

308712



29.11.1955

308712

PATENTE DE INVENCION

Case 1922. 37/BA/MK

*Memoria Descriptiva*  
*sobre*

"PROCEDIMIENTO PARA LA PRODUCCION DE SOLUCIO-  
NES ACUOSAS PARA INYECCIONES DE POLIPEPTUROS".

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

=====

Se ha encontrado que se pueden obtener solu-  
ciones acuosas para inyecciones de polipepturos que  
tienen un prolongado efecto de reducción de la pre-  
sión sanguínea haciendo reaccionar en solución acuosa  
5. los polipepturos de fórmula general I,

X-Ala-Phe-Ile-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub>

I

- en la que X es la sucesión de pepturos H-Pro-Ser-Lys o la sucesión de pepturos Pyr-Pro-Ser-Lys-Asp, con macro-moléculas de un peso molecular que exceda 1000
5. y que contengan grupos ácidos y convirtiendo la solución resultante por adición opcional de ácidos o bases fisiológicamente compatibles y/o cloruro sódico y/o dilución y esterilización final de la solución, en una solución para inyecciones estéril que no tenga efecto
10. desfavorable sobre los tejidos y que contenga 0.1 a 10 g de pepturo por litro de solución.
- Es sabido que los dos polipepturos de fórmula I tienen la propiedad de reducir considerablemente la presión sanguínea, pero que en el organismo quedan inactivados con relativa rapidez. Con el fin de aprovechar
15. las valiosas propiedades terapéuticas de los polipepturos de fórmula I de reducción de la presión sanguínea y mejora de la circulación sanguínea fué necesario, por lo tanto, inyectar estos polipepturos a intervalos
20. frecuentes o administrarlos por gotas como infusión continua. Este procedimiento requiere una experiencia considerable y una vigilancia constante porque aún cuando los efectos terapéuticos aparecen dentro de muy corto tiempo, también pueden cambiar drásticamente las condiciones circulatorias y pueden conducir a síntomas secundarios indeseables tales como rubor, náusea o colapso.
- 25.

En consecuencia hay mucha necesidad de una

308712<sup>3</sup> -



solución para inyecciones que contenga un polipepturo de fórmula I y que tenga un efecto prolongado al aplicarse en una sola inyección parentérica, es decir que tenga un efecto más gradual (evitando cambios circulatorios drásticos) y al mismo tiempo un efecto más duradero. Esto evitaría la necesidad de repetir las inyecciones frecuentemente o de administrar una infusión continua por gotas.

- 5.
- De acuerdo con el invento se pueden obtener
10. soluciones para inyecciones de un polipepturo de fórmula I, que tienen el efecto prolongado deseado, añadiendo el pepturo o su solución acuosa a una solución acuosa de un compuesto macromolecular, descrito en la presente memoria, ajustando el valor pH preferentemente a entre 6 y 9 y opcionalmente ajustando también la presión osmótica de la solución a aquella de una solución al 0.9% de sal común, y finalmente esterilizando la solución así obtenida. El contenido de polipepturo activo de la solución resultante deberá ser de entre
15. 0.1 y 10 g, preferentemente entre 0.5 y 5 g por litro de la solución y por cada grupo básico del polipepturo deberá estar presente más de un grupo ácido de la macromolécula.
- 20.

25. Son macromoléculas ácidas adecuadas, por ejemplo los ácidos poliurónicos (tal como los ácidos poligalacturónicos, ácidos polimanurónicos), los macopolisacáridos (tales como la heparina, el ácido



hialurónico, el sulfato de condroitina) así como los derivados obtenidos sintéticamente o microbiológicamente de la celulosa, el almidón u otros polisacáridos (tales como la celulosa carboximetilica o el sulfato de dex-

5. trana) que contengan grupos ácidos.

Los dos polipepturos de fórmula I pueden producirse por métodos convencionales en la síntesis de los polipepturos, uniendo entre sí los aminoácidos uno a la vez en el orden indicado en la fórmula, o después de haber formado unidades de pepturo más pequeñas.

