

285



283985

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se acompaña a la solicitud de una

PATENTE DE INVENCION

por VEINTE años en España, por " UN PROCEDIMIENTO

PARA LA PREPARACION DE ANTITROMBOPLASTINAS FOSFOLI-

PIDAS ".

a favor de

ARMOUR PHARMACEUTICAL COMPANY

domiciliado en Prudential Plaza, Chicago 1 (Illinois). EE. UU.

INVENTORES: Donald Dean Adams y Robert Lee Colescott

PRIORIDAD. De la solicitud de Patente estadounidense
Nº 167.437 del 19 de Enero de 1962.



283985

Esta invencion se refiere a la preparacion de antitromboplasti-
nas fosfolipidas y a los productos así preparados, y más particular-
mente a la preparación de fracciones fosfolipidas que posean una pro-
nunciada actividad antitromboplástica.

5 Hemos descubierto que los fosfolipidos de origen animal o vege-
tal que no tengan efectos sobre el tiempo de coagulación de la sangre
o que puedan ser incluso ligeramente tromboplásticos pueden tratarse
para comunicales una pronunciada actividad antitromboplástica, y
10 que la porción insoluble en alcohol del fosfolípido responde particu-
larmente al tratamiento en el desarrollo de la actividad antitrombo-
plástica.

Es por consiguiente un objeto principal de la invencion el pro-
porcionar un método para la preparación de antitromboplásticas median-
15 te el tratamiento de fosfolipidos y fracciones de los mismos. Otro
objeto reside en preparar una porción insoluble en alcohol del fosfo-
lípido y someter la misma al calor durante un período de tiempo en el
cual el material adquiere una marcada actividad antitromboplástica.
Otros objetos específicos y ventajas se harán evidentes a través de
20 la siguiente descripción.

En una ejecución de la invencion sometemos el fosfolípido a una
variedad de tratamiento térmico durante un periodo de tiempo hasta
que el material adquiere un grado substancial de actividad antitrombo-
plástica. La variedad del tratamiento oscila preferentemente entre
25 temperatura ambiente y una temperatura por encima de la cual comienza
a producirse la descomposición. Para la mayor parte de los fosfoli-
pidos esta última temperatura es de alrededor de 90°C. Hemos descu-
bierto que una temperatura de 70°C es muy satisfactoria.

30 El estado físico del fosfolípido experimenta un cambio notable
durante el tratamiento térmico. Antes de recibir calor el fosfolípido



293485

es muy higroscópico, soluble en la mayoría de los disolventes orgánicos no polares y difícilmente soluble en agua, dando lugar a suspensiones o emulsiones. Después del tratamiento térmico el fosfolípido se hace higroscópico, de poca solubilidad en la mayoría de los disolventes orgánicos no polares y muy soluble en agua. Entre los cambios físicos que se producen tiene lugar una reducción en el valor del yodo, aumento en el número de ácidos, desaparición de grupos reactivos de hidrina, y un cambio importante según se muestra mediante cromatografía por gas.

Hemos descubierto que la parte insoluble en alcohol fosfolípido responde al tratamiento térmico, mientras que la parte soluble en alcohol responde poco o nada a aquél. La identificación absoluta y ensayos de todos los componentes presentes en el fosfolípido soluble en alcohol no se ha obtenido nunca. Sin embargo, se sabe que contiene fosfoinositidas, difosfoinositidas, trifosfoinositidas, esfingolípidas, fosfatidilserina, etanolamina fosfatídica y lecitina.

En la práctica de nuestra invención preferimos extraer el fosfolípido para obtener una porción insoluble en alcohol y calentar la porción insoluble a una temperatura de alrededor de 70°C. Después de dos ó tres días, la naturaleza física del fosfolípido empieza a cambiar. En un período de una semana el material de partida que tenía muy poca si alguna actividad antitromboplástica adquiere entonces una actividad substancial, y después de dos semanas el material posee una marcada actividad antitromboplástica.

El fosfolípido puede obtenerse de hígado, riñón, seso, de habas de soja, maíz y otras fuentes de obtención de fosfolípidos sometiendo las porciones insolubles en alcohol de las mismas al tratamiento térmico para aumentar la actividad antitromboplástica de tales porciones fosfolípidas.

