



Núm. 349.536

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de una

PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: ENZOMEDIC LABORATORIES, INC.

RESIDENCIA: 126 S.W. 157th Street - Seattle,

WASHINGTON, Estados Unidos

ENUNCIADO: "UN METODO DE PREPARACION DE NUEVAS SA
LES INORGANICAS NEUTRAS DE DIFOSFOPIRI
DINA NUCLEOTIDO"

Prioridad: Patente estadounidense n.º 619.935 del 2-3-1.967

gc.-



1

Este invento se refiere a nuevas sales inorgánicas neutras de difosfopiridina nucleótido (denominado de aquí en adelante DPN) y a los métodos para su preparación. Más particularmente, el invento comprende las sales de DPN sólidas, estables y terapéuticamente útiles que se adaptan de forma única a la preparación de soluciones isotónicas adecuadas para inyección.

5

El DPN es un coenzima que ha sido conocido durante muchos años. Puede ser aislado fácilmente de la levadura de pan fresca en forma de un polvo blanco muy higroscópico y se encuentra en el comercio. Solamente en los últimos años, se ha encontrado que el DPN es terapéuticamente útil. En la patente estadounidense nº 3.158.540 de O'Hollaren, de 24 de Noviembre de 1964, se emplea el DPN en el tratamiento de los adictos a las drogas y en la patente estadounidense número 3.266.989 de O'Hollaren, de 16 de Agosto de 1966, se emplea la misma droga para tratar el alcoholismo.

10

15

20

25

30

Como consecuencia del descubrimiento de que el DPN era terapéuticamente útil, se hizo necesario encontrar el modo de administrarlo en una forma que fuera fisiológicamente aceptable. Como una solución acuosa al 10 % tiene un pH de 2, resulta demasiado ácida para ser tolerada por el organismo cuando se administra por vía intramuscular o intravenosa. Se ha hallado que cuando se emplea como agente de neutralización una solución acuosa de fosfato disódico, la solución neutra resultante de DPN es extremadamente hipertónica y produce un dolor indebido en el punto de la inyección. Cuando se emplea solución acuosa de bicarbonato sódico para neutralizar la acidez del DPN, se produce un desprendimiento excesivo de dióxido de carbono que crea una presión en la



1 jeringa al sacar la solución del vial. Además, se requieren
viales independientes para almacenar el DPN sólido y la so-
lución neutralizadora. Esto no solamente es caro sino tam-
bién inadecuado debido a la cristalización, la alcalinidad
5 y la presión creadas por las propias soluciones neutralizan-
tes.

Un objeto del presente invento es superar las deficien-
cias inherentes a los métodos comúnmente empleados para neu-
tralizar el DPN para uso terapéutico. Otro objeto es propor-
10 cionar sales inorgánicas neutras de DPN que son estables
cuando se almacenan durante periodos de tiempo prolongados
y que producen soluciones neutras isotónicas de DPN cuando
se mezclan simplemente con agua destilada. Un tercer obje-
to es proporcionar métodos de preparación de estas nuevas
15 sales de DPN, sólidas, estables y solubles en agua y su uso
en la preparación de soluciones de DPN inyectables y fisio-
lógicamente aceptables. Otros objetos se pondrán en eviden-
cia en la siguiente descripción detallada.

El presente invento incluye dentro de sus límites las
20 sales sólidas y terapéuticamente útiles de DPN con sodio,
potasio, calcio, amonio, cinc, magnesio y manganeso, que
hasta ahora no han sido descritas en la bibliografía quími-
ca. Estas sales pueden ser aisladas en forma de sólidos
blancos, estables y que fluyen libremente, desprovistos de
25 impurezas, siguiendo el procedimiento descrito a continua-
ción.

