

208271

PATENTE DE INVENCION

Case 1783.

37/BA/MK.



## Memoria Descriptiva

sobre:

"Procedimiento para la fabricación de un nuevo polipepturo".

=====

*Solicitante:* SANDOZ, A.G., entidad suiza, residente en Basilea, Suiza.

=====

La presente invención se relaciona con un polipepturo hasta ahora desconocido y con un procedimiento para la producción del mismo.

La presente invención proporciona el polipepturo de fórmula general I.

5.



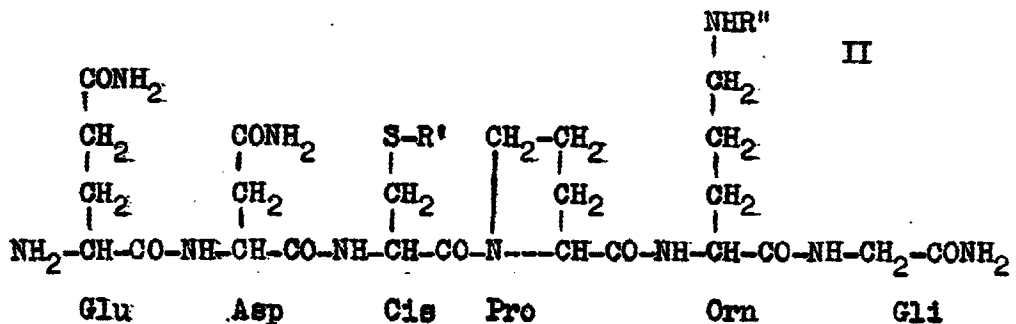


298271

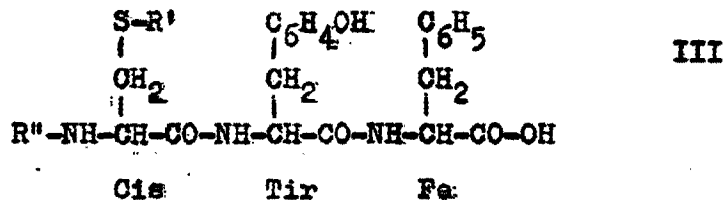


- 4 -

5. en la que R' significa un radical capaz de proteger un radical sulfhidrilo en la síntesis del pepturo y R'' significa un radical capaz de proteger un radical amino en la síntesis del pepturo, con un metal alcalino, por ejemplo sodio o potasio, en amoniaco líquido. El compuesto IV puede obtenerse por condensación de un derivado hexapepturo de fórmula II,



10. en la que R' y R'' tienen los significados antes indicados con un derivado capaz de reaccionar de un ácido libre de fórmula III,



en la que R' y R'' tienen los significados antes indicados.

15. Son ejemplos de radicales para la protección por bloqueo temporal del radical amino en el procedimiento arriba citado los radicales carbobenzoxi, carbo-p-clorobenciloxi, p-toluenesulfonilo y trifenilmetilo; son ejemplos de radicales para la protección del radical sulfhi-

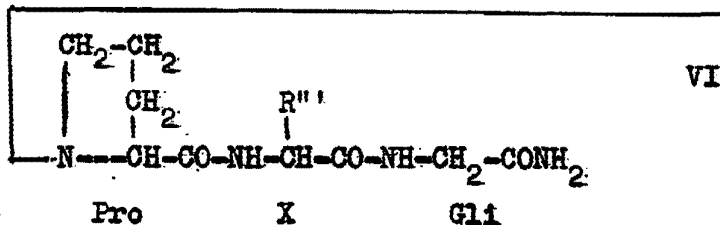
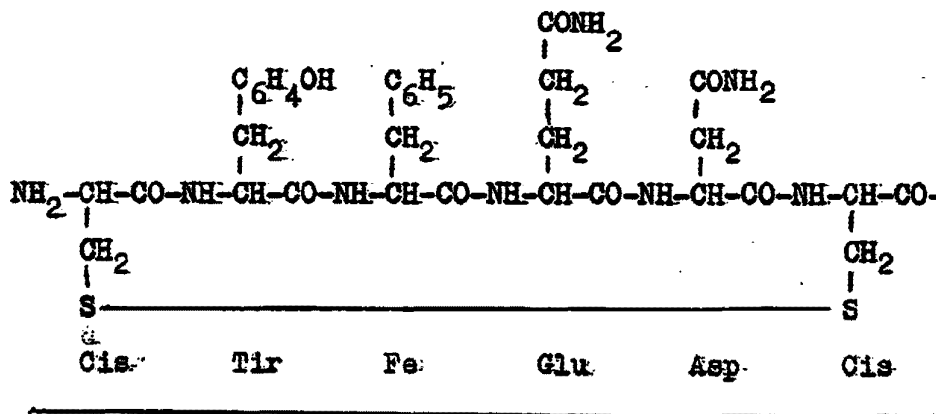
298271



