



ORDRE N° 7B-463

346.044

346044

P A T E N T E
D E
I N V E N C I O N

por "UN METODO PARA AUMENTAR EL RENDIMIENTO DE ANTICUER-
POS EN LOS ANIMALES DE SANGRE CALIENTE" a favor de la
firma Société Anonyme LABORATOIRES J. BERTHIER, residen-
te en 22 a 26, rue Prosper M rim e, 38 GRENOBLE (Francia):

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

Este invento se refiere a un procedimiento para la preparación de sueros terapéuticos, basado en la formación de anticuerpos por animales en el curso de la inmunización contra diversos antígenos.

5. Las patentes norteamericanas N  3,301,754 y N  2.325.361 describen el uso del ácido dipropilacético y sus derivados como potenciadores de los depresores del



sistema nervioso central y como agentes anticonvulsivos, respectivamente, Asimismo, en la solicitud de patente norteamericana N^o Serie 587.413, depositada el 18 de Octubre de 1966, se describen derivados dipropilacéticos

5. de la colina, que se señalan como útiles para el tratamiento de los trastornos hepáticos. En el curso de trabajos farmacológicos y clínicos desarrollados a base de estas exposiciones previas de patente, se ha comprobado que los derivados del ácido dipropilacético tienen, además,
10. el efecto de aumentar la cantidad de globulina gamma serosa. En un esfuerzo para explicar esta propiedad, pero sin intención de quedar limitado por ella, se ha emitido la hipótesis de que estos derivados estimulan el sistema retículoendotelial formador de anticuerpos.

15. La mejora conforme a este invento consiste esencialmente en un tratamiento de los animales productores de anticuerpos efectuado por medio de compuestos derivados del ácido dipropilacético, con inclusión del más elemental de ellos, el propio ácido.

20. Para demostrarlo, se han efectuado una serie de ensayos en la producción de dosificaciones de los anticuerpos formados por animales (conejos) en el curso de la inmunización contra diversos antígenos, por tratamiento con diferentes compuestos de la serie y en comparación con animales testigos.
- 25.

La descripción de algunos de estos ensayos que siguen constituye una reducción a la práctica del inven-



to. Estos ensayos se presentan con el fin de ilustrar el invento más plenamente y no pretenden limitarlo en ningún sentido.

EJEMPLO 1.-

5. DETERMINACION DE LA CANTIDAD DE ANTICUERPOS FORMADOS POR LOS CONEJOS INMUNIZADOS CON ERITROCITOS DE CONEJILLO DE INDIAS Y TRATADOS CON DEPAMIDA (DI-n-PROPI-
IACETAMIDA)

10. El principio experimental consiste simplemente en inmunizar conejos con eritrocitos de conejillos de indias y, al cabo de tres semanas de inmunización, comparecer, a intervalos de ocho días, la cantidad de anticuerpos formados por los conejos inmunizados y tratados simultáneamente con depamida, así como la cantidad de anticuerpos formados por los animales inmunizados pero no tratados con depamida, pero que reciben la misma cantidad de aceite de oliva que sirve de disolvente para la depamida.

15. Los conejos, de la variedad "Fauve de Bourgogne", son machos de unos 2,5 kg. La depamida, disuelta en aceite de oliva neutralizado, se inyecta por el método intraperitoneal, en dosis de 200 mg/kg por día, durante 24 días.

Los anticuerpos se miden en el suero por el método que ha descrito Calmette.

25. La primera dosificación se efectúa a los 8 días de la última inyección del antígeno (Semana S1), y la

346044



segunda dosificación se efectua a la semana siguiente (Semana S2).

En las Tablas que siguen se indican las soluciones de suero más diluidas que todavía permiten obtener

5. una hemólisis completa de los eritrocitos antígenos:

TABLA I

PRIMERA PRUEBA

	SEMANA	CONEJOS TESTIGOS	CONEJOS TRATADOS
10.	S1	animal nº 1 1/850	animal nº 3 1/2000
		animal nº 2 1/1250	animal nº 4 1/2000
			animal nº 5 1/2500
			animal nº 6 1/5000
			animal nº 7 1/2050
15.	S2	animal nº 1 1/410	animal nº 3 1/850
		animal nº 2 1/250	animal nº 4 1/850
			animal nº 5 1/850
			animal nº 6 1/2500
			animal nº 7 1/625
20.			

