

P.- 38.345

-----  
22278/67 AJA

353795

**Memoria descriptiva**

26 Jun 1968



para solicitar PATENTE DE INVENCION EN ESPAÑA por 20 años

a nombre de FISONS PHARMACEUTICALS LIMITED

entidad / de nacionalidad británica

con domicilio en 12 Derby Road, Loughborough, Leicestershire,  
Inglaterra

por: "UN PROCEDIMIENTO PARA PRODUCIR UNA SAL DE UN DERIVADO  
DEL DEXTRAN" (Clase Internacional C08b C131)

=====

22.6.68.

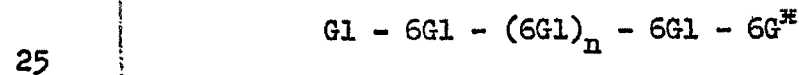


La presente invención, se refiere a un nuevo hidrato de carbono, su fabricación y su uso.

Es conocido que los complejos de hidrato de carbono-hidróxido férrico, pueden emplearse en el tratamiento de las anemias ferropénicas. Así, por ejemplo, se ha encontrado que un complejo dextrán-hidróxido férrico, en solución acuosa, está especialmente indicado en el tratamiento de dichas anemias ferropénicas, administrado tanto por vía intramuscular, como por vía intravenosa.

Se ha descubierto que un dextrán modificado, nuevo, o derivado del dextrán, es particularmente adecuado para la fabricación de complejos que contienen hidróxido férrico.

El dextrán es un polímero de la glucosa en que las unidades de glucosa anhidra están enlazadas, predominantemente, por las posiciones 1:6. Estas cadenas, constituidas por unidades de glucosa anhidra, pueden soportar un número reducido de ramificaciones laterales de unidades de glucosa anhidra, enlazadas con la cadena principal por las posiciones 1:4 ó 1:3. Por tanto, el dextrán lineal (es decir, el dextrán en que la totalidad de las unidades de glucosa anhidra están enlazadas por las posiciones 1:6), puede representarse por la fórmula:

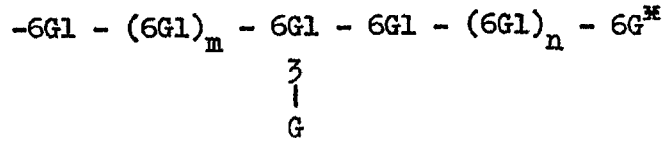


en la que G representa una unidad de glucosa anhidra y G<sup>#</sup> la unidad terminal de glucosa anhidra, reductora.

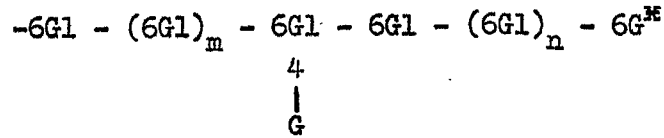
Si el dextrán no es lineal, es decir, contiene cierta proporción de ramificaciones enlazadas por las posiciones 1:4 ó 1:3, estas ramificaciones están unidas a la



cadena principal como se indica a continuación:



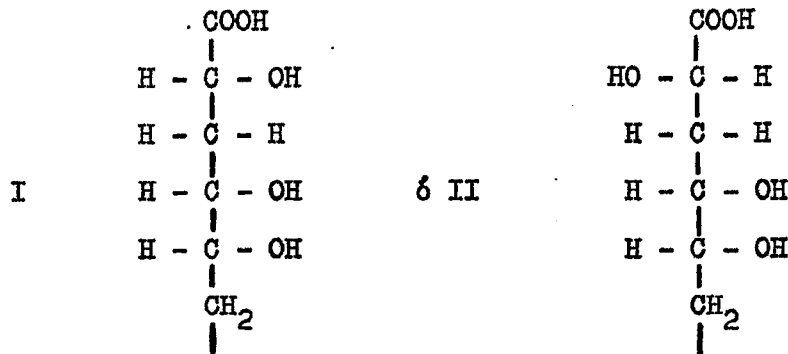
5



Se ha descubierto ahora, que el dextrán puede modificarse por tratamiento con un álcali, obteniéndose un nuevo derivado del dextrán. En los nuevos dextranos de la presente Invención, las cadenas del polímero tienen, por lo menos, una unidad terminal, cuya estructura es:

10

15



20

De conformidad con esto, la presente Invención, proporciona un derivado del dextrán en el que las cadenas del polímero tienen, por lo menos, una unidad terminal de la fórmula estructural I o II, indicada.

