

179389

353215



PATENTE DE INVENCION

por 20 años

por "Un procedimiento para la preparación de una sustancia fisiológicamente activa" - - - - -

a favor de: SHARP & DOHME, Incorporated, de nacionalidad norteamericana, domiciliada en PHILADELPHIA (Pennsylvania, Estados Unidos de América del Norte), North Broad Street, 640.

- - - - -

MEMORIA DESCRIPTIVA

Esta patente se refiere a preparados fisiológicamente activos, los cuales contienen un producto obtenido químicamente de materiales animales, tales como tejidos orgánicos, y especialmente a un producto nitrogenado, fisiológicamente activo y exento de proteína, derivado químicamente de esas materias animales, especialmente del páncreas y tejidos similares, producto exento de cantidades fisiológicamente apreciables de insulina, histamina y acetilcolina, y prácticamente exento de elementos tóxicos que puedan dar lugar a bloqueo cardíaco.

179389



- 2 -

Las preparaciones de esta patente de invención poseen valiosas aplicaciones fisiológicas y se hallan especialmente adaptadas para el tratamiento de las enfermedades humanas. Poseen un valor excepcional para aliviar el dolor y los calambres de la claudicación intermitente. Su empleo hace posible inyectar, por vía endovenosa, un producto eficaz para producir vasodilatación periférica sin reacciones tóxicas. Se ha observado que la inyección de estos preparados, en dosis terapéuticas, no produce dolor y que, en esas dosis, se halla notablemente exento de toxicidad.

Además, de las relevantes propiedades citadas, los preparados de esta patente de invención producen un descenso transitorio de la presión sanguínea al dilatar los capilares periféricos y reducir la concentración de sustancias grasas, tales como el colesterol y la lecitina, en la sangre.

El producto esencial, fisiológicamente activo, de los preparados protegidos por esta patente de invención, se obtiene químicamente de órganos animales, por ejemplo tejidos animales, tales como el páncreas, el riñón, los ovarios u otros análogos, pero también puede obtenerse parcialmente de otros materiales animales. Puede obtenerse fácilmente de un material animal, tal como un tejido animal, preferentemente del páncreas, mediante pasos que comprenden el tratamiento del material con alcohol concentrado, hasta el punto de mantener una concentración de 97 % o mayor y un pH entre 4.8 y 5.2, prefe-

179389



- 3 -

rentemente alrededor de 5, enfriando y filtrando la mezcla y extrayendo todo el alcohol del filtrado, lo cual es posible por destilación en el vacío; enfriando el residuo, exento de alcohol, y filtrándolo para separar las materias extrañas, tales como grasas y peso tisular. El filtrado obtenido constituye el producto fisiológicamente activo que se desea; es un producto nitrogenado, exento de proteína, así como de cantidades apreciables de insulina, histamina y acetilcolina, y prácticamente exento de elementos tóxicos que puedan ocasionar bloqueo cardíaco.

Los pasos descritos más arriba, empleados en la obtención del producto fisiológicamente activo de esta patente de invención deben seguirse, como pasos básicos del proceso completo de obtención, cuando se desee obtener el producto fisiológicamente activo inicialmente derivado del material animal. No obstante, en algunos casos, el material animal puede contener otros principios fisiológicamente activos (como la insulina derivada del páncreas), los cuales difieran en carácter y acción fisiológica del producto de esta patente de invención, y puede ser necesario someter el material animal a un proceso previo que separe esos otros productos fisiológicamente activos, tales como la insulina, antes de emprender el proceso requerido para obtener el producto fisiológicamente activo de esta patente. En esos casos, es necesario el proceso descrito más arriba para completar el tratamiento necesario para la obtención del producto de esta patente de invención.

179389



- 4 -

De aquí que el producto esencial fisiológicamente activo pueda obtenerse del material animal mediante los métodos que a continuación se exponen, los cuales comprenden los pasos expuestos anteriormente, con carácter general, y que se dan como ejemplo, puesto que no son los únicos.

METODO I

El producto fisiológicamente activo de esta patente se obtiene directamente, mediante el siguiente procedimiento, como producto inicial derivado de un material animal, tal el páncreas. Según este método, es posible evitar la extracción del páncreas o de otros tejidos de la insulina, la cual interferiría la actividad fisiológica del producto protegido por esta patente.

