.32 g
- Agua c.b.p.1.0 Lt.
- 10
- PH después de esterilizado 7.0 ± 0.05

15

Concentración
(µl/10 ml)

Bacteria	MMSV-6 (Puro)	0	20	30	40	Ciprof	osf	is (-)	Dis (+)
E.coli	30 (mm)	-	-	-	-	28	10	-	-
Kleb.	40	-	-	-	-	26	22	-	-
Ps.A	30	-	-	-	-	12	6	-	-
St.a	30	-	-	-	-	20	18	-	-
Str.P.	-	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

La unidad para medir la zona de inhibición es milímetros

20

(mm)

Ciprof = Disco de sensibilidad a Ciprofloxacina de 5 microgramos

Fosf = Disco de sensibilidad a Fosfomicina de 50 microgramos

Dis(-) = Disco de sensibilidad con ninguna sustancia aplicada

Dis(+) = Disco de sensibilidad con 20 microlitros de Tween 60 al 2 %.

5 N/A = No se hizo la prueba

Los microorganismos usados fueron estandarizados por American Type Culture Collection (ATCC), usados en primera generación:

E. coli ATCC 352 18, Lote 202602, Exp. 05/2000 (19-258)

10 *Kleb, *Klebsiella pneumoniae*, ATCC 13882, Lote 202 174, Exp 02/2000 (19-152)

*Ps. A, *Pseudomona aereoginosa* ATCC 27853, Lote 202992, Exp 08/2000 (19-060)

*St. A, *Staphylococcus aureus* ATCC 12598, Lote 202564, 15 Exp 05/2000 (19-137)

**Str. P, *Streptococcus pyogenes*, ATCC 21547, Lote 202691, Exp 06/2000 (19-190)

* = oxígeno atmosférico, Temp = 35 ± 2 °C

** = CO₂ atmosférico, Temp = 35 ± 2 °C

20 Resultados

5 microlitros de LMSV-6 inhiben el crecimiento de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeroginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Diluciones:

180

10 microlitros/10 ml, (0.001 microlitros/ml)
20 microlitros/10 ml, (0.002 microlitros/ ml)
30 microlitros/10 ml (0.003 microlitros/ ml)
y 40 microlitros/ml (0.004 microlitros/ml)

5 de LMSV-6 en 10 ml de Tween 60 - 2 % no exhibió
inhibición del crecimiento bacteriano, lo que indica que
estas concentraciones son inferiores a la concentración
Inhibidora Mínima (MCI).

Ejemplo 3: Determinación de la Concentración Inhibidora
10 **Bacteriana Mínima, MIC, (*Sarcina lutea*) y LMSV-6**

Materiales y Métodos.

Metodología: Se vertió en placa, medio Mueller Hinton pH
= 8

Regulador pH = 8 para dilución del patrón de Ceftriaxona
15 Tween 20 al 2 % para dilución de LMSV-6
Microorganismo: *Sarcina lutea*

Muestra(s): LMSV-6 (16.0 microlitros/100 ml y 10
microlitros aplicados al disco de sensibilidad).

Metodología: Se vertió en placa, medio de Mueller Hinton
20 pH = 8

Regulador de pH = 8 para dilución del patrón de
ceftriaxona

Tween 20 al 2 % para dilución de LMSV-6

Microorganismo usado: *Sarcina lutea*

25 Muestra(S): LMSV-6 (10 microlitros/ml y 20 microlitros

37

181
181

aplicados al disco de sensibilidad)

Patrón de Control (P): Ceftriaxona (disco con 10 mcg)

Resultados:

5 VOLUMEN APLICADO A DISCO ZONA DE INHIBICION

5 microlitros 42.0 mm

1.6 microlitros 20.0 mm

No hubo zona de inhibición significativa, por
consiguiente la Concentración Inhibidora Mínima está cerca de
10 0.2 microlitros de LMSV-6. El MIC aproximado es 0.2
microlitros de LMSV-6, 3.3 mm de inhibición.

Ejemplo 4: Tratamiento in vivo de Infección Bacteriana

Se infectaron ratas en cirugía y luego se trataron
exitosamente con LMSV-6 usando dosis calculadas con base en
15 la comparación con ceftriaxona.

