

1er. CERTIFICADO DE ADICION

Le A 6020-Sp.

266755

20 ABR



Memoria Descriptiva

sobre:

"Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal nº 256.719, concedida en 29 de marzo de 1960, por "Procedimiento para la obtención de soluciones puras del inactivador calicreina".

Solicitante: **FARBENFABRIKEN BAYER AKTIENGESELLSCHAFT;** entidad alemana, residente en Leverkusen-Bayerwerk, **ALEMANIA.**

En la patente principal 256.719 se describe un procedimiento para la obtención de soluciones puras del inactivador calicreina que, en pocos escalones técnicos sencillos, conduce a soluciones muy puras del inactivador calicreina, porque órganos animales desmenuzados, que

5.

63755

2045



- contienen el inactivador calicreina, preferentemente la parotia, hígado o pulmón, se extraen con soluciones acuosas, convenientemente disolventes orgánicos miscibles con agua, preferentemente metanol, de sales o hidróxidos de los metales alcalinos terrosos o de sales alcalinas, el extracto
5. se precipita con una cetona, preferentemente con acetona y en presencia de una sustancia vehículo inerte finamente dispersada, la precipitación separada, preferentemente después de secada, se extrae con agua, la restante albúmina
10. se precipita cuantitativamente de la solución con un agente de precipitación de albúmina, preferentemente con ácido sulfosalicílico, y, después de separar la precipitación se retira de la solución restante el agente precipitador de la albúmina en exceso mediante la ayuda de intercambiadores
15. de iones. Se obtiene en gran rendimiento una solución de inactivador de gran pureza y concentración que se puede aplicar sin más intravenosa e intramuscularmente en grandes dosis.
20. Se ha descubierto ahora que para liberar el inactivados calicreina no solo se pueden emplear las soluciones de sales o hidróxidos de los metales alcalinos terrosos o de sales alcalinas mencionadas en la patente principal, sino también las soluciones de las sales de otros metales.
25. Ejemplos de tales sales de otros metales, que son bien adecuadas para la liberación de inactivador calicreina, sean mencionados a continuación: Cloruro de cobre, bromuro de cobre, sulfato de cobre, acetato de cobre, nitrato de cobre, sulfato de cinc, acetato de cinc, cloruro de
30. aluminio, sulfato de aluminio, alumbre, nitrato de plomo,



acetato de plomo, cloruro de manganeso, sulfato de manganeso, cloruro férrico, sulfato férrico.

5. Pero también las sales de otros metales u otras sales de los mismos metales dan redimientos aprovechables siempre que esté dada la solubilidad necesaria en agua, alcoholes acuosos o un alcohol miscible con agua, preferentemente metanol.

La ejecución del procedimiento se realiza, por lo demás, según el método descrito en la patente principal.

10. Según el procedimiento de la presente invención se obtienen soluciones puras del inactivador calicreina, que no contienen antígenos y que aún en elevadas dosis en aplicación intravenosa se toleran por el hombre sin reacción alguna.

15. Ejemplo 1.

20. 5 kg. de parotis vacuna se trituran en la máquina de picar carne y agitando se introducen en una solución de 150 g. de cloruro de manganeso en 2,2 litros de agua y 12,8 litros de metanol. Después se calienta la suspensión a 40° y se agita durante 1 hora. Después de enfriar a unos 10° se aspira el líquido y el residuo se lava con 1,5 litros de metanol al 70%.

25. A los filtrados reunidos se le agregan, agitando fuertemente, 60 g. de tierra de infusorios y se dejan fluir 40 litros de acetona. Después de media hora se desconecta el agitador. La tierra de infusorios cargada con la materia activa baja al fondo y se separa, se lava con 600 cm³. de acetona y se seca al aire.

30. Este polvo se extrae con 600 cm³. de agua redestilada, la materia activa se pasa al filtrado. Después

266755

20 APR



se agrega tanto ácido sulfosalicílico al 20% hasta que se hayan desalbuminado totalmente y para lo cual se necesitan 60 - 80 cm³. La precipitación se separa y se desecha.

5. Para retirar el agente de precipitación en exceso, así como para desalar y descolorear, se trata la solución ahora con intercambiadores de iones y para lo cual se emplea convenientemente en intercambiador de cationes Amberlite IR 120 y el intercambiador de aniones IRA 410. La materia activa no es ligada por los intercambiadores.
- 10.

El rendimiento es de 187 000 KIE por kg. de parotis empleada, estando 1 KIE ligado a 0,75 de sustancia orgánica.

Ejemplo 2.

15. Si como material de partida en lugar de la parotis se emplea pulmón vacuno y éste se trata en igual forma como descrito en el ejemplo 1, entonces se obtiene un rendimiento de 570 000 KIE por kg. de pulmón empleado con un grado de pureza de 0,5 de sustancia orgánica por
20. 1 kg. de KIE.

Ejemplo 3.

25. 5 kg. de pulmón vacuno bien desmenuzado se agitan en 15 litros de una solución acuosa al 1% de acetato de cinc durante 3 horas a 20° C y después de agregar tierra de infusorios se filtra al vacío. En el filtrado acuoso se agitan después de agregar 75 g. de tierra de infusorios 75 litros de acetona, la solución clara se separa del residuo y éste se seca al aire después de lavarle con acetona.

30. Este polvo de tierra de infusorios, que contiene



5. toda la materia activa, se extrae con 1200 cm³. de agua y por lo demás se procede como en el ejemplo 1. Después del tratamiento con los intercambiadores de iones se obtiene una solución acuosa, libre de sal, que contiene 660 000 KIE por kg. de pulmón empleado; 1 KIE está ligado a 0,79 de sustancia orgánica.

10. Según el procedimiento de la presente invención se obtienen soluciones puras del inactivador calicreina que no contienen antígenos y aún en dosis muy elevadas, en aplicación intravenosa, se toleran por el hombre sin reacción alguna.

N O T A

15. Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de talle, en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a una solicitud de patente adición presentada en Alemania, con fecha 18 de junio de 1960 núm. F 31463 IVa/30h, acogiéndose por lo tanto a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor y siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Primer CERTIFICADO DE ADICION en España de: "Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal nº 256.719, concedida en 29 de marzo de 1960, por

20. "Procedimiento para la obtención de soluciones puras del inactivador calicreina"; caracterizándose dichas mejoras, por lo siguiente:

30. 1ª.- Mejoras introducidas en el objeto de la patente principal nº 256.719, concedida en 29 de marzo de

20 ABR



266755

1960, por: "Procedimiento para la obtención de soluciones puras del inactivador calicreina, caracterizadas, porque para la extracción del inactivador calicreina de órganos animales, tales como la parotia, hígado o pulmón, se

5. emplean soluciones acuosas, convenientemente, conteniendo disolventes orgánicos miscibles con agua, de sales u otros metales distintos a los metales alcalinos terrosos o los metales alcalinos.

10. 2ª.- "Mejoras introducidas en el objeto de la Patente principal nº 256.719, concedida en 29 de marzo de 1960, por: "Procedimiento para la obtención de soluciones puras del inactivador calicreina", tal y como queda substancialmente descrito en la presente Memoria.

15. Esta memoria consta de seis hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

20 ABR. 1961

FARBENFABRIKEN BAYER
AKTIENGESELLSCHAFT.

J. GOMEZ ACEBO Y MODESTO
P. P.