Al páncreas fresco o refrigerado adecuadamente, con preferencia al páncreas de buey, macerado, se añade alcohol absoluto en cantidad suficiente para obtener una mezcla en la cual el contenido en alcohol sea de 97 % o mayor. La concentración de hidrogeniones se ajusta alrededor del pH 5, aunque puede oscilar entre 4.8 y 5.2, mediante un ácido mineral adecuado, como los ácidos clorhídrico o sulfúrico. Debe agitarse adecuadamente la mezcla. Periódicamente se añade el alcohol necesario para mantener la concentración alcohólica alrededor de 97 %. Se mantienen esas condiciones el tiempo suficiente, por ejemplo unas 48 horas; entonces se enfría y filtra la mezcla hasta obtener un filtrado alcohólico transparente y se reduce su volumen al décimo del volumen original, mediante desti-



179389

- 5 -

lación en el vacío (por extracción del alcohol). Con objeto de obviar los inconvenientes que ocasiona la reiterada ebullición de la mezcla, se añade a ésta agua en cantidad suficiente para doblar el volumen de la primera
5 reducción y se prosigue la destilación en el vacío para extraer la totalidad del alcohol. En esos pasos para la extracción del alcohol, por destilación en el vacío, se puede, por ejemplo, comenzar con un volumen inicial de 757 litros y reducir este volumen durante la destilación
10 a 75 litros antes de la adición del agua, con objeto de evitar la repetición de la ebullición, y entonces aumentar el volumen, mediante adición de agua, hasta 150 litros, cuyo volumen, prosiguiendo la destilación en el vacío, puede reducirse a 1.89 litros. Extraído así el alcohol,
15 el residuo acuoso de la destilación en el vacío se enfría alrededor de 10° centígrados y se filtra para separar las materias insolubles, tales como las grasas y el peso tisular. El filtrado acuoso constituye el producto fisiológicamente activo, eficaz.

20 El producto eficaz, fisiológicamente activo así obtenido puede convertirse en un agente terapéutico para administración por inyección y por la vía que se desee, mediante adecuada disolución en solución salina del tipo deseado, ajustando la concentración de hidrogeniones entre un pH 6.4 y 6.8, con preferencia alrededor de pH 6.5,
25 o mediante otros medios adecuados.



METODO II

El segundo método de obtención del producto esencial fisiológicamente activo de esta patente consiste en el tratamiento de una sustancia animal, como el páncreas de buey, mediante pasos que abarcan la extracción previa de la insulina, seguida del tratamiento de residuo para extraer del mismo el producto deseado.

En este método, se añaden en un recipiente adecuado a 45 kg. de tierra clarificada y páncreas de buey desmenuzados 136 litros de alcohol al 90 %, el cual contenga 1200 cc. de ácido clorhídrico, manteniendo la mezcla en continua agitación durante dos horas y dejándola posar una noche entera. Luego se centrifuga el poso para separar el tejido de la mezcla. Para aumentar el rendimiento de insulina, en los casos en que ésta se busca especialmente, se procede a la reextracción del tejido con el 70 % de alcohol en un volumen igual al del primer filtrado obtenido por centrifugación, centrifugando de nuevo y añadiendo el segundo filtrado al primero. A la mezcla de esos dos filtrados se añade amoníaco en cantidad suficiente para ajustar el pH de 7.8 a 8.0. Se separa por filtración el precipitado que resulta (el cual se designa con el nombre de proteínas álcali-solubles). Se acidifica el filtrado con cantidad suficiente de ácido sulfúrico diluido para ajustar la concentración de hidrogeniones a un pH 3.6-3.8 y luego se extrae el alcohol por destilación en el vacío, manteniendo la temperatura, durante la destilación

179389



- 7 -

por debajo de 30° C., con objeto de evitar la destrucción de la insulina. Se prosigue la destilación hasta que el volumen de la solución sea equivalente a un octavo del volumen originario. Se calienta a 50° C. la solución acuosa resultante y se ajusta la concentración de hidrogeniones cuando sea necesario, entre pH 2.0 y pH 2.4, filtrándola luego para separar la grasa y demás residuos. Se enfría a 30° C. el filtrado exento de grasa y se satura de cloruro sódico, con objeto de precipitar las proteínas, teniendo en cuenta que durante esa precipitación debe mantenerse la mezcla un par de horas, al final de cuyo tiempo se vierte el líquido, saturado de cloruro sódico, quedando detrás las proteínas precipitadas las cuales se dejan aparte para otro uso.

El extracto de cloruro sódico así obtenido se ajusta con hidróxido sódico normal, a una concentración de hidrogeniones de pH 6.5 y luego se concentra, por destilación en el vacío hasta reducción a un cuarto de su volumen para extraer la mayor cantidad posible de cloruro sódico. Corrientemente, resulta ventajoso combinar los extractos de cloruro sódico clarificados procedentes de varias operaciones, con un volumen inicial, por ejemplo 680 litros y proseguir la reducción del volumen hasta 170 litros, durante la cual la mayor parte del cloruro de sodio cristaliza. Se separa la suspensión concentrada de cloruro sódico, con preferencia en jarros revestidos de vidrio, y se añade cantidad suficiente de alcohol anhidro, con preferencia con agitación, para obtener un contenido en alcohol de 95 %. La

179389



- 8 -

extracción del cloruro sódico adicional se obtiene refrigerando la suspensión alcohólica a 10° C., durante dos a cuatro días y filtrando luego la suspensión a la temperatura citada.

