

np/

257321

Caso 6626



P A T E N T E D E I N V E N C I Ó N

a favor de

MERCK & CO., INC. - de nacionalidad norteamericana - domici-
liada en RAHWAY, New Jersey, (EE.UU), 126 East Lincoln Avenue,

por:

"Procedimiento para la preparación de hidroxocobalamin-gluta-
tiona."

-----:oOo:-----

M e m o r i a d e s c r i p t i v a

Este invento se refiere a un procedimiento para la
preparación de compuestos de cobalamina, y más concretamente
para la preparación de compuestos péptidos de hidroxocobala-
mina.

25 73 21



5

La vitamina B₁₂, llamada también cianocobalamina, se considera esencial para la maduración de eritrocitos, y el tratamiento con cianocobalamina está indicado en anemias resultantes de su inadecuada absorción. Así, en el tratamiento de la anemia perniciosa, la cianocobalamina se administra por vía parentérica en inyecciones subcutáneas o intravenosas. Con este fin se emplean soluciones acuosas de vitamina B₁₂ en vehículos adecuados.

10

Un objeto del presente invento es la obtención de una cobalamina modificada que puede ser retenida en el cuerpo durante más tiempo. Otro objeto es proporcionar métodos de preparación de tales productos de cobalamina perfeccionados; y otro, proporcionar nuevos compuestos farmacéuticos que contengan este producto de cobalamina perfeccionado. Otros objetos del invento se infieren de la descripción detallada siguiente del mismo.

15

20

25

De conformidad con el presente invento, se ha comprobado ahora que un péptido de cobalamina, hidroxocobalamin-glutathiona, constituye una valiosa fuente de cobalamina que se retiene en el organismo animal, inyectada por vía parentérica, durante más tiempo que la cianocobalamina, y que posee la inesperada ventaja de ser absorbida más fácilmente que la cianocobalamina cuando se administra por vía bucal. Las ventajas de la hidroxocobalamin-glutathiona como promotor de la retención y absorción de vitamina B₁₂ activa aumenta la eficacia de una dosis terapéutica dada.

30

De conformidad con una forma de realización del presente invento, se ha comprobado que la hidroxocobalamina y glutathiona en una solución acuosa y añadiendo un disolvente miscible adecuado, como acetona, con lo que el producto precipita en

4 ABR



25 73 21

forma cristalina y puede recuperarse fácilmente, por ejemplo, mediante filtración. Así, el producto se puede preparar de acuerdo con el siguiente ejemplo ilustrativo:

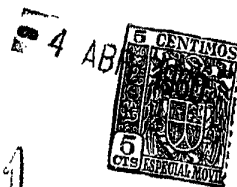
EJEMPLO

5 Se calentó a unos 60°C una solución de 400 mg. de hidroxocobalamina y 70 mg. de glutatona en 30 ml. de agua desionizada. A esta solución se añadió, agitando, acetona caliente en cantidad adecuada para alcanzar un volumen final aproximado de 250 ml. La solución resultante se dejó enfriar a temperatura ambiente. Después de reposo a esta temperatura durante unas
10 seis horas, se recuperó por filtración la hidroxocobalamin-glutatona precipitada en forma de cristales rojopurpúreos, se lavó con acetona, y se secó al aire durante dos horas, a temperatura ambiente. Valoraciones biológicas y con diluciones isotópicas revelaron que el producto que contenía un mol
15 de hidroxocobalamina y un mol de glutatona era al menos 95% puro.

La hidroxocobalamin-glutatona preparada de conformidad con este invento se puede administrar por vía bucal o en
20 inyección, como fuente de cobalamina activa en unidades posológicas adecuadas, combinándola con vehículos farmacológicamente aceptables.

Para medicación peroral, el producto se puede administrar en unidades posológicas adecuadas, como tabletas o cápsulas con diluentes y excipientes apropiados, que se pueden preparar según métodos muy conocidos en la especialidad. De manera análoga, para aplicación en inyecciones, la hidroxocobalamin-glutatona se puede incorporar a disolvente y mezclas de disolventes adecuados, que admiten también estabilizadores y
25 substancias análogas. Además, puede combinarse con otros
30

7321



elementos terapéuticos activos, en formas adecuadas para aplicación peroral o en inyección, de acuerdo con métodos conocidos en este dominio.

La hidroxocobalamin-glutathiona estará contenida en tales formas de dosis unidad en cantidad comprendida entre 1 y 2500 microg. de actividad de cobalamina. Por ejemplo, soluciones que contengan de unos 5 a 1500 microg. de actividad de vitamina B₁₂ por mililitro son útiles para aplicación en inyecciones.

