

P - 26.148

OA/4157-560

13 MAY. 1964



295.953

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se presenta para unir a la solicitud
de

PATENTE DE INVENCION

formulada el 31 de enero de 1.964, con el nº 295.953

en

ESPAÑA

por VEINTE años

a nombre de N.V. ORGANON, entidad holandesa, establecida en Kloosterstraat 6, Oss, Holanda, por:

"UN METODO PARA LA FABRICACION DE PREPARADOS INYECTABLES CON ACTIVIDAD REFORZADA Y PROLONGADA DE HORMONA ADRENOCORTICOTROPICA"

El invento se refiere a nuevos compuestos complejos escasamente solubles consistentes en un compuesto terapéuticamente aceptable de un metal que retarda la resorción de hormonas proteínicas y un péptido con actividad de hormona adrenocorticotrópica, y a preparados inyectables que comprenden uno o más de dichos compuestos complejos y ejercen una actividad de hormona adrenocorticotrópica reforzada y prolongada, y a su fabricación.

Durante muchos años en el pasado la hormona adre

4
5
10
15
20
25
30

nocorticotrópica (ACTH) ha sido aislada de las pitui-
tarias anteriores de los mamíferos para la fabricación
de drogas, cuyo efecto favorable contra ciertas enfer-
medades es generalmente conocido. En los últimos años
ha tenido lugar un rápido desarrollo de los métodos de
síntesis proteínica y varios investigadores han logra-
do sintetizar péptidos con actividad de hormona adreno-
corticotrópica. Puesto que se ha comprobado que solamen-
te parte de la molécula de hormona adrenocorticotrópica
es esencial para el efecto característico en las glán-
dulas suprarrenales, puede esperarse en general que es-
tos péptidos sintéticos con actividad de hormona adre-
nocorticotrópica se usarán como una droga y que con el
transcurso del tiempo pueden sustituir a la hormona adre-
nocorticotrópica obtenida de fuentes animales, un mate-
rial de partida costoso que todavía puede obtenerse en
una escala relativamente pequeña. Es evidente, sin embar-
go, que la necesidad de preparados con actividad refor-
zada y prolongada seguirá existiendo en consecuencia.

20
25
30

De la patente para los Estados Unidos 2.807.569,
son conocidos preparados adecuados para inyección, en
los cuales la hormona está combinada con una o más sa-
les o uno o más hidróxidos u óxidos de metales que retar-
dan la resorción de las hormonas proteínicas, cuyos com-
puestos pueden formar un complejo insoluble o escasamen-
te soluble con la hormona adrenocorticotrópica para un
pH de aproximadamente 6-8. La solicitud de patente pa-
ra los Estados Unidos número 212.454 describe suspensio-
nes que contiene cinc de hormona adrenocorticotrópica
preparadas de acuerdo con el método de la patente de los



Estados Unidos número 2.807.569 y caracterizadas por la adición de un ácido derivado de un óxido de fósforo o un derivado de este ácido.

5 Los nuevos compuestos complejos escasamente solubles de acuerdo con el invento consisten en un compuesto metálico farmacéuticamente aceptable, seleccionado de entre una sal, hidróxido y óxido de un metal que retarda la resorción de hormonas proteínicas, y uno de los péptidos con actividad de hormona adrenocorticotrópica que tiene la sucesión de aminoácidos de al menos la de los primeros 19 y no más de la de los primeros 31 residuos de aminoácidos de la hormona adrenocorticotrópica. Por el término hormona adrenocorticotrópica, tal como se sigue utilizando en esta memoria descriptiva, se entiende el componente principal de una mezcla de compuestos con actividad de hormona adrenocorticotrópica como la que existe en la glándula pituitaria de, por ejemplo, el hombre, los cerdos, las vacas y las ovejas. La sucesión de los aminoácidos de este componente principal para las citadas clases de mamíferos es conocida. Este componente consta en todos los casos residuos de 39 aminoácidos. La serina en la sucesión 1-24, contada desde el aminoácido de terminal-N, es idéntica para las diversas clases de mamíferos. No obstante, en la sucesión 25-32 se aprecian diferencias por lo que respecta a la composición y sucesión de los aminoácidos, cuyas diferencias no han resultado ser de importancia esencial para la actividad biológica de la hormona adrenocorticotrópica. Hacemos referencia a la bibliografía para elucidación de la estructura de las mo