En esencia, el procedimiento para formar estas sales
neutras consiste en hacer reaccionar una solución acuosa de
DPN con una solución o suspensión acuosa de un compuesto bá-
30 sico tal como los óxidos, hidróxidos, carbonatos o fosfatos



1969

1 de sodio, potasio, calcio, amonio, cinc, magnesio o manganeso, a la temperatura ambiente o más baja, con agitación
5 constante y midiendo el pH hasta que se alcanza el valor de 7,0. La solución de sal básica se agrega generalmente sobre la solución del DPN, pero en el caso de los óxidos que son
10 menos solubles en agua, es conveniente invertir el orden de la adición. Una vez que se ha conseguido la neutralidad, se añaden lentamente cinco o más volúmenes de un disolvente orgánico hidrofílico tal como metanol, etanol o acetona, enfriado a 0°C o menos, con agitación constante, sobre la
15 solución acuosa de sal para precipitar la sal de DPN resultante que se recoge y se lava con más disolvente hasta que se obtiene un producto cristalino blanco. Si la solución de sal se evapora completamente después de la neutralización, se obtiene una sustancia amarillenta y pegajosa de composición indefinida y no reproducido.

20 Si se desea, la solución acuosa de sal puede concentrarse por evaporación hasta aproximadamente el 10 % de su volumen y después se liofiliza para obtener el mismo producto sólido que fluye libremente deseado. En ambos métodos de operación, finalmente el producto se seca sobre una sustancia de secante y a vacío. Cuando antes de la inyección se reconstituyen 1,5 milimoles de cualquiera de las sales sólidas de DPN así obtenidas con 10 ml de agua estéril, se
25 obtiene una solución isotónica que es fisiológicamente aceptable sin más ajustes del pH.

30 Los siguientes ejemplos ilustran el invento pero no deben considerarse como una limitación del mismo.



1

EJEMPLO 1

Sal sódica de DPN

5

10

15

20

Se disuelven 10 g de DPN en forma de ácido libre en 85 ml de agua destilada,, a la temperatura ambiente. Esta solución se neutraliza hasta pH 7 con 15,2 ml de una solución 1 N de hidróxido sódico, agitando constantemente. A continuación se agregan lentamente, con agitación, 5 volúmenes de acetona enfriada a -10°C y la mezcla resultante se centrifuga a 2000 r.p.m. durante 15 minutos. El líquido que sobrenada se decanta y el producto viscoso y amarillo se disuelve en agua, se pasa a un matraz de litro y se congela formando una capa delgada sobre las paredes del matraz, por enfriamiento en un baño de acetona y hielo seco. El sólido así formado se liofiliza para formar un polvo blanco fino y el contenido en DPN se determina enzimáticamente con deshidrogenasa alcohólica, medido por el aumento de absorción a 340 milimicras. Se encontró que la absorbancia molar de la sal sódica de DPN enzimáticamente reducida era de 4800 frente a 4400 para el ácido libre reducido. Además, se encontró que el DPN en forma de ácido libre se licúa a 155°C , mientras que la sal sódica sólida comienza a volverse líquida a 180°C . La presencia de sodio en la sal es confirmada por el procedimiento U.S.P.

25

EJEMPLO 2

Sal magnésica de DPN

30

Una mezcla de 1,2 g de DPN y 40,3 mg de óxido magnésico en 12 ml de agua destilada se agita intensamente durante 3 horas, al cabo de las cuales el óxido magnésico en suspen- sión se ha disuelto y el pH de la solución se ha estabilizado en 7,0. Entonces se agregan 5 volúmenes de acetona