5 Se destila en el vacío el filtrado obtenido después de la refrigeración, para extraer el alcohol y se reduce su volumen a 75 litros o menos (sobre la base de haber comenzado la operación con 680 litros. Se ajusta la concentración de hidrogeniones al pH 6.5, con hidróxido sódico normal, en una
10 vasija adecuada, y se añade alcohol anhidro, con preferencia agitando en cantidad suficiente para ajustar el contenido en alcohol al 97 % formándose un precipitado espeso y oscuro. Luego se refrigera a 10° C., durante dos a cuatro días, el precipitado que contiene la solución de alcohol al 97 % en
15 cual tiempo se produce un notable aumento de la cantidad de precipitado, que toma un aspecto espeso, oscuro, oleoso, gomoso y céreo. Se filtra la mezcla a 10° C., y el filtrado alcohólico se destila en el vacío, con objeto de extraer el alcohol; cuando es necesario salvar la dificultad ocasionada por la reiterada ebullición de la mezcla, se lleva a cabo
20 la destilación hasta que el volumen del material se ha reducido a 22 a 30 litros, siempre sobre la base de haber comenzado la operación con 680 litros, después de lo cual se añaden 75 litros de agua destilada y se prosigue la operación
25 de destilación hasta reducir el volumen del líquido a 30 a 37 litros, siempre sobre la misma base.

El concentrado acuoso, obtenido después de extraer el alcohol por destilación en el vacío, constituye el producto



fisiológicamente activo de esta patente en su forma usual, aunque un tanto en bruto. En esta forma puede emplearse el producto como ingrediente esencial, fisiológicamente activo en preparados adecuados para el tratamiento de las enfermedades humanas. Para otros fines, debe procederse a ulterior refinado. De este modo, el concentrado, procedente de la destilación en el vacío, puede ajustarse, mediante un álcali adecuado, como el hidróxido sódico normal, al pH 6.5. Entonces se refrigera el concentrado a 5° C. y clarifica, haciéndolo pasar a través de un filtro de algodón Seitz, manteniendo con preferencia la temperatura a 5° C. El producto eficaz fisiológicamente activo, contenido en el concentrado clarificado, se emplea en preparados de cualquier clase o composición para diversos usos. En este estado, por ejemplo, se obtiene un preparado adaptado a los diversos usos de los preparados de esta patente, los cuales comprenden el alivio del dolor y los calambres de la claudicación intermitente, diluyendo el concentrado clarificado y esterilizado en forma que contenga aproximadamente 2.5 % de materias sólidas, entre ellas 0.25 % de nitrógeno no proteínico y 0.9 % de cloruro de sodio, con la adición de un agente preservativo, por ejemplo 0.25 % de ácido fénico. Esta preparación posee una concentración de hidrogeniones de un pH 6.5.

En algunos casos, en vez de usar el alcohol al 97 % como en el tratamiento inicial con alcohol, empleado en el Método 1, o en el tratamiento final con alcohol después de separar las proteínas y la mayor parte de sales, como en el

179389



- 10 -

Método 2º, se puede llevar a cabo el tratamiento con un contenido de alcohol mantenido por encima del 92 % y preferentemente por encima del 95 %. No obstante, en esos casos, con objeto de obtener un producto final prácticamente exento de elementos tóxicos, los cuales podrían producir bloqueo cardíaco, antes del paso correspondiente a la separación del alcohol por destilación en el vacío, es necesario ajustar el contenido en alcohol al 97 % o mayor, para que se forme un precipitado oscuro y espeso. Esa solución de alcohol al 97 %, la cual contiene el precipitado, se reffigera a 10º C., durante dos a cuatro días, filtrándola preferentemente a 10º C., y luego se somete al filtrado a destilación en el vacío, con objeto de separar el alcohol.

La concentración del producto final, obtenido con las diversas variaciones del método básico, varía con el tipo específico del material animal o con el tejido empleado como material inicial y, cuando se parte del mismo material, como resultado del volumen del material en los diversos estados del método de producción. No obstante, con independencia de la concentración del producto final obtenido, el producto fisiológicamente activo puede "estandarizarse" mediante dilución, en forma que un centímetro cúbico de la solución produzca en los perros un descenso de la presión sanguínea igual al producido por el preparado "standard".