Ejemplo 5: Ensayos para Actividad Anti-neoplástica

Materiales y Métodos:

Hay un gran número de ensayos biológicos que requieren
la medida de la supervivencia o de la proliferación de las
20 células de mamífero. Esto puede lograrse por diferentes
métodos, por ejemplo, conteo celular que excluye o incluye un
colorante; la medición de la proteína marcada con ⁵¹Cr
liberada después de lisis celular; y medición de la
incorporación de la [³H] timidina radioactiva de nucleótidos

38

182
192

radioactivos o [^{125}I] iododesoxiuridina durante la proliferación celular. Las células visibles pueden medirse al usar cualquiera de varios métodos de tinción, pero un método más seguro es el espectrofotómetro de exploración multipocillos (lectores de ELISA) el cual puede medir gran número de muestras con un alto grado de precisión.

Se usó un ensayo colorimétrico para detectar células vivientes, que utiliza un substrato incoloro que es modificado hasta un producto coloreado por cualquier célula viviente, pero no por células muertas o medios de cultivo de tejidos. El ensayo usa sales de Tetrazolium MTT [bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium] para medir la actividad de varias enzimas deshidrogenasas (Slater y colaboradores 1963). El anillo tetrazolium es fragmentado por medio de la mitocondria activa, de modo que la reacción solo tiene lugar en células vivientes. La fragmentación de MTT en Formazan por medio del succinato deshidrogenasa de la enzima mitocóndrica produce un compuesto coloreada de azul oscuro (Formazán) cuya cantidad es proporcional al número de células presentes. La concentración de Formazán en un gradiente de concentraciones de LMSV-6 puede medirse por medio del espectrofotómetro de exploración multipocillos (lector de ELISA). Se usó entonces el análisis de datos para establecer la cantidad inhibidora del 50 % (IC_{50}), el cual es

un parámetro cuantitativo de actividad antineoplástica. Se probaron diferentes líneas celulares cancerosas a fin de medir indirectamente la citotoxicidad o la actividad antineoplástica (células sobrevivientes) de LMSV-6. Las 5 líneas celulares cancerosas que se probaron también incluyen HEP 2 (carcinoma de Laringe) y HELA (carcinoma de Cérvix).

MATERIALES:

Medio de cultivo (DMEM + all)

EDTA

10 Tripsina-EDTA

DMEM + ALL y Suero reciente de ternera al 10 %.

Dimetil sulfoxida

MTT [bromuro de 3- (4, 5- dimetiltiazol- 2- il)- 2, 5- difenil tetrazolium]

15 Espectrofotómetros de exploración multipocillos
(lectores de ELISA)

METODOS:

Se cultivaron las células usando técnicas estándares.

Ver, por ejemplo, R. Ian Freshney "Culture of Animal Cells" A
20 Manual of Basic Technique (Alan R. Liss, Inc. New York,
Segunda Edición) pág. 245-256.

Se determinó la evaluación de la inhibición del crecimiento celular de conformidad con los métodos de Skehan y colaboradores, J. Nat. Cancer Inst. 82, 1107 (1990). Las

células se plaquearon entre 400 y 1200 células/ pocillo en placas de 96 pocillos y se incubaron a 37 °C por 15 - 18 horas antes de la adición del fármaco para permitir la fijación de las células.

LSV-6

5 Los compuestos probados se solubilizaron en DMSO al 100 % y se diluyeron adicionalmente en RPMI-1640 que contenía 10 mM de HEPES. Cada línea celular se trató con 10 concentraciones de compuestos (intervalo de 5 log). Después de 72 horas de incubación, se añadieron a cada pocillo 100 ml
10 de TCA al 50 % enfriado con hielo y se incubaron por 1 hora a 4 °C. Las placas se lavaron 5 veces con agua corriente para remover el TCA, abatir los metabolitos de bajo peso molecular y las proteínas de suero. Se añadió a cada pocillo sulforodamina B (SRB) (0.4 %, 50 ml). Después de 5 minutos de
15 incubación a temperatura ambiente, las placas se enjuagaron 5 veces con ácido acético al 0.1 % y se secaron al aire. El colorante enlazado se solubilizó con 10 mM de Tris Base (pH 10.5) por 5 minutos sobre un agitador giratorio. Se midió la densidad óptica a 570 nm.