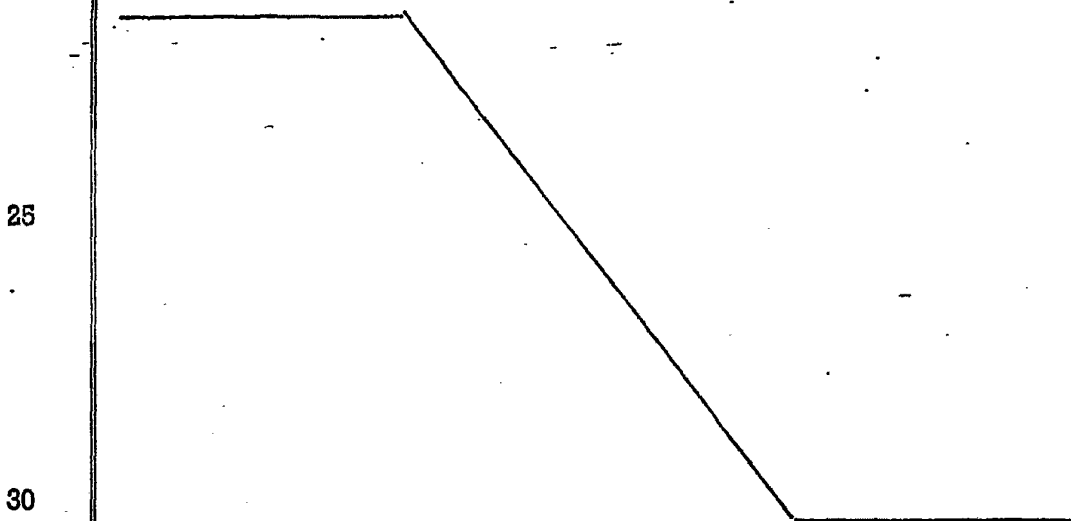


1 fría y la mezcla se trata de forma idéntica a la descrita
en el Ejemplo 1. El producto blanco obtenido, después de re-
ducción con deshidrogenasa alcohólica, tiene una absorban-
5 cía molar de 5000 a 340 milimicras frente a 4900 para el
DPN empleado como material de partida. Además, la sal mag-
nésica de DPN no licúa a 300°C, mientras que el propio DPN
se licúa a 155°C. La presencia de magnesio en la sal es
confirmada por el procedimiento U.S.P.

10 De forma similar a la descrita en los ejemplos ante-
riores, se puede hacer reaccionar DPN con fosfato potásico,
carbonato cálcico, hidróxido amónico, óxido de cinc o car-
bonato de manganeso para obtener las mismas sales de DPN
sólidas, estables, neutras y terapéuticamente útiles con
potasio, calcio, amonio, cinc y manganeso, respectivamente.

15 Cuando cualquiera de estas sales se disuelve en agua
destilada a la concentración adecuada, se obtiene una solu-
ción isotónica fisiológicamente aceptable de DPN, adecuada
para inyección.

20 En resumen, la Patente de Invención que se solicita
recaerá sobre las siguientes:





- REIVINDICACIONES -

1
5
10
15
20

1.- Un método de preparación de nuevas sales -- inorgánicas neutras de difosfopiridina nucleótido y particularmente, de una sal sólida, estable, neutra y terapéu- camente útil, que consiste en hacer reaccionar difosfopiri- dina nucleótido con una sal básica seleccionada entre el -- grupo formado por los óxidos, hidróxidos, carbonatos y fos- fatos de sodio, potasio, calcio, amonio, cinc, magnesio y manganeso, en un medio de reacción acuoso, ajustar el pH a 7, diluir el medio de reacción mediante la adición de un - disolvente orgánico hidrofílico seleccionado entre el gru- po formado por metanol, etanol y acetona, separar la sal - sólida de difosfopiridina nucleótido del medio de reacción y secar dicha sal separada hasta peso aproximadamente -- constante.

25

2.- Un método según la reivindicación 1, para la preparación de una sal sódica neutra de difosfopiridina nucleótido, sólido, estable y terapéuticamente útil, que - consiste en hacer reaccionar difosfopiridina nucleótido -- con hidróxido sódico en un medio de reacción acuoso y a la temperatura ambiente, ajustar el pH a 7, diluir el medio - de reacción con acetona, separar la sal sódica sólida de - difosfopiridina nucleótido del medio de reacción y secar - dicha sal sódica hasta peso aproximadamente constante.

30

3.- Un método según las reivindicaciones 1 ó 2, para la preparación de una sal magnésica neutra de difosfo- piridina nucleótido, sólido, estable y terapéuticamente -- útil, que consiste en hacer reaccionar difosfopiridina nu- cleótido con óxido magnésico a la temperatura ambiente, -- ajustar el pH a 7, diluir el medio de reacción con acetona,



1 separar la sal magnésica sólida de difosfopiridina nucleó-
tido del medio de reacción y secar dicha sal magnésica --
hasta peso aproximadamente constante.

5 4.- Se reivindica por último, como objeto sobre
el que ha de recaer la Patente de Invención que se solici-
ta: "UN METODO DE PREPARACION DE NUEVAS SALES INORGANICAS
NEUTRAS DE DIFOSFOPIRIDINA NUCLEOTIDO".

10 Todo conforme queda descrito y reivindicado en
la presente memoria, que consta de ocho páginas mecanogra-
fiadas.

Madrid, 19 de enero de 1.968

BERNARDO UNGRIA

P.P.

15

20

25

30