En las conclusiones anexas, la expresión "materiales animales" se emplea ampliamente en el sentido de material animal en su composición originaria, tal y como se obtiene

179389



- 11 -

del animal, o sea, sin haberlo sometido a proceso alguno destinado a extraer del mismo algún principio o substancia fisiológicamente activos, así como en el estado en el cual puede disponerse del material animal después de llevado a través del proceso de la previa extracción del mismo de algún otro principio o substancia fisiológicamente activos, como se indica en la página 1, columna 2, líneas de 11 a 21 del texto original (que corresponden al folio 2, líneas 21 a 29 de la traducción. La expresión "tejido pancreático", en alguna de las siguientes conclusiones, se emplea, asimismo, ampliamente en el mismo sentido

Aunque la patente podría completarse mediante determinadas ampliaciones específicas, se entiende que pueden emplearse cambios, modificaciones y equivalentes adecuados sin salirse de la licencia que la patente cubre en las conclusiones anexas.

N O T A

Por la patente de invención a que se refiere la presente memoria descriptiva se REIVINDICA la propiedad y la explotación exclusiva de:

1.- Un procedimiento para la preparación de una substancia fisiológicamente activa, en el cual se deriva un alcohol soluble y un producto nitrogenoso fácilmente soluble en agua, exento de proteína, soluble en soluciones salinas hasta saturación salina y exento de cantidades significantes de insulina, histamina y acetilcolina y prácticamente exento de principios tóxicos capaces de manifestarse por

179389



- 12 -

el bloque del corazón, siendo dicho producto capaz de producir una caída transitoria de la presión sistemática de la sangre, o de producir la dilatación de los capilares del sistema vascular periférico, y de aliviar el dolor o el calambre asociado con claudicaciones intermitentes, partiendo de materia animal como substancia prima, la combinación de fases que consisten en mantener dicha substancia de partida bajo condiciones ácidas durante un tiempo suficiente para disociar el producto, y tratar el material con suficiente alcohol fuerte para mantener en el tratamiento un contenido de alcohol al menos alrededor de 97 %.

2.- Un procedimiento tal como el especificado en 1 para la preparación de una substancia fisiológicamente activa nitrogenada, exenta de proteína, soluble en alcohol, fácilmente soluble en agua, soluble en soluciones salinas, hasta saturación salina, y exento de cantidades, fisiológicamente apreciables de insulina, histamina y acetilcolina, y prácticamente exenta de elementos tóxicos que puedan manifestarse por bloqueo del corazón y capaz de producir descenso transitorio de la presión sanguínea, dilatación de los capilares periféricos y alivio del dolor y los calambres de la claudicación intermitente, procedente de una materia animal, como material de comienzo, caracterizado por una combinación de fases que abarca el mantenimiento del material inicial bajo condiciones ácidas, durante tiempo suficiente para descomponer el producto y, al propio tiempo, tratar el material con alcohol, suficientemente concentrado para mantener, durante el tratamiento, un contenido en alcohol no inferior a 97 % y una concentración de hidrogeniones entre pH 4.8 y pH 6.5.

179389



- 13 -

3.- Un procedimiento tal como el especificado en 2, caracterizado por el hecho de mantener la concentración de hidrogeniones entre pH 4.8 y pH 5.2.

5 4.- Un procedimiento tal como el especificado en 1, de preparación de una sustancia fisiológicamente activa nitrogenada, exenta de proteína, soluble en alcohol, fácilmente soluble en agua, soluble en soluciones salinas, hasta saturación salina, y exenta de cantidades, fisiológicamente apreciables de insulina, histamina y acetilcolina, y prácticamente exenta de elementos tóxicos que puedan manifestarse por bloqueo cardíaco y capaz de producir descenso transitorio de la presión sanguínea, dilatación de los capilares periféricos y alivio del dolor y los calambres de la claudicación intermitente, procedente de un material animal, como material de comienzo, una combinación de fases que abarcan el mantenimiento del material inicial bajo condiciones ácidas, durante tiempo suficiente para decomponer el producto y, al propio tiempo, tratar el material con alcohol, suficientemente concentrado para mantener, durante el tratamiento, un contenido en alcohol no inferior a 20 97 % y una concentración de hidrogeniones entre pH 4.8 y pH 6.5 (enfriando la mezcla y separando los elementos sólidos, para extraer luego todo el alcohol del filtrado y la separación de las materias extrañas insolubles, por enfriamiento del filtrado exento de alcohol).

25

5.- Un procedimiento tal como el especificado en 4, caracterizado por el hecho de emplear material pancreático como material inicial.

79389



- 14 -

6.- La propiedad y la explotación exclusiva del objeto de la patente, sean cuales fueren las circunstancias que concurren con su esencialidad definida en las anteriores reivindicaciones, cual objeto es:

5 "Un procedimiento para la preparación de una substancia fisiológicamente activa".

Consta la presente memoria de catorce hojas foliadas, escritas por una sola cara.

Barcelona, 7 de Agosto de 1947.

P. p. de: SHARP & DOHME, Incorporated,