

26 FEB. 1965

P.- 27.380

LL/SO  
Pha-236-Spa.



EB. 1965

309856

MEMORIA DESCRIPTIVA  
para solicitar  
PATENTE DE INVENCION  
en  
E S P A Ñ A  
por VEINTE años

a nombre de AKTIEBOLAGET PHARMACIA, entidad sueca, establecida en Björkgatan 30, Uppsala, Suecia. por:  
"MEJORAS INTRODUCIDAS EN LA PREPARACION DE HIDROXIALCOHIL DEXTRANO"

La presente invención se refiere, en general, a ciertos productos nuevos de hidroxialcohol dextrano. La presente invención se refiere también a composiciones terapéuticas que comprenden soluciones acuosas que contienen estos hidroxialcohol dextranos nuevos. La presente invención comprende también dosis unitarias para fines de infusión e inyección, que contienen los hidroxialcohol dextranos nuevos. La presente invención se refiere también a un método para preparar ciertos hidroxialcohol dextranos.

10

Es bien conocido el uso de productos de dextrano

3 0 9 8 5 6



26 FEB 1966

en aplicaciones médicas, particularmente productos de dextrano que tienen un peso molecular medio (pm) menor que 200.000, y especialmente aquellos en los que está comprendido aproximadamente entre 3.000 y 100.000. Incluso más en particular se pueden mencionar los productos de dextrano que tienen un peso molecular medio igual a 75.000 (más o menos 25.000) y a 35.000 (más o menos 15.000). El dextrano se usa en aplicaciones médicas en forma de soluciones acuosas para fines de infusión e inyección. La concentración de tales soluciones está comprendida corrientemente entre 3 y 15%, y particularmente entre 5 y 10%. Cuando se almacenan soluciones de dextrano durante largo tiempo en sitios cálidos o calientes, y particularmente bajo condiciones tales que se someta la solución a temperaturas que varían entre límites amplios, tienden a separarse de la solución, por precipitación, partículas de dextrano, por ejemplo en forma de escamas. Cuando sucede esto, se considera generalmente que no se puede usar la solución de dextrano. En la descripción siguiente se menciona este fenómeno de precipitación como "formación de escamas". Como resultado de la formación de escamas se han de rechazar o volver a someter a procedimiento grandes cantidades de solución de dextrano.

Este fenómeno de formación de escamas se describe en la Patente U.S. 3.006.814, que propone un método para disminuir la tendencia a la formación de escamas. Este método patentado implicaba la adición de ciertas sustancias de bajo peso molecular, por ejemplo polietilén glicol, a la solución de dextrano. Sin embargo, este método ha resultado ser insuficiente respecto al almacenamiento de soluciones de dextrano bajo condiciones desfavorables de temperatura. Aún

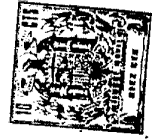
3 09856



más, la cantidad de estos aditivos necesaria para evitar la formación de copos es con frecuencia tan grande que se hace insatisfactoria a la solución de dextrano para fines médicos. (se hace referencia a la Patente 3.006.814 para mayor información fundamental sobre el dextrano crudo, dextrano hidrolizado, su uso clínico, y el problema de la "formación de escamas" que se encuentra en las soluciones de dextrano (por ejemplo en la columna 1, líneas 9-64).

Por tanto, es un objeto de la presente invención superar las desventajas, anteriormente mencionadas, relacionadas con la preparación y almacenamiento de dextrano y soluciones de dextrano. Es un objeto de la presente invención producir una solución de dextrano sustituido que es sustancialmente equivalente a las soluciones de dextrano puro, desde un punto de vista médico, pero que tendrá propiedades superiores de almacenamiento y menos problemas de formación de escamas. Estos y otros objetos y ventajas resultarán evidentes después de leer la siguiente descripción y reivindicaciones.

En un aspecto, la presente invención se refiere a ciertos hidroxialcohol dextranos nuevos que presentan una tendencia reducida a la formación de escamas cuando se almacenan en forma de soluciones acuosas. Los hidroxialcohol dextranos de la presente invención son dextranos que se han sustituido en grado pequeño con uno o más grupos hidroxialcohol. Aunque el grado de sustitución es bajo, es suficiente para reducir o eliminar la formación de escamas en soluciones acuosas, y sin embargo no es lo suficientemente grande como para cambiar su utilidad como ingrediente de soluciones acuosas para fines de inyección e infusión.



