

PATENTE DE INVENCION

Case 1802

300658

Memoria Descriptiva

sobre:

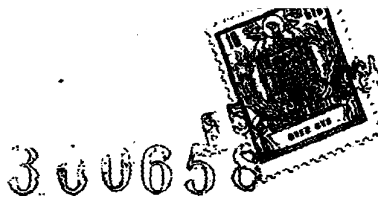
"Procedimiento para la producción de un nuevo polipepturo".

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

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

La presente invención proporciona el polipepturo de fórmula I,

5.



en solución acuosa a un valor pH de aproximadamente 4 a aproximadamente 9 y cuando se desea producir una sal de adición de ácido, se hace reaccionar el compuesto I resultante con un ácido orgánico o inorgánico.

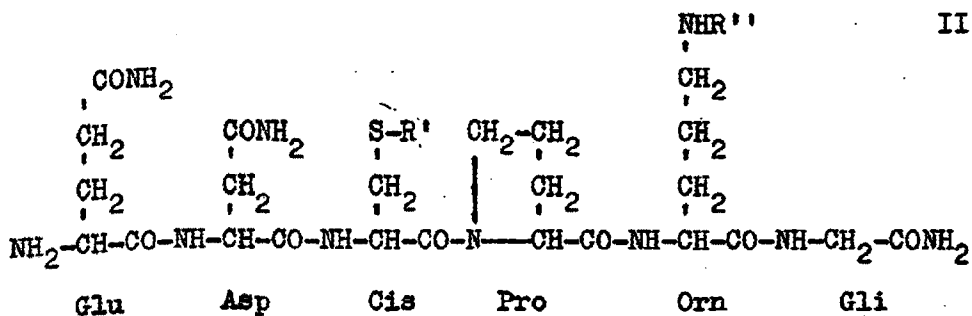
5.

El polipepturo V puede ser obtenido mediante métodos para la síntesis de compuestos de este tipo actualmente en uso o descritos en la literatura sobre el asunto, siendo posible el unir entre sí los aminoácidos en el orden indicado en la fórmula V arriba indicada, ya sea uno a la vez o formando primero unidades elementales de pepturo y uniendo éstas entre sí.

10.

Un método para producir el compuesto I y sus sales de adición de ácido consiste en condensar un derivado de hexapepturo de fórmula II,

15.



en la que R' significa un radical capaz de proteger un radical sulfhidrilo en la síntesis de los pepturos, y R'' significa un radical capaz de proteger un radical amino en la síntesis de los peptu-

20



300658

la forma antes descrita.

Los compuestos II y el hexapepturo libre correspondiente también forman parte de la presente invención.

5. Se tomará nota que está incluido en el alcance de la presente invención el producir el compuesto I a partir del compuesto IV antes indicado, independientemente del método usado para producir el compuesto IV.
10. El derivado nonapepturo IV puede ser obtenido, por ejemplo, mediante la condensación de dos polipepturos que no sean los arriba indicados (o un octapepturo y un aminoácido) en forma de sus derivados protegidos.
15. Los siguientes son ejemplos de radicales para la protección del radical sulfhidrilo en los compuestos arriba indicados: fenilo, bencilo, p-bromobencilo, p-cloro-bencilo, p-nitro-bencilo - p-xililo; ejemplos de radicales para la protección del radical amino son los radicales carbobenzoxi, carbo-p-clorobenciloxi, p-toluensulfonilo o trifenilmetilo.
20. Los materiales iniciales para producir el derivado de nonapepturo V mediante métodos que no sean el descrito en la presente pueden ser obtenidos por métodos para la síntesis de los pepturos en uso actual o descritos en la literatura sobre el asunto, siendo posible unir entre si los aminoácidos ya sea uno a la vez o formando primero unidades elementales de pepturo y uniendo éstas entre si.
25. Así como se indica más arriba, la oxida-
- 30.

300658



ción del nonapepturo V para dar el compuesto I se efectúa de acuerdo con el invento oxidando en solución acuosa a un valor pH de aproximadamente 4 a aproximadamente 9. La oxidación se efectúa preferentemente mediante la introducción de aire, oxígeno o peróxido de hidrógeno; también puede usarse un agente de oxidación, por ejemplo ferricianuro potásico.

