

321226



PATENTE DE INTRODUCCION

321226

MEMORIA DESCRIPTIVA

Sobre:

"METODO PARA LA OBTENCION DE UN COMPUESTO QUIMICO DE ACCION ANTITOXICA".

-----

Solicitante: SOCIETA PRODOTTI ANTIBIOTICI, S. p. A., Entidad de nacionalidad italiana, domiciliada en Via Biella, 8 - MILANO (Italia).

-----

-----

--

321226



Esta invención concierne a un método para la obtención de un nuevo producto terapéutico que tiene acción anti-tóxica.

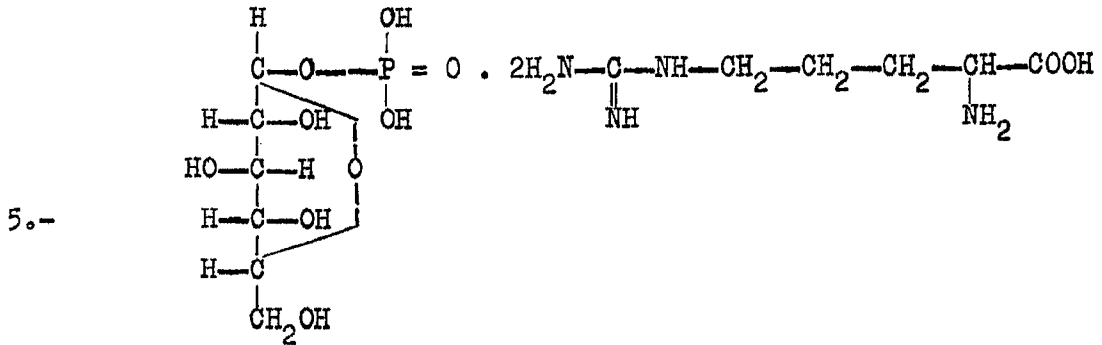
5.- Como es bien sabido, todos los síndromes neurológicos que acompañan a algunas disfunciones hepáticas -como la cirrosis y la insuficiencia hepática acusada- pueden ser atribuidos a la presencia de altas cantidades de amoniaco en la circulación.

10.- Un objeto de ésta invención es la provisión de una droga adecuada para actuar como remedio contra tales manifestaciones neurotóxicas surgidas de las insuficiencias hepáticas, o de la hepatitis, con la consiguiente hiperamonihemia, aliviando el dolor de la célula hepática y eliminando las - mayores cantidades de amoniaco presentes en la circulación.

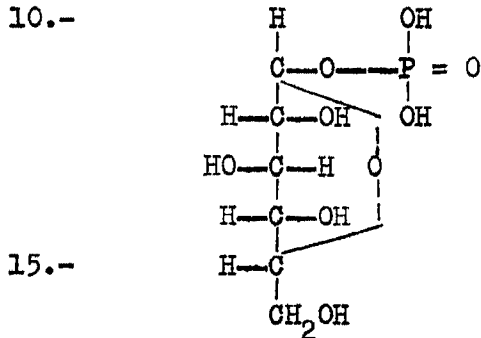
15.- Además, se ha averiguado, sorprendentemente, que la acción de la droga de acuerdo con ésta invención, no queda restringida a nivel del hígado, sino que cubre también la hiperazoemia, con tal de que el riñón no esté lesionado en - forma irreversible.

20.- Más precisamente, el compuesto de acuerdo con la invención está en condiciones de ejercer una doble acción - hepato-renal de gran significación para el metabolismo de la urea. Dicho en otras palabras, la droga de acuerdo con la -- invención, ejerce no sólo una acción catalizadora en la ure-  
25.- genesis del hígado, sino también una acción que resulta en la reducción del contenido nitrogenado de la sangre. Los resultados anteriores se consiguen mediante el empleo de la droga de acuerdo con la invención, la cual está caracterizada por consistir en la arginina-glucosa-l-fosfato, que tiene como -  
30.- fórmula:

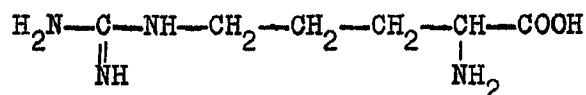
321226



La droga antes especificada se obtiene haciendo que un mol de ácido glucosa-1-fosfórico, que tenga por fórmula:



reaccione con dos moles de arginina que tenga como fórmula:



20.- El ácido glucosa-1-fosfórico es un compuesto ya conocido (véase de F. Cori: J. Biol. Chem. 121.465. 1937, y Biochem. Prepar. 1.33. 1939); es más bien un ácido fuerte, por lo que puede ser titulado con sosa cáustica en solución acuosa, usando fenoltaleína como indicador. La solución acuosa de dicho

25.- ácido puede ser obtenida de éstos o de sus sales alcalinas - (sustancias fácilmente cristalizables) mediante un tratamiento con resinas intercambiadores de cationes.