Más específicamente, se ha descubierto que el dextrano sustituido en grado pequeño con grupos hidroxialcohilo, conteniendo cada uno de los cuales de 2 a 5 átomos de carbono, inclusive, se puede almacenar en solución acuosa durante un período de tiempo casi ilimitado, incluso bajo condiciones de temperatura que corrientemente se considerarían como especialmente desfavorables, debido a los riesgos de formación de escamas. Con tal de que el grado de sustitución ascienda a un valor relativamente bajo, el presente dextrano sustituido mantendrá de forma sorprendente la propiedad que tiene el dextrano sin sustituir de ser eliminado del cuerpo. El dextrano hidroxialcohol-sustituido de la presente invención conserva también la baja toxicidad del dextrano sin sustituir. Según el ámbito más amplio de la presente invención, por dextrano poco sustituido se quiere decir dextrano sustituido con no más de 0,2 grupos hidroxialcohol inferior por unidad anhidroglucopiránósica. En otras palabras, el grado de sustitución es tal que, por término medio, menos de una de cada cinco unidades de glucosa del dextrano lleva un sustituyente consistente en un grupo hidroxialcohol inferior. Con objeto de conseguir una acción que valga la pena contra la formación de escamas, es generalmente necesario que haya un grado de sustitución igual por lo menos a 0,01, y preferiblemente igual por lo menos a 0,03 grupos hidroxialcohol por unidad anhidroglucopiránósica. Por lo general, no es necesario que el grado de sustitución sea mayor que aproximadamente 0,1. La presente invención se refiere específicamente a productos que tienen un grado de sustitución comprendido entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 0,2, y más

3 09856



5           preferiblemente entre aproximadamente 0,02 y aproximadamente 0,1, obteniéndose los resultados más satisfactorios en el intervalo comprendido entre aproximadamente 0,02 y aproximadamente 0,08. En el intervalo comprendido entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 0,2 se puede observar cierto retraso de la rotura y eliminación, de forma que preferiblemente se escoge un grado de sustitución menor que aproximadamente 0,1.

10           Por lo que se sabe, tales productos de dextrano poco sustituido no han sido descritos anteriormente en la literatura.

15           La presente invención abarca también el método de producir estos nuevos compuestos. El método comprende hacer reaccionar dextrano con un miembro seleccionado del grupo que consta de: (a) sustancias de fórmula X-R, donde X es un miembro seleccionado del grupo que consta de cloro y bromo, y R es hidroxialcohilo que contiene de 2 a 5, inclusive, átomos de carbono; y (b) compuestos epóxi que se pueden obtener separando haluro de hidrógeno de sustancias que tienen la fórmula X-R, tal como se ha definido anteriormente, efectuándose dicha reacción en presencia de una sustancia de reacción alcalina para producir con ello el dextrano hidroxialcohol-sustituido correspondiente, que tiene un grado de sustitución comprendido entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 0,2 grupos hidroxialcohilo por unidad anhidroglucopiranosica. Como resultado de este método, cada molécula de dextrano llevará un cierto número de grupos hidroxialcohilo que están conectados a las unidades de glucosa de la molécula de dextrano de forma análoga a un éter. Desde luego, el número de

30

3 0 9 8 5 6

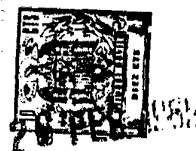


estos sustituyentes por molécula dependerá del grado de sustitución y del número de unidades de glucosa por molécula.

5 La reacción se efectúa preferiblemente en solución, y preferiblemente en solución acuosa en presencia de una sustancia de reacción alcalina. Las sustancias de reacción alcalina que se han empleado corrientemente son los hidróxidos de metal alcalino, tales como hidróxido sódico e hidróxido potásico. En relación con esto, la sustancia de reacción alcalina actúa como catalizador. Si el grupo o grupos hidroxialcohilo inferior se han de introducir con ayuda de una sustancia de fórmula X-R (tal como se ha definido anteriormente), la sustancia alcalina reaccionará también como aceptor del haluro de hidrógeno liberado en la reacción. Si el grupo o grupos hidroxialcohilo inferior se introducen en el dextrano con ayuda de compuestos epoxi que se pueden obtener separando haluro de hidrógeno (de un átomo de halógeno y un átomo de hidrógeno de un grupo hidroxilo) de sustancias que tienen la fórmula X-R, la sustancia de reacción alcalina actuará solamente como catalizador de la adición del compuesto epoxi a los grupos hidroxilo del dextrano, con formación de un puente éter y un grupo hidroxilo a partir del grupo oxígeno. En relación con esto, se usan preferiblemente los compuestos 1,2-epoxi. Por tanto, el método más sencillo para llevar a la práctica la presente invención es, como norma, usar directamente tal compuesto.

25 Por razones prácticas, generalmente es adecuado introducir solo una clase de grupo hidroxialcohilo en el

3 09856



dextrano. Sin embargo, se pueden introducir dos o más clases diferentes de hidroxialcoholes hasta el grado deseado de sustitución, esto es, entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 0,2 grupos por unidad anhidroglucopiranosica. Por ejemplo, se puede introducir tanto un 2-hidroxietilo como un 2-hidroxipropilo en cantidades diferentes, ya sea tratando simultáneamente el dextrano con dos sustancias diferentes que tengan la fórmula general X-R (tal como se ha definido anteriormente) o con compuestos epoxi que se pueden obtener separando haluro de hidrógeno de compuestos de esta fórmula, o con estas sustancias por separado, en secuencia arbitraria.