- 5 -

drillo los radicales fenilo, bencilo, p-bromo-bencilo, p-cloro-bencilo, p-nitro-bencilo y p-xililo.

Se ha encontrado ahora que el compuesto I tiene un efecto vasoconstrictor igual al de las vasopresinas naturales; el compuesto nuevo se diferencia de las vasopresinas naturales porque contiene un radical ornitina en la posición del radical lisina (vasopresina de cerdos, fórmula VIa) o del radical arginina (vasopresina de ganado, fórmula VIb),



Formula	R'''	X	Compuesto
VI a	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	Lis	Vasopresina lisinica
VI b	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}-\text{NH}_2$   NH	Arg	Vasopresina arginica
VI c-I	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	Orn	Polipepturo de fórmula I

10. Sin embargo, el compuesto I no tiene efecto antidiu-

298271



- 6 -

rético en comparación con las vasopresinas naturales y por lo tanto se indica su uso en la terapia como sustancia que posee un efecto vasoconstrictor específico. Este efecto vasoconstrictor específico del compuesto I resulta de una influencia directa sobre las

5. músculas vasculares; por esta razón no se producen efectos secundarios apreciables sobre el sistema nervioso vegetativo, como es el caso con la adrenalina y la noradrenalina. No se pudo prever el efecto vaso-

10. constrictor selectivo del compuesto I debido a que la estructura del radical ornitina se asemeja a aquella del radical arginina y se asemeja íntimamente al radical lisina y por consiguiente se podía esperar que las propiedades del nuevo compuesto I no se diferen-

15. ciasen apreciablemente de aquellas de las dos hormonas naturales. Las propiedades del compuesto I son especialmente útiles en la profilaxis y terapia de la hemorragia parenquimatosa, produciendo la infiltración de los tejidos con el compuesto I un efecto isquémico

20. marcado. Las propiedades del compuesto I son además de especial utilidad en la cirugía de la garganta, nariz y oído, en la ginecología y obstetricia, en urología y odontología.

Al usarse el compuesto I en una operación

25. bajo anestesia local se sugiere que sea administrado

298271



- 7 -

en mezcla con el anestésico local, mientras que al usarse en una operación bajo narcosis general debe administrarse en forma de una solución fisiológica diluida de cloruro sódico.

5. El procedimiento del invento puede llevarse a cabo, por ejemplo como sigue:

- Se condensa N- $\alpha$ -carbобензохи-N- $\delta$ -p-толуен-сулфонил-L-орнитина con ester etílico de glicina para dar éster etílico de N- $\alpha$ -carbобензохи-N- $\delta$ -p-толуен-сулфонил-L-орнитил-glicina. Después de dissociar el radical carbобензохи, se condensa el éster etílico de N- $\delta$ -p-толуенсулфонил-L-орнитил-glicina resultante con N-carbобензохи-L-пролина para dar éster etílico de N-carbобензохи-L-пропил-N- $\delta$ -p-толуенсулфонил-L-орнитил-glicina, el que se convierte en la amida correspondiente. Después de dissociar el radical carbобензохи, se condensa la L-пропил-N- $\delta$ -p-толуенсулфонил-L-орнитил-glicinamida resultante con azuro de N-carbобензохи-L-глутаминил-L-аспарагинил-S-бенцил-L-цистеина para dar N-carbобензохи-L-глутаминил-L-аспарагинил-S-бенцил-L-цистеинил-L-пропил-N- $\delta$ -p-толуенсулфонил-L-орнитил-glicinamida. Después de dissociar el radical carbобензохи, se condensa la L-глутаминил-L-аспарагинил-S-бенцил-L-цистеинил-L-пропил-N- $\delta$ -p-толуенсулфонил-L-орнитил-glicinamida resultante
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.