30.- La arginina es también un aminoácido bien conocido que ha sido investigado por muchos autores (Krebs, Henseleit, Du Ruisseau, Colalonge e Inesi, Della Peitra y Rogliani, Fehey y otros).

321226



5.- Añadiendo lentamente una solución acuosa de arginina a una solución acuosa de ácido glucosa-l-fosfórico, la curva potenciométrica así obtenida mostrará dos agudas desviaciones que corresponden a dos salificaciones, la una con un valor de pH de 4,5 y la otra con un pH de 7,8.

10.- Así, el compuesto de acuerdo con la invención se -- obtiene con un valor de pH de 7,8 aproximadamente. Este compuesto es el producto de reacción de un mol de ácido glucosa-l-fosfórico y dos mols de arginina. Dicha nueva sal es obtenida bajo la forma de un polvo blanco cristalino ligeramente higroscópico, fácilmente soluble en el agua, e insoluble en alcohol etílico y acetona.

15.- El compuesto de acuerdo con la invención puede ser cristalizado con cuatro mols de agua en sus soluciones acuosas concentradas. El producto muestra un poder específico rotatorio de  $20 = 47^{\circ}$  ( $C = 2: H_2O$ ). El producto anhidro muestra un contenido de 42,74 % de ácido glucosa-l-fosfórico y el 57,25 % de arginina base.

20.- Las soluciones acuosas de arginina glucosa-l-fosfato muestran una estabilidad prácticamente completa a temperatura ambiente normal, y a los valores fisiológicos de pH.

25.- En efecto, en una solución al 20 %, conservada en agua hirviendo durante 30', los porcentajes de fósforo hidrolizado, con valores de pH de 6,7 y 8, respectivamente, fueron de 1,6 - 1,0 - 1,7 %.

Ejemplo de preparación

Se disolvieron 300 g de tetrahidrato disódico glucosa-l-fosfato en 2,000 cc de  $N_2O$  destilado.

30.- La solución fue pasada a través de una resina fuertemente intercambiadora de cationes, y el ácido percolado -- efluente fue titulado con hidrato sódico usando fenolftaleína como indicador.

321226 2



Luego se añadió la cantidad teórica de arginina base (dos mols por mol de tetrahidrato disódico glucosa-1-fosfato) mientras se agitaba la solución.

El valor final del pH fue de 7,3 aproximadamente.

- 5.- La solución fue concentrada al vacío reduciéndola a 950-1000 cc calentándola al baño maría a 40° - 50°C, después de lo cual, ésta solución concentrada fue añadida lentamente, mientras se agitaba vigorosamente, a 5,5 volúmenes de alcohol metílico, de lo que resultó la formación directa de un precipitado blanco cristalino, que fue filtrado al vacío, o centrifugado en cesta perforada, y lavado dos veces después con una cantidad total de 500 cc de alcohol metílico.

El producto resultante, bajo la forma de un polvo blanco cristalino, fue desecado al vacío. Rendimiento: 500-550 g.

- 15.- Análisis: para  $C_{18}H_{41}O_{13}N_8P \cdot 4 H_2O$  - % P, teórico = 4,55, encontrado 4,50 -- %N, teórico 16,58, encontrado 16,20.

#### Tests farmacológicos

- 20.- Los tests farmacológicos efectuados con el producto, han mostrado su baja toxicidad y la desacostumbradamente buena tolerancia del mismo. En efecto, el LD<sub>50</sub> para ratas fue de -- 4,5 g/kg en la administración por inyección intravenosa, de 12 g/kg en la administración intraperitoneal y de más de 20 g/kg en administración por orificios.

- 25.- Mediante una perfusión lenta en conejos, se alcanzaron 8,5 g/kg antes de que se manifestarán efectos tóxicos.

- 30.- En cuanto a la toxicidad crónica, un tratamiento con dosis de 1 g/kg por vía peritoneal, y de 4 g/kg por orificios, durante un tiempo total de 20 días, fue tolerado en muy buena forma y no alteró el normal incremento de peso de los animales de experimentación (ratas).



321226

No se observaron alteraciones visibles en los exámenes autóptico e hidrológico realizados al final de los trabajos experimentales en los diferentes órganos examinados (hígado, riñones, corazón y pulmones).

