



PATENTE DE INVENCION

Case 1844. 37/BA/MK.

303554

*Memoria Descriptiva* 303554  
*sobre*

"Procedimiento para la obtención de polipepturos".

---

*Solicitante:* S A N D O Z , A.G., entidad suiza,  
residente en BASILEA, Suiza.

=====

El objeto de la presente invención son procedimientos para la obtención del nuevo polipepturo de la fórmula I y de sus sales de adición de ácido.

5. De acuerdo con la presente invención,

303554



el polipepturo de la fórmula I y sus sales de adición de ácido se pueden obtener si de un derivado nonapeptúrico de la fórmula general IV, donde R' significa un resto usual en la síntesis de los pepturos para la protección del grupo amínico y R'' un resto usual en la síntesis de los pepturos para la protección del grupo sulfihidrílico, los grupos protectores R' y R'' se disocian en una o varias etapas, el nonapepturo así obtenido de la fórmula V se oxidada al polipepturo de la fórmula I y éste, en caso dado, en forma en sí conocida se transforma en sus sales de adición de ácido con ácidos orgánicos ó inorgánicos.

El derivado nonapeptúrico de la fórmula general IV se puede obtener según métodos en sí ya conocidos para la síntesis de los polipepturos, ligándose los ácidos amínicos en la secuencia indicada en la fórmula general IV individualmente ó después de haberse ligado a unidades peptúricas más pequeñas.

De acuerdo con la presente invención se pueden obtener los derivados nonapeptúricos de la fórmula general IV condensando un derivado hexapeptúrico de la fórmula general II, donde R' y R'' tienen el significado de arriba, con un derivado reaccionable de un ácido libre de la fórmula general III, donde R' y R'' tienen el significado de arriba.

Según el procedimiento de la presente invención se pueden emplear para el bloqueo pasa -



5. jero del grupo amínico las agrupaciones usuales para ésta finalidad, tal como el grupo carbobenzoxi, el grupo carbo-p-clorobenciloxi, el grupo p-tolueno-sulfonílico o el grupo trifenilometílico. Para la protección del grupo sulfhídrico se introduce preferentemente un grupo bencílico, un grupo p-clorobencílico o un grupo p-xilílico. Con especial ventaja se emplea sin embargo el resto bencílico.

10. El derivado nonapeptúrico de la fórmula general IV, sin embargo, no solo se puede obtener de la forma arriba descrita, sino también por condensación de otros dos polipepturos, o de un polipepturo y de un ácido amínico en forma de sus derivados protegidos.

15. Los productos de partida para la obtención del derivado nonapeptúrico IV se obtienen, siempre que hasta ahora no fuesen ya conocidos, según los métodos conocidos en la química de los pepturos, ligándose los ácidos amínicos individualmente o después de formación previa de unidades peptúricas más pequeñas.

20.

25. La oxidación del nonapepturo de la fórmula V al producto final deseado de la fórmula I se puede efectuar según la presente invención mediante oxidación en solución acuosa a un pH de 4 hasta 9, preferentemente con peróxido hidrogénico ó ferricianuro potásico o mediante introducción de aire ú oxígeno.

30. El polipepturo obtenido de la fórmula I se puede transformar en forma conocida en sus

303554



sales de adición de ácido mediante reacción con áci -  
dos inorgánicos ú orgánicos. Como ácidos se pueden  
emplear por ejemplo el ácido clorhídrico, bromhídri -  
co, sulfúrico, fumárico, málico, maleínico, acético  
y tártrico.

5. El polipepturo I obtenido según la pre -  
sente invención se diferencia de la vasopresina solo  
porque en lugar de lisina (vasopresina del cerdo) ó  
arginina (vasopresina de la res) contiene ornitina,  
10. en lugar de fenilalanina isoleucina y en lugar de  
tirosina fenilalanina. De la oxitocina se diferen -  
cia el polipepturo I porque en lugar de tirosina con  
tiene fenilalanina y en lugar de leucina ornitina.  
El nuevo polipepturo I se puede denominar por lo  
15. también como Phe<sup>2</sup>-Orn<sup>8</sup>-oxitocina.