5. El polipepturo I puede ser convertido en sus sales de adición de ácido mediante la reacción con un ácido orgánico o inorgánico. Los siguientes son ejemplos de ácidos adecuados para la formación de sales de ácido con el compuesto I: ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fumárico, málico, meleico, acético y tartárico.

10. El compuesto I se asemeja estructuralmente a las dos vasopresinas naturales aunque en cada caso dos de los nueve residuos elementales de aminoácido son diferentes, tal como podrá apreciarse de lo que sigue:

15.



300658

- Se podrá apreciar que el compuesto I, es decir la fórmula VI c, (i) contiene un radical fenilalanilo en el lugar del radical tirosilo presente en la vasopresina del cerdo (fórmula VIa) y en la vasopresina del ganado (fórmula VIb) y (ii) contiene un radical ornitina en el lugar del radical lisina presente en la vasopresina del cerdo o del radical argina presente en la vasopresina del ganado respectivamente.
- 5.
10. El compuesto I tiene una acción vasoconstrictora igual a aquella de las vasopresinas naturales; sin embargo, en contraste con las vasopresinas naturales, la acción antidiurética del compuesto I se halla ausente en extenso grado y por lo tanto se sugiere su uso en la terapia como una sustancia que ejerce un efecto vasoconstrictor específico. Este efecto vasoconstrictor específico del compuesto I resulta de una influencia directa sobre los músculos vasculares; por esta razón no se producen efectos secundarios apreciables sobre el sistema nervioso vegetativo, como es el caso de la adrenalina y la noradrenalina. Las propiedades del compuesto I son especialmente útiles en la profilaxis y la terapia de la hemorragia parenquimatosa, produciendo la infiltración de los tejidos con el compuesto I un efecto isquémico 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.
- 15.
- 20.
- 25.
30. Al usarse el compuesto I en una opera-



3000

ción bajo anestesia local debe ser administrado en mezcla con el anestético local, mientras que al usarse en una operación bajo narcosis general debe administrarse en forma de una solución fisiológica diluída de cloruro sódico. Además se sugiere el uso oral del compuesto I en el tratamiento terapéutico de ciertos casos de hipotonia o en el tratamiento de shocks y colapsos.

El compuesto I puede ser usado como base libre o como sal de adición con un ácido orgánico o inorgánico, ya sea solo o en forma de preparaciones medicinales apropiadas para administrarse por ejemplo en forma oral, parentérica, estérica o intranasal. Con el fin de producir tales preparaciones medicinales se trabaja el compuesto I y/o su sal de adición de ácido con adyuvantes orgánicos o inorgánicos que sean inertes y fisiológicamente aceptables. Los siguientes son ejemplos de tales adyuvantes:-

- | | | |
|-----|------------------------|--|
| 20. | Tabletas y grageas | : lactosa, almidón, talco y ácido esteárico. |
| | Jarabes | : soluciones de azúcar de caña, azúcar invert y glucosa. |
| 25. | Soluciones inyectables | : agua, alcoholes, glicerina y aceites vegetales. |
| | Supositorios | : aceites naturales o endurecidos y ceras. |

Las preparaciones pueden además contener
30. contener adecuados agentes de conservación, estabili-



300653

zación o humectación, facilitadores de la solución, sustancias edulcorantes y colorantes o aromatizantes.

5. La presente invención también proporciona, por lo tanto, composiciones farmacéuticas que contengan, además de un soporte fisiológicamente aceptable, un compuesto I y/o una sal de adición de ácido del mismo.

10. El compuesto I puede ser administrado en las siguientes dosificaciones aproximadas:

- (a) En mezcla con un anestésico local: 5 - 30 UI/100 cc de solución.
- (b) Infiltración del área de operación en el caso de un anestésico general: 10 - 80 UI/100 cc de solución salina fisiológica.
- 15. (c) Instalación o aplicación mediante tapón: 10 - 70 UI/100 cc de solución salina fisiológica.
- (d) Aplicación sistemática en el caso de colapso circulatorio: 5 - 50 UI/500 cc de solución salina fisiológica o solución de glucosa al 5% administrada mediante infusión lenta.
- 20.

Son ampollitas apropiadas por ejemplo las de 1 cc conteniendo 5 UI y las de 10 cc conteniendo 15 UI.

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

EJEMPLO 1:

a) Ester etílico de N- α -carbобензохи-N- σ -p-толуен-сульфонил-L-орнитил-глицина.