346044



TABLA II

SEGUNDA PRUEBA

SEMANA	CONEJOS TESTIGOS	CONEJOS TRATADOS
5.	animal n ^o 1 1/700	animal n ^o 5 1/1700
	animal n ^o 2 1/620	animal n ^o 6 1/1700
S1	animal n ^o 3 1/500	animal n ^o 7 1/840
	animal n ^o 4 1/620	animal n ^o 8 1/1340
	Promedio 1/610	Promedio 1/1395
10.	animal n ^o 1 1/250	animal n ^o 5 1/625
	animal n ^o 2 1/250	animal n ^o 6 1/625
S2	animal n ^o 3 1/300	animal n ^o 7 1/300
	animal n ^o 4 1/250	animal n ^o 8 1/625
	Promedio 1/260	Promedio 1/540
15.		

Se obtienen resultados del mismo orden utilizando el antígeno de eritrocitos de oveja.

Los ejemplos que siguen ilustran la determinación de la cantidad de anticuerpos formada por los conejos inmunizados por el antígeno paratifoide A (antígeno somático, paratifoide A preparado por el Instituto Pasteur).

20. Se emplearon conejos "Fauve de Bourgogne" que pesaban 3 kg. + 250 g. La inmunización se efectuó al ritmo de dos inyecciones por semana, endovenosamente, con dosis crecientes de antígeno y por un período de dos sema-

25.



nas, como sigue: 1 cc. de la primera semana; 2 cc. de la segunda semana; y 3 cc. La tercera semana. En el curso de la inmunización los animales se trataron con diversos derivados de la serie del ácido n-dipropilacético,

5. como sigue:

EJEMPLO 2.-

DIPROPILACETATO SODICO.-

10. Se compone una solución acuosa de la sal sódica del ácido n-dipropilacético y se inicia la inyección desde la primera administración de antígeno. La duración del tratamiento es de tres semanas, al ritmo de una inyección de 200 mg/kg. cada dos días por el método intraperitoneal.

EJEMPLO 3.-

15. DIPROPILACETATO DE COLINA.-

Se administra con la misma posología que se ha indicado en el Ejemplo 2 una solución acuosa de dipropilacetato de colina.

20. EJEMPLO 4.-

DIPROPILACETILUREIDO.-

Se administra por el método bu cal, a la dosis de 200 mg/kg., una suspensión oleosa de dipropilacetiluréido



346044

que contiene 100 mg/cc. La administración se efectúa cada dos días durante tres semanas. La primera administración se realiza el mismo día que la primera inyección de antígeno.

5. EJEMPLO 5.-

DIPROPILACETAMIDA.-

Se administra por el método intraperitoneal, a la dosis de 200 mg/kg. una suspensión oleosa de dipropilacetamida que contiene 100 mg/cc. La duración y el ritmo son los mismos que para el Ejemplo 4.

La dosificación de la cantidad de anticuerpos se efectuó siguiendo la técnica serodiagnóstica de Widal. Se extrae sangre de la vena central de la oreja y se toman tres muestras de sangre; la primera semana después de la primera inyección de antígeno; la segunda semana después de la primera inyección de antígeno; y la tercera semana después de la primera inyección de antígeno.

Las Tablas que siguen reseñan los resultados obtenidos en los ejemplos 2, 3, 4 y 5.



TABLA III

PRIMERA SEMANA

	Dipropilace tato sódico (Ejemplo 2)	Dipropilace tilureido (Ejemplo 4)	Dipropilace tato de co- lina (Ejemplo 3)	Dipropilace tamida (Ejemplo 5)	Controles
5.	1/1600	1/1600	1/1600	1/1600	1/400
	1/3200	1/1600	1/1600	1/1600	1/800
	1/3200	1/1250	1/1600	1/1250	1/800
	1/1600	1/1600	1/1250	1/1600	1/800 1/300
					1/1250
10.					1/400
	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio
	1/2400	1/1370	1/1730	1/1530	1/756



346044

TABLA IV

SEGUNDA SEMANA

	Dipropilace tato sódico (Ejemplo 2)	Dipropilace tato sódico (Ejemplo 4)	Dipropulace tato de co- lina (Ejemplo 3)	Dipropilace tamida (Ejemplo 5)	Controles
5.	1/12800	1/12800	1/6400	1/12800	1/1600
	1/12800	1/6400	1/6400	1/12800	1/3200
	1/6400	1/6400	1/6400	1/6400	1/1600
	1/6400	1/6400	1/3200	1/6400	1/3200
		1/6400	1/3200		1/1600
10.					1/1600
					1/3200
					1/1600
	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio
15.	1/9600	1/7600	1/5000	1/9600	1/220



346044

TABLA V

TERCERA SEMANA

	Dipropilace- tato sódico (Ejemplo 2)	Diprolace- tilúredido (Ejemplo 4)	Dipropilace- tato de co- lina (Ejemplo 3)	Dipropilace- tamida (Ejemplo 3)	Controles
5.	1/15200	1/15200	1/12800	1/15200	1/4800
	1/15200	1/12800	1/7600	1/15200	1/7600
	1/12800	1/12800	1/12800	1/15200	1/2400
	1/12800	1/12800	1/7600	1/12800	1/4800
10.		1/12800	1/12800		1/2400
					1/4800
					1/3800
	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio
	1/14000	1/13200	1/10700	1/14600	1/4300
15.					