Posee un efecto vasorestrictor aproxi -  
madamente igual de grande como las vasopresinas  
naturales, falta sin embargo, contrario a las vaso -  
presinas naturales, el componente de efecto antidi -  
20. urético y, contrario a la oxitocina natural, casi  
totalmente el componente de efecto oxitocico, de  
manera que el polipepturo I obtenido según la pre -  
sente invención se puede introducir en la terapia  
como una substancia con efecto vasorestrictor diri -  
25. gido. El efecto vasorestrictor específico se logra  
por influenciación directa de la musculatura del  
vaso, por lo que el polipepturo I - contrario a la  
adrenalina y noradrenalina - tampoco produce efec -  
tos secundarios vegetativo-nerviosos.

30. El principal campo de aplicación del



303554

nuevo polipepturo I es por lo tanto la profilaxis y la terapia de hemorragias parenquimatosas, donde la infiltración del tejido con el polipepturo tiene como consecuencia un destacado efecto esquemiti -  
5. zante. Especialmente en las intervenciones quirúrgicas en la otorrinolaringología, ginecología y obstetricia, urología y odontología se emplea ventajosamente el polipepturo I.

- Propiedades especialmente valiosas desde el punto de vista terapéutico se muestran en la combinación del nuevo polipepturo I con un anestésico local. Ya era conocido que por la combinación de adrenalina con un anestésico local se puede lograr una duración más fuerte del anestésico así como una  
10. reducción del caudal de sangre local, y, por lo tanto, una reducción de la pérdida de sangre durante la intervención quirúrgica. Debido a los conocidos efectos secundarios generales de la adrenalina en la  
15. circulación (por ej. repentino aumento de la presión sanguínea, aumento de la frecuencia del corazón, caída secundaria de la presión sanguínea (por ej. tensión y excitación) así como la hiperemia reactiva frecuentemente observada debido al aumento del metabolismo local, se ha recomendado últimamente  
20. combinar, en lugar de adrenalina, vasopresina ó pepturos similares a la vasopresina con un anestésico local, así por ej. Phe<sup>2</sup>-Lys<sup>8</sup>-vasopresina, un análogo sintético de la lisina-vasopresina, en el que en la posición 2 de la lisina-vasopresina se encuentra un  
25. resto de fenilalanina en lugar de un resto de tirosi-
- 30.



303554

nico.

Se ha descubierto ahora que por la combinación del nuevo polipepturo I con un anestésico local se puede multiplicar la duración de la anestesia local en comparación con las ahora conocidas combinaciones de adrenalina, vasopresina ó pepturos parecidos a la vasopresina con anestésicos locales. Las cantidades del nuevo polipepturo I para ello necesarias son considerablemente inferiores a las de los otros pepturos parecidos a la vasopresina ó que las de adrenalina.

Debido a su mayor actividad vasoconstrictora local es por lo tanto el nuevo polipepturo I, en combinación con un anestésico local, también especialmente adecuado para evitar el caudal sanguíneo local y reducir la pérdida de sangre durante una intervención quirúrgica. Preferentemente se emplean para éstas combinaciones anestésicas locales que muestran una buena solubilidad en agua y estables y esterilizables.

El polipepturo I hasta ahora desconocido, obtenido según la presente invención se puede emplear como base libre ó como sal de un ácido orgánico ó inorgánico, bien como medicamento solo ó en formas de medicamentos correspondientes para administración parental, enteral o intranasal. Para obtener formas de medicamentos adecuados se emplean éstas con auxiliares farmacológicamente indiferentes inorgánicos ú orgánicos. Como materiales auxiliares se emplean por ej. para tabletas y grageas:



- lactosa, almidón, talco, ácido estearínico, etc.;
- para siropes: soluciones de azúcar de caña, de glucosa y otros; para preparados inyectables: agua, alcoholes, glicerol, aceites vegetales y similares;
5. para supositorios: aceites naturales o endurecidos y ceras entre otros; para riegos intranasales: agua, glicerol y otros materiales líquidos compatibles con las mucosidades. Además pueden contener los
10. preparados medios de conservación, estabilización, reticulación, facilitadores de la solución, edulcorantes y colorantes, aromatizantes, etc. adecuados.

En los ejemplos siguientes se indican las temperaturas en grados Celsius.