20 Ver también Gerlier, y colaboradores, J. Immunol. Meth. 94, 57-63 (1986); Slater, y colaboradores, Biochim. Biophys. Acta, 77, 383- 393 (1963); Kasugai, y colaboradores, Japan J: Pharmacol. 52, 95- 100 (1990); Mosmann J. Immunol. Methods, 65, 55-63 (1983); Denizot, y colaboradores, J. Immunol.

185
185

Methods, 89, 271-277 (1986).

Los datos se ajustaron con el modelo de Efecto de la concentración a Emax de Sigmoid (ver Holford, N. H. G.: Scheiner, L. B. "Understanding the dose-effect relationship: Clinical applications of pharmacokinetic-pharmacodynamic models," Clin. Pharmacokin. 1981, 6, 429-453) con regresión no lineal, ponderado por medio del recíproco del cuadrado de la respuesta predicha. El programa de ajuste fue desarrollado por el Roswell Park Institute con Microsoft FORTRAN, y usos del algoritmo de Marquardt (ver Marquardt, D. W., "An algorithm for least squares estimation of nonlinear parameters", J. Soc. Ind. Appl. Math. 1963, 11, 431-441) como adoptó Nash J. C., "Compact numerical method for computers: Linear algebra and function minimization". John Wiley & Sons, New York, 1979) para la regresión no lineal. Se calculó la concentración de fármaco que dio como resultado la inhibición del 50 % de crecimiento (IC_{50}).

Resultados:

ENSAYO CITOTOXICO DE LMSV-6 EN LA POBLACION CELULAR DE HEP-2 DE 10^5 Células/ml (CARCINOMA DE LARINGE)

$$r = 0.9878$$

$$IC_{50} = 10.38 \mu/ml.$$

ENSAYO CITOTOXICO DE LMSV-6 EN LA POBLACION CELULAR DE HEP-2 DE 10^6 Células/ml (CARCINOMA DE LARINGE)

42

186
176

$$r = 0.9941$$

$$IC_{50} = 37.37 \mu\text{g/ml}$$

ENSAYO CITOTOXICO DE LMSV-6 EN LA POBLACION CELULAR DE
HELA DE 10^5 Células/ml (CARCINOMA DE CERVIX)

5 $r = 0.9950$

$$IC_{50} = 7.37 \mu\text{g/ml} \checkmark$$

ENSAYO CITOTOXICO DE LMSV-6 EN LA POBLACION CELULAR DE
HELA DE 10^6 Células/ml (CARCINOMA DE CERVIX)

$$r = 0.9941$$

10 $IC_{50} = 27.30 \mu\text{g/ml} \checkmark$

Ejemplo 6: Pruebas para la Inhibición de H. pylori

Materiales y Métodos

Dilución en Agar de Compuesto Antimicrobiano: se solubilizaron 6 mg del compuesto a ser evaluado en 0.6 ml de dimetilsulfoxida al 100 % (DMSO) y luego se llevó hasta 6 ml con caldo brucelar estéril. La concentración final de DMSO es 10 % del volumen total. Se hicieron series de diluciones de dos veces (3 ml de LMSV-6 + 3 ml de caldo brucelar) en caldo brucelar estéril. Una alícuota de 2 ml de cada dilución del
caldo en las series se colocó en placas de Petri estériles por separado, al cual se añadieron 18 ml de agar brucelar fundido y enfriado (aproximadamente 50 °C) suplementado con sangre de caballo al 7 %. Esto produjo una dilución final de 1: 10 de LMSV-6 en agar, y una concentración final de DMSO de

43

187
187

1 %. Por ejemplo, si las concentraciones superiores de fármaco en agar son 100 µg/ml. Las placas de agar pueden prepararse un día antes al inocular, y refrigeradas toda la noche.