Ejemplos específicos del procedimiento que ilustra fases de la invención pueden establecerse como se indica a continuación:



Ejemplo I 283985

5 Se extrajeron tres veces 500 gramos de concentrado fosfatídico de habas de soja (de A.E. Staley and Co. Sta-Sol U.R.) con porciones de acetona de 3.000 ml. El residuo fué secado por vacío y después extraído dos veces con porciones de alcohol etílico desnaturalizado anhídrico de 3.000 ml. El residuo fué entonces disuelto en 400 ml. aproximadamente de cloroformo y precipitado vertiéndolo en 2000 ml. de acetona. Se recogió el precipitado sobre un tubo embudado Buchner y 10 se secó por vacío. Se obtuvieron 114 gramos de este fosfátido de soja insoluble en alcohol. Se colocaron entonces 100 gramos de este material en un recipiente abierto dentro de un horno a 70°C manteniéndolo en el horno durante dos semanas.

15 Se efectuaron ensayos de coagulación de sangre a base de un plasma recalcificado. El sistema de ensayo fué 0,2 ml. de plasma, 0,1 ml. de la solución de prueba en un pulimentador de imidazol a un Ph de 7,4, y 0,2 ml. de cloruro de calcio al m/40. El valor de control dió un tiempo de coagulación de 110 segundos. Al añadir 0,2 mg. de fosfátido de soja insoluble en alcohol no calentado el tiempo de coagu- 20 lación fué de 75 segundos con actividad tromboplástica. Al añadir 0,2 mg. de fosfátido caliente, el tiempo de coagulación fué de 215 segundos con actividad tromboplástica.

Ejemplo II

25 Se extrajo un fosfolípido obtenido de hígado como se describe en el Ejemplo I para obtener un precipitado insoluble en alcohol calentándose el precipitado a 60°C. Después de dos semanas aproximadamente se comprobó que el fosfolípido calentado poseía una actividad tromboplástica comparable a la descrita en el Ejemplo I.

30 Similares extracciones y operaciones de tratamiento como las des

283985



critas en el Ejemplo I llevadas a cabo con fosfolípidos de riñones, sesos, y maíz dieron resultados como los indicados en el Ejemplo I.

5 Las fases del procedimiento anteriores pueden ejecutarse eficazmente con material de partida económico, tal como, fosfátidos de habas de soja, fosfátidos de maíz, etc. dando lugar a resultados uniformes y un alto grado de actividad antitromboplástica. El fosfolípido modificado es más soluble en agua, menos soluble en disolventes no polares, posee mayor valor a acidez, menor valor de yodo, y es menos higroscópico que los fosfátidos naturales de los que se deriva.

10 Aunque, en la descripción precedente, se han establecido composiciones y procedimientos con considerable detalle al objeto de ilustrar fases del invento, deberá entenderse que tales detalles pueden variarse ampliamente por expertos en la materia sin salirse del espíritu de la invención.

15 REIVINDICACIONES

20 1ª.- Un procedimiento para la preparación de antitromboplastinas fosfolípidas, caracterizado por las fases de calentar una porción insoluble en alcohol de un fosfolípido entre la temperatura ambiente y una temperatura más alta por debajo de la temperatura de descomposición del material hasta que éste adquiera actividad antitromboplástica.

2ª.- El procedimiento de la reivindicación 1ª en el cual la temperatura oscila entre temperatura ambiente y 90°C.

25 3ª.- El procedimiento de la reivindicación 1ª en el cual la temperatura es aproximadamente de 70°C.

30 4ª.- Un procedimiento para la preparación de antitromboplastinas fosfolípidas, caracterizado por las fases de extraer un fosfolípido con alcohol, recoger la porción insoluble en alcohol del mismo, y calentar dicha porción insoluble en alcohol a una temperatura por encima de la temperatura ambiente y por debajo de una temperatura a

283985



partir de la cual comienza la descomposición hasta que el material adquiera actividad antitromboplástica.

5º.- El procedimiento de la reivindicación 4ª en el que el tratamiento térmico dura más de dos días.

6º.- El procedimiento de la reivindicación 4ª en el cual el tratamiento térmico dura más de una semana.

7º.- Un procedimiento para la preparación de antitromboplastinas fosfolípidas caracterizado por la fase de calentar un material fosfolípido que carece de propiedades antitromboplásticas y que contiene una porción insoluble en alcohol entre la temperatura ambiente y una temperatura más alta por debajo de la temperatura de descomposición del material hasta que éste adquiera una actividad tromboplástica substancial.

8º.- El procedimiento de la reivindicación 7ª en el cual la temperatura de calentamiento es aproximadamente de 70°C.

9º.- Se reivindica por último, como objeto sobre el cual ha de recaer la Patente de Invención que se solicita: " UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE ANTITROMBOPLASTINAS FOSFOLIPIDAS ".

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente Memoria que consta de seis páginas mecanografiadas.

Madrid, 7 de Enero de 1963

ALFONSO UNGRIA

P.P.