



100038

168838

EB/

MEMORIA DESCRIPTIVA

Para una patente de Invención, por 20 años, por: = Procedimiento para la obtención de combinaciones de la hormona del páncreas que rebaja el azúcar de la sangre = a favor de la razón social Schering A. G., residente en Berlin (Alemania) Müllerstrasse, 170/172. =

=/=/=/=/=/=/=/=

La obtención de combinaciones de acción retardadora de la hormona que rebaja el azúcar de la sangre (de la insulina) es ya conocida. Así por el procedimiento de la patente inglesa 456 101, haciendo reaccionar insulina con una protamina y según ya se ha descrito más detenidamente en la literatura científica (Kli. Wo. 1938. 443) haciendo reaccionar insulina con bis-2-metil-4-aminoquinolil-6-carbámidá (Surfen) se obtienen las indicadas combinaciones. También en la patente norteamericana 2. 179 384 del 7. 11. 39 se ha citado para este objeto una insulina de protamina y cinc; en la patente también norteamericana 2. 161 198 del 6.6. 39 se ha citado otra insulina de globina y cinc.

Las combinaciones de insulina con o sin cinc, con la protamina y con la globina tienen el inconveniente de que la insulina está unida a una albúmina extraña al organismo humano y no indiferente a él. (Véase Ueber y Me. Kli. Wo. 1938 nº 13, p. 443, sec. 2 y p. 445).

En unión con surfen la insulina se fija en un producto introducido como antiséptico profundo y superficial que no es en absoluto indiferente. Ammon. (Dtsch. Ned. Wo. 1938, cuaderno 39, p. 1392 ss). Banse (Med. Welt, 1938, cuaderno 38) Beckmann y Weitzsöcker, (Kli. Wo. 1938, nº 38 p. 1321 ss, especialmente p. 1324) W. Beckert, (Mf. Med. 1938

168838

168838



nº 41, p. 1594 ss, especialmente p. 1596) informan todos de fenómenos más o menos fuertes de irritación después de la inyección con insulina depot "Bayer" (surfen-insulina). También la insulina nativa (Kli. Wo. 1939 nº 24, p. 837. sec. 6 y 7) contiene una cantidad de albúmina elevada aunque al parecer nativa, la cual puede siempre dar ocasión a fenómenos de urticarias en la piel y a infiltrados. Ahora bien, se ha descubierto que estos inconvenientes pueden evitarse fácilmente cuando según el invento se hace reaccionar la insulina con derivados básicos de la misma, en especial con esteres de insulina, como los que pueden prepararse según Carr. y Me. Biochem, H. t. 23, p. 1010 ss (1929) o según Freudenberg, Hoppe Seyler's Zeitschrift f. physiol. Chemie, t. 202 p. 133-136 y p. 149-151 (1931).

Esta reacción se verifica preferentemente de modo que se haga reaccionar la insulina con el ester, dado el caso en presencia de combinaciones metálicas que formen complejos con el amoníaco y sean fácilmente solubles en presencia de iones cloro, como son las del cobre, níquel, cobalto, pero sobre todo las que no muestran cambio de valencia, como el cinc o el magnesio, en disolución acuosa o en disolventes orgánicos acuosos, por ejemplo alcohol diluido. Pero también la disolución del ester de insulina puede hacerse actuar en un disolvente insoluble en agua sobre la disolución acuosa o acuoso-alcohólica de la insulina y precipitar la combinación originada ajustando la mezcla de reacción a un pH de 6,6-7,2. Aquí al precipitar de la disolución acuoso-alcohólica pueden mejorarse los rendimientos por adición de un disolvente no miscible con agua, por ejemplo de éter, con lo cual puede mantenerse un campo de pH más amplio para la precipitación (pH de 4-8).

El que no se trata de una mezcla en el producto precipitado, sino de una nueva combinación y precisamente de combinaciones a modo de sales, en que la insulina funciona como ácido, se desprende del hecho de que por ejemplo con pH 7 es difícilmente insoluble tanto en agua como en alcohol acuoso de 50 - 70 %, mientras que la insulina sola o el ester de insulina solo en las mismas condiciones permanecen disueltos.

168838

168-838

3. -



1945

tos.