30. Se disuelven 104 g de N- α -carbобензохи-



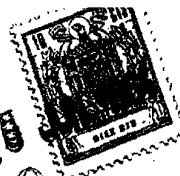
300658

5. -N- δ -p-toluensulfonil-L-ornitina y 27 g de éster etílico de glicina en 450 cc de acetonitrilo, se enfría la mezcla a 0°, se añaden 51 g de carbodiimida dicitclohexílica y se sacude la mezcla a la temperatura ambiente durante 4 horas. Se separa la urea dicitclohexílica precipitada por filtración y se lava con acetonitrilo. Se evapora todo el filtrado en un vacío. El residuo cristaliza después de la adición de éster de petróleo. Después de recrystalizar de n-propanol, se obtienen 93 g de éster etílico de N- α -carbobenzoxi-N- δ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicina; punto de fusión 135°; $[\alpha]_D^{22} = -7^\circ$ (etanol al 96%).
10. b) N-carbobenzoxi-L-propil-N- δ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida.
15. Se disuelven 90 g de éster etílico de N- α -carbobenzoxi-N- δ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicina en 800 cc de ácido acético anhidro que ha sido saturado con bromuro de hidrógeno.. Se deja reposar la mezcla durante una hora a 20°, se evapora en un vacío a una temperatura debajo de los 40° y se lava el residuo cuidadosamente con éster dietílico. Se disuelve el residuo en 500 cc de acetonitrilo, se añaden 25 cc de amina trietífica y 43 g de N-carbobenzoxi-L-prolina, se enfría a 0°, se añaden luego 35.5 g de carbodiimida dicitclohexílica y se sacude la mezcla hasta el día siguiente a 20°. Después de separar la urea dicitclohexílica 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. Des-
- 20.
- 25.
- 30.



310658

- pués 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 acetonitrilo. Se obtienen 58 g de N-carbobenzoxi-L-prolil-N- σ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida; punto de fusión 122° (con descomposición);
5. $[\alpha]_{D}^{22} = -46^{\circ}$ (ácido acético glacial al 95%).
10. c) N-carbobenzoxi-L-glutaminil-L-asparaginil-S-bencil-L-cisteinil-L-prolil-N- σ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida.
15. Se disuelven 100 g de N-carbobenzoxi-L-prolil-N- σ -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 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 azul de N-carbobenzoxi-L-glutaminil-L-asparaginil-S-bencil-L-cisteinil y 26 cc de amina trietífica en 1000 cc de formamida dimetífica. Se deja reposar la mezcla hasta el día siguiente a 20°, se añaden a la misma 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- σ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida; punto de fusión 193° ;
- 20.
- 25.
- 30.



300658

$[\alpha]_D^{20} = -39^\circ$ (formamida dimetflica).

d) N-carbobenzoxi-S-bencil-L-cisteinil-L-fenil-
alanil-L-fenilalanil-L-glutaminil-L-asparaginil-
S-bencil-L-cisteinil-L-prolil-N- δ -p-toluensulfo-
nil-L-ornitil-glicinamida.

5.

Se disuelven 50 g de N-carbobenzoxi-L-glutaminil-L-asparaginil-S-bencil-L-cisteinil-L-prolil-N- δ -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 evaporar el disolvente en un vacío a una temperatura por debajo de los 40°, se lava el residuo cuidadosamente con éter dietílico y se añade una solución de 31.5 g

10.

15.

de azuro de N-carbobenzoxi-S-bencil-L-cisteinil-L-fenilalanil-L-fenilalanina y 7.5 cc de amina trietflica en 250 cc de formamida dimetflica. Se deja reposar la mezcla durante dos días a 20°, se añaden a continuación 1000 cc de acetato etílico y se lava

20.

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-fenilalanil-L-fenilalanil-L-glutaminil-L-asparaginil-S-bencil-L-cisteinil-L-prolil-N- δ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida; punto de fusión 224°; $[\alpha]_D^{21} = -40^\circ$ (formamida dimetflica).

25.

e) L-cisteinil-L-fenilalanil-L-fenilalanil-L-
glutaminil-L-asparaginil-L-cisteinil-L-prolil-
L-ornitil-glicinamida.

30.