10.

Las siguientes abreviaturas se usan en la presente memoria:-

	Pro	=	L-prolil
	Ser	=	L-seril
15.	Lys	=	L-lisil
	Ala	=	L-alanil
	Phe	=	L-fenilalanil
	Ile	=	L-isoleucil
	Leu	=	L-leucil
20.	Met-NH <sub>2</sub>	=	L-metioninamida
	Gly	=	glicil
	Asp	=	L-asparagil
	Pyr	=	L-piroglutamil
	Bz	=	bencil
25.	Tri	=	tritol = trifenil- metil
	CTE	=	carbo-butoxi terc.



Una dosis diaria adecuada es la de 100 a 600  $\gamma$  del polipepturo de fórmula I.

En los siguientes Ejemplos no limitativos todas las temperaturas están indicadas en grados centígrados y son sin corregir.

5.

EJEMPLO 1:

Se añaden por gotas y mientras se agita 250 cc de una solución al 2% de celulosa carboximetilica en agua destilada a una solución de 500 mg del nonapepturo básico H-Pro-Ser-Lys-Ala-Phe-Ile-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub> en 250 cc de agua destilada. A continuación se ajusta el valor pH de la solución con ácido acético a entre 6.0 a 6.8, la solución se hace isotónica mediante la adición de 3.5 g de cloruro sódico y luego se esteriliza.

10.

15.

La H-Pro-Ser-Lys-Ala-Phe-Ile-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub> usada como material inicial se prepara como sigue:

Se disuelven 129 g de Tri-Gly-Leu-OH, 45 g de H-Met-NH<sub>2</sub> y 65 g de carbodiimida dicitclohexilica en 1300 cc de cloruro metilénico, se deja reposar durante la noche a 0°, se filtra, se lava la solución con ácido clorhídrico diluido y bicarbonato sódico acuoso, se seca sobre sulfato sódico, se evapora en un vacío y se añade éter etílico. Se obtienen 112 g de Tri-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub> (P.F. 212°;  $[\alpha]_D^{21} = -4^\circ$  en formamida dimetilica), los que se deja reposar durante 20 minutos a 90° en una mezcla de 600 cc de ácido acético glacial y 600 cc de agua, se enfría a 20° y se filtra; se evapora la solu-

20.

25.



ción en un vacío, se lava el residuo con éter etílico y se cristaliza de metanol/éter. Se obtienen 62 g de H-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub>-acetato (P.F. 130° con descomp.;

$[\alpha]_D^{21} = -35^\circ$  en ácido acético al 95%), a los que se añaden

- 5. de una solución producida por disolución de 72 g de CTB-Ala-Phe-Ile-NH-NH<sub>2</sub> en 300 cc de ácido clorhídrico 2-n y 900 cc de formamida dimetílica a -5° y adición de 85 cc de nitrito sódico 2-n y después de 5 minutos adición de 85 cc de amina trietílica y 600 cc de formamida dimetílica.
- 10.

Se deja reposar la mezcla durante la noche a 0°, se evapora en un vacío, se lava el residuo con ácido clorhídrico diluído frío, se disuelve en tetrahidrofurano y se precipita por adición de agua. Se obtienen

- 15. 75 g de CTB-Ala-Phe-Ile-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub> (P.F. 250°;  $[\alpha]_D^{21} = -30^\circ$  en formamida dimetílica), los que se disuelven en

2000 cc de ácido trifluoroacético y se deja reposar durante una hora a 28°. Se evapora en un vacío, se disuelve en metanol, se añaden 16 cc de amina tri-n-butílica

- 20. y se precipita con éter etílico. Se obtienen 60 g de H-Ala-Phe-Ile-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub> (P.F. 250° con descomp.;  $[\alpha]_D^{22} = -20^\circ$  en ácido acético al 95%).