5.- Igualmente los tests farmacológicos concernientes a la función cardíaca, respiración, presión sanguínea y órganos simples han atestiguado la perfecta tolerancia de la arginina glucosa-1-fosfato, ya que no se han observado cambios particularmente notables en la reactividad normal de las funciones antedichas bajo la acción de la droga.

10.- Las propiedades antitóxicas fueron probadas concluyentemente en ratas intoxicadas con una sal de amoniaco, sobre las que se observó el porcentaje de supervivencia y las variaciones del contenido de amoniaco en sangre.

15.- En los tests antes citados, la arginina glucosa-1-fosfato demostró poseer marcadas propiedades antitóxicas.

20.- La acción protectora de la arginina glucosa-1-fosfato en las intoxicaciones experimentales con amoniaco, es aproximadamente el doble de la ejercida por el hidrocloreuro de arginina.

TABLA 1

Número de animales	Tratamiento, m.moles/kg	Bicarbonato amónico m.mols/kg	Mortalidad %
25.-			
20	=	10,8	100
20	C-1-P de arginina (Arginil) 2 m.mol/kg	10,8	20
20	C-1-P de arginina (Arginil) 4 m.mol/kg	10,8	-
20	l-arginina 4 m.mols/kg	10,8	20
30.-			



321226

5.- En efecto, mientras se necesitan 4 m.mols/kg de arginina hidrocioruro para reducir la mortalidad al 20%, sólo 2 m.moles/kg de arginina glucosa-1-fosfato son suficientes para alcanzar el mismo porcentaje. No obstante, al administrar 4 m.mols/kg de arginina glucosa-1-fosfato, la relación de mortalidad se reduce a cero.

TABLA 2

Número de	tratamiento, m.mols por kg	Bicarbonato amónico m.mol/kg	Nitrógeno amoniacal m.mol/kg
10.-	=	=	.3
	20 Solución fisiológica	10,8	5,2
	20 G-1-P de arginina (Arginil) 2 mols/kg	10,8	2,12
15.-	20 G-1-P de arginina (Arginil) 4 mols/kg	10,8	1
	20 l-Arginina hidrocioruro, 4 mols/kg	10,8	2

20.- Mediante la administración de 4 m.mols/kg de hidrocioruro de arginina a animales previamente intoxicados con bicarbonato amónico, se obtiene una relación de nitrógeno amoniacal de 2, mientras que con las mismas dosis de arginina glucosa-1-fosfato, la relación de nitrógeno amoniacal desciende a 1.

25.- Esto corrobora la afirmación anterior, es decir, que la acción protectora ejercida por la arginina glucosa-1-fosfato es doble cuando se la compara con el hidrocioruro de arginina en la intoxicación experimental con amoniaco.

Experiencias clínicas

30.- La arginina glucosa-1-fosfato encuentra útiles aplicaciones en la terapia del coma hepático, en la terapia de manifestaciones neurotóxicas asociadas con insuficiencias hepá-

321226



ticas, en la terapia de hiperamonihemias y en la terapia de la cirrosis hepática ascitógena. Además, -lo que representa un - resultado asombrosamente imprevisto- la droga encuentra útil - aplicación en la hiperazoemia también, con la condición de que el riñón no se encuentre lesionado en forma irreversible.

Los resultados clínicos obtenidos con la nueva droga se han tabulado a continuación. Más precisamente, en la tabla 3, se han relacionado los resultados obtenidos con el uso de - la droga en la terapia hepática, mientras que en las 4 y 5 se anotan los obtenidos en la terapia renal.

TABLA 3

Diagnóstico	Número de casos.	Tratamiento con la droga de acuerdo con la invención.	Resultados
a) Coma Hepático	4	5 a 10 g/día; vía intravenosa	1) Recobra la consciencia 24-48 horas. 2) Mejoría de las condiciones generales.
b) Pre-coma	7	2 a 5 g/día; vía intravenosa	1) Desaparición de la sintomatología neurotóxica en 3 días. 2) Mejoría de las condiciones generales.
c) Ascitis	12	1-2 g por día, vía intravenosa, y 2-3 g por orificios	1) Mejoría de las condiciones generales. 2) Aumento de la diuresis.
d) Insuficiencia hepática	16	1 g al día por vía intravenosa. 1-2 g por orificios (jarabe)	1) Mejoría de las condiciones generales. 2) Mejoría en los tests de funcionamiento hepático. 3) Aumento de la diuresis.