15. EJEMPLO 1 -

a) Ester etílico de la N- $\alpha$ -carbобензохи-N- $\delta$ -p-toluenосulfонило-L-орнитило-глицина.

20. Se disuelven 104 g de N- $\alpha$ -carbобензохи-N- $\delta$ -p-toluenосulfонило-L-орнитина y 27 g de éster glicín-etílico en 450 cm<sup>3</sup> de acetonitrilo, se enfría a 0°, se agregan 51 g de carbodiimida dicitclohexílica y se agita durante 4 horas a temperatura ambiente. La úrea dicitclohexílica precipitada se filtra y se lava con acetonitrilo. Todo el filtrado se evapora en vacío. El residuo cristaliza después de agregar éter de petróleo. Después de re-
25. cristalizar de n-propanol se obtiene el éster etílico de la N- $\alpha$ -carbобензохи-N- $\delta$ -p-toluenосulfонило-L-орнитило-глицина; P.F. 136°;  $n_D^{22} = -72$
30. (etanol al 96%).



303577

b) Amida de la N-carbobenzoxi-L-prolilo-N- $\delta$ -p-toluenosulfónilo-L-ornitilo-glicina.

- 90 g de éster etílico de la N- $\alpha$ -carbobenzoxi-N- $\delta$ -p-toluenosulfonil-L-ornitilo-glicina
5. se disuelven en 800 cm<sup>3</sup> de ácido acético anhidro saturado con bromohidrógeno. Se deja reposar durante una hora a 20°, se evapora en vacío por debajo de los 40° y el residuo se lava cuidadosamente con éter dietílico. El residuo se disuelve en 500 cm<sup>3</sup>
10. de acetonitrilo, se agregan 25 cm<sup>3</sup> de amina trietílica y 43 g de N-carbobenzoxi-L-prolina, se enfría a 0°, se agregan aún 35,5 g de carbodiimida dicitclohexílica y se agita durante la noche a 20°. Después de filtrar la úrea dicitclohexílica se evapora el
15. filtrado en vacío a 30°, el residuo se disuelve en éster acético y ésta solución se lava con ácido sulfúrico diluido y amoníaco acuoso. Después de secar sobre sulfato sódico se evapora el éster acético en vacío y el residuo se disuelve en 1 litro de etanol
20. absoluto. La solución se enfría a 0°, se satura con amoníaco y se deja reposar durante la noche a 20°. Después de evaporar en vacío a 30° se disuelve el residuo en 100 ml de formamida dimetílica y se cristaliza mediante adición de 1500 ml de éster acético.
25. Se obtiene el amida de la N-carbobenzoxi-L-prolilo-N- $\delta$ -p-toluenosulfonil-L-ornitilo-glicina; P.F. 122° (descomp.);  $\alpha_D^{22} = -46^\circ$  (ácido acético glacial al 95%).

c) Amida de la N-carbobenzoxi-L-glutaminilo-L-asparaginilo-S-bencilo-cisteinilo-L-prolilo-N- $\delta$ -p-

30.

303554



toluenosulfonilo-L-ornitilo-glicina.

- Se disuelven 100 g de amida de la N-carbobenzoxi-L-prolilo-N- $\delta$ -p-toluenosulfonilo-L-ornitilo-glicina en 500 cm<sup>3</sup> de ácido acético anhidro, saturado con bromohidrógeno, se deja reposar durante una hora a 20° y se evapora en vacío por debajo de los 40°. El residuo se lava cuidadosamente con éter dietílico y a continuación se agrega una solución de 100 g de N-carbobenzoxi-L-glutaminilo-L-asparaginilo-S-bencilo-L-cisteinilo-azuro [Boissonnas & Coll., Helv. Chim. Acta, 38, 1491 (1955)] y 26 cm<sup>3</sup> de amina trietífica en 1000 cm<sup>3</sup> de formamida dimetífica. Se deja reposar durante la noche a 20°, se agregan 3000 cm<sup>3</sup> de éster acético, la precipitación se filtra y se lava con éster acético. Se obtiene el amida de la N-carbobenzoxi-L-glutaminilo-L-asparaginilo-S-bencilo-L-cisteinilo-L-prolilo-N- $\delta$ -p-toluenosulfonilo-L-ornitilo-glicina; P.F. 188° (descomp.)  $[\alpha]_D^{20} = -33°$  (formamida dimetífica).
20. d) Amida de la N-carbobenzoxi-S-bencilo-L-cisteinilo-L-fenilalanilo-L-isoleucilo-L-glutaminilo-L-asparaginilo-S-bencilo-L-cisteinilo-L-prolilo-N- $\delta$ -p-toluenosulfonilo-L-ornitilo-glicina.