lécúlas de hormona adrenocorticotrópica de las diferentes especies. Véase, por ejemplo T.H. Lee y otros, J. Biol-Chem. 236, 2970 (1961) y R.G. Shepherd y otros, J. Am. Chem. Soc. 78, 5069 (1956).

5 Pueden elaborarse preparados inyectables consistentes en una suspensión de dichos compuestos complejos escasamente solubles en un vehículo inyectable acuoso, estando el pH de dichas suspensiones entre aproximadamente 6,0 y 8,0. Estos tienen una actividad de hormona
 10 adrenocorticotrópica prolongada y reforzada. Tanto los compuestos complejos escasamente solubles de acuerdo con el invento como los preparados inyectables son nuevos.

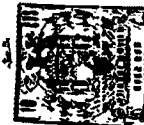
Por péptidos con actividad de hormona adrenocorticotrópica, que sirven como un componente en los compuestos complejos del invento, se entienden los péptidos libres y sus derivados funcionales. Estos últimos comprenden amidas e hidracidas, sustituidas o no, y de
 15 rivadas del grupo carboxílico del 5º y del resto de aminoácido del C terminal, y además ésteres derivados de los alcoholes alifáticos, aromáticos o arolifáticos ta
 20 les como el metanol, etanol y alcohol bencilico, sales alcalinas y sales de adición ácidas de los péptidos, de rivados de los ácidos carboxílicos, tales como el ácido nítrico, ácido succínico, ácido málico, ácido malónico,
 25 ácido tartárico, ácido glutamínico, ácido tánico, ácido acético, ácido propiónico y ácidos inorgánicos, por ejemplo el ácido clorhídrico y el ácido fosfórico. Dichos derivados funcionales pueden formarse durante o después de la preparación de los péptidos en cuestión.

30 Como ejemplos de los péptidos usados pueden men-



5
10
15
20
25
30

cionarse los péptidos con actividad de hormona adreno-
corticotrópica que tienen la sucesión de los primeros
19, 20, 24, 26, 28 y 31 residuos de aminoácidos respec-
tivamente, usados en los ejemplos siguientes para la
preparación de drogas inyectables. Todos los aminoáci-
dos básicos de la molécula de hormona adrenocorticotró-
pica residen en la sucesión 6-21 a diferencia de los
aminoácidos ácidos. La mayoría de estos últimos existen
en la sucesión 25-39. Consiguientemente, los péptidos
con sucesiones desde 1-18 hasta 1-31 exhiben un punto
isoelectrico más alto que la molécula de hormona adre-
nocorticotrópica que contiene 39 residuos de aminoáci-
dos. Además, estos péptidos con actividad de hormona
adrenocorticotrópica presentan una solubilidad incre-
mentada para un pH de aproximadamente 6-8. Puesto que
tienen propiedades que difieren física y químicamente
de las de la molécula de hormona adrenocorticotrópica,
es sorprendente que los péptidos básicos con actividad
hormona adrenocorticotrópica formen complejos con los
compuestos metálicos mencionados, los cuales son esca-
samente solubles o insolubles a un pH de aproximadamen-
te 6-8 y que los complejos resultantes presenten una
actividad reforzada y prolongada comparada con la de
la hormona adrenocorticotrópica. Aparentemente, los re-
siduos de aminoácidos básicos desempeñan un papel im-
portante en la formación de los compuestos complejos
metálicos escasamente solubles. La actividad prolonga-
da de los complejos metálicos de dichos péptidos parece
ser más pronunciada cuando se han usado complejos con
los péptidos más cortos. Por consiguiente, se prefiere



7

el uso de péptidos con actividad de hormona adrenocorticotrópica que tengan la sucesión de aminoácidos de 1-19 a 1-24. Puede verse una ilustración en los resultados farmacológicos contenidos en los ejemplos adjuntos. Además, mediante la administración al hombre de preparados fabricados a partir de estos péptidos más cortos se evita que se inyecten péptidos extraños, los cuales pueden ser perjudiciales tras una administración prolongada.