- 5 Preparación del inóculo: se mantuvieron cultivos de *Helicobacter pylori* sobre placas de agar sangre de oveja al 5 %- soya tripticasa, y se transfirieron cada 48 horas. Cultivos de *Helicobacter mustelae* se mantuvieron sobre el mismo agar y se transfirieron cada 48 - 60 horas, dependiendo
- 10 de la extensión del crecimiento de la transferencia previa. Las placas se incubaron a 37 °C en jarras de GasPak con CampyPak Plus (10 ml) activado con agua (BBL Microbio. Systems) envuelto con catalizador de paladio.

- Cultivos de *Helicobacter* se hicieron crecer en caldo
- 15 brucelar suplementado con suero de ternera fetal al 10 % en volúmenes de 10 ml en placas de Petri profundas. Las placas se incubaron por 18 - 20 horas a 37 °C en jarras de GasPak con CampyPak Plus (10 ml) activado con agua envuelto en catalizador de paladio en un agitador a 50 rpm.

- 20 Se cultivaron toda la noche (aproximadamente 10^8 CFU/ml), se diluyeron 10 veces en caldo brucelar (no FCS) en tubos con tapa de rosca para uso como el inóculo estándar. Los pocillos de un replicador Steer se llenaron con 0.8 ml del organismo diluido, y aproximadamente 2×10^4 células en

44

0.002 ml se colocaron sobre la superficie del agar. Las placas inoculadas se colocaron en una jarra de GasPak a la cual se añadió Campy Pak Plus (10 ml) activado con agua envuelto con catalizador de paladio, y se incubaron a 37 °C, por 48 horas.

Resultados:

Después de incubación, todas las placas de prueba se compararon a una placa control de crecimiento libre de LMSV-6. La MIC es la concentración que inhibe el crecimiento en comparación con la placa control. En esta película de crecimiento debe de ser visible en concentraciones más altas pero esto se descuenta, y no se considera el verdadero MIC. Los organismos control se inocularon también sobre cada placa, y éstos se diluyeron mil veces para uso como inóculo. El organismo control incluye *Campylobacter jejuni*, y los cultivos cribados de *E. Coli* [ATCC 35218, Lote 202602, Exp 05/2000 (19-258)], *Pseudomona aeruginosa* [ATCC 27853, Lote 202992, Exp 08/2000 (19-060)], *E. Cloacae*, *Providencia stuartii* y *P. Rettgeri*. Las transferencias de placas y/o del inóculo no deberían estar afuera del ámbito microaerofílico más de 2 horas. Todas las manipulaciones que involucran cultivos de *Helicobacter* se efectuaron en una campana de flujo laminar para disminuir la oportunidad de contaminar los cultivos con moho.

El modelo de ratón de Lee y colaboradores, Gastroenterology, 99, 1315 - 23 (1990) se usó para predecir la actividad in vivo de un compuesto contra *H. pylori* en humanos.

- 5 Se desarrolló *Helicobacter felis* en caldo brucelar con suero bovino fetal al 10 %. Un cultivo congelado se descongela rápidamente; el cultivo se verifica por movilidad y se inoculan 0.5 ml del cultivo congelado descongelado en una placa de cultivo de tejido profunda que contenía 9.5 ml
- 10 de la mezcla de suero/brucela. Las placas son puestas en una jarra de Capy Pak [BBL] para asegurar una atmósfera microaerofílica. La jarra es puesta sobre un agitador rotatorio a 60 RPM en una incubadora a 37 °C. Después de 18 horas hubo turbidez visible. El cultivo se verificó para
- 15 pureza y movilidad bajo un microscopio (fas) y luego se conjuntó en un matraz. Se ayunaron ratones hembras Swiss-Webster (18-20 g) por 18 horas antes de infección. Los ratones se infectaron tres veces en días alternados durante una sola semana. Las dosificaciones comenzaron dos semanas
- 20 después de la última dosis de organismo. Los tratamientos se dieron una vez por día por catorce días consecutivos. El sacrificio fue aproximadamente tres semanas después de completar la terapia. Por cada ratón, se extirpó el estómago y se abrió a lo largo de la curvatura más grande. Se tomó un