298271

-3 AB.

- 8 -

- con azuro de N-carbobenzoxi-S-bencil-L-cisteinil-L-tirosil-L-fenilalanina para dar N-carbobenzoxi-S-bencil-L-cisteinil-L-tirosil-L-fenilalanil-L-glutaminil-L-asparaginil-S-bencil-L-cisteinil-L-prolil-N- $\delta$ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida. Se trata este derivado de nonapepturo con un metal alcalino, preferentemente sodio o potasio en amoníaco líquido, de modo que resulta el nonapepturo V lineal. Este último se convierte en el polipepturo I cíclico, biológicamente activo, por oxidación, preferentemente con aire, oxígeno o peróxido de hidrógeno en solución acuosa.
- El polipepturo I, hasta ahora desconocido, puede ser usado en forma de la base libre o de la sal de un ácido orgánico o inorgánico, ya sea sólo como preparación farmacéutica o en forma de preparaciones medicinales apropiadas para administrarse por ejemplo en forma parentérica, entérica o intranasal. Los siguientes son ejemplos de ácidos para la formación de sales de adición de ácido: los ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fumárico, maleico, málico, acético y tartárico. Con el fin de producir tales preparaciones medicinales se trabajan los compuestos del invento con adyuvantes orgánicos o inorgánicos que sean inertes y fisiológicamente aceptables. Los siguientes son ejemplos de tales adyuvantes:
- 5.
  - 10.
  - 15.
  - 20.
  - 25.

298271

-3 APR 1965



- 9 -

- Tabletas y grageas : lastosa, almidón, talco y ácido esteárico.
- Jarabes : soluciones de azúcar de caña, azúcar invert y glucosa.
5. Soluciones inyectables : agua, alcoholes, glicerina y aceites vegetales.
- Supositorias : aceites naturales o endurecidos y ceras.

10. Las preparaciones pueden además contener adecuados agentes de conservación, estabilización o humectación, facilitadores de la solución, substancias edulcorantes y colantes o aromatizantes.

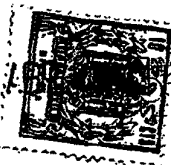
15. La presente invención también incluye composiciones farmacéuticas que contengan, además de un soporte fisiológicamente aceptable, un compuesto I y/o una sal de adición de ácido del mismo.

20. Dabe tenerse presente que el compuesto V antes indicado junto con sus sales de adición de ácido y los compuestos II antes indicados, así como el hexapepturo II libre (y sus sales de adición de ácido), en el que R' y R'' representan cada una un átomo de hidrógeno, están incluidos en la presente invención, así como los compuestos IV antes indicados.

25. Son ejemplos de ácidos adecuados para la formación de sales con los compuestos I y V y la L-glutaminil-L-asparaginil-L-cisteinil-L-prolil-L-ornitil-glicinamida los ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, cítrico, tartárico, succínico, maleico, málico, acético, benzoico, hexahidrobencico, metansulfónico, fumárico, gálico e iodhídrico.

30.

298271-3



- 10 -

En los siguientes ejemplos todas las temperaturas están indicadas en grados centígrados.

EJEMPLO 1:

a) Ester etílico de N- $\alpha$ -carbобензохи-N- $\delta$ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicina.

5.

Se disuelven 104 g de N- $\alpha$ -carbобензохи-N- $\delta$ -

p-toluensulfonil-L-ornitina y 27 g de éster etílico de glicina en 450 cc de acetinitrilo, se enfría la

mezcla a 0°, se añaden 51 g de carbodiimida diciclo-

10.

hexflica y se sacude la mezcla a la temperatura ambiente durante 4 horas. Se separa la urea diciclo-

hexflica precipitada por filtración y se lava con acet-

tonitrilo. Se evapora todo el filtrado en un vacío.