TABLA 4 321226



Nombre. Diagnóstico			1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23
G.M.	Nefritis glomerular aguda	GIFA	-----											
		Azohemia	141%	60%	32%	16%		40%	45%	29%				
		Diuresis	L.300 0.350	300 550					270 280	500 180	500 500			
G.G. 2º	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	82%	49%	45%		17%							
		Diuresis	L.400 0.350	600 450			1100 1000							
C.V. 3º	Nefritis glomerular aguda y pelvi-diotómica	GIFA	-----											
		Azohemia	95%	42%	31%	35%	80%	45%					32%	
		Diuresis	L.650 0.350	700 800	800 780	650 200	800 800	550 620						
F.E. 4º	Nefritis glomerular aguda	GIFA	-----											
		Azohemia	15%	52%	15%	14%	17%	20%						
		Diuresis	L.400 0.180	700 210	1100 950	1000 800	550 600	150 680						
G.V. 5º	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	150%	128%	98%	75%	45%	32%	28%					
		Diuresis	L.350 0.180	450 280	600 450	650 550	680 750	750 900	650 640					
N.M. 6º	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	84%	56%	36%	28%	32%	19%						
		Diuresis	L.380 0.110	400 260	550 380	750 700	750 800	600 600						
M.V. 7º	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	120%	128%	92%	54%	38%	24%						
		Diuresis	L.300 0.200	500% 300	800 980	1200 1150	700 850							
S.F. 8º	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	98%	76%	48%	22%	36%	60%	56%	32%				
		Diuresis	L.300 0.150	400 200	350 650	500 600	600 640	580 510						
A.G. 9º	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	110%	98%	60%	48%	36%	32%	19%	22%				
		Diuresis	L.400 0.50	100 300	680 530	750 820	560 700	650 700						
T.E. 10º	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	78%	60%	56%	32%	36%	28%						
		Diuresis	L.250 0.200	580 300	690 500	800 950	750 700							

GIFA = Arginina glucosa-l-fosfato

L. = Líquidos introducidos

O. = Orina.

32122A



TABLA 5

Nombre.	Diagnóstico		1	3	5	7	9	11	13	15	17	19	21	23
G.G. 11ª	Nefritis glo- merular aguda y ectopatía renal derecha	GIFA	-----											
		Azohemia	66%	59%	46%	26%								
		Diuresis	L.540	700	580	450								
			0.300	800	600	500								
G.E. 12ª	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	150%	74%	45%	43%	34%	37%						
		Diuresis	L.540	700	580	450								
			0.350	900	700	1150	1000	620						
B.M. 13ª	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	190%	210%	180%	125%	98%	75%	38%	32%	28%			
		Diuresis	L.500	780	900	860	970	740	650	730	810			
			0.200	230	770	1150	1200	900	560	740	880			
G.N. 14ª	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	80%	74%	56%	32%	25%	28%						
		Diuresis	L.400	680	900	870	650	760						
			0.180	500	1160	1150	890	600						
L.S. 15ª	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	76%	48%	43%	36%	24%							
		Diuresis	L.450	670	800	970	800							
			0.360	700	1100	900	760							
O.P. 16ª	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	320%	300%	325%	256%	210%	160%	98%	76%	45%	38%	32%	35%
		Diuresis	L.450	700	870	900	580	600	800	870	590	730	650	800
			0.90	150	210	700	1570	1600	1200	900	870	680	700	750
E.T. 17ª	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	56%	48%	38%	42%	42%	60%	76%	56%	48%	38%	25%	
		Diuresis	L.500	600	730	680	800	670	680	810	600	720	700	
			0.230	450	600	550	460	500	460	980	1200	1000	970	
T.O. 18ª	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	62%	56%	55%	48%	32%	30%						
		Diuresis	L.500	600	620	600	670	760	570					
			0.200	230	400	930	500	820	800					
A.F. 19ª	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	98%	16%	56%	42%	25%	28%						
		Diuresis	L.450	600	520	840	900	670						
			0.250	400	450	450	900	860						
A.A. 20ª	id.	GIFA	-----											
		Azohemia	56%	48%	42%	45%	76%	72%	42%	38%	28%			
		Diuresis	L.400	600	520	700	670	890	900	750	780			
			0.230	500	450	605	300	900	100	1000	1100			

GIFA = Arginina glucosa-l-fosfato

L. = Líquidos introducidos

O. = Orina.

El campo de aplicación de la nueva droga, las dosis me-

321226



días y otras sugerencias útiles para la administración de la misma, se dan, en forma resumida en la tabla 6.

