

AÑO 1957.

Expediente núm.



23 9062

REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

PATENTE DE INVENCIÓN

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se acompaña a la solicitud de

una PATENTE DE INVENCIÓN por 20 años, en España

a favor de

J. R. GEIGY, de nacionalidad

suiza domiciliado en BASEL (Suiza)

calle de núm.

por:

"PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE COMPUESTOS DE COM-
PUESTO CALGICO DE ALTO PESO MOLECULAR"

Nº 4495

Agente Sr. JAIME ISERN MIRALLES.



239062

P A T E N T E
D E
I N V E N C I Ó N

por "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACIÓN DE COMPUESTOS DE COM-
PLEJO CÁLCICO DE ALTO PESO MOLECULAR", a favor de la firma
suiza J.R. GEIGY A.G., residente en BASILEA (Suiza).

- / -

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de compuestos de complejo cálcico de alto peso molecular con valiosas propiedades terapéuticas, particularmente inhibidoras de la coagulación sanguínea.

5.

La heparina después de su administración intravenosa produce efecto directo en factores individuales de la coagulación sanguínea, mientras que los anticoagulantes a administrar por vía bucal, del tipo de los derivados de la hidroxycumarina y de la indandiona no son aptos para producir una influencia indirecta en la coagulación sanguínea, sino después de un pe-

10.

239062



- ✓ ríodo de latencia de uno hasta varios días, disminuyendo la formación de protrombina en el hígado. Mientras que el grupo de anticoagulantes citado en último lugar es excelentemente apropiado para la conservación de una disminuída aptitud de coagulación sanguínea para la profilaxis o terapéutica, la
5. heparina es de gran importancia para salvar el período de latencia de los anticoagulantes de efecto indirecto y, particularmente para la influencia inmediata en complicaciones de embolia trombótica. Por esta razón no han faltado ensayos para
10. substituir la heparina, cuya obtención a base de pulmón o hígado de ganado de matadero es costosa y cuantitativamente limitada, por sales alcalinas de constitución similar y preparación más fácil, de ésteres ácidos polisulfúricos de polisacáridos, aunque ello hasta el presente no se haya logrado
15. todavía de un modo totalmente satisfactorio.

- Ahora bien, se ha encontrado sorprendentemente que se obtiene compuestos de complejo cálcico de alto peso molecular que constituyen anticoagulantes inyectables altamente eficaces y bien tolerables, si se hace reaccionar con pectina, en solución acuosa, peróxido de hidrógeno en una concentración de un
20. 1-5% y en una cantidad de 20-100%, referida al peso en seco de la pectina, con reacción neutra hasta ligeramente ácida de la solución hasta el logro del grado de descomposición deseado, a verificar mediante medición de viscosidad, si se precipita
25. seguidamente las porciones de peso molecular más alto de los productos de descomposición por adición de disolventes orgánicos hidrosolubles, segregándolas, secándolas y transformándolas entonces, de modo conocido, mediante ácido clorosulfónico, en formamida o en piridina, en ésteres ácidos polisulfúricos
30. y transponiendo estos últimos, después de neutralización con

239062



- una base no precipitadora, en solución acuosa y con mantenimiento de reacción a lo menos aproximadamente neutra, con una sal de calcio ionizadora, separando eventualmente a continuación el compuesto de complejo cálcico por precipitación con un disolvente orgánico hidrosoluble.
5. La descomposición oxidativa de la pectina por reacción con peróxido de hidrógeno que forma la primera fase de la serie reaccional según el invento, es llevada a cabo, preferentemente, en presencia de a lo menos 1%, referido a la totalidad de la solución reaccional acuosa, de una materia orgánica que es soluble a lo menos en esta concentración en agua, así como también en éter dietílico, y que en concentraciones más elevadas, siempre que éstas puedan lograrse en agua, presenta propiedades precipitadoras de pectina, o en presencia de mezclas de tales materias.
10. Preferentemente se utiliza soluciones acuosas al 2-10% de pectina. La temperatura reaccional puede estar situada entre 25 y 100°C, y aún más alta utilizando recipientes a presión, si bien se han mostrado como particularmente favorables temperaturas moderadamente altas de entre 50 y 80°C. Por reacción neutra hasta débilmente ácida se entiende, particularmente, valores pH de 5-6; es de importancia que durante la descomposición no se baje esencialmente del pH 5. Esto puede quedar garantizado vg. mediante una acción tampón con acetato sódico. Según la
15. temperatura aplicada y las demás condiciones reaccionales, la reacción de descomposición puede durar unos cuantos minutos hasta un par de días, siendo llevada a cabo, preferentemente, hasta una viscosidad relativa de 1.3-3.0 centipoises a 75° y concentración al 5%.
20. Las sustancias orgánicas, según la definición, que son
- 25.
- 30.