La nueva combinación se utiliza preferentemente en forma de sus-
pensiones con un pH de próximamente 7, pudiendo utilizar como medios
suspensores, además de agua, también disoluciones acuosas, como diso-
5 luciones fisiológicas de sal común, disoluciones salinas de suero y
además entre otros, líquidas orgánicas, como dietilina y aceites, como
aceite de hígado de bacalao, aceite de oliva, aceite de cacahuet, de
ricino, de sésamo, etc. El pH puede también sin embargo ajustarse en
disolución acuosa a 3,5-4 e inyectar así la disolución. En el tejido
10 gracias al suero se presenta un tope o tampón a un pH de unos 7 y sólo
en el tejido tiene lugar la precipitación del cuerpo depot.

Ejemplo /1/

Se disuelven 50 g de insulina crist. (con 20 un.int. por mg)
en 19,88 litros de ácido clorhídrico diluido (10 cm^3 de ácido clorhí-
15 drico normal por 1 litro). A la disolución se agregan 60 cm^3 de tricre-
sol y 160 cm^3 de una disolución de 17,5 g de ester de insulina en 1
litro de ácido clorhídrico n/100. Después de mezclar bien, se agrega
en gotas y agitando energicamente lejía de potasa caústica n/10 hasta
que se alcance un pH de 6,9 a 7,2. (Si estas operaciones se han reali-
20 zado de modo estéril, la suspensión acuosa entonces originada puede
introducirse directamente en ampollas esterilizadas con casquete o cie-
rre de goma. (Entonces pueden aplicarse inmediatamente).

Pero también puede separarse del modo usual el precipitado ori-
ginado, el insulate de ester de insulina, secarlo y con auxilio de los
25 aparatos conocidos suspenderlo por ejemplo en disolventes orgánicos,
como dietilina, aceite de hígado de bacalao, etc. Si estas operaciones
se realizan de modo estéril, las suspensiones en los indicados disol-
ventes orgánicos, que se distinguen por su buena inalterabilidad por
ejemplo en los trópicos, pueden introducirse directamente en ampollas.

30 Ejemplo /2/

Se procede como en el ejemplo 1, pero agregando 1 g de cloruro

168838

168838



4. =

cíncico anhídrido a la mezcla de insulina y de ester de insulina, antes de ajustar a pH 7.

Ejemplo /3/

50 g de insulina no cristalizada (correspondientes a 1 mill.un. int.) se disuelven en 20 litros de ácido clorhídrico n/100, que por litro contiene 3 cm³ de tricresol. Agitando enérgicamente se incorporan a esta disolución 5 g de ester de insulina finamente pulverizado y la mezcla de reacción se agita enérgicamente hasta disolución completa del polvo. Dicha mezcla de reacción se puede seguir tratando como se ha descrito en los ejemplos 1 ó 2. Sin embargo, el pH puede también ajustarse a 3,5-4 y si la disolución se ha preparado estéril, puede introducirse en ampollas. Si dicha disolución se inyecta, entonces gracias al suero se presenta en el tejido un efecto tampón sobre pH de unos 7 y el precipitado del cuerpo depot se realiza luego en el tejido.

15

Ejemplo /4/

50 g de insulina se disuelven en 20 litros de ácido clorhídrico n/100, que contiene 0,3 % de tricresol o 0,3 % de cloretón o 0,1 % de "nipagin" y luego agitando enérgicamente se agrega a gotas lejía de potasa cáustica n/10 hasta alcanzar un pH de 7, presentándose con pH 4-6 un precipitado que se redisuelve claramente con pH 7. Separadamente se prepara una disolución de ester de insulina (17,5 g por 1 litro) y a gotas se agrega lejía de potasa cáustica n/10 hasta un pH de 7,1. De esta disolución clara de insulina se introducen agitando enérgicamente 160 cm³ en la disolución de insulina. La suspensión entonces originada de la nueva combinación puede seguirse tratando como en el ejemplo 1.

20

25

Ejemplo /5/

200 g de insulina (con 60 g por un.) se disuelven en 20 litros de alcohol al 70 %, que por litros contiene 10 cm³ de ácido clorhídrico normal. Luego se disuelve en esta mezcla agitando enérgicamente 11 g de ester de insulina y a continuación y siguiendo la agitación se in .