A una solución de 5 g de N-carbobenzoxi-

300000

5. -S-bencil-L-cisteinil-L-fenilalanil-L- fenilalanil-L-glutamil-L-asparaginil-S-bencil-L-cisteinil-L-prolil-N- σ -p-toluensulfonil-L-ornitil-glicinamida en 1200 cc de amoníaco líquido seco se le añade la cantidad necesaria de metal de sodio o de potasio, mientras se agita a la temperatura de ebullición de la solución, para dar 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-fenilalanil-L-fenilalanil-L-glutaminil-L-asparaginil-L-cisteinil-L-prolil-L-ornitil-glicinamida.

10. f) Compuesto polipepturo I.

15. Se disuelve el residuo obtenido de la etapa e) arriba indicada 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 20°. Se ajusta la solución a un valor pH de 4.0-5.0 con ácido clorhídrico diluido y después de la adición de 50 g de cloruro sódico o 0.64 g de ácido metansulfónico o 0.76 g de ácido trifluoroacético, se evapora hasta sequedad, con lo cual resulta un polvo seco que se conserva bien. Este puede ser almacenado y al ser usado puede ser disuelto para dar una solución clara.
20. Sin embargo, la solución también puede ser usada directamente, si se desea después de diluirla con agua o con una solución salina.
- 25.

30. El polvo arriba indicado, obtenido después de la adición de ácido trifluoroacético, puede ser sometido a la distribución a contracorriente en el sistema butanol secundario/agua/ácido trifluoroacético

300658



- 120:160:1 con el fin de separar las sales inorgánicas. Después de 200 etapas de transferencia la sustancia se halla presente en los tubos 57 hasta 77 con un máximo en el tubo 67 ($K = 0.50$). Después de la evaporación, se obtiene el polipepturo activo con un buen rendimiento en forma de un trifluoroacetato higroscópico, el que demuestra un comportamiento uniforme en la cromatografía y en la electrofóresis. Migración en la electrofóresis sobre papel a un valor pH de 5.8 y 40 V/cm: 50 mm en 60 minutos (la histidina usada como norma migra 65 mm). Migración en la electrofóresis sobre papel a un valor pH de 1.9 y 40 V/cm: 69 mm en 60 minutos (el triptófano usado como norma migra 66 mm). Rf en cromatografía sobre papel en el sistema alcohol isoamílico/piridina/agua 35:35:30: 0.28. La hidrólisis total (16 horas, 110°, HCl 6 N) proporciona los siguientes aminoácidos en cantidades equimoleculares: cistina, ácido glutamínico, ácido asparagínico, prolina, ornitina y glicina; y en cantidad equimolecular doble: fenilalanina. El compuesto tiene las siguientes actividades biológicas: 150 UI/mg sobre la presión sanguínea de la rata, 15 UI/mg sobre la inhibición de las diuresis de la rata y menos de 1 UI/mg sobre el útero de la rata.
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
25. EJEMPLO 2:
- Se usa el mismo procedimiento como en el Ejemplo 1, excepto que se efectúa 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 7.5-80 (en lugar de la oxidación mediante la intro-
- 30.



ducción de aire u oxígeno).

EJEMPLO 3:

- Se usa el mismo procedimiento como en el Ejemplo 1, excepto que se efectúa la oxidación final a 0-35° mediante la adición de 6.7 cc de una solución N de ferricianuro potásico en agua a un valor pH de 5.5-7.5.

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 se refiere a una Solicitud de Patente presentada en Suiza con fecha 6 de junio de 1963, nº 7123/63 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 PRODUCCION DE UN NUEVO POLIPEPTURO"; caracterizándose por lo siguiente:

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



300658

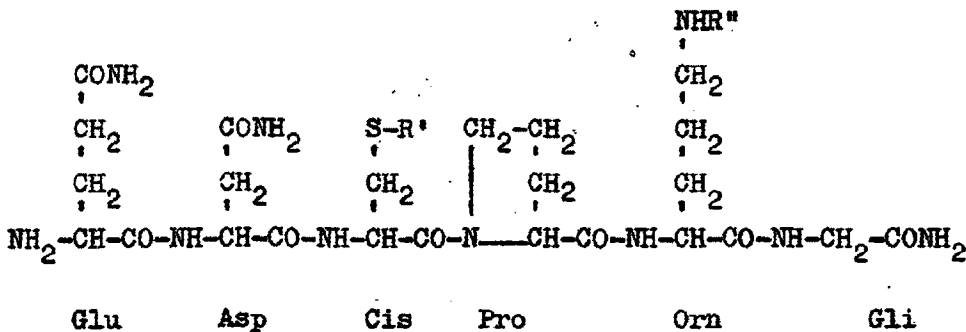
en solución acuosa a un valor pH de aproximadamente 4 a aproximadamente 9 y, cuando se desea producir una sal de adición de ácido, se hace reaccionar el compuesto I resultante con un ácido orgánico o inorgánico.