El residuo cristaliza después de la adición de éter

15.

de petróleo. Después de recristalizar de n-propanol,

se obtienen 93 g de éster etílico de N- $\alpha$ -carbобензохи-

N- $\delta$ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicina; punto de fu-

sión 136°;  $[\alpha]_D^{22} = -6,5^{\circ}$  (etanol al 96%).

b) N-carbобензохи-L-profil-N- $\delta$ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida.

20.

Se disuelven 90 g de éster etílico de N-

-carbобензохи-N- $\delta$ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicina

en 800 cc de ácido acético anhidro que ha sido satu-

rado con bromuro de hidrógeno. Se deja reposar la mez-

25.

cla durante una hora a 20°, se evapora en un vacío a

una temperatura por debajo de los 40° y se lava el re-

siduo cuidadosamente con éter dietílico. Se disuelve

el residuo en 500 cc de acetinitrilo, se añaden 25 cc

298271



- 11 -

- de amina trietífica y 43 g de N-carbobenzoxi-L-prolina, se enfría a 0°, se añade luego 35.5 g de carbodiimida diciclohexífica y se sacude la mezcla hasta el día siguiente a 20°. Después de separar la urea diciclohexífica por filtración, se evapora el filtrado en un vacío a 30°, se disuelve el residuo en acetato etílico y se lava esta solución con ácido sulfúrico diluido y amoníaco acuoso. Después de secar sobre sulfato sódico, se separa el acetato etílico por evaporación en un vacío y se disuelve el residuo en un litro de etanol absoluto. Se enfría la solución a 0°, se satura con amoníaco y se deja reposar hasta el día siguiente a 20°. Después de evaporar en un vacío a 30°, se recristaliza el residuo de formamina dimetífica/acetato etílico. Se obtienen 58 g de N-carbobenzoxi-L-prolil-N- $\delta$ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida; punto de fusión 122° (con descomposición);  $[\alpha]_D^{22} = -46$  (ácido acético glacial al 95%).
- o) N-carbobenzoxi-L-glutaminil-L-asparaginil-S-bencil-L-cisteinil-L-prolil-N- $\delta$ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida.
- Se disuelven 100 g de N-carbobenzoxi-L-prolil-N- $\delta$ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida en 500 cc de ácido acético anhidro que ha sido saturado con bromuro de hidrógeno, se deja reposar la solución durante una hora a 20° y se evapora en un vacío a una

298271



- 12 -

- temperatura por debajo de los 40°. Se lava el residuo cuidadosamente con éter dietílico y luego se añade a una solución de 100 g de azuro de N-carbobenzoxi-L-glutaminil-L-asparaginil-S-bencil-L-cisteinil y 26 cc de amina trietífica en 1000 cc de formamina dimetífica. Se deja reposar la mezcla hasta el día siguiente a 20°, se le añaden 3000 cc de acetato etílico, se separa el precipitado por filtración y se lava con acetato etílico. Se obtienen 105 g de N-carbobenzoxi-L-glutaminil-L-asparaginil-S-bencil-L-cisteinil-L-prolil-N- $\delta$ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida; punto de fusión 193°:  $\alpha_D^{20} = -38.5^\circ$  (formamina dimetífica).
5. d) N-carbobenzoxi-S-bencil-L-cisteinil-L-tirosil-L-fenil-alanil-L-glutaminil-L-asparaginil-S-bencil-L-cisteinil-L-prolil-N- $\delta$ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida.
10. Se disuelven 50 g de N-carbobenzoxi-L-glutaminil-L-asparaginil-S-bencil-L-cisteinil-L-prolil-N- $\delta$ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida en 250 cc de ácido acético anhidro que ha sido saturado con bromuro de hidrógeno y se deja reposar la solución durante una hora a 20°. Después de separar el disolvente por evaporación en un vacío a una temperatura por debajo de los 40°, se lava el residuo cuidadosamente con éter dietílico y se añade a esto una solución de 31.5 g de azuro de N-carbobenzoxi-S-bencil-L-cisteinil-
15. 20. 25.