- Se disuelven 50 g de amida de la N-carbobenzoxi-L-glutaminilo-L-asparaginilo-S-bencilo-L-cisteinilo-L-prolilo-N- $\delta$ -p-toluenosulfonilo-L-ornitilo-glicina en 250 cm<sup>3</sup> de ácido acético anhidro saturado con bromohidrógeno y se deja reposar durante una hora a 20°. Después de evaporar el disolvente en vacío por debajo de los 40° se lava el residuo cuida-
- 25.
- 30.

303554



- dosamente con éter dietílico y se mezcla con una solución de 31,1 g de N-carbobenzoxi-S-bencilo-L-cisteinilo-L-fenilalanilo-L-isoleucilo-azuro y 7,5 cm<sup>3</sup> de amina tristilica en 250 cm<sup>3</sup> de formamida dimetilica. Se deja reposar durante 2 días a 20°, se mezcla entonces con 1000 cm<sup>3</sup> de éster acético y la precipitación se lava con éster acético. Después de secar en vacío a 30° se lava el producto con metanol caliente. Se obtiene el amida de la N-carbobenzoxi-S-bencilo-L-cisteinilo-L-fenilalanilo-L-isoleucilo-L-glutaminilo-L-asparaginilo-S-bencilo-L-cisteinilo-L-prolilo-N- $\epsilon$ -p-toluenosulfonilo-L-ornitilo-glicina. P.F. 242°  $[\alpha]_D^{21} = -40°$  (formamida dimetilica)
5. e) Amida de la L-cisteinilo-L-fenilalanilo-L-isoleucilo-L-glutaminilo-L-asparaginilo-L-cisteinilo-L-prolilo-L-ornitilo-glicina.
10. L-prolilo-L-ornitilo-glicina.
15. L-prolilo-L-ornitilo-glicina.

- Se mezcla una solución de 5 g de amida de la N-carbobenzoxi-S-bencilo-L-cisteinilo-L-fenilalanilo-L-isoleucilo-L-glutaminilo-L-asparaginilo-S-bencilo-L-cisteinilo-L-prolilo-N- $\epsilon$ -p-toluenosulfonilo-L-ornitilo-glicina en 1200 cm<sup>3</sup> de amoniaco líquido seco, agitando a la temperatura de ebullición de la solución, con tanto metal sódico ó potásico hasta que se haya presentado un coloramiento azul estable. Después de agregar 3 g de cloruro amónico se evapora la solución hasta secar. El residuo contiene el amida de la L-cisteinilo-L-fenilalanilo-L-isoleucilo-L-glutaminilo-L-asparaginilo-L-cisteinilo-L-prolilo-L-ornitilo-glicina.
20. f) Phe<sup>2</sup>-Orn<sup>8</sup>-oxitocina
- 25.
- 30.



- El residuo, conteniendo el amida de la L-cisteinilo-fenilalanilo-L-isoleucilo-L-glutamini-  
lo-L-asparaginilo-L-cisteinilo-L-prolilo-L-ornitilo-  
-L-glicina se disuelve en 5 litros de ácido acé -  
5. tico 0,01-n y a un pH de 6,5-8,0 se oxida median-  
te introducción de aire u oxígeno durante una ho-  
ra a 0 - 40%. La solución, que contiene la substan-  
cia, se pone a un pH de 4,0 - 5,0 y después de agre-  
gar 50 g de cloruro sódico ó de 0,64 g de ácido me-  
10. tanosulfónico, ó de 0,76 g de ácido trifluoroacéti-  
co, se evapora hasta secar, con lo que se obtiene  
un polvo seco que tiene buena duración. Este se  
puede guardar y al utilizarse disolver claramen -  
te. Sin embargo también se puede emplear directa-  
15. mente la solución, eventualmente después de diluir  
con agua o una solución de sal.