Como sustituyente R que contiene uno o más grupos hidroxilo se pueden mencionar, por ejemplo, los siguientes: 2-hidroxietilo; 2-hidroxipropilo; 2,3-dihidroxipropilo; 2-hidroxibutilo; y 2-hidroxipentilo.

Como ejemplos de compuestos de fórmula X-R y compuestos epoxi que se pueden obtener separando haluro de hidrógeno de compuestos de esta fórmula, los cuales se pueden usar para preparar los nuevos dextranos poco sustituidos, se pueden mencionar los siguientes: óxido de etileno, etilén clorhidrina; etilén bromhidrina; 1,2-epoxipropano; 1-cloro-2-propanol; 1-cloro-2,3-propanodiol; 1,2-epoxi-3-propanol; 1-bromo-2,3-propanodiol; 1,2-epoxibutano; 1-cloro-2-butanol; 2,3-epoxibutano; y 2,3-epoxipentano.

Entrem los nuevos productos de dextrano abarcados por la presente invención se pueden mencionar, por ejemplo, 2-hidroxipropil dextrano, 2,3-dihidroxipropil dextrano, y 2-hidroxietil dextrano y 2-hidroxibutil dextrano poco sustituidos, y tales compuestos presentan características disminuidas de formación de escamas particularmente excelentes, pero conservando al mismo tiempo la propiedad particularmente



de ser eliminados del cuerpo. Aún más, los compuestos han presentado una toxicidad extraordinariamente baja. Son compuestos especialmente preferibles los 2-hidroxi-propil dextranos poco sustituidos.

5                    Para la manufactura de dextrano para fines terapéuticos se usa corrientemente el llamado dextrano crudo o dextrano nativo, de peso molecular relativamente alto, como material de partida. Este dextrano se somete a una despolimerización hasta tamaños moleculares adecuados, generalmente por vía catalítica en presencia de  
10 un ácido mineral, por ejemplo ácido clorhídrico. Según la presente invención, se pueden introducir los hidroxialcohilos en el dextrano crudo, después de lo cual el dextrano crudo sustituido se somete a la cantidad deseada de despolimerización. Por lo general, las condiciones  
15 reinantes en el procedimiento de despolimerización no tienen, o solo tienen poca influencia en el grado de sustitución. Desde luego, también se puede introducir los grupos hidroxialcohilo en un dextrano que ya se ha despolimerizado hasta el intervalo de tamaños moleculares deseado para  
20 su uso final, o en un dextrano que haya obtenido este intervalo deseado de tamaños moleculares mediante métodos enzimáticos o métodos bacteriológicos especiales.

25                    La presente invención considera también las composiciones terapéuticas consistentes en soluciones acuosas que contienen los nuevos hidroxialcohil dextranos poco sustituidos anteriormente mencionados, Tales soluciones, que se usan como fluidos de infusión y de inyección, se preparan disolviendo en agua libre de  
30 pirógenos el nuevo dextrano sustituido. Opcionalmente,

3 09856



después de la adición de aditivos usuales de bajo peso molecular, tales como glucosa y/o sales, por ejemplo cloruro sódico, la solución acuosa se puede transformar a una forma adecuada para administración parenteral. La concentración de los hidroxialcohol dextranos poco sustituidos de la solución está comprendida por lo general aproximadamente entre 3 y 15%. Corrientemente se llenan botellas de infusión con las soluciones. Las unidades de dosificación adecuadas para fines de infusión e inyección están comprendidas entre 100 y 1000 ml.

(En esta Memoria descriptiva y en las reivindicaciones, se pretende que la expresión dextrano abarque también los productos de dextrano que, debido al procedimiento de manufactura, presenten un grupo final reductor por molécula, así como los dextranos en los que, como resultado del procedimiento de manufactura, se haya cambiado su grupo final reductor, por ejemplo por oxidación o hidrogenación o por conversión en un glicósido, sin que hayan perdido las propiedades que son importantes para el uso terapéutico del dextrano)

Los siguientes ejemplos ilustran algunas formas de realización preferidas de la presente invención. Con objeto de caracterizar los productos de dextrano de partida, intermedios y finales que se usaron en los experimentos que se resumen en los siguientes ejemplos, se ha empleado con frecuencia la designación "VL". VL significa "viscosidad límite" o " $\eta$ " (equivalente a la viscosidad intrínseca), que es función del peso molecular medio. El peso molecular medio ( $\bar{m}$ ) se puede determinar por medidas de dispersión de luz.