Los péptidos con actividad de hormona adrenocorticotrópica usados pueden prepararse por descomposición enzimática de hormona adrenocorticotrópica (véanse Shephard y otros, J. Am. Chem. Soc. 78, 5051 (1956). También pueden prepararse por síntesis, por ejemplo por el método descrito por H. Kappeler y R. Schwyzer en Helv. Chim. Acta 44 1136 (1961). Una síntesis del péptido-20 ha sido descrita por K. Hoffman y otros en J. Am. Chem. Soc. 84, 4481 (1962). Este péptido ha sido preparado en forma de su amida y se usa como tal en el ejemplo VII. La síntesis del péptido-19 ha sido descrita por C.H. Id en J. Am. Chem. Soc. 82, 5760 (1960). Fueron preparados los siguientes péptidos con actividad de hormona adrenocorticotrópica:

- a. sucesión 1-31, por descomposición con pepsina
- b. sucesión 1-28, por descomposición con pepsina y carboxipeptidasa A
- c. sucesión 1-26, por descomposición de hormona adrenocorticotrópica esterificada con pepsina, seguida por la acción de la carboxipeptidasa A y saponificación

30

1953



- d. sucesión 1-24, por descomposición del péptido-26
con carboxipeptidasa B
- e. sucesión 1-24, por síntesis
- f. sucesión 1-20, por síntesis
- 5 g. Sucesión 1-19, por síntesis

En el ensayo de evacuación de ácido ascórbico (véase U.S.P. XVI) se comprobaron las siguientes potencias biológicas con los límites fiduciales que se mencionan para P = 0,05, tras inyección subcutánea:

10	péptido-31	148	(127-172)	Unidades U.S.P./mg			
	péptido-28	100	(78-129)	"	"	"	
	péptido-26	99	(69-142)	"	"	"	
	péptido-24	61	(51-72)	"	"	"	
	péptido-19	45	(34-59)	"	"	"	
15	péptido-20	73	(59-90)	"	"	"	
	péptido-24	101	(85-120)	"	"	"	

Los compuestos complejos del invento están compuestos de un portador que consiste en una sal, hidróxido u óxido escasamente soluble de uno o más de los metales indicados y el péptido que tiene actividad de hormona adrenocorticotrópica adsorbido en este transportador como un constituyente activo. Tal complejo puede ser designado por el nombre de "complejo de adsorción".

Los metales más adecuados para el procedimiento de acuerdo con el invento son el cinc, el níquel, el cobalto, el cobre y el hierro. También pueden aplicarse mezclas de los mismos. Preferentemente se usa el metal fisiológico, el cinc, y este en forma de su hidróxido, óxido, fosfato o mezclas de ellos. El orden en que se

293



combinan el péptido, el compuesto metálico y el medio no es de importancia esencial. El compuesto complejo puede ser aislado de la mezcla de reacción y vuelto a poner en suspensión en el momento deseado en un medio acuoso farmacéuticamente adecuado, o puede ser formado directamente en tal medio, de manera que la propia mezcla de reacción pueda ser usada como un preparado para inyección. Corrientemente se elabora una solución acuosa del péptido con actividad de hormona adrenocorticotrópica, a la cual se añade una solución acuosa de una sal metálica, tras lo cual se ajusta el pH al valor deseado por medio de, por ejemplo, fosfato sódico y/o una solución de hidróxido sódico. Para un pH de aproximadamente 6-8 se forma una suspensión de un complejo que consta del péptido con actividad de hormona adrenocorticotrópica adsorbido en el compuesto metálico, por ejemplo, fosfato de cinc o hidróxido de cinc, formado para ese pH. Finalmente se diluye la suspensión obtenida hasta un volumen que contiene la cantidad deseada de unidades, por ejemplo, 30 Unidades U.S.P./ml. Si se desea el preparado en forma de una solución, se toma un compuesto metálico soluble como material de partida, cuyo pH se ajusta a un valor para el cual el metal permanece en solución. Tras la inyección de tal preparado se forma un complejo escasamente soluble o insoluble en el lugar de la inyección por la acción tamponadora del fluido del cuerpo. Estos preparados son asimismo nuevos y constituyen un objeto del invento.