- Para retirar las sales inorgánicas se  
puede someter el polvo arriba mencionado, obtenido  
después de la adición del ácido trifluoroacético, a  
20. una distribución de contra-corriente en el sistema  
butanol sec/agua--ácido trifluoroacético 120/160/1.  
Después de 200 escalones de transferencia se en -  
cuentra la substancia en los tubos 47 hasta 66 con un  
máximo en el tubo 56 ( $K = 0,39$ ). Después de evapo-  
25. rar se obtiene con un buen rendimiento el polipep-  
turo activo en forma de trifluoroacético higroscó-  
pico que cromatográficamente y electroforeticamen-  
te se comporta unitariamente. Migración en la elc-  
troforesis de papel a un pH de 5,8 y 40 V/cm; 49 mm  
30. en 60 min. (La histidina utilizada como referencia



303554

- se traslada 65 mm). Migración en la electrofóresis de papel a un pH de 1,9 y 40 V/cm: 68 mm en 60 min. (el triptofano empleado como referencia se traslada 66 mm). Rf. en la cromatografía de papel en el sistema alcohol isoamílico/piridina/agua 35/35/30: 0,25.

- La hidrólisis total (16 horas, 110°, HCl 6-n) dá los ácidos amínicos siguientes: en cantidades equimoleculares: cistina, ácido glutamínico, ácido asparagínico, prolina, ornitina, glicina, fenilalanina e isoleucina. El producto posee las siguientes eficacias biológicas: 120 IE/mg sobre la presión sanguínea de la rata, 0,6 mm sobre la restricción de la diuresis de la rata y aprox. 1 IE/mg sobre el útero de la rata.

EJEMPLO 2 -

- Se procede como en el ejemplo 1. Pero al final se oxida a 0 - 40° mediante la adición de 7,5 cm<sup>3</sup> de una solución 1-n de peróxido de hidrógeno en agua a un pH de 4,0 - 9,0 (en lugar de la oxidación mediante introducción de aire o de oxígeno).

EJEMPLO 3 -

- Se procede como en el Ejemplo 1, Al final se oxida sin embargo a 0 - 35° mediante adición de 6,7 cm<sup>3</sup> de solución 1-n de ferricianuro potásico en agua a un pH de 5,5 - 7,5.

EJEMPLO 4 -

- Solución para la anestesia de infiltración:
- |     |   |          |
|-----|---|----------|
| 30. | Phe <sup>2</sup> -Orn <sup>8</sup> -oxitocina | 0,0005 g |
|-----|---|----------|



302574

Hidroc loruro del 2-dietiloamino-2',6'-  
aceto-xiliduro (cloruro lidocainico) 5,0 g  
Alcohol tricloroisobutilico 5,0 g  
Alcohol etilico 94% G/G 5,0 g  
5. Acido acético glacial 1,0 g  
Acetato sódico, 3 H<sub>2</sub>O 2,0 g  
Agua destilada ad 1000 ml

Preparación

10. Se disuelve el ácido acético y el acetato sódico en 900 ml de agua dest., agitando fuertemente se agrega una solución del alcohol tricloroisobutilico en cantidad de peso 94% G/G de alcohol etilico, se agita hasta que todo está disuelto, se mezcla con el cloruro lidocainico y, después de disolverse, con Phe<sup>2</sup>-Orn<sup>8</sup>-oxitocina, se completa con agua a 1000 ml, se filtra a través del filtro de bacterias y se llena en ampollas.

EJEMPLO 5 -

Solución para anestesia de conducción:

20. Phe<sup>2</sup>-Orn<sup>8</sup>-oxitocina 0,001 g  
Hidroc loruro del p-aminobenzoil-dietil-  
amino-etanol (Hidroc loruro de novocaina) 10,0 g  
Fosfato bisódico anhidro 2,0 g  
Acido cítrico, 1 H<sub>2</sub>O 3,0 g  
25. Agua destilada ad 1000 ml

Preparación:

30. Se disuelven en 900 cm<sup>3</sup> de agua dest. bajo agitación al ácido cítrico, el fosfato bisódico y el hidroc loruro de novocaina, se agrega la Phe<sup>2</sup>-Orn<sup>8</sup>-oxitocina, se completa a 1000 ml, se fil-

20 AGO 1964

tra a través de un filtro de membrana, se llena en ampollas y se esteriliza calentando durante 6 minutos a 120°.