EJEMPLO 1

2-hidroxipropil- dextrano de grado de sustitución variable

309856



5 A. En un frasco provisto de agitador se dispusieron 200 g. de una solución al 17% de dextrano crudo en agua (VI= 1,2) (34 g de dextrano). A esta solución se añadieron 5 g de hidróxido sódico disueltos en 10 ml de agua, como catali- zador. Por un embudo de adición se añadieron 2 ml de 1,2-epo- xipropano (punto de ebullición igual a 34,2°C, pm = 581,1). se dejó transcurrir la reacción durante 24 horas a tempera- tura ambiente. La mezcla de reacción se neutralizó con ácido clorhídrico hasta reacción neutra, y luego se añadió a la mis- 10 ma alcohol etílico en una cantidad igual a 8 veces el volumen de la solución, con objeto de completar la precipitación del dextrano sustituido. Este último se secó bajo vacío a 50°C. El rendimiento en 2-hidroxipropil dextrano fué de 32 g. El grado de sustitución fué 0,11, y el índice de viscosidad lí- 15 mite fué el mismo que el de la sustancia de partida.

25 g. del dextrano crudo 2-hidroxipropil-sustituido se disolvieron en 250 ml de agua, en un frasco redondo pro- visto de agitación. Se calentó la solución a 80°C en un baño de agua, después de lo cual se añadió ácido clorhídrico hasta 20 que la mezcla de reacción se hizo 0,14 molar. El tiempo de hidrólisis fué de 95 min. a 80°C. Después del procedimiento de hidrólisis se neutralizó la mezcla con hidróxido sódico y se precipitó 3 veces con alcohol etílico. El producto de hidrólisis se secó bajo vacío, a 65°C. El producto así obte- 25 nido tenía un índice de viscosidad límite igual a 0,28 , y el grado de sustitución fué de 0,11 grupos por unidad de glucosa.

30 B. En un frasco provisto con un agitador se dispusieron 500 g. de una solución al 20% de dextrano crudo (índice de viscosidad límite igual a 1,3) en agua,

309856



5 y una solución de 5 g de hidróxido sódico en 10 ml de agua. Por un embudo de adición se añadieron 2 ml de 1,2-epoxi-propano. El resto de la reacción se efectuó después según el método expuesto en el epígrafe A. El rendimiento en 2-hidroxipropil dextrano fué igual a 85 g.

10 El hidroxipropil dextrano obtenido se hidrolizó en una solución acuosa 0,14 molar de cloruro de hidrógeno, a 80°C, durante 150 min. El dextrano sustituido despolimerizado tenía un índice de viscosidad límite igual a 0,15, y el grado de sustitución era igual a 0,04.

15 C. En un recipiente de reacción de 3 bocas, de 5 litros, provisto de un agitador y un embudo de adición, se dispusieron 3 litros de una solución al 20% de dextrano en agua que tenía un índice de viscosidad límite igual a 0,26, y 15 g. de hidróxido sódico disueltos en 30 ml de agua. Por un embudo de adición se añadieron 8 ml de 1,2-epoxipropano. Se dejó transcurrir la reacción durante 24 horas a temperatura ambiente, después de lo cual se efectuó la neutralización con ácido clorhídrico. Se precipitó la sustancia con alcohol etílico, y se precipitó 3 veces. Se secó a 60°C en una estufa de secado a vacío. El rendimiento en 2-hidroxipropil dextrano fué de 600 g. el grado de sustitución fué igual a 0,013, y el índice de viscosidad límite fué igual a 0,26.

25 D. Este experimento se realizó con el mismo dextrano de partida que antes, y de forma análoga a la expuesta bajo el epígrafe C, salvo en que la cantidad de 1,2-epoxipropano fué igual a 150 ml. El rendimiento en 2-hidroxipropil dextrano fué igual a 580 g, el grado de sustitución fué 30 0,19, y el índice de viscosidad límite fué 0,28.

309856



5 E. En un recipiente de reacción de 2 litros, provisto de un agitador y embudo de adición, se dispusieron 1000 g. de una solución al 15% de dextrano (VL = 0,27) en agua. Se añadieron a la solución 5 g. de hidróxido sódico disueltos en 10 ml de agua, como catalizador. Por un embudo de adición se añadió una mezcla de 1,6 ml de 1,2-epoxipropano y 1,6 ml de agua. Se dejó transcurrir la reacción durante 4 horas a 40°C. Luego se enfrió la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente, y se neutralizó con ácido clorhídrico hasta reacción neutra. Luego se añadió a la misma etanol en una cantidad igual a 8 veces el volumen de solución, para la precipitación total del dextrano sustituido. La sustancia se volvió a reprecipitar 2 veces, y se secó en una estufa de vacío a 60°C. El rendimiento en 2-hidroxipropil dextrano fué igual a 123 g. El grado de sustitución fué igual a 0,02.

EJEMPLO II

2,3-dihidroxipropil dextrano

20 A. En un frasco con un agitador se dispusieron 200 g. de una solución al 20% de dextrano crudo (índice de viscosidad límite = 1,2) en agua. A la solución obtenida se añadieron 5 g. de hidróxido sódico disueltos en 10 ml. de agua, como catalizador. Por un embudo de adición se añadieron 10 ml de 1,2-epoxi-3-propanol. Se dejó transcurrir la reacción durante 24 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se neutralizó con ácido clorhídrico hasta reacción neutra, y se precipitó con alcohol etílico. El producto sustituido precipitado se purificó mediante 3 precipitaciones con alcohol etílico. La sustancia se secó en una estufa de secado a vacío, a 50°C. El rendimiento en

3 09856



2,3-dihidroxi-propil dextrano fué igual a 37 g.