25

La Invención proporciona también, sales de tales derivados del dextrán y complejos de los derivados o sus sales. Se observará, que los derivados de la Invención, se lactonizan fácilmente y, por consiguiente, la Invención incluye lactonas de dichos derivados de la invención y complejos preparados a partir de dichas lactonas.

30  
22.6.68.



Puede determinarse fácilmente, si un derivado del dextrán, posee la estructura indicada anteriormente. Esto se realiza descomponiendo la molécula en sus unidades constituyentes, mediante hidrólisis ácida, y determinando la naturaleza de tales unidades. Por ejemplo, la sustancia hidrolizada puede pasarse a través de una resina de cambio aniónico que retiene las fracciones ácidas presentes, recuperándose el material retenido y, comparando su punto de fusión con el de una muestra conocida de ácido meta sacarínico o de su lactona, puede confirmarse si en efecto, tiene la estructura arriba indicada. La identidad de la unidad terminal puede también confirmarse por técnicas cromatográficas. Un ensayo de rutina, típico, para la determinación de una estructura tal, es el siguiente: La muestra se hidroliza, primeramente, con ácido sulfúrico diluido y la mezcla de reacción se neutraliza con carbonato de bario. El sulfato de bario precipitado se filtra y el filtrado se pasa a través de una resina de cambio aniónico, por ejemplo, una columna de Dietilamino etil-celulosa (DEAE). La columna se eluye entonces con ácido acético, se concentra el eluato y se recoge la sustancia disuelta. La sustancia puede identificarse entonces, como ácido metasacarínico o su lactona, mediante determinación convencional del punto de fusión o por técnicas cromatográficas.

Los nuevos derivados del dextrán, de la Invención, pueden prepararse a partir del propio dextrán, especialmente partiendo de un dextrán de peso molecular bajo, parcialmente despolimerizado, por tratamiento del mismo con un álcali, como, por ejemplo, un hidróxido o carbonato

30  
22.6.68.



de un metal alcalino, o de amonio, preferiblemente hidróxido sódico.

5 Como se ha indicado anteriormente, es preferible usar, como producto de partida, dextrán de bajo peso molecular. En tal caso, el dextrán tiene, convenientemente, un peso molecular medio comprendido entre 500 y 50,000, preferiblemente entre 1.000 y 10.000. El dextrán de bajo peso molecular, puede prepararse partiendo del dextrán natural, (obtenido por fermentación controlada de la sacaro-  
10 sa con Leuconostoc mesenteroides) por hidrólisis de dicho dextrán natural y fraccionamiento del producto hidrolizado.

El tratamiento del dextrán con el álcali puede efectuarse a elevada temperatura, por ejemplo, a temperatura comprendida entre 40 y 80°C. En un método preferente,  
15 el tratamiento se realiza calentando una solución alcalina del dextrán, que tenga un pH de 8 o más y añadiendo álcali adicional durante el calentamiento hasta que, prácticamente, la solución no admite más álcali.

20 El derivado del dextrán puede separarse de la mezcla de reacción, mediante técnicas de precipitación con disolvente, por ejemplo.

Entre los disolventes adecuados para la precipitación, se incluyen los alcoholes inferiores, como el me-  
25 tanol, etanol o iso-propanol y cetonas, como la acetona o la metil etil cetona. Alternativamente, la mezcla de reacción puede someterse a diálisis contra agua corriente, para eliminar sustancias inorgánicas y de bajo peso molecular del derivado del dextrán, que puede entonces precipitarse como anteriormente, si es necesario. Se prefiere,  
30

22.6.68.



por lo general, neutralizar el exceso de álcali con un ácido, antes de separar el derivado del dextrán de la mezcla de reacción.

5 Si se desea un producto más puro, puede repetirse uno o más de los métodos indicados con anterioridad. De otra forma, las sustancias polímeras que no tienen carácter ácido, pueden eliminarse pasando una solución del derivado del dextrán por una columna de una resina de cambio aniónico que retiene el producto deseado y deja pasar, 10 a su través, las sustancias neutras. El deseado dextrán, purificado, puede recuperarse de la columna eluyéndole con una solución salina, por ejemplo, acetato potásico.

El producto, obtenido por el procedimiento descrito anteriormente, contiene, por lo general, una sal del 15 nuevo derivado del dextrán, de la Invención. El