EJEMPLO 6 -

5. Solución para anestesia superficial:
- |     |  |         |    |
|-----|--|---------|----|
|     | Phe <sup>2</sup> -Orn <sup>8</sup> -oxitocina  | 0,002   | g  |
|     | Metanosulfonato del éster $\beta$ -dietilamino- $\beta$ -isobutilo-etílico del ácido p-aminobenzoico |         |    |
| 10. | ( Leucinocainio [metanosulfonato])   | 100     | g  |
|     | Acido acético glacial  | 20      | g  |
|     | Acetato sódico. 3 H <sub>2</sub> O   | 20      | g  |
|     | Propilo-p-oxibenzoato  | 1,0     | g  |
|     | Metilo-p-oxibenzoato   | 2,0     | g  |
| 15, | Agua dest.   | ad 1000 | ml |

Preparación:

Se disuelven en 800 ml de agua destilada el propilo-p-oxibenzoato y el metilo-p-oxibenzoato así como el ácido acético glacial y el acetato sódico, se agrega el leucinocainio metanosulfonato y, después de disolver, la Phe<sup>2</sup>-Orn<sup>8</sup>-oxitocina. Después de completar a 1000 ml se continúa como bajo 4).

EJEMPLO 7 -

- Solución para anestesia superficial:
- |     |   |       |   |
|-----|---|-------|---|
| 25. | Phe <sup>2</sup> -Orn <sup>8</sup> -oxitocina                       | 0,001 | g |
|     | (+)-N-(2-propilaminopropionilo)-2-toluidino-hidrocloruro (Exadrina) | 30,0  | g |
|     | Cloruro sódico  | 8,0   | g |
|     | Acetato sódico. 3 H <sub>2</sub> O                                  | 1,0   | g |
| 30. | Acido acético glacial   | 0,5   | g |