25 g. del 2,3-dihidroxi-propil dextrano se disolvieron en 250 ml de agua, tras lo cual se calentó la solución a 80°C. A la solución caliente se añadió ácido clorhídrico en cantidad suficiente para hacer a la solución de dextrano 0,14 molar respecto al ácido. El tiempo de hidrólisis fué de 140 min. Después de neutralización con hidróxido sódico, reprecipitación 3 veces con etanol, y secado en una estufa de secado a vacío a 50°C, se obtuvieron 21 g. de un 2,3-dihidroxi-propil dextrano que tenía un grado de sustitución igual a 0,15. El índice de viscosidad limitado del producto hidrolizado fué igual a 0,18.

B. En un recipiente de reacción de 3 bocas, de 5 litros, con un agitador y embudo de adición, se dispusieron 3 litros de una solución acuosa al 20% de dextrano, que tenía un índice de viscosidad limitado igual a 0,26, y, como catalizador, 15 g. de hidróxido sódico disueltos en 30 ml. de agua. Por un embudo de adición se añadieron 12 ml. de 1,2-epoxi-3-propanol. Se dejó transcurrir la reacción durante 24 horas a temperatura ambiente, tras lo cual se neutralizó la mezcla con ácido clorhídrico. Se precipitó la sustancia con alcohol etílico, y se volvió a precipitar 3 veces con alcohol etílico, después de lo cual se secó en una estufa de secado de vacío a 60°C. El rendimiento en 2,3-dihidroxi-propil dextrano fué igual a 570g. el grado de sustitución fué 0,033, y el índice de viscosidad limitado fué 0,27.

C. A 200 g. de una solución al 20% de dextrano que tenía un índice de viscosidad límite igual a 0,26, en agua, se añadieron 6 g. de hidróxido sódico, y se hizo



reaccionar la mezcla de forma análoga a la que se ha expues-  
to en el Ejemplo II B, con 2 ml. de 1-cloro-2,3-propanodiol.  
El producto reprecipitado tenía un grado de sustitución igual  
a 0,07 y el mismo índice de viscosidad límite que la sustan-  
cia de partida.

5

D. En un recipiente de reacción de 2 litros, pro-  
visto de un agitador y embudo de adición, se dispusieron  
1000 g. de una solución al 15% de dextrano en agua (VL= 0,27).  
A esta solución se añadieron 5 g. de hidróxido sódico disuel-  
tos en 10 ml de agua, como catalizador. Por un embudo de adi-  
ción se añadió una mezcla de 1,6 ml de 3-cloro-1,2-propano-  
diol y 1,6 ml. de agua. Se dejó transcurrir la reacción du-  
rante 4 horas a 70°C. La mezcla de reacción se neutralizó  
con ácido clorhídrico a temperatura ambiente, y luego se pre-  
cipitó con etanol, en cantidad igual a 8 veces el volumen de  
la solución. El producto se volvió a precipitar 2 veces, y  
se secó en una estufa de vacío a 60°C. El rendimiento en  
2,3-dihidroxiopropil dextrano fué de 129 g. El grado de sus-  
titución fué 0,02.

10

15

20

### EJEMPLO III

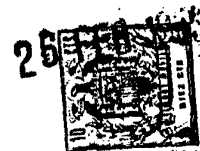
#### 2-hidroxibutil dextrano

A. En un frasco provisto de un agitador se dis-  
pusieron 300 g. de una solución al 20% de dextrano en agua  
(VL = 0,70). A esta solución se añadieron 5 g. de hidróxi-  
do sódico disueltos en 10 ml de agua, y luego 2 ml de 1,2-  
epoxibutano por una bureta. Se dejó transcurrir la reacción  
durante 24 horas a temperatura ambiente. Después de neutra-  
lización con ácido clorhídrico y elaboración tal como se  
expone en el Ejemplo I, se obtuvieron 57 g. de 2-hidroxibu-  
til dextrano que tenía un grado de sustitución igual a 0,07.

25

30

3 09856



5 40 g. de este 2-hidroxitil dextrano se disolvieron en agua hasta formar una solución a aproximadamente 10%. Se añadió ácido clorhídrico a la solución hasta que se hizo 0,14 molar respecto al ácido. El procedimiento de hidrólisis se efectuó a 80°C durante 105 minutos. Después de una elaboración tal como se expone en el Ejemplo I, se obtuvieron 36 g. de 2-hidroxitil dextrano despolimerizado que tenía un grado de sustitución igual a 0,07 y un índice de viscosidad limitada de 0,20.