Se disuelven 80 g de CTB-Pro-Ser-Lys(CTB)-OCH<sub>3</sub> en 750 cc de metanol, se añaden 200 cc de hidrato hidra-

- 25. cínico, se deja reposar durante la noche a 20°, se evapora en un vacío, se disuelve en 900 cc de metanol y se añaden 5000 cc de éter etílico. Cristalizan 59 g de



- CTB-Pro-Ser-Lys(CTB)-NH-NH<sub>2</sub> (P.F. 160°;  $[\alpha]_D^{21} = -58^\circ$  en ácido acético al 95%), los que se disuelven en 440 cc de ácido clorhídrico 1-n y 880 cc de formamida dimetilica y luego se añaden a -5° 60 cc de nitrito sódico 2-n
5. y después de 5 minutos 82 cc de amina trietilica y 57 g de H-Ala-Phe-Ile-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub>. Se deja reposar durante la noche a 0°, se evapora en un vacío y se lava el residuo con éter etílico y con ácido acético diluido. Se obtienen 75 g de derivado monapeptórico (P.F. 260° con descomp.;  $[\alpha]_D^{20} = -50^\circ$  en ácido acético al 95%), los que
10. se disuelven en 2000 cc de ácido trifluoroacético. Se deja reposar durante una hora a 25°, se evapora en un vacío, el residuo se lava con 1000 cc de agua y se ajusta a un valor pH de 6.5 mediante la adición de bicarbonato sódico. Se obtienen 57 g de H-Pro-Ser-Lys-Ala-Phe-Ile-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub> en forma de un polvo que es difícilmente soluble en agua neutral ( $[\alpha]_D^{20} = -73^\circ$  en ácido trifluoroacético al 95%; P.F. 220° con descomp.). La hidrólisis ácida bajo nitrógeno proporciona prolina, serina,
20. lisina, alanina, fenilalanina, isoleucina, glicina, leucina, metionina y amoníaco en cantidades equimoleculares. El pepturo libre puede ser disuelto en agua mediante la adición de una cantidad equivalente de un ácido. La evaporación proporciona la sal correspondiente.
25. EJEMPLO 2:

Se suspenden 100 mg de Pyr-Pro-Ser-Lys-Asp-Ala-Phe-Ile-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub> en 50 cc de agua destilada



y se hace disolver el pepturo mediante la adición de solución de hidróxido sódico hasta un valor pH de 9 a 10, se deja afluir 50 cc de una solución al 2% de celulosa carboximetilica en agua destilada y se prepara una solución inyectable de la solución resultante en forma análoga a la descrita en el Ejemplo 1.

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 presentada en Suiza con fecha y número siguientes: 31 de enero de 1964, nº 1.110/64, accogiéndose 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 sobre: "Procedimiento para la producción de soluciones acuosas para inyecciones de polipepturos"; caracterizándose por lo siguiente:

1.- "Procedimiento para la producción de soluciones acuosas para inyecciones de polipepturos" de la fórmula general I,



en la que X significa la sucesión de pepturos H-Pro-



Ser-Lys o la sucesión de pepturos Pyr-Pro-Ser-Lys-Asp, con prolongado efecto de reducción de la presión sanguínea caracterizado porque se hace reaccionar en solución acuosa un polipepturo de la fórmula general

5. I con macromoléculas que contengan grupos ácidos y cuyo peso molecular quede por encima de 1000, y se convierte opcionalmente la solución resultante mediante la adición de bases o ácidos fisiológicamente compatibles y/o cloruro sódico y/o diluyendo, y
10. subsiguiente esterilización, en una solución estéril para inyecciones con un contenido de 0.1 a 10 g de pepturo por litro.

15. 2ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se usa celulosa carboximética como macromolécula.

3ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se usa ácido poligalacturónico como macromolécula.

20. 4ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque se usa pectina cítrica como macromolécula.

25. 5ª.- Procedimiento para la producción de soluciones acuosas para inyecciones de polipepturos; tal y como queda descrito substancialmente en la presente Memoria.

- 10 - 3 08712



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

Madrid,

29 ENE. 1965

SANCOZ, A. G.

I. GOMEZ ACEBO Y MODESTO