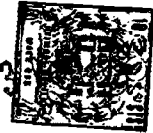
Se ha comprobado que el uso de una cantidad de metal de 1-20 mg por cada 100 Unidades U.S.P. tiene una



influencia muy favorable sobre la actividad de los péptidos con actividad de hormona adrenocorticotrópica. Preferiblemente se usan 2-8 mg de metal por cada 100 Unidades U.S.P..

5 Preferentemente se aplica un medio acuoso que contiene un preservante, por ejemplo, un fenol, alcohol bencílico o un ester del ácido p-hidroxi benzoico, un compuesto para hacer el preparado isotónico, por ejemplo cloruro sódico, y un tampón para mantener el pH
10 en el valor deseado, por ejemplo, un tampón de acetato o de fosfato.

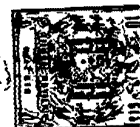
 Se ha comprobado además que la estabilidad y las cualidades de conservación de los preparados de acuerdo con el invento resultan mejoradas por la adición de
15 un ácido derivado de un óxido de fósforo, o un derivado de este ácido, en una cantidad de aproximadamente 0,05-0,70 de miligramo-equivalente de PO_4 por miligramo-equivalente de cinc. Como ejemplos de tales oxiácidos de fósforo citaremos el ácido metafosfórico, ácido
20 fosfórico, ácido ortofosfórico, ácido pirofosfórico y ácido tripolifosfórico. Por derivados de estos ácidos se entienden sales inorgánicas farmacéuticamente aceptables de estos ácidos, ésteres de los mismos derivados de compuestos hidroxiorgánicos tales como nucleósidos,
25 carbohidratos, polialcoholes e hidroxiaminoácidos y sales inorgánicas adecuadas de estos éstres. Como ejemplos de sales y ésteres de oxiácidos de fósforo citaremos las sales primarias, secundarias y terciarias de sodio, de potasio y de amonio, los glicerofosfatos, los fosfatos de fructosa, de ribosa y de glucosa
30



sa y los fosfatos de nucleósidos tales como el mono-
el di - y el trifosfato de adenosina, los fosfatos de
citidina y la fosfoserina así como las fosfamidias, por
ejemplo un fosfato de creatina.

5 El ensayo farmacológico mediante el cual ha sido
determinada la actividad prolongada de los preparados
de acuerdo con el invento está basado en el ensayo de
evacuación de ácido ascórbico, descrito originalmente
en Endocrinology 42 379 (1948). En lugar de una inyec
10 ción intravenosa se administra a un grupo de ocho ra-
tas una inyección subcutánea de tres unidades U.S.P. en
forma de un complejo de adsorción con, por ejemplo, hi
dróxido de cinc. A otro grupo de ocho ratas se adminis
tran también subcutáneamente, tres unidades U.S.P. de
15 un preparado normal de hormona adrenocorticotrópica
sin hidróxido de cinc. Después de transcurridas 24 ho-
ras se determina el contenido de ácido ascórbico de las
glándulas suprarrenales izquierda y derecha conjuntamen
te de cada rata de los dos grupos. La diferencia entre
20 el contenido medio de ácido ascórbico de las glándulas
suprarrenales de los dos grupos sirve como criterio pa
ra la actividad prolongada (véase, British Pharmacopea
1958, addendum 1960, pág. 21). A modo de ejemplo, se ob
servó en este ensayo la muy elevada evacuación de áci-
do ascórbico de 331 μ g por cada 100 mg de glándulas
25 suprarrenal, con un preparado elaborado a partir de un
péptido sintético con actividad de hormona adrenocor-
ticotrópica de la sucesión 1-24 e hidróxido de cinc co-
mo el compuesto metálico.