Se comparó en ratas la absorción de hidroxocobalamin-glutathiona y de cianocobalamina. Estos ensayos se efectuaron administrando por vía bucal hidroxocobalamin-glutathiona y cianocobalamina marcados (Co⁵⁸) y midiendo el índice de radiactividad en el hígado y en los riñones, y la excreción de radiactividad con la orina, la cual varía en proporción a la cantidad de cobalamina absorbida. En estas pruebas de absorción con trazadores, cada compuesto se ensayó a índices equivalentes a 20-200 milimicrogramos de cianocobalamina administrados a diario durante diez días. Las soluciones de los compuestos de cobalamina se administraron por la boca (0,5 ml. al día), y la orina de los animales se recogió durante todo el experimento. A las veinte horas de administrar la dosis final de las muestras de ensayo, se sacrificaron los animales y se examinaron radiométricamente la orina total recogida, los riñones y los hígados. En la siguiente tabla se exponen los resultados de estas pruebas en distintas ratas, en "% de dosis":

25 73 21



Por 100 de dosis

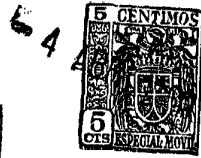
Grupo	Substancia	Indice	Rata	Riñón	Orina	Hígado
I	Cianocobalamina	200 µg/d	1	3.02	1.38	2.31
			2	2.11	1.17	2.03
			3	3.06	2.10	2.48
			4	3.42	0.86	3.19
			5	2.77	1.42	2.54
			Prom.	2.88	1.39	2.51
II	Cianocobalamina	20 µg/d.	1	7.03	2.32	4.91
			2	4.58	1.54	4.38
			3	4.67	2.06	3.62
			4	5.27	1.22	4.59
			5	5.74	2.03	4.28
			Prom.	5.46	1.83	4.36
III	Hidroxocobalamin- glutaciona*	200 µg/d.	1	1.64	3.57	2.15
			2	2.02	5.12	0.90
			3	2.29	4.93	1.90
			4	1.96	6.50	3.86
			5	2.20	4.50	2.92
			Prom.	2.02	4.92	2.35
IV	Hidroxocobalamin- glutaciona*	20 µg/d.	1	2.57	7.55	4.06
			2	2.90	4.22	2.98
			3	2.44	8.50	3.09
			4	2.36	5.22	6.86
			5	2.49	7.60	3.58
			Prom.	2.55	6.62	4.11

*Esta concentración es de equivalente de cianocobalamina.

Los datos de la tabla anterior indican que de las dosis perorales de hidrocobalamin-glutaciona se eliminan con el líquido urinario de la rata proporciones mucho mayores que las encontradas después de administrar cianocobalamina.

Otro ensayo en perros ha demostrado que la hidroxocobalamina prolonga la elevación de los índices de vitamina B₁₂ en el suero mucho más que la cianocobalamina. En esta prueba, se inyectó 0,5 ml. de una solución acuosa de hidroxocobalamin-glutaciona, que contenía el equivalente de 1 mg. de cianocobalamina por mililitro, en el músculo glúteo de cada uno de dos perros. De manera análoga, a cada uno de otros dos perros se inyectó 0,5 ml. de una solución acuosa que contenía 1 mg. de cianocobalamina por mililitro. Se extrajo sangre venosa a los perros antes de inyectarles soluciones de cobalamina, y a las 5, 24 y 48 horas de aplicárselas se determinaron los índices

25 73 21



de actividad de cobalamina en el suero, según técnicas corrientes con L.leichmanii. Los resultados que se indican en la tabla siguiente son los índices medios de vitamina B₁₂ en el suero de los dos perros, en milimicrog/ml., a base de muestras de sangre extraídas a los intervalos referidos.

	<u>Hidroxocobalamin-glutaciona</u>	<u>Cianocobalamina</u>
Hora 0	0,618	1,57
A las 5 horas	18,42	4,36
A las 24 horas	4,48	0,95
A las 48 horas	2,09	0,589

Por tanto, los resultados precedentes muestran con claridad que la administración de hidroxocobalamin-glutaciona produce una prolongada elevación de los índices de cobalamina en el suero, comparados con los obtenidos empleando cianocobalamina.

-----: N O T A :-----

Se reivindica como objeto de esta patente:

1.- Procedimiento para la preparación de hidroxocobalamin-glutaciona, que comprende añadir acetona a una solución de hidroxocobalamina y glutaciona en agua, y recuperar el compuesto cristalino precipitado.

2.- Procedimiento según la reivindicación 1, que comprende la adición a la hidroxocobalamin-glutaciona de un vehículo farmacológicamente aceptable.

3.- Procedimiento para la preparación de hidroxocobalamin-glutaciona.

Esta memoria consta de seis páginas, escritas por una sola cara.

BARCELONA, 24 ABR 1960

JOSÉ M. POLSAR
F. P.