2390620



- adicionadas durante la reacción de descomposición en cantidades de a lo menos 1%, causan una disminución esencial de la velocidad reaccional, verificable por el retardo en la disminución de viscosidad. La descomposición oxidativa es más fácil de regular con la presencia de las mismas, dando un rendimiento mejorado en productos de descomposición de calidad más uniforme. Mientras que después de la descomposición enzimática pueden ser convertidas solamente las fracciones intermedias de los productos de descomposición con respecto al peso molecular, por sulfatación en ésteres polisulfúricos de reducida toxicidad, según la descomposición oxidativa con arreglo al invento en presencia de una o varias de las substancias orgánicas según la definición, resultan apropiadas para su elaboración ulterior en compuestos de complejo cálcico de reducida toxicidad, tanto las fracciones de peso molecular más alto, como las fracciones intermedias de los productos de descomposición.
- 5.
- 10.
- 15.

- Esto puede ser explicado por el hecho de que las substancias orgánicas según la definición inhiben la descomposición oxidativa de la pectina más intensamente que aquella de materias concomitantes indeseables, de manera que las últimas, a consecuencia de su descomposición más rápida y más amplia, faltan en las fracciones más elevadas así como en las intermedias de los productos de descomposición. Como adiciones son adecuadas, particularmente, las materias orgánicas que después de la reacción pueden ser eliminadas fácilmente. Por esta razón tendrían que ser fácilmente volátiles y/o fácilmente solubles en las mezclas de agua y de disolventes orgánicos hidrosolubles que se originan durante la precipitación de los productos de descomposición. Entran en consideración, por ejemplo, alcoholes como metanol, etanol, n-propanol y n-butanol, oxocompuestos como acetona, pro-
- 20.
- 25.
- 30.

239062



- * panona y acetaldehido; además glicoles como etilenglicol; ésteres, éteres y materias similares, como acetato de etilo, butirolactona, éter dietílico, metoxietanol y dioxano. Como disolventes hidrosolubles para la precipitación de los productos de descomposición de la pectina que tiene lugar, preferentemente, en fracciones, son apropiados particularmente metanol, etanol o acetona. Los productos obtenidos según la invención por descomposición oxidativa, desde el punto de vista químico, se distinguen sin duda marcadamente, de los productos obtenidos por desintegración enzimática, puesto que solamente de aquéllos se obtiene productos de sulfatación aptos para el enlace complejo del calcio con reacción neutra o aproximadamente neutra. Pero los propios productos de descomposición forman también complejos metálicos, además de complejos de calcio, por ejemplo asimismo complejos de hierro, cobre y cobalto, cuyas propias soluciones acuosas pueden encontrar empleo terapéutico.
- 5.
- 10.
- 15.

- La sulfatación de las pectinas descompuestas oxidativamente puede tener lugar de modo análogo a la de la pectina o de pectinas parcialmente descompuestas mediante pectinasa, por ejemplo mediante ácido clorosulfónico en formamida, de manera análoga al procedimiento descrito en la memoria de patente alemana nº 924.211 y en la memoria de patente inglesa nº 746.481. Según este procedimiento se hace reaccionar con el producto de descomposición de la pectina, eventualmente después de disolución o suspensión del mismo en formamida, una mezcla de ácido clorosulfónico y formamida a una temperatura de entre 10 y 40°, a cuyo efecto son utilizadas, preferentemente, 2.5 a 5 partes en peso de ácido clorosulfónico y en total 6 a 14 partes en peso de formamida, por parte en peso de producto de desintegración de pectina.
- 20.
- 25.
- 30.