30 Los presentes preparados han sido ensayados cli-



nicamente, véanse los ejemplos VII y IX. Los resultados de estos ensayos confirman el resultado favorable de los ensayos farmacológicos.

En los ejemplos siguientes se describen la fabricación y la composición de diversos preparados que contienen péptidos con actividad de hormona adrenocorticotrópica y se indica su actividad prolongada.

EJEMPLO I

Se disuelven en 2 ml de agua 22,7 mg del péptido-31 de una potencia de 148 Unidades U.S.P./mg. A continuación se añaden 3,4 ml de una solución de cloruro de cinc, que contiene 43,9 mg de cinc por ml, y 2 ml de una solución de fosfato sódico secundario, que contiene 63,2 mg de Na_2HPO_4 12 ag. por ml. Se completa el volumen total de la solución hasta 10 ml con agua destilada. A continuación se añade esta solución gota a gota, mientras se agita a 25 ml de disolvente de la siguiente composición: 2% (p/v) de alcohol bencílico y 1,2% en peso de cloruro sódico. Al mismo tiempo se añade gota a gota una solución de hidróxido sódico 0,5 N, manteniéndose el pH en 8,0. La cantidad total de álcali requerido asciende a 5,3 ml.

Finalmente se completó el volumen con agua destilada hasta 50 ml.

La composición de la suspensión así obtenida es:

péptido-31	60 Unidades USP/ml
zinc	3 mg/ml



Na ₂ HPO ₄	1,0 mg/ml
alcohol bencílico	10 mg/ml
cloruro sódico	9,0 mg/ml
pH	8,0

5

En el ensayo de actividad prolongada se comprobó una evacuación de ácido ascórbico media de 202 µg por cada 100 mg de glándula suprarrenal, lo cual indica una actividad prolongada muy buena.

10

Se elaboraron preparados correspondientes de la misma manera, usando cobalto y hierro en lugar de cinc. Mostraron asimismo una actividad prolongada en el ensayo mencionado.

15

EJEMPLO II

A la manera del ejemplo I se preparó una suspensión con el péptido-28 con actividad de hormona adrenocorticotrópica de la siguiente composición:

20

péptido-28 (100 unidades USP/mg)	30 unidades USP/ml
zinc (añadido como cloruro de zinc)	1,75 mg/ml
Na ₂ HPO ₄	0,58 mg/ml
alcohol bencílico	10 mg/ml
cloruro sódico	8,5 mg/ml
pH	8,0

25

En el ensayo de actividad prolongada se obtuvo una respuesta de 240 µg por 100 mg de glándula suprarrenal.

30

293900



13

EJEMPLO III

Por el método del ejemplo I se preparó una suspensión del péptido-24 con actividad de hormona adrenocorticotrópica de la composición siguiente:

5

péptido-24 (61 Unidades USP/mg	30 unidades USP/ml
zinc (añadido como cloruro de zinc)	1,75 mg/ml
Na ₂ HPO ₄	0,58 mg/ml
alcohol bencílico	10 mg/ml
cloruro sódico	8,8 mg/ml
pH	8,0

10

En el ensayo de evacuación de ácido ascórbico se obtuvo la muy elevada respuesta de 347 µg por cada 100 mg de glándula suprarrenal.

15

EJEMPLO IV

Por el procedimiento descrito anteriormente se preparó una suspensión de la composición siguiente:

20

péptido-31 (106 Unidades USP/mg)	60 Unidades USP/mg
zinc (añadido como cloruro de zinc)	3 mg/ml
alcohol bencílico	10 mg/ml
cloruro sódico	9,1 mg/ml
pH	8,0

25

En el ensayo de evacuación de ácido ascórbico se midió una respuesta de 192 µg por cada 100 mg de glán-

30

295953



dula suprarrenal.