190
190

trozo (una sección de tejido de 3 mm) desde la región del antrum del estómago. El trozo alisado se lavó, se adelgazó, y se goteó en un tubo con 100 microlitros de reactivo de ureasa. El reactivo de ureasa (pH 6.3 - 6.5) contiene urea y rojo de fenol. Si está presente *Helicobacter*, la ureasa obstaculizará que la urea produzca un cambio de pH. Púrpura (alcalina) es positiva para *Helicobacter*; rojo/ amarillo (ningún cambio) es negativo. Cualquier cambio de color se registra después de 18 horas. Usualmente hay veinte ratones por grupo de tratamiento; se registra el porcentaje positivo para cada grupo.

Hay varios métodos usados clínicamente para determinar si está presente *Helicobacter pylori* en un sujeto humano. Estos se emplearon para diagnóstico inicial de infección antes del tratamiento, así como también para determinar el éxito del tratamiento al erradicar el organismo del paciente.

La prueba de respiración de urea involucra la ingestión de urea radiomarcada. *H. pylori* produce una enzima ureasa que degrada la urea; las células gástricas de mamífero no contienen esta enzima. La exhalación de dióxido de carbono marcado (analizado por espectrometría de masa o radioactividad, dependiendo del isótopo empleado) por consiguiente indica que está presente *H. pylori*.

Puede también usarse la serología para evaluar la infección con *H. pylori*. La detección de anticuerpos de suero

47

191

para *H. pylori*, tales como IgG e IgA, se lleva a cabo usando el ensayo inmunosorbente relacionado con la enzima (ELISA). Numerosas proteínas de *H. pylori* diferentes pueden emplearse como antígenos.

- 5 La endoscopia del paciente proporciona muestras de tejido que pueden ser cultivadas en un ámbito microaerofílico para diagnosticar infección por *H. pylori*. Alternativamente, la muestra puede ser examinada histológicamente empleando una de numerosas tinciones tales como Giemsa o hematoxilina-eosina. Puede también aplicarse una prueba de urea que toma
10 ventaja de la producción de ureasa por *H. pylori*. Esta prueba depende de la formación de amoníaco desde la hidrólisis de urea, lo cual da como resultado un cambio observable en el pH, que es un indicador de la erradicación de *H. pylori*.

15 **Resultados:**

La comparación de la condición del paciente por endoscopia antes y después del tratamiento con el compuesto del ejemplo 1 ha mostrado una disminución o ausencia de *H. pylori*.

20 **Ejemplo 7: Determinación de Actividad Fúngica**

Materiales y Métodos:

METODOS

La actividad anti-fúngica del Producto puede determinarse como sigue.

- 25 Se usaron ratones machos que pesaron 18 a 22 gramos y se

48

192
192

administró una cantidad de *Candida Albicans* 44858 en una vena en la cola en la proporción de 10^6 CFU por ratón (CFU: unidad formadora de colonia). Se separaron los ratones en 5 lotes de 5 ratones y se trataron de la siguiente manera:

5 Una hora después de inyección

grupo 1: se trataron los ratones con producto a 25 mg/kg oralmente

grupo 2: se trataron los ratones con producto intraperitonealmente a la dosis de 25 mg/kg

10 grupo 3: se trataron los ratones oralmente con Ketoconazol a 25 mg/kg

grupo 4: se trataron los ratones intraperitonealmente con Ketoconazol en una dosis de 25 mg/kg

15 grupo 5: los ratones no recibieron ningún tratamiento anti-fúngico.

Se contaron los ratones muertos durante un período de 22 días.

Resultados:

La actividad de producto fue excelente en la dosis usada en los dos métodos de administración. Los mismos tratamientos fueron también efectivos en el "modelo tópico" con hongos dérmicos, por ejemplo trichophyton, y en el modelo subletal.

Concentración Inhibidora Mínima (MIC)

Se prepararon células de *Candida albicans* como se indica en J. Antimicrobial Chemotherapy 38, 579 - 587, y se lavaron

Resultados.