239062

5. Bajo transformación parcial de la formamida en sales de amonio se presenta una amplia esterificación, a cuyo efecto se obtiene directamente productos reaccionales con un contenido en azufre de 12% y más. Su aislamiento puede tener lugar de modo sencillo, vg. virtiendo la mezcla reaccional en alcohol y filtrando el precipitado. Para la neutralización de los ésteres ácidos polisulfúricos obtenidos, éstos pueden ser transpuestos, por ejemplo, con lejía de sosa, carbonato sódico o bicarbonato sódico en solución acuosa.
10. Además, entra en consideración, asimismo, la sulfatación descrita en la memoria de patente estadounidense número 2.599.564 para metilglicósidos de ácido poligalacturónico y metilglicósidos de metiléster poligalacturónico, con ácido clorosulfónico en piridina.
15. La preparación del compuesto de complejo cálcico a base de los ésteres polisulfúricos puede tener lugar, por ejemplo, por disolución de los mismos en una concentración de 5-30% en agua a temperatura ambiente, neutralización con lejía de sosa y adición de una sal de calcio ionizadora hidrosoluble, por ejemplo cloruro cálcico en una concentración de 0.5-10%. El complejo se forma muy rápidamente y puede ser precipitado por adición de vg. metanol, etanol o acetona, ser lavado con el medio de precipitación y ser secado seguidamente. Pero también se puede disolver en agua las sales sódicas de los ésteres ácidos polisulfúricos que han sido aisladas después de la sulfatación, y transponerlas con sales cálcicas hidrosolubles. Si se utiliza como sal de calcio hidrosoluble ionizadora una preparación muy bien tolerable sin propiedades pirógenas, entonces se puede renunciar, en caso deseado, al aislamiento del complejo cálcico. Entonces se utiliza ventajosamente un pequeño exceso de éster polisulfúrico, es decir, la cantidad utilizada de sal
- 20.
- 25.
- 30.



239062

5. cálcica debe contener a lo menos la mitad hasta aproximadamente tantos iones de calcio, cuantos pueden ser enlazados en total formando complejo. Este es el caso, por ejemplo, si se adiciona, aproximadamente 24-40% referido a la sal sódica del éster ácido polisulfúrico de gluconato cálcico exento de pirógenos en solución acuosa. La mezcla reaccional, así obtenida, puede encontrar directamente empleo para finalidades terapéuticas.
10. La formación de compuestos de complejo cálcico en la transposición de pectina descompuesta según la invención, y de ésteres polisulfúricos preparados a base de los mismos con sales de calcio hidrosolubles puede ser comprobada, por ejemplo, de la siguiente manera: Se mezcla 2 cc cada vez de una solución de cloruro cálcico acuosa al 0.4%, de pH 7.0, con diferentes cantidades crecientes de una solución acuosa al 10%, neutra, de una pectina desintegrada según la invención (Tabla I), o bien de una solución neutra de la sal sódica de un éster polisulfúrico de la misma concentración obtenida a base de la misma (Tabla II). Entonces se introduce en cada tubo de ensayo 2 cc m/15 de substancia tampón a base de fosfato Sörensen de pH 7.0 y se observa la formación de precipitados de fosfato de calcio. Los resultados de ensayos comparativos con pectina descompuesta mediante pectinasa de la misma viscosidad resultan de la Tabla III.
- 15.
- 20.

T A B L A I

Ensayo núm.	1	2	3	4	5	6
Pectina descompuesta mediante H ₂ O ₂ , cc de solución al 10%	-	0.2	0.4	0.6	0.8	1
Precipitado de fosfato cálcico	+++	++	+	±	-	-



T A B L A II **239062**

Ensayo núm.	7	8	9	10	11	12
Sal sódica de éster polisulfúrico, cc de solución al 10%	-	0.2	0.4	0.5	0.6	1
Precipitado de fosfato cálcico	+++	++	+	±	-	-

T A B L A III

Ensayo núm.	13	14	15	16
Pectina desintegrada mediante pectinasa, cc de solución al 10%	-	1	2	4
Precipitado de fosfato cálcico	+++	+++	+++	+++

5. Las series de ensayos I y II muestran que la pectina desintegrada oxidativamente y el éster polisulfúrico impiden la formación de un precipitado de fosfato, siempre que sean aplicados en cantidad suficiente. Esto demuestra que los iones cálcicos están enlazados de modo complejo a lo menos al pH 7. En los ensayos 3 y 9 ya se puede observar una marcada disminución y retardación de la precipitación de fosfato cálcico.