10 B. La reacción se hizo transcurrir en un frasco de reacción de 3 bocas, de 5 litros, de forma análoga a la que se ha expuesto en el Ejemplo II B, salvo en que se añadieron 150 ml de 1,2-epoxibutano por un embudo de adición. El producto se elaboró y secó de forma análoga a la  
15 que se ha expuesto en el Ejemplo II B, y el rendimiento en 2-hidroxitil dextrano fué igual a 587 g.

El grado de sustitución fué de 0,15, y el índice de viscosidad límite fué igual a 0,27.

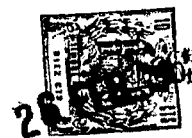
#### EJEMPLO IV

##### 20 2-hidroxietyl dextrano

A. En un frasco provisto de un agitador se dispusieron 300 g. de una solución al 20% de dextrano en agua ( $\eta_{sp}/c = 0,18$ ), y 5 g. de hidróxido sódico disueltos en 10 ml. de agua. Se añadieron 3 ml. de etilén clorhídrico a la solución obtenida, tras lo cual se hizo transcurrir la reacción durante 24 horas a temperatura ambiente.  
25

Después de la elaboración tal como se expone en el Ejemplo I, se obtuvieron 60 g. de 2-hidroxietyl dextrano que tenía un grado de sustitución igual a 0,09  
30 y un índice de viscosidad límite igual a 0,19

309856



5 B. En un frasco redondo de 5 litros, provisto de un agitador y embudo de adición, se dispusieron 3000 g. de una solución al 20% de dextrano en agua ( $VL = 0,26$ ). Se añadieron como catalizador 15 g. de hidróxido sódico disueltos en 30 ml. de agua. Por el embudo de adición se añadieron 12 ml de etilén clorhidrina. Se dejó transcurrir la reacción durante 24 horas a temperatura ambiente. Luego se neutralizó la mezcla de reacción con ácido clorhídrico, y se precipitó con etanol en cantidad igual a 8 veces el volumen de la solución. El producto se volvió a precipitar 2 veces y se secó en una estufa de vacío a  $60^{\circ}C$ . El rendimiento en 2-hidroxietil dextrano fué igual a 565 g. El grado de sustitución fué de 0,05, y el índice de viscosidad límite fué igual a 0,26.

10 Se ensayó la formación de escamas de los productos sintetizados según los ejemplos I a IV. Con este fin se prepararon 100 ml. de una solución al 20% de cada sustancia de ensayo en agua. Las soluciones se filtraron, se dispusieron en botellas de ampolla de 50 ml. y se sometieron en un autoclave a  $120^{\circ}C$ . durante 20 min. Como control se usaron dos soluciones al 20% de dextransos clínicos sin sustituir, que tenían un índice de viscosidad límite igual, respectivamente, a 0,26 y 0,19. Luego se almacenaron las botellas a  $+ 50^{\circ}C$  durante las noches y a  $+ 4^{\circ}C$  durante los días, y se examinaron a ciertos intervalos de tiempo. Las soluciones de los productos de dextrano poco sustituido, preparadas según la presente invención, no presentaron ninguna formación de escamas ni siquiera después de almacenarlas durante largo tiempo bajo estas condiciones extremadamente desfavorables, mientras que las muestras de la sustancia no sustituida desarrollaron escamas después de 3 semanas, por ejemplo, y una for-

309856



5 mación muy pronunciada de escamas después de 10 semanas, por ejemplo. En la siguiente Tabla I se dan los resultados de una serie de ensayos, siendo los cambios de temperatura los que se han expuesto anteriormente. En la tabla, el signo + indica formación de algunas escamas, y el signo + + + indica una formación muy grande de escamas, y el signo - indica que no hubo formación de escamas.

TABLA I

10

<u>Sustancia</u>	<u>VL</u>	<u>Grado de sustitución</u>	<u>Después de 3 sem.</u>	<u>Después de 10 sem</u>
2-hidroxiopropil dextrano	0,26	0,013	-	-
	0,28	0,19	-	-
2,3-dihidroxiopropil dextrano	0,27	0,033	-	-
2-hidroxiobutil dextrano	0,27	0,15	-	-
2-hidroxietil dextrano	0,19	0,09	-	-
Dextrano sin sustituir	0,26	0	+	+++
Dextrano sin sustituir	0,19	0	+	+++

15 EJEMPLO V

Con dextrano sustituido con grupos 2-hidroxiopropilo hasta un grado de sustitución igual a aproximadamente 0,08 y que tenía un peso molecular medio de aproximadamente 40.000, y cloruro sódico se preparó una solución en agua, exenta de pirógenos, a aproximadamente 80°C, conteniendo dicha solución 10 g. del dextrano sustituido y 0,9 g. de cloruro sódico por 100 ml. Se filtró la solución y se dispuso luego en botellas de 500 ml. que se cerraron y esterilizaron por tratamiento en autoclave a 110°C durante 5 min. Las botellas que contenían esta solución se pudieron almacenar durante períodos de tiempo aparentemente ilimitados, bajo condiciones de temperatura que variaban entre límites amplios, sin que apareciesen escamas en la solución.