5.

2ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se efectúa la oxidación del nonapepturo de fórmula V mediante la adición de peróxido de hidrógeno.

10.

3ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se condensa un derivado de hexapepturo de fórmula II,



en la que R' significa un radical capaz de proteger un radical sulfhidrilo en la síntesis de los pepturos, por ejemplo el radical fenilo, bencilo, p-bromo-bencilo, p-cloro-bencilo, p-nitro-bencilo o p-xililo, y R'' significa un radical capaz de proteger un radical amino en la síntesis de los pepturos, por ejemplo el radical carbobenzoxi, carbo-p-cloro-benciloxi, p-toluensulfonilo o trifenilmetilo, con

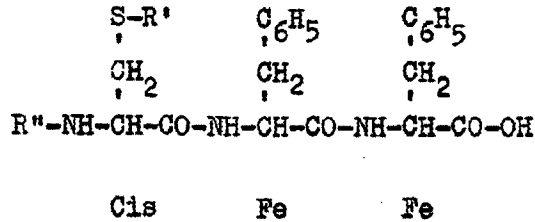
15.

20.

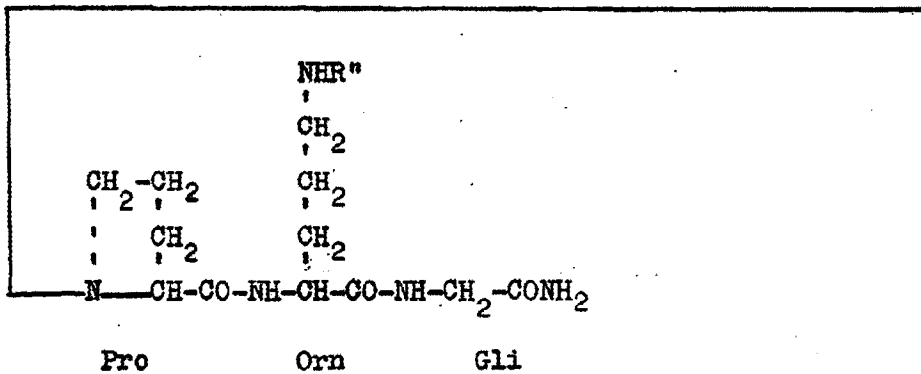
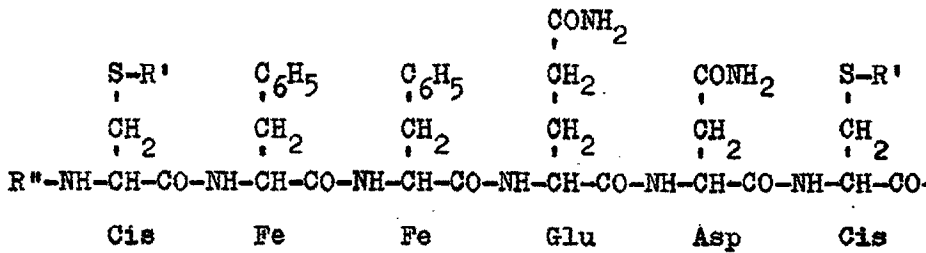


300658

un derivado capaz de reaccionar de un ácido libre,
de formula III,



en la que R' y R'' tienen al significado anterior,
para dar un derivado de nonapepturo de fórmula IV,



5. en la que R' y R'' tienen los significados anteriores, convirtiendo éste en el nonapepturo de fórmula V mediante la disociación de los radicales protectores R' y R'' y oxidando en la forma antes descrita dicho nonapepturo en el compuesto I.

300658



4ª.- Procedimiento para la producción de un nuevo polipepturo, tal y como queda substancialmente descrito en la presente Memoria .

Esta Memoria consta de veinte hojas escritas a máquina por una sola cara.

5.

Madrid,

5 JUN 1964

SANDOZ A.G.