49

193
193

3 veces con una solución de fosfato 0.1 M y se usaron inmediatamente para determinar la concentración inhibidora mínima (MIC). Las MICs se determinaron por modificación de una placa de microtítulo de conformidad con el método estándar de los estándares clínicos de laboratorio del Comité Nacional.

RPMI-1640, y L-glutamina regulada a pH 7 con una solución 0.15 M de MOPS (ácido 3- [N- morfolino] propan sulfónico). Se añadieron células de *Candida albicans* (1.5×10^3 células/ml) a los pocillos de una placa de 96 pocillos que contenían RPMI-1640 y diluciones de agentes anti-fúngicos. Los resultados fueron leídos 48 horas después de incubación a 35 °C y se determinó la MIC o concentración inhibidora mínima que inhibió el crecimiento de células de *Candida albicans*.

Concentración Fungicida Mínima

Después de la lectura de MIC a 48 horas, las placas fueron agitadas y 10 µl de alícuotas por pocillo se removieron de los pocillos, los cuales fueron colocados sobre discos rectangulares que contenían azúcar de dextrosa. Las placas fueron incubadas por 48 horas a 35 °C y la concentración fungicida mínima y la concentración del agente anti-fúngico a la cual no hubo número de unidades formadoras de colonias.

50

194
194
datos

Se hicieron ensayos concomitantes donde LMSV-6 mostraron alta actividad contra *Candida albicans*.

Ejemplo 8: Tratamiento de Enfermedades Periodónticas

Se encontró que el LMSV-6 fue efectivamente selectivo
5 contra organismos gram negativos anaeróbicos específicos asociados con gingivitis, cuando se aplicó localmente en la encía afectada.

La concentración inhibidora mínima (MIC) necesaria para matar *Bacteroides assaccharolyticus* (cepa Forsyth), se
10 determinó de acuerdo con el procedimiento de Walker y colaboradores (Antimicrobial and Chemotherapy, Vol. 16, p. 452 - 457, (1979), está entre 6 a 60 microgramos por ml. El valor de la MIC para *B. Gingivalis* es de 6 microgramos por ml. El valor de MIC para *B. Gracilis* y *Fusobacterium*, otro organismo
15 gram negativo es de aproximadamente 25 para cada uno; y el valor de MIC para el organismo gram positivo *Actinomyces viscosus* es 60 para la cepa aeróbica y de 60 para la cepa anaeróbica.

20

25

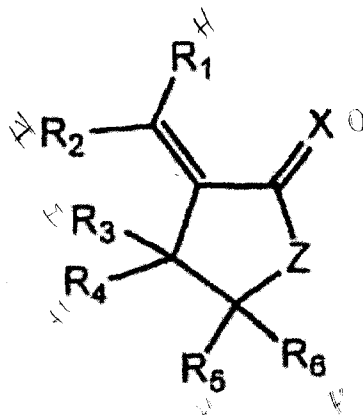
51

195
195

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende una gamma lactona alfa-metileno que tiene la fórmula química:

5



10

Fórmula Ia

en donde

- R_1 - R_6 tomados independientemente o R_1 - R_6 tomados juntos son un átomo de hidrógeno o un grupo o agrupación seleccionada del grupo que consiste de alquilo, alquilo substituido, alquenilo, alquenilo substituido, alquinilo, alquinilo substituido, fenilo, fenilo substituido, arilo, arilo substituido, heteroarilo, heteroarilo substituido, halogeno, hidroxilo, ^{alcoxi} alcoxi, ^{alcoxi} alcoxi substituido, fenoxi, fenoxi substituido, aroxi, aroxi substituido, alquiltio, alquiltio substituido, feniltio, feniltio substituido, ariltio, ariltio substituido, ciano, isociano, ^{H-N=C=O} isociano, ^{H-N=C=O} isociano substituido, carbonilo, carbonilo substituido, carboxilo, carboxilo substituido, amino, amino substituido, amido, amido substituido, sulfonilo, sulfonilo substituido, ácido

25

52

-PO-

5 sulfónico, fosforilo, fosforilo sustituido, fosfonilo, fosfonilo sustituido, poliarilo, poliarilo sustituido, grupos C₁-C₂₀ cíclicos, C₁-C₂₀ cíclicos sustituidos, heterocíclicos, heterocíclicos sustituidos, aminoácidos, péptidos y grupos polipéptidos;