20

25

30 EJEMPLO VI

Con dextrano sustituido con grupos 2-hidroxiopropilo



5 hasta un grado de sustitución igual a aproximadamente 0,05,  
que tenía un peso molecular medio igual a aproximadamente  
70.000, y cloruro sódico, se preparó una solución en agua,  
exenta de pirógenos, a aproximadamente 80°C, conteniendo  
10 dicha solución 6 g. del dextrano sustituido y 0,9 g. de  
cloruro sódico por 100 ml. Después de filtrar, introducirlo  
en botellas, cerrar y esterilizar, se descubrió que la so-  
lución se podía almacenar durante un largo período de tiem-  
po, incluso bajo condiciones de temperatura muy desfavora-  
bles, sin que tuviese lugar formación de escamas.

#### EJEMPLO VII

15 Con dextrano sustituido con grupos 2-hidroxipro-  
pilo hasta un grado de sustitución igual a aproximadamente  
0,03, que tenía un peso molecular medio de aproximadamente  
40.000, y glucosa, se preparó una solución en agua, exenta  
de pirógenos, a aproximadamente 90°C, conteniendo dicha  
solución 15 g. del dextrano sustituido y 5 g. de glucosa  
por 100 ml. La solución se filtró y se dispuso luego en  
botellas de 300 ml, que se cerraron y esterilizaron por  
20 tratamiento en autoclave a 110°C.

#### EJEMPLO VIII

25 Con dextrano sustituido con grupos 2-hidroxipro-  
pilo hasta un grado de sustitución igual a aproximadamente  
0,02, que tenía un peso molecular medio de aproximadamente  
70.000, y glucosa, se preparó una solución en agua, exenta  
de pirógenos, a aproximadamente 80°C, conteniendo dicha  
solución 6 g. del dextrano sustituido y 5 g. de glucosa  
por 100 ml. Se filtró la solución y se introdujo en bote-  
llas de 1000 ml. que se cerraron y esterilizaron por trata-  
30 miento en autoclave.

3 0 9 8 5 6



EJEMPLO IX

Con dextrano sustituido con grupos 2,3-dihidroxi-  
propilo hasta un grado de sustitución aproximadamente igual  
a 0,03, que tenía un peso molecular de aproximadamente  
5 75.000, y cloruro sódico, se preparó una solución en agua,  
exenta de pirógenos, a aproximadamente 95°C, conteniendo di-  
cha solución 5 g. del dextrano sustituido y 0,9 g. de cloru-  
ro sódico por 100 ml. La solución se filtró y dispuso en bo-  
tellas, que se cerraron y esterilizaron.

10 EJEMPLO X

Con dextrano sustituido con grupos 2-hidroxietilo  
hasta un grado de sustitución igual a aproximadamente 0,05,  
que tenía un peso molecular medio de aproximadamente 75.000,  
y cloruro sódico, se preparó una solución en agua, exenta  
15 de pirógenos, a aproximadamente 90°C, conteniendo dicha so-  
lución 6 g. del dextrano sustituido y 0,9 g. de cloruro só-  
dico por 100 ml. Se filtró la solución y se dispuso luego  
en botellas que se cerraron y esterilizaron.

EJEMPLOS XI

20 Con dextrano sustituido con grupos 2-hidroxibutilo  
hasta un grado de sustitución aproximadamente igual a 0,07,  
que tenía un peso molecular medio de aproximadamente 40.000,  
y cloruro sódico, se preparó una solución en agua, exenta de  
pirógenos, a aproximadamente 80°C, conteniendo dicha solución  
25 8 g. del dextrano sustituido y 0,85 g. de cloruro sódico por  
100 ml. Se filtró la solución y se dispuso en botellas, que  
se cerraron y esterilizaron.

Se descubrió que las botellas de solución prepa-  
rada según los Ejemplos VII a XI se podían almacenar duran-  
30 te un periodo de tiempo muy largo bajo condiciones de tempe-  
ratura variables en margen amplio, sin que apareciesen es-

3 0 9 8 5 6



camas en la solución.

Las personas versadas en la materia, y particularmente en la materia a la que pertenece la presente invención, apreciarán fácilmente que se pueden hacer muchas modificaciones de la invención básica aquí expuesta. Por ejemplo, no implicaría invención el ensayo de compuestos muy relacionados, a la vista de la presente exposición en términos generales, o el ensayo de cantidades diferentes que las expuestas. Todas tales modificaciones obvias no evitarían la infracción bajo la bien conocida "doctrina de equivalentes".

- N O T A -

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

1.- Mejoras introducidas en la preparación de hidroxialcohol dextrano, caracterizadas porque el mismo contiene, en promedio, desde aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,2 grupos de hidroxialcohol por unidad anhidroglucopiranosídica conteniendo dicho grupo hidroxialcohol a 2 a 5 átomos de carbono inclusive.