En la manera anteriormente descrita se preparó una suspensión de la composición siguiente:

5	péptido-26 (99 Unidades USP/mg)	60 Unidades USP/ml
	zinc (añadido como cloruro de zinc)	2,5 mg/ml
	alcohol bencílico	10 mg/ml
	cloruro sódico	9,3 mg/ml
10	pH	7,5

En el ensayo de actividad prolongada este preparado presentó una evacuación de ácido ascórbico de 182 µg por cada 100 mg de glándula suprarrenal.

15 EJEMPLO VI

Por el método del ejemplo I se preparó una suspensión que tenía la composición siguiente:

20	péptido-19 (45 Unidades USP/mg)	40 Unidades USP/ml
	zinc (añadido como acetato de zinc)	2 mg/ml
	Na ₂ HPO ₄	0,66 mg/ml
	alcohol bencílico	10 mg/ml
	cloruro sódico	9,2 mg/ml
25	pH	8,0

Este preparado dió en el ensayo de actividad prolongada una respuesta de 293 µg por cada 100 mg de glándula suprarrenal.





EJEMPLO VII

En la manera descrita anteriormente se preparó una suspensión con la composición siguiente:

5

péptido-20 (73 Unidades USP/mg)	60 Unidades USP/ml
zinc (añadido como sulfato de zinc)	3, mg/ml
Na ₂ HPO ₄	1,0 mg/ml
alcohol bencílico	10 mg/ml
10 cloruro sódico	9,3 mg/ml
pH	7,8

15 La evacuación de ácido ascórbico en el ensayo sobre actividad prolongada fué de 312 µg por cada 100 mg de glándula suprarrenal.

Este preparado fué ensayado clínicamente sobre 7 pacientes en una dosis de 60 Unidades USP. Se hicieron recuentos de eosinófilos en la sangre cada cuatro horas. Se calculó el porcentaje de eosinófilos para cada paciente y se calculó el valor medio. La disminución en el recuento de eosinófilos y la restitución del cuadro sanguíneo al observado al principio del experimento permiten determinar la actividad prolongada del preparado. Se comprobaron los siguientes valores medios de eosinófilos:

20

25

Tiempo (horas)	Inyección	0	4	8	12	16	20	24
Valores		100	91	43	38	36	84	102



Un preparado de composición similar, pero conteniendo la misma cantidad de hormona adrenocorticotrópica comercial dió la siguiente respuesta de eosinófilos:

5

Tiempo (Horas)	Inyección	4	8	12	16	20	24
Valores	100	50	25	50	87	102	101

10

A la vista de estas cifras está claro que la actividad del primer preparado es más prolongada.

15

EJEMPLO VIII

Se disuelven 14,8 mg de un péptido-24 sintético con actividad de hormona adrenocorticotrópica que tiene una potencia de 101 Unidades USP/mg en 5 ml de agua acidificada (pH=3,0).

20

Se añaden 4,7 ml de una solución de cloruro de cinc que contiene 21,4 mg de cinc por ml. Se ajusta el volumen total con agua hasta 20 ml. A esta solución se añaden 20 ml de una solución que contiene 12,5 mg de fenol por ml y 15 mg de cloruro sódico por ml. Al tiempo que se agita se ajusta el pH a 7,6 por adición, gota a gota, de 4,8 ml de hidróxido sódico 0,5 normal (exento de carbonato). Se ajusta el volumen con agua a 50 ml.

25

30

La composición de la suspensión preparada en es-



ta forma es:

5

péptido-24	40 Unidades USP/ml
zinc	2 mg Zn/ml
fenol	5 mg/ml
cloruro sódico	8,8 mg/ml
pH	7,6

En este preparado el zinc está principalmente presente, como una sal básica con la fórmula $ZnCl_2 \cdot x Zn(OH)_2$.

