

284 368

PATENTE DE INVENCION

Le A 7200-Spanien.



Memoria Descriptiva

sobre:

"Procedimiento para la obtención de un derivado de difícil solubilidad del inactivador de calicreina".

==.==.==.==.==.

Solicitante:

FARBENFABRIKEN BAYER AKTIENGESELLSCHAFT, entidad alemana, residente en Leverkusen-Bayerwerk, Alemania.

==.==.==.==.==.

Es conocido que los derivados libres de albúmina del inactivador de calicreina se pueden obtener de glándulas animales reaccionando sus soluciones mediante adición de medios precipitadores de albúmina, tales como ácido sulfosalicílico y

5.



284368

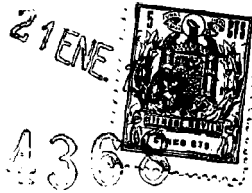
ácido tricloroacético. El inactivador de calicreina no se precipita por lo tanto con estos medios (véase patente alemana 1.084.433).

5. Se ha descubierto que se puede precipitar el inactivador de calicreina en forma de su derivado de difícil solubilidad si se hace reaccionar con ácido metafosfórico. Aquí se puede proceder también reaccionando las soluciones del inactivador de calicreina con sales solubles en agua del ácido metafosfórico, con
10. lo que no se presenta una precipitación y después se separa el derivado de difícil solubilidad mediante acidificación. Sales del ácido metafosfórico adecuadas son ante todo las sales alcalinas y amónicas.

15. La precipitación según la presente invención se presenta también en soluciones libres de albúmina del inactivador de calicreina, por ejemplo en aquellas que antes se desalbuminaron cuantitativamente con ácido sulfosalicílico o ácido tricloroacético.

20. De esto se desprende que en la medida según la presente invención no se trata de una precipitación de la albúmina. Mas bien da el presente procedimiento la posibilidad de obtenerse un inactivador de calicreina libre de albúmina y de difícil solubilidad.

25. Por la precipitación según la presente invención no se presenta ninguna desnaturalización del inactivador de calicreina, lo que es una nueva señal de que aquí no se trata de una precipitación de albúmina, pues las precipitaciones de albúmina están acompañadas por lo general con la desnaturalización de la
30. albúmina, cosa que se indica por la pérdida de la efi-



cacia biológica de la substancia correspondiente.

En el procedimiento según la presente invención se separa el inactivador de calicreina cuantitativamente en forma de difícil solubilidad. En este preparado está totalmente contenida la eficacia biológica. Debido a la difícil solubilidad del producto obtenido, el procedimiento es adecuado para la limpieza del inactivador de calicreina impuro.

Las suspensiones del producto de precipitación en agua no son dializables, mientras que el inactivador de calicreina en forma soluble, también de mezclas, se puede dializar con facilidad.

El producto según el procedimiento de la presente invención muestra en la aplicación en vivo un efecto depositante. No es tóxico, es extraordinariamente inocuo al tejido y por lo tanto bien adecuado para la aplicación terapéutica, y también para inyecciones.

Ejemplo 1:

114 mg de inactivador de calicreina (0,38 γ /E), correspondientes a 300.000 unidades de inactivador de calicreina, se disuelven en 5 cm³. de agua redestilada y se precipitan con 2,5 cm³. de ácido metafosfórico al 10%. La precipitación se separa por centrifugación, se lava tres veces con agua redestilada y se suspende en 10 cm³. de agua redestilada. La suspensión contiene aproximadamente 100% de la actividad del inactivador de calicreina.

Ejemplo 2:

114 mg de inactivador de calicreina (0,38 γ /E),



- correspondientes a 300.000 unidades de inactivador de calicreina se disuelven en 2,5 cm³. de agua redestilada. Acido metafosfórico al 10% se ajusta con NaOH a un pH de 6,0(Syphan) y 2,5 cm³. de esta solución Na-metafosfórica se introducen y agitan en la solución del inactivador de calicreina de arriba. Después de agregar 1 cm³. de ácido acético diluido 1:10 se forma una precipitación que se centrifuga. Esta se lava tres veces con agua redestilada y se suspende en 10 cm³. de agua redestilada. La suspensión contiene aproximadamente 100% de la actividad del inactivador de calicreina.
- 5.
- 10.

Ejemplo 3:

- 300 mg de inactivador de calicreina del grado de pureza 0,6 γ , correspondientes a 500.000 unidades de inactivador de calicreina, obtenida de pancreas, se disuelven en 10 cm³. de agua redestilada y se precipita con 7,2 cm³. de ácido metafosfórico al 10%. La precipitación se separa por centrifugación, se lava tres veces con agua redestilada y se suspende en 22,5 cm³. de agua redestilada. El rendimiento asciende al 90%. 1 cm³. de la suspensión contiene por lo tanto 20.000 unidades de inactivador de calicreina.
- 15.
- 20.

Ejemplo 4:

- 100 cm³. de una solución acuosa libre de sal del inactivador de calicreina, de parotis, del grado de pureza 0,42 γ , conteniendo 250.000 unidades del inactivador de calicreina se precipitaron con 0,2 cm³ de ácido metafosfórico al 10%. La precipitación se lavó después de separar por centrifugación dos veces con agua redestilada y el residuo se suspendió en-
- 25.
- 30.



tonces en 20 cm³ de agua redestilada. 1 cm³ de la suspensión contenía 11.250 unidades del inactivador de calicreina, el rendimiento era por lo tanto del 90%.

5.

Ejemplo 5:

150 cm³ de solución acuosa libre de sal de inactivador de calicreina del pulmón, del grado de pureza 0,3 γ , conteniendo 9,9 millones de unidades de calicreina se precipitó con 10 cm³ de una solución de ácido metafosfórico al 10%. La precipitación se separó por centrifugación y se lavó dos veces con agua redestilada. Después se suspendió el residuo en 330 cm³ de agua redestilada. La suspensión así formada contiene la totalidad del inactivador de calicreina empleado. El rendimiento es por lo tanto del 100%. Una unidad de inactivador de calicreina está ligada a 0,22.

10.

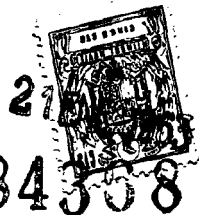
15.

N O T A

20. 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 detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento se refiere a una solicitud de patente presentada en Alemania, con fecha 19 de febrero de 1.962, nº F 36.066 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 Patente de In-

25.

30.



vención por 20 años en España: "Procedimiento para la obtención de un derivado de difícil solubilidad del inactivador de calicreina"; caracterizándose por lo siguiente:

1ª.- Procedimiento para la obtención de un derivado de difícil solubilidad del inactivador de calicreina, caracterizado, porque el inactivador de calicreina se hace reaccionar con ácido metafosfórico.

2ª.- "Procedimiento para la obtención de un derivado de difícil solubilidad del inactivador de calicreina"; tal y como queda sustancialmente descrito en la presente memoria.

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

Madrid, 21 ENE 1963

FABRIK F. BAYER
AKTIENGESELLSCHAFT.-

J. GOMEZ ACEBO Y MODU
P. S.