2.- Mejoras introducidas en la preparación de hidroxialcohol dextrano caracterizadas porque el mismo contiene, en promedio, desde aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1 grupos hidroxialcohol por unidad anhidroglucopiranosídica, conteniendo dicho grupo hidroxialcohol de 2 a 5 átomos de carbono inclusive.

3.- Mejoras introducidas en la preparación de hidroxialcohol dextrano, caracterizadas porque el mismo

3 09856



contiene, en promedio, desde aproximadamente 0,02 a aproximadamente 0,08 grupos hidroxialcohilo por unidad anhidroglucopiranosídica, conteniendo dicho grupo hidroxialcohilo de 2 a 5 átomos de carbono inclusive.

5                   4.- Mejoras según el punto 1, según las cuales el grupo hidroxialcohilo es 2-hidroxipropilo.

5.- Mejoras según el punto 1, según las cuales el grupo hidroxialcohilo es 2,3-dihidroxipropilo.

10                   6.- Mejoras según el punto 1, según las cuales el grupo hidroxialcohilo es 2-hidroxiético.

7.- Mejoras según el punto 3, según las cuales el grupo hidroxialcohilo es 2-hidroxipropilo.

8.- Mejoras según el punto 3, según las cuales el grupo hidroxialcohilo es 2,3-dihidroxipropilo.

15                   9.- Mejoras según el punto 3, según las cuales el grupo hidroxialcohilo es 2-hidroxiético.

10.- Mejoras según el punto 1, según las cuales el hidroxialcohil dextrano tiene un peso molecular medio dentro de los límites de 50.000 a 100.000.

20                   11.- Mejoras según el punto, 1, según las cuales el hidroxialcohil dextrano tiene un peso molecular medio dentro de los límites de 20.000 a 50.000.

25                   12.- Mejoras según el punto 3, según las cuales el hidroxialcohil dextrano tiene un peso molecular medio dentro de los límites de 50.000 a 100.000.

13.- Mejoras según el punto 3, según las cuales el hidroxialcohil dextrano tiene un peso molecular medio entre 20.000 y 50.000.

30                   14.- Mejoras introducidas en la preparación de composiciones terapéuticas que consisten en una solución

309856



5 acuosa que comprende hidroxialcohildextrano, caracterizadas porque dicho hidroxialcohildextrano, contiene, en promedio, desde aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,2 grupos hidroxialcohilo por unidad anhidroglucopiranosídica, conteniendo dicho grupo hidroxialcohilo de 2 a 5 átomos de carbono inclusive.

10 15.- Mejoras introducidas en la preparación de composiciones terapéuticas que consisten en una solución acuosa que comprende hidroxialcohildextrano, caracterizadas porque dicho hidroxialcohildextrano contiene, en promedio, desde aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,1 grupos hidroxialcohilo por unidad anhidroglucopiranosídica, conteniendo dicho grupo hidroxialcohilo de 2 a 5 átomos de carbono inclusive.

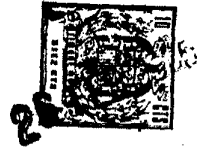
15 16.- Mejoras según el punto 14, según las cuales el peso molecular medio está dentro de la gama de 50.000 a 100.000.

20 17.- Mejoras según el punto 14, según las cuales el peso molecular medio está dentro de la gama de 20.000 a 50.000.

25 18.- Mejoras introducidas en la preparación de unidades dosificadas para fines de infusión e inyección, que consisten en desde 100 a 1.000 ml de una solución acuosa que comprende 3 a 15% en peso de hidroalcohildextrano, caracterizadas porque el hidroxialcohildextrano contiene, en promedio, desde aproximadamente 0,01 a 0,2 grupos hidroxialcohilo por unidad anhidroglucopiranosídica, conteniendo dicho grupo hidroxialcohilo de 2 a 5 átomos de carbono inclusive.

30

309856



19.- Un método para reducir la tendencia del dextrano a la formación de escamas cuando se guarda en solución acuosa, que comprende hacer reaccionar el dextrano con un miembro seleccionado del grupo consistente en (a) sustancias que tienen la fórmula X-R, donde X es un miembro seleccionado del grupo que consiste en cloro y bromo, y R es hidroxialcoholo, que contiene de 2 a 5 átomos de carbono inclusive, y (b) compuestos epoxídicos que pueden obtenerse por disociación de haluro de hidrógeno a partir de sustancias que tienen la fórmula X-R, como se han definido arriba, llevándose a cabo dicha reacción en presencia de una sustancia de reacción alcalina para producir con ello el correspondiente dextrano hidroxialcohol-sustituido que tiene un grado de sustitución dentro de los límites de unos 0,01 a unos 0,2 grupos hidroxialcoholo por unidad anhidroglucopiranosídica.

20.- Mejoras introducidas en la preparación de hidroxialcohol dextrano.

Tal y como se ha descrito en la memoria que antecede, representada por el dibujo que se acompaña y para los fines que se han especificado.

La presente memoria consta de veintitres hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 26 FEB. 1965

P.A.

Alcalde de Madrid  
Por Poder