30

168838

168838



5. -

5 corpora a gotas lejía de potasa cáustica n/10 hasta alcanzar un pH de 6,9 hasta 7,1. El precipitado entonces originado de la nueva combinación, se separa por centrifugación, y en la centrífuga se lava del modo conocido con una mezcla de alcohol y éter al 1 : 1 y luego con éter seco. Después de secar en el desecador, el precipitado pesa 148 g. Agregando el necesario alcohol al 96 % hasta que la bureta indique un contenido de 90 % de espíritu de vino y agregando 1,5 volúmenes de éter referidos a un volumen de la mezcla que contengan 90 % de alcohol, pueden aislarse todavía 62 g de la misma combinación.

10

Ejemplo /6/

15 100 g de insulina (con 18 un/mg) se disuelven en 50 litros de ácido clorhídrico n/100 y la disolución se ajusta con lejía de sosa cáustica 1/1 n a pH 7, redisolviéndose completamente el precipitado de insulina isoelectrica que entretanto se forma con pH 5. Al mismo tiempo se prepara una disolución de 20 g de ester de insulina en 15 litros de salicilato n/ de metilo. El pH de esta disolución es también de 7,0. Ambas disoluciones, que son claras, se echan una sobre otra, pudiendo observarse en el punto de contacto la formación de un precipitado. Agitando bien o sacudiendo en una sacudidora se obtiene un fuerte precipitado de finos grumos, permaneciendo el pH de la mezcla a 20 7,0. Después de detener la agitación o sacudimiento, se vuelven a separar dos capas líquidas y el precipitado de la nueva combinación puede aislarse del modo conocido.

25

Ejemplo /7/

30 200 g de insulina (de la misma calidad que en el ejemplo 6) se disuelven en 5 litros de agua clorhídrica con pH 2,5 hasta 3 y con lejía de sosa cáustica se ajusta la disolución a pH 7, redisolviéndose la insulina isoelectrica que entretanto se había precipitado con pH 5,6. Por adición de 15 litros de alcohol se obtuvo una disolución acuoso-alcohólica de unes 75 %. Para ello se agregó a la disolución 20 g

168838

168.838



6. -

de ester de insulina en 2-3 litros de etanol o en 15 litros de salici-
lato de metilo. El pH de la disolución del ester de insulina tenía tam-
bién 7,6. Antes de la mezcla las dos disoluciones eran claras. Al mez-
clar las dos disoluciones claras se presenta un precipitado que se se-
5 dimenta hermosamente en gruesos grumos. El precipitado se completa por
adición de 30 litros de éter. La nueva combinación se separa y seca
del modo usual. Rendimiento: 190 g. Para preparar el ester de insulina
puede también utilizarse una insulina menos estable de páncreas malo,
que puede prepararse de este páncreas malo por un procedimiento que per-
10 mite preparar fermentos e insulina del mismo páncreas.

N O T A

La presente patente, consta de las siguientes reivindicaciones:

1. - Procedimiento para la obtención de combinaciones de la hor-
mona del páncreas, que rebaja el azúcar de la sangre, con efecto retar-
15 dador, caracterizado porque se hace reaccionar la hormona con deriva-
dos básicos de la insulina, especialmente con esteres de insulina, da-
do el caso en presencia de combinaciones metálicas que con amoníaco
forman cuerpos complejos y son fácilmente solubles en presencia de
iones cloro, por ejemplo de cobre, cobalto, níquel y preferentemente
20 de los metales que no presentan cambio de valencia, como el cinc.

2. - Procedimiento según lo reivindicado en el punto 1, caracte-
rizado porque la reacción se realiza en disolución acuosa o acuosa -
alcohólica.

3. - Procedimiento según lo reivindicado en los puntos 1 y 2,
25 caracterizado porque como combinación metálica se emplea cloruro cin-
cico.

4. - Procedimiento según lo reivindicado en los puntos 1 á 3,
caracterizado porque para disolver el ester de insulina se emplea un
disolvente insoluble en agua.

30 5. - Procedimiento para la obtención de combinaciones de la hor-

168838-168.838



7. -

mona del páncreas que rebaja el azúcar de la sangre -

Según se describe y reivindica en esta memoria descriptiva.

La cual consta de siete hojas, foliadas y escritas por una sola de sus caras.

Madrid, a 2 de Febrero de 1945. -