10

Este preparado dió una evacuación de ácido ascórbico de 267 μ g por cada 100 mg de glándula suprarrenal en el ensayo de acción prolongada.

15

EJEMPLO IX

Se preparó una suspensión de acuerdo con el ejemplo I, con la siguiente composición:

20

péptido-24 (101 Unidades USP/mg)	30 Unidades USP/ml
zinc	1,75 mg/ml
Na_2HPO_4	0,58 mg/ml
alcohol bencílico	10 mg/ml
Ph	8,0

25

En el ensayo de evacuación de ácido ascórbico se comprobó una respuesta de 287 μ g por cada 100 mg de glándula suprarrenal.

30

Este preparado fué ensayado clínicamente sobre siete pacientes en una dosis de 60 Unidades USP. La excrección de 17 OH corticoide de 14 horas en la orina fué



determinada de acuerdo con C. C. Porter y R. H. Silber
J. Biol Chem. 185, 201. (1950) durante cuatro días con
secutivos. En la tabla siguiente las cifras indican la
excreción de 17-hidroxi corticoide en mg/24 horas.

5

10

15

20

paciente \ día	inyección de			
	1	2 60 Unidades USP	3	4
1	6,5	22,2	5,8	4,7
2	8,1	29,6	15,1	8,3
3	6,4	26,7	9,7	5,0
4	10,9	33,3	13,3	8,0
5	9,4	39,2	9,2	9,6
6	8,0	43,9	17,5	6,4
7	7,2	24,9	9,4	2,8

Los siete pacientes reaccionaron en el día de la
inyección. En cuatro de cada siete pacientes se aprecia
una clara respuesta incluso en el segundo día después
de la inyección.

25

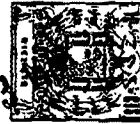
EJEMPLO X

Se preparó una suspensión a la manera descrita an
teriormente con la composición siguiente:

30

péptido-31 (148 Unidades USP/mg) 30 USP/ml

0 0 0 0 0 0



5.

NiSO ₄	2 mg Ni/ml
Na ₃ PO ₄	2,3 mg/ml
fenol	0,5 mg/ml
NaCl	8,9 mg/ml
NaOH	pH 7,0

El ensayo de actividad prolongada indicaba una acción prolongada considerable.

10

EJEMPLO XI

Se preparó una suspensión por el procedimiento anteriormente descrito de la siguiente composición:

15

péptido-26 (99 Unidades USP/mg)	40 Unidades USP/ml
CuSO ₄	2 mg Cu/ml
alcohol bencílico	10 mg/ml
NaCl	9,3 mg/ml
NaOH	pH 8,0

20

En el ensayo de acción prolongada se midió una evacuación de ácido ascórbico de 147 µg/100 mg de glándula suprarrenal.

EJEMPLO XII

25

Se preparó una suspensión de la siguiente composición:

30

péptido-20	30 Unidades USP/ml
CoSO ₄	1,5 mg Co/ml
Na ₃ PO ₄	2,8 mg/ml



glicerol	2,4 mg/ml
fenol	0,5 mg/ml
pH	6,4

5

El ensayo en cuanto a prolongación indicó una evacuación de ácido ascórbico de 155 μ g/100 mg de glándula suprarrenal.

EJEMPLO XIII

10

Se preparó una suspensión de la composición siguiente:

15

péptido-24	60 Unidades USP/ml
ferriacetato	3,5 mg Fe/ml
NaCl	9,0 mg/ml
metilparaben	0,85 mg/ml
propilparaben	0,15 mg/ml
NaOH	pH 6,5

20

La evacuación de ácido ascórbico fué de 173 μ g/100 mg de glándula suprarrenal.

EJEMPLO XIV

25

Se preparó una suspensión de la composición siguiente:

30

péptido-19 (45 Unidades USP/mg)	40 Unidades USP/ml
ZnCl ₂	2 mg Zn/ml
Na ₃ PO ₄	3,3 mg/ml
fenol	0,5 mg/ml

22 9 5 8 1 0



glicerol	2,4 mg/ml
pH	6,0

5

La cantidad de actividad de hormona adrenocorticotrópica presente en el líquido que sobrenadaba después de centrifugación fué de 0,36 Unidades USP/ml lo que demostró que se había formado un complejo escasamente soluble.