298271



- L-tirosil-L-fenilalanina y 7.5 cc de amina trietilica en 250 cc de formamida dimetilica. Se deja reposar la mezcla durante 2 días a 20°, se añade a continuación 1000 cc de acetato etílico y se lava el precipitado con acetato etílico. Después de secar en un vacío a 30°, se lava el producto con metanol caliente. Se obtienen 45 g de N-carbobenzoxi-S-bencil-L-cisteinil-L-tirosil-L-fenilalanil-L-glutaminil-L-asparaginil-S-bencil-L-cisteinil-L-prolil-N- $\delta$ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida; punto de fusión 224°;  $[\alpha]_D^{21} = -41^{\circ}$  (formamida dimetilica).
5. e) L-cisteinil-L-tirosil-L-fenilalanil-L-glutaminil-L-asparaginil-L-cisteinil-L-prolil-L-ornitil-glicinamida.
10. Se añade la cantidad necesaria de metal de sodio o potasio a una solución de 5 g de N-carbobenzoxi-S-bencil-L-cisteinil-L-tirosil-L-fenilalanil-L-glutaminil-L-asparaginil-S-bencil-L-cisteinil-L-prolil-N- $\delta$ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida en 1200 cc de amoniaco líquido seco, mientras se agita a la temperatura de ebullición de la solución, hasta que se produce una coloración azul estable. Después de la adición de 3 g de cloruro amónico, se evapora la solución hasta sequedad. El residuo contiene L-cisteinil-L-tirosil-L-fenilalanil-L-glutaminil-L-asparaginil-L-cisteinil-L-prolil-L-ornitil-glicinamida.
15. 20. 25.

2982713 ABR 1963



f) Compuesto polipepturo I.

- Se disuelve el residuo obtenido de la etapa e) que antecede en 5 litros de ácido acético 0.01 N y se oxida a un valor pH de 6.5-8.0 mediante la introducción de aire u oxígeno durante una hora a 0-40°.
5. La solución que contiene la sustancia I, es ajustada a un valor pH de 4.0-5.0 y después de la adición de 50 g de cloruro sódico o 0.64 g de ácido metansulfónico, se lleva a cabo la evaporación hasta sequedad,
10. con lo cual resulta un polvo seco de buena estabilidad. Este puede ser almacenado y al usarse puede ser disuelto hasta dar una solución clara. Sin embargo, la solución también puede ser usada directamente, si se desea después de diluir con agua o solución salina. El cromatograma de papel en la electrofóresis de papel, señalan el compuesto polipeptúrico I como homogéneo. El valor Rf asciende en el cromatograma ascendente ( Butanol/ácido acético/ agua 70:10:20) a 0,05; ( metil-acetona etílica/ piridina/agua 65:15:20): 0,12;
15. En la electrofóresis de alta tensión sobre el papel se traslada el polipepturo I a un pH de 5,8 (piridina/ácido acético/agua 9:1:90) a 7/10 la distancia de la histidina ( $E_{5,8} = 0,7$  His); y a un pH de 1,9 (ácido fórmico/ácido acético/agua 15:10:75) a 9/10 de la distancia del triptofano ( $E_{1,9}^0 = 0,9$  Try).
20. La hidrólisis total con ácido clorhídrico 6-n durante 16 horas a 110° bajo exclusión de aire da los ácidos amínicos esperados en la proporción correcta.

EJEMPLO 2.

30. Se usa el mismo procedimiento como en el



298271

Ejemplo 1, excepto que se lleva a cabo la oxidación final a 0-40° mediante la adición de 7.5 cc de una solución N de peróxido de hidrógeno en agua a un valor pH de 4.0-9.0 (en lugar de la oxidación mediante la introducción de aire u oxígeno).

5.

N O T A

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 corresponde a una solicitud de patente presentadas en Suiza con fecha 5 de abril de 1963 nº 4361/63, 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 Invención, por 20 años en España: "Procedimiento para la producción de un nuevo polipepturo"; caracterizándose por lo siguiente:

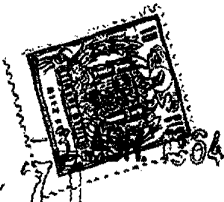
10.