10 R₃-R₆ tomados juntos son fenilo, fenilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, poliarilo, poliarilo sustituido, C₁-C₂₀ cíclicos, C₁-C₂₀ cíclicos sustituidos, heterocíclicos, heterocíclicos sustituidos;

15 Z es un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste de oxígeno, azufre, o nitrógeno agrupados en forma estructurales lineales, ramificados o cíclicos; y

20 X es un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste de oxígeno, azufre, o nitrógeno agrupados en forma estructurales lineales, ramificados, o cíclicos.

2. La composición de la reivindicación 1, que además comprende un portador farmacéuticamente aceptable para administración parenteral, enteral o tópica.

25 3. La composición de la reivindicación 2, que comprende una

cantidad efectiva de lactona para tratar un trastorno de proliferación.

4. La composición de la reivindicación 3, donde el trastorno
5 de proliferación es cáncer.
5. La composición de la reivindicación 2, que comprende una cantidad efectiva de lactona para tratar una infección.
106. La composición de la reivindicación 5, donde la infección es bacterial.
7. La composición de la reivindicación 5, donde la infección es fúngica.
- 15
8. La composición de la reivindicación 2, que comprende una cantidad efectiva de lactona para tratar una enfermedad de úlcera péptica.
209. La composición de la reivindicación 5, donde la enfermedad de úlcera péptica está vinculada con la presencia de Helicobacter pylori.
10. La composición de la reivindicación 2, donde el portador
25 para administración oral es seleccionado del grupo que

198
198

consiste de un enjuague bucal, pastilla para chupar, tabletas, cápsulas, soluciones, suspensiones, gránulos, o colombinas.

511. La composición de la reivindicación 2, donde el portador para administración tópica es seleccionado del grupo que consiste de un supositorio, ungüento, crema, gel, pasta, colodión, glicerogelatina, linimento, loción, emplastos, polvos, cintas, parches, aerosoles soluciones o tintura.

10

12. La composición de la reivindicación 1, donde el método de aislamiento es extracción seguida por cromatografía.

13. La composición de la reivindicación 1, donde la lactona es producida por un método que comprende:

15

a. Proveer un precursor que tienen una estructura lactona,
Y

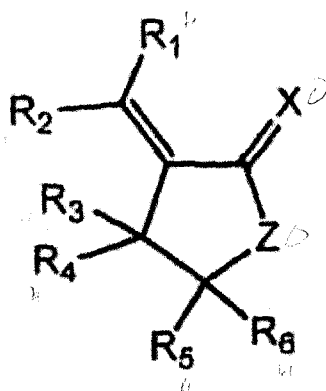
- b. Reaccionar el precursor con uno o más reactivos químicos para proveer un producto que tiene un grupo metileno en la posición α de la estructura de la lactona.

20

14. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 donde la lactona es definida por la estructura:

25

55



Fórmula Ia

en donde R_1 - R_6 son átomos de hidrógeno; Z es un oxígeno y X es un oxígeno

15. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 donde X es oxígeno.

1516. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 donde R_5 es un metileno exocíclico.

17. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 donde la lactona es aislada de *Securidaca virgata*.

20

18. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 donde la lactona está presente en una cantidad efectiva para el tratamiento del dolor.

2519. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 donde la

201
201RESUMEN DE LA INVENCION

Se describen compuestos de Fórmulas (Ia) y (Ic) que
5 tienen una estructura lactona y un grupo metileno en la
posición alfa de la estructura lactona y métodos para usar y
elaborarlos. Los compuestos de lactona pueden hacerse
reaccionar con un agente nucleofílico para abrir el anillo
lactona a un compuesto de Fórmula (Ib). La lactona de Fórmula
10 (Ia) y sus derivados funcionales se han aislado de *Securidaca*
virgata. Los compuestos purificados han demostrado actividad
en ensayos para actividades anti-bacteriana y anti-fúngica, y
para tratar trastornos de proliferación tales como el cáncer.

58