TABLA 6

Indicación	Posología Media	Observaciones
Condición de insuficiencia hepática	1-2 viales al día; inyección intravenosa o intramuscular.	Ciclos de 15-20 días. Como terapia auxiliar de mantenimiento y para niños, el contenido del vial puede administrarse por boca mezclado con una bebida.
Manifestaciones neurotóxicas por hiperamonihemia exógenas o en dóg <sup>enas</sup> .	2-5 viales al día; inyección intravenosa o intramuscular	
Pre-coma hepático.	2-5 viales al día; inyección intravenosa o por flebolisis de goteo.	
Coma hepático	5-10 viales al día; inyección intravenosa o flebolisis.	
Cirrosis hepática con ascitis.	1-2 viales al día en inyección intravenosa.	
Hiperazohemia renal por nefropatías, nefritis glomerular o nefrosis (a condición de que el riñón no esté lesionado en forma irreversible).	1-2 viales al día durante 20-30 días inyección intravenosa o intramuscular.	Ciclos de 15-20 días. Como terapia auxiliar de mantenimiento, y para niños, el contenido del vial puede ser administrado por boca mezclado con alguna bebida.
Hiperazohemia pre-renal y -funcional (postoporetario, por intoxicaciones etc.)	1-2 viales al día (inyección intravenosa) hasta la desaparición de la hiperazohemia.	Ciclos de 20-30 días. Como terapia de sostenimiento y para niños, el contenido del vial puede administrarse por boca mezclado con alguna bebida.
Como regenerador del tejido hepático.	1-2 viales al día; inyección intramuscular.	

321226



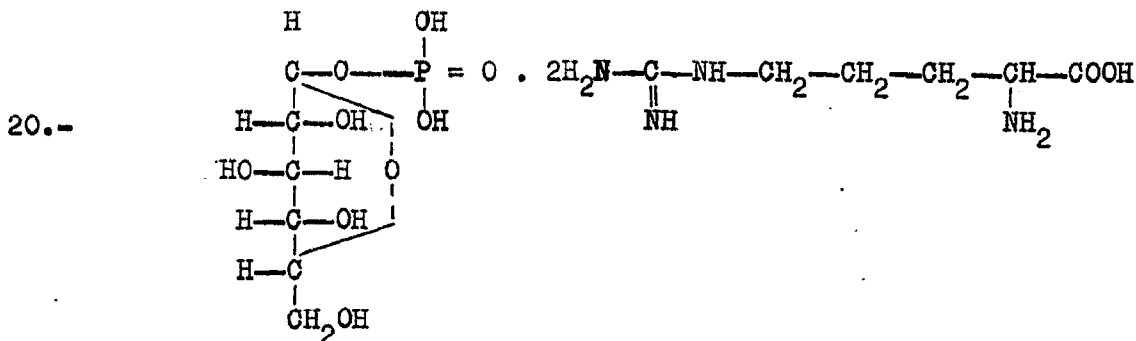
5.- El producto se administra en forma de solución acuosa (H<sub>2</sub>O bidestilada) en viales, o bajo forma de jarabe. Generalmente, el vial contiene 5 centímetros cúbicos de solución con un contenido de 1 gramos de principio activo, siendo el resto agua destilada. El jarabe contiene 5 g de principio activo.

N O T A

10.- La Patente de Introducción que se solicita para España, por diez años, de acuerdo con la vigente Legislación deberá reacer sobre: "METODO PARA LA OBTENCION DE UN COMPUESTO QUIMICO DE ACCION ANTITOXICA", citandose como fuente de procedencia: Publicación expedida por la Sociedad Solicitante y editada por G. Ghielmetti y A.F. Notarianni, inventores, despues de una conferencia Internacional en Milán del 12 a 14 de Octubre de 1962, según las características esenciales de las siguientes:

15.- R E I V I N D I C A C I O N E S

1ª.- Metodo para la obtención de un compuesto químico de acción antitóxica, que tiene como fórmula:



25.- caracterizado en que el ácido glucosa-1-fosfórico es obligado a reaccionar con arginina en la relación molar de 1:2.

2ª.- "METODO PARA LA OBTENCION DE UN COMPUESTO QUIMICO DE ACCION ANTITOXICA".

30.- Según queda sustancialmente descrito en la presente memoria descriptiva que consta de trece hojas escritas a má-



321226

quina por una sola cara.

Madrid, 28 DIC. 1965

SOCIETA PRODOTTI ANTIBIOTICI, S. p. A.

P.P.

FRANCISCO GARCIA CABRERIZO  
P. P.

Firmado: M.<sup>a</sup> Dolores Jorquera