15.

20.

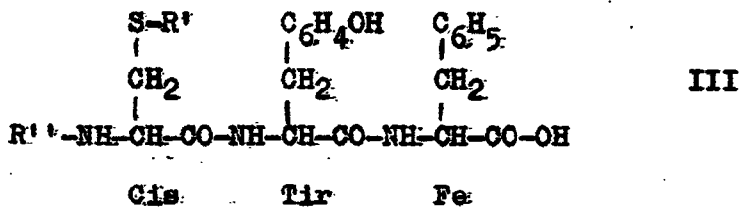
1ª.- Procedimiento para la producción de un nuevo polipepturo de fórmula general I, y sus sales de adición de ácido,



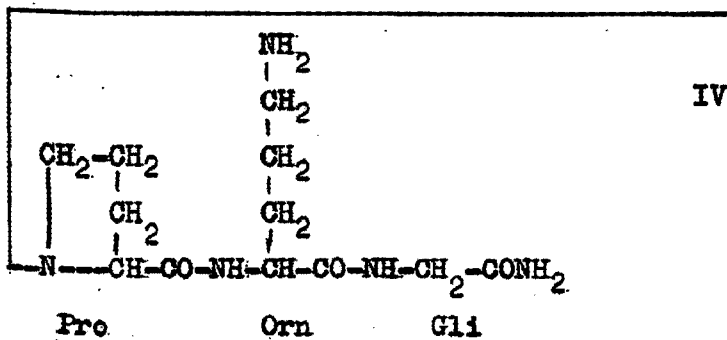
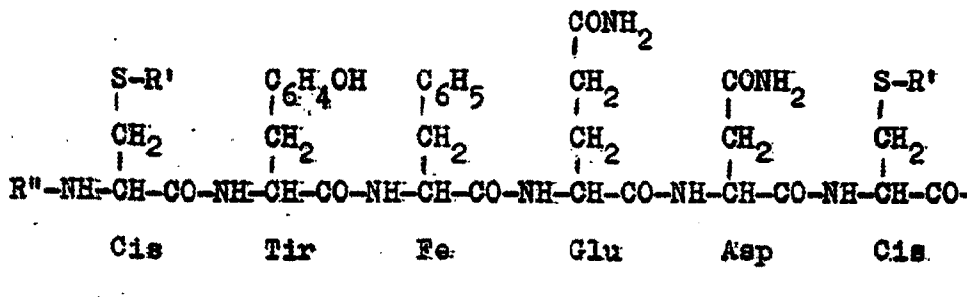


y R<sup>1</sup> significa un radical capaz de proteger un radical amino en la síntesis del pepturo, preferentemente un radical carbobenzoxi, carbo-p-cloro-benciloxi, p-toluen-sulfonilo o trifenilmetilo, con un derivado capaz de reaccionar del ácido libre de fórmula III,

5.



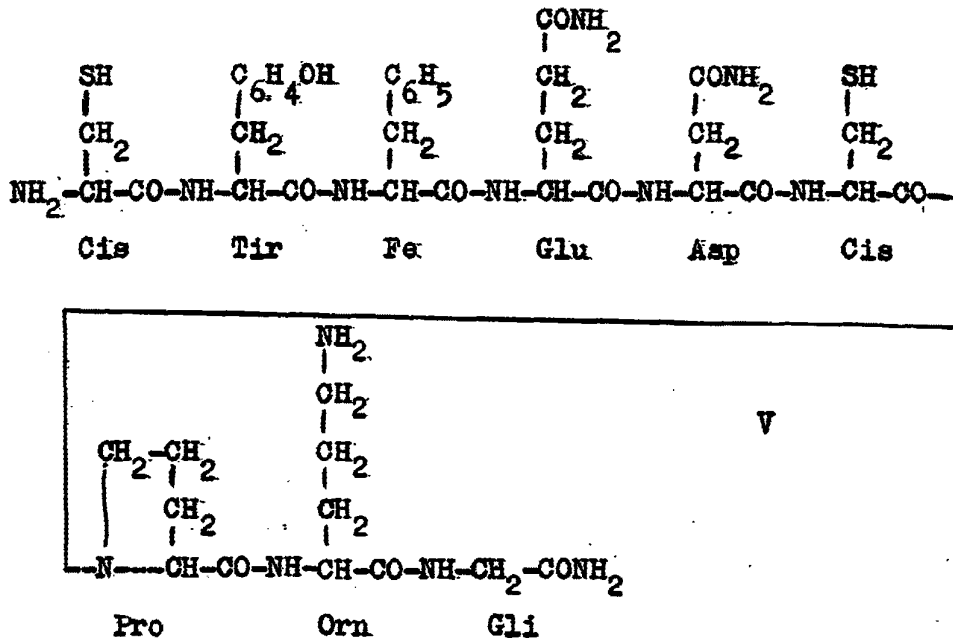
en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> tienen los significados antes indicados, para formar el derivado nonapepturo de fórmula IV,