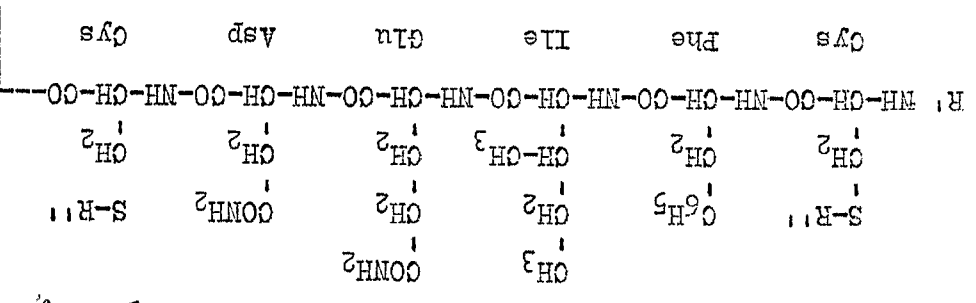
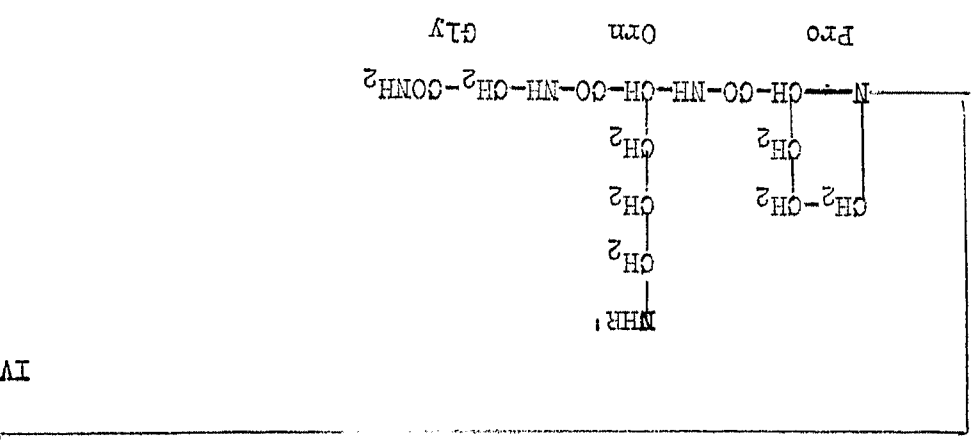
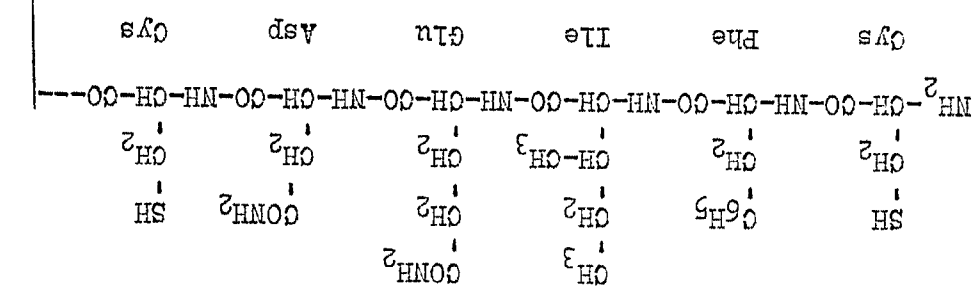
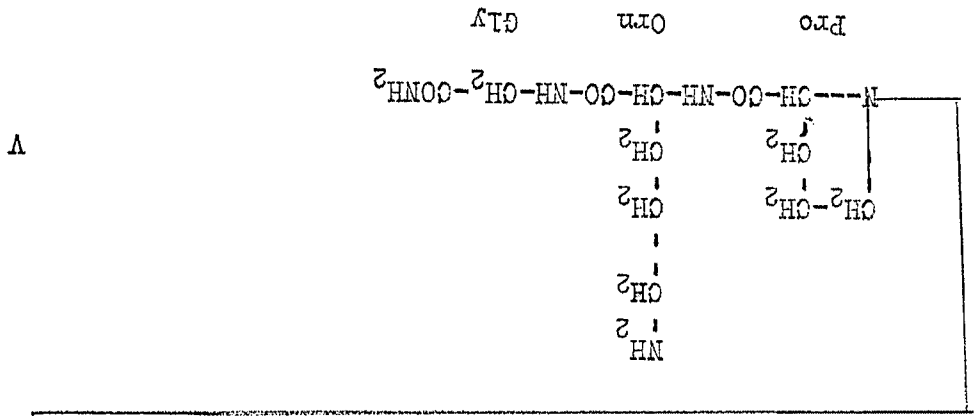
303554

Metilo-p-oxibenzoato 1,0 g  
Agua dest. ad 1000 ml

Preparación:

5. Se disuelven en 800 ml de agua dest. el metilo-p-oxibenzoato, el cloruro sódico así como el ácido acético glacial y el acetato sódico, se agrega el hidrocloreuro de la (+)-N-(2-propiloaminopropionilo)-2-toluidina y, después de disolver, la Phe<sup>2</sup>-Orn<sup>8</sup>-oxitocina. Después de completar a 1000 ml se continúa como bajo 4).





303554



5. 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 a modificaciones de detalle en cuanto no altere su principio fundamental, también se hace constar que el invento corresponde a una solicitud de patentes presentadas en Suiza, con fecha 30 de agosto de 1963, bajo nos números 10.772/63 y 10.773/63, acogiéndose por lo tanto a los beneficios que conceden los convenios internacionales en vigor y siendo lo que constituye la esencia del referido invento, es por lo que se solicita patente de invención por 20 años, en España sobre "PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE POLIPEPTUROS"; caracterizándose por lo siguiente:

15. 1ª.- Procedimiento para la obtención de polipepturos de la fórmula general I, caracterizado porque se oxida un polipepturo de la fórmula V.

20. 2ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque esta oxidación se efectúa en solución acuosa o alcohólico-acuosa.

3ª.- Procedimiento según las reivindicación 1ª y 2ª, caracterizado porque como medio de oxidación se emplea peróxido de hidrógeno, ferricianuro potásico u oxígeno.

25. 4ª.- Procedimiento para la obtención de polipepturos, tal y como queda descrito sustancialmente en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de DIECIOCHO HOJAS, escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

SANDOZ, A.G.

J. GOMEZ ACEBO Y MODR

28 AGO. 1964