EJEMPLO 6.-

DETERMINACION DE LA CANTIDAD DE ANTICUERPOS FORMADOS POR LOS CONEJOS INMUNIZADOS POR MEDIO DEL ANTIGENO PARATIPOIDE A Y EL ANTIGENO PIAGELAR PARATIPOIDE H Y TRATADOS CON DIPROPILACETATO DE COLINA.

20. La técnica experimental es la misma que para el antígeno O, pero, como se sabe, los anticuerpos aparecen más despacio. Los resultados obtenidos figuran en la Tabla que sigue.

346044



TABLA VI

SEMANA	DIPROPILACETATO DE COLINA	CONTROLES
	0	0
	0	0
5.	PRIMERA	0
	1/400	1/100
	1/400	0
	1/6400	1/3200
	1/6400	1/3200
10.	SEGUNDA	1/3200
	1/6400	1/6400
	1/6400	1/3200
	1/25600	1/12850
	1/25600	1/12800
15.	TERCERA	1/7600
	1/15200	1/7600
	1/15200	1/4800
	PROMEDIO	1/9000

20. Esta actividad de los derivados del ácido dipropilacético, incluyendo el más elemental de ellos, el propio ácido, conduce, conforme a este invento, a su uso comercial para aumentar la producción de anticuerpos en el curso de la



346044

preparación de sueros terapéuticos.

En los ejemplos anteriores se han indicado ciertos derivados dipropilacetílicos. Es obvio que en lugar de la porción molecular dipropílica pueden emplearse otros subs-

5. tituyentes de dialquilo inferior correspondiente que contengan de 2 a 7 átomos de carbono, como dietilo, dibutilo, dipentilo y diheptilo.

10. Otras modalidades y modificaciones de este invento se sugerirán de por sí a los expertos en la materia, y todas aquellas que están abarcadas dentro del espíritu de este invento queden incluídas dentro de su alcance según se define de la mejor manera por medio de las reivindicaciones anexas.

346044



N O T A

Descrito el objeto del presente invento, se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones con prioridad de la demanda de patente francesa P.V. N° 80.003 del 14 de octubre de 1.966.

5. 1. Un método para la obtención de sueros terapéuticos enriquecidos en anticuerpos provenientes de animales de sangre caliente, caracterizado por el hecho de que un compuesto elegido en el grupo constituido por los derivados dialquílicos del ácido acético y sus derivados ácidos en
10. proporción adecuada para aumentar la cantidad de globulina gamma serosa mediante estímulo del sistema reticuloendotelial formador de anticuerpos se mezcla con un antígeno y con dicha mezcla se trata a animales de sangre caliente productores de anticuerpos, administrándoles dosis progresivas y
15. una vez finalizado el tratamiento se procede a la extracción del suero del animal como suero terapéutico enriquecido en anticuerpos.
20. 2. Un método, según la reivindicación 1, caracterizado en que dicho compuesto es un derivado ácido del ácido dialquilacético.
3. Un método, según la reivindicación 1, caracterizado en que dicho compuesto es un derivado ácido del ácido



346044

dipropilacético.

4.- Un método, según la reivindicación 1, caracterizado en que dicho compuesto es la dipropilacetamida.

5. 5. Un método, según la reivindicación 1, caracterizado en que dicho compuesto es el dipropilacetato sódico.

6.- Un método según la reivindicación 1, caracterizado en que dicho compuesto es el dipropilacetiluréido.

10. 7.- Un método, según la reivindicación 1, caracterizado en que dicho compuesto es el dipropilacetato de colina.

8. Un método, según la reivindicación 1, caracterizado en que dicho compuesto es el ácido dipropilacético.

15. 9. Un método, según la reivindicación 1, caracterizado en que dicho compuesto se administra en más de una sola dosis.

10. Un método, según la reivindicación 9, caracterizado en que el citado antígeno se administra en cantidades cada vez más grandes.

20. 11. Un método para la obtención de sueros terapéuticos enriquecidos en anticuerpos provistos de animales de sangre caliente.

12. Un método para aumentar el rendimiento de anticuerpos en los animales de sangre caliente.

25. Según se describe y reivindica en la presenta memoria descriptiva que consta de 15 páginas foliadas y es-

- 15 -

346044



critas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, a 13 de octubre de 1967.

p.a.

JAME ISERN

P. D.

Firmado: JOSE RODRIGUEZ