10

EJEMPLO XV

De acuerdo con el ejemplo VIII se preparó una suspensión de la composición siguiente. En lugar de fenol se usó alcohol bencílico como preservante.

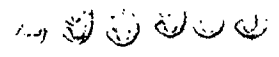
15

péptido-24 (101 Unidades/mg)	40 Unidades USP/ml
zinc (añadido como ZnCl ₂)	1 mg/ml
alcohol bencílico	10 mg/ml
cloruro sódico	9,1 mg/ml
pH	7,8

20

En estas condiciones se formó un complejo escasamente soluble. Se determinó la actividad de hormona adrenocorticotrópica de lo que sobrenadaba y ascendió a 0,25 Unidades USP/ml. Esto significa que más del 99% de la actividad estaba presente en el compuesto complejo escasamente soluble. Además este preparado reveló una actividad prolongada considerable, ya que se comprobó una evacuación de ácido ascórbico de 321 µg/100 mg de glándula suprarrenal.

25





EJEMPLO XVI

Un preparado que tiene la composición siguiente:

5	péptido 1-24	40 Unidades USP/ml
	zinc (añadido como $ZnCl_2$)	4, mg/ml
	alcohol bencílico	10 mg/ml
	cloruro sódico	9,1 mg/ml
	pH	4,0 tal como se preparó

10 Este preparado dió una evacuación de ácido ascórbico de 137 μ g/100 mg de glándula suprarrenal en el ensayo de actividad prolongada.

15 La presente solicitud que corresponde a la presentada en Holanda, con fecha 15 de febrero de 1.963, bajo el número 289.055, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

N O T A

20 Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los siguientes:

25 1.- Un método para la fabricación de preparados inyectables con actividad reforzada y prolongada de hormona adrenocorticotrópica que comprende el hacer reaccionar, en un vehículo acuoso apropiado para inyección, un peptido que tiene actividad de hormona adrenocortico

30

207053



trópica con una sucesión de al menos la de los primeros 19 y no más que la de los primeros 31 residuos de aminoácido de la molécula de hormona adrenocorticotrópica y 1 o más sales, hidróxidos u óxidos de un metal que retarda la resorción de hormonas proteínicas y capaz de formar un compuesto complejo escasamente soluble con dicho peptido con un pH aproximadamente igual al del fluido del tejido.

5
10
2.- Un método de acuerdo con el punto 1 caracterizado por que el pH de la preparación es ajustado a un valor entre aproximadamente 6 y 8.

3.- Un método de acuerdo con el punto 1 caracterizado por que se usa un peptido que tiene actividad de hormona adrenocorticotrópica y una sucesión de al menos la de los primeros 19 y no más que la de los primeros 24 residuos de aminoácido de la molécula de hormona adrenocorticotrópica.

15
20
4.- Un método de acuerdo con el punto 1 caracterizado por que se usan de 1 a 20 mg de metal por cada 100 unidades U.S.P. del peptido.

5.- Un método de acuerdo con el punto 1 caracterizado por que el metal usado es zinc, níquel, cobalto, cobre o hierro.

25
6.- Un método de acuerdo con el punto 5 caracterizado por que se usa el metal zinc.

30
7.- Un método de acuerdo con el punto 1 caracterizado por que se usa un ácido derivado de un óxido de fósforo o un ester o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho ácido o ester, en una cantidad de aproximadamente 0,05-0,70 mg de miligramo-equivalente de PO_4



por miligramo-equivalente de zinc.

8.- Un método para la fabricación de preparados inyectables con actividad reforzada y prolongada de hormona adrenocorticotrópica.

5

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y para los fines que se han especificado.

La presente Memoria consta de veinticuatro hojas escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid,

P. A. 13 MAY 1964

W. R. ...

295953