en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> tienen los significados antes indicados, se convierte este último mediante reducción con un metal alcalino en amoniaco líquido en el nonapepturo de fórmula V,

10.

298271



y se convierte éste último mediante oxidación en solución acuosa a un valor pH de 4 a 9 en el producto final I.

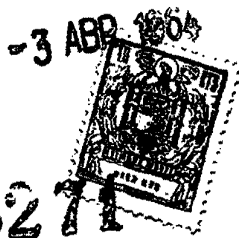
3º Procedimiento para la producción de un nuevo polipepturo de fórmula V, caracterizado porque se disocian los radicales R' y R'', al mismo tiempo o uno tras otro por métodos de por sí conocidos, del nonapepturo protegido de fórmula IV, en la que R' y R'' tienen los significados indicados en la reivindicación 2º.

4º Procedimiento para la producción de un nuevo polipepturo de fórmula I, caracterizado porque se oxida el nonapepturo V en solución acuosa a un valor pH de 4 - 9.

5º Procedimiento según la reivindicación 3º, caracterizado porque el radical R' significa un radical

fenilo, bencilo, p-bromobencilo, p-clorobencilo, p-nitrobencilo o p-xililo y porque se disocia dicho radical por tratamiento reductivo con un metal alcalino en amoniaco

5.  
10.  
15.



líquido.

5. 6a. Procedimiento según la reivindicación 3a, caracterizado porque R' significa un radical carbobenzoxi capaz de ser disociado mediante hidrogenación catalítica, mediante acidólisis anhidra o mediante tratamiento con un metal alcalino en amoníaco líquido, un radical toluensulfonilo capaz de ser disociado mediante tratamiento con un metal alcalino en amoníaco líquido, un radical carbo-butoxi-terciario capaz de ser disociado mediante acidólisis en un disolvente anhidro, en un disolvente hidratado o en agua, un radical ftalilo capaz de ser disociado mediante tratamiento con hidracina, un radical formilo capaz de ser disociado mediante alcoholólisis ácida o hidrólisis ácida, un radical p-nitro-carbobenzoxi capaz de ser disociado mediante hidrogenación catalítica, acidólisis anhidra, por tratamiento con un metal alcalino en amoníaco líquido o un radical trifenilmetilo capaz de ser disociado mediante hidrogenación catalítica.
10. 7a. Procedimiento según la reivindicación 4a, caracterizado por se lleva a cabo la oxidación del derivado nonapepturo de fórmula V para dar el polipepturo de fórmula I con peróxido de hidrógeno en solución acuosa.
- 15.
- 20.

29827



- 8a. Procedimiento según la reivindicación 4a, caracterizado porque se lleva a cabo la oxidación del derivado nonapepturo para dar el polipepturo de fórmula I mediante la introducción de aire.
- 5a. 9a. Procedimiento según la reivindicación 4a, caracterizado porque se lleva a cabo la oxidación del derivado nonapepturo para dar el polipepturo de fórmula I mediante la introducción de oxígeno.
- 10a. Procedimiento para la producción de un nuevo polipepturo; tal y como queda sustancialmente descrito en la presente memoria, que consta de veinte hojas, escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,  
SANDOZ, A.G.

- 3 ABR. 1964

SOMEZ ACEBO Y MODEST