10. A base del ensayo n° 11 se puede calcular que 60 mg del éster polisulfúrico reaccionan con 8 mg de CaCl_2 bajo formación del complejo cálcico. Si la proporción cuantitativa de 15:2 es desplazada a favor del cloruro cálcico, entonces las soluciones aún contienen iones cálcicos que pueden ser precipitados con iones de fosfato. Para la saturación de las valen-



239062

5. cias de complejo de 1 parte del éster polisulfúrico examinado, por lo tanto, son necesarias 0.133 partes de cloruro cálcico, o aproximadamente 0.048 partes de iones de Ca, como están contenidos, por ejemplo, en 0.48 partes de gluconato cálcico. Tal como lo han demostrado ensayos ulteriores, esta proporción cuantitativa es independiente de la concentración de las soluciones acuosas de los participantes reaccionales que llegan a transposición, por cuya razón se trata de una reacción estequiométrica.
10. La tolerabilidad de los compuestos de complejo cálcico que pueden ser preparados según la invención, en la aplicación en el hombre es excelente, mientras que los ésteres polisulfúricos en que están basados, por ejemplo en forma de sus sales sódicas, no entran en consideración para la aplicación terapéutica, en las dosis terapéuticamente necesarias de 400 mg i.v. y más, debido a frecuentes efectos secundarios, como además en la articulación de la muñeca y en el dorso del pie, además taquicardia, parestesias en los dedos, urticaria y vómitos. Con otros anticoagulantes inyectables de acción directa, en comparación con ello no se puede causar ninguna mejora de la tolerabilidad por adición de sales cálcicas, como por ejemplo gluconato cálcico.
15. El siguiente ejemplo dilucidará más detenidamente la realización de la serie reaccional según la invención, En el mismo, las partes significan partes en peso; éstas se comportan con respecto a las partes en volumen como el gramo al centímetro cúbico. Las temperaturas están indicadas en grados Celsius.
20. El siguiente ejemplo dilucidará más detenidamente la realización de la serie reaccional según la invención, En el mismo, las partes significan partes en peso; éstas se comportan con respecto a las partes en volumen como el gramo al centímetro cúbico. Las temperaturas están indicadas en grados Celsius.
25. El siguiente ejemplo dilucidará más detenidamente la realización de la serie reaccional según la invención, En el mismo, las partes significan partes en peso; éstas se comportan con respecto a las partes en volumen como el gramo al centímetro cúbico. Las temperaturas están indicadas en grados Celsius.



EJEMPLO

239062

200 partes de pectina son mezcladas con 200 partes de acetato sódico, humectadas con 400 partes en volumen de etanol, virtiendo entonces encima 3600 partes de agua. Se calienta a 75°, se adiciona 400 partes en volumen de una solución al 30% de peróxido de hidrógeno y se mantiene durante 2 horas bajo agitación a esta temperatura. Entonces se enfría a 20°, se adiciona 400 partes en volumen de una solución al 30% de cloruro sódico y se precipita con 2000 partes en volumen de metanol. Después de la filtración se adiciona al filtrado 2200 partes en volumen de metanol, se filtra el precipitado lavándolo con metanol y éter y se seca al vacío. Se obtiene 85 partes de producto de descomposición de pectina.

La sulfatación tiene lugar de la mejor manera, en formamida con ácido clorosulfónico. Cien partes del producto de descomposición de pectina son incorporadas a 20° en una mezcla a base de 1000 partes en volumen (1135 partes) de formamida y 140 partes en volumen (unas 246 partes) de ácido clorosulfónico, manteniendo durante 24 horas bajo agitación a esta temperatura. Virtiendo la mezcla reaccional en 6000 partes en volumen de metanol y filtrando, puede ser segregado el éster polisulfúrico ácido. Entonces se disuelve de nuevo en agua, se neutraliza con lejía de sosa, y se precipita con metanol después de la adición de poco cloruro sódico. La sal sódica del éster polisulfúrico ácido, entonces es filtrada y lavada con etanol y éter. El rendimiento es de 130 partes.

La transposición en el complejo cálcico puede efectuarse del modo siguiente:

a) 10 partes de sal sódica del éster polisulfúrico ácido son disueltas con 1.3 partes de cloruro cálcico en 100 partes de agua. La mezcla reaccional es mezclada entonces con 300 par-

239062



tes en volumen de metanol, filtrada, lavada sucesivamente con metanol y éter, y secada al vacío. Rendimiento = 10.3 partes, contenido en calcio del preparado = 4.5%.

5. b) 10 partes de sal sódica del éster polisulfúrico ácido son mezcladas con 4 partes de gluconato cálcico exento de pirógenos, y son disueltas en agua ad 100 partes en volumen. La solución que resulta es envasada en ampollas y esterilizada mediante vapor.

10. La invención, dentro de su esencialidad, puede ser desarrollada en otras formas de realización que difieran en detalle de la indicada a título de ejemplo, a las cuales alcanzará igualmente la protección que se recaba. Podrá, pues, realizarse con los medios y aparatos más adecuados, así como con los porcentajes más convenientes, por quedar todo ello comprendido dentro del espíritu de las reivindicaciones.

15.

= . =

N O T A

Descrito el objeto de la invención, se declaran nuevas las siguientes reivindicaciones, con prioridad suiza número 40.594 del 12 de Diciembre de 1956.

20. 1. Procedimiento para la preparación de compuestos de complejo cálcico de alto peso molecular, caracterizado porque se hace reaccionar con pectina y en solución acuosa, peróxido de hidrógeno en una concentración de 1-5% y en una cantidad de 20-100% referida al peso en seco de la pectina, con



239062

- reacción neutra hasta ligeramente ácida de la solución, hasta el logro del grado de desintegración deseado, comprobable por medición de viscosidad, precipitando, separando y secando seguidamente porciones de peso molecular más alto, mediante adición de disolventes orgánicos hidrosolubles, transponiéndolos entonces de modo conocido mediante ácido clorosulfónico, en formamida o en piridina, en ésteres polisulfúricos ácidos y transformando estos últimos después de la neutralización con una base no precipitadora en solución acuosa y con mantenimiento de reacción a lo menos aproximadamente neutra, con una sal cálcica ionizadora, y precipitando eventualmente, a continuación, el compuesto de complejo cálcico con un disolvente orgánico hidrosoluble.
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se lleva a cabo la reacción del peróxido de hidrógeno en presencia de a lo menos 1%, referido a la solución reaccional acuosa total, de una substancia orgánica que es soluble en agua, así como en éter dietílico, a lo menos en esta concentración, y que presenta propiedades precipitadoras de la pectina en concentraciones más elevadas, siempre que éstas sean alcanzables en agua, o en presencia de mezclas de tales substancias.
 3. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se hace reaccionar con el producto de desintegración de pectina preparado según la reivindicación 1 y 2, eventualmente después de disolución o suspensión en formamida, una mezcla de ácido clorosulfónico y formamida a una temperatura de entre 10 y 40°, a cuyo efecto son utilizadas, por cada parte en peso de producto de descomposición de pectina, 2.5 a 5 partes en peso de ácido clorosulfónico y un total de 6-14 partes en



110
239062

peso de formamida.

5.
10.
4. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se transpone una sal sódica de un éster polisulfúrico ácido que ha sido preparado según las reivindicaciones 1, 2 y 3, en solución acuosa a reacción aproximadamente neutra, con una sal cálcica ionizadora, hidrosoluble, exenta de pirógenos, particularmente con gluconato cálcico, a cuyo efecto la cantidad utilizada en sal cálcica debe contener a lo menos la mitad hasta aproximadamente tantos iones de calcio, cuantos pueden ser enlazados en total en complejo.

5. Procedimiento para la preparación de compuestos de complejo cálcico de alto peso molecular.

15.
Según se describe y reivindica en la presente memoria que consta de trece hojas, foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras, acompañadas de la documentación correspondiente.

Madrid, a 11 de Diciembre de 1957

J.R. GEIGY A.G.

P.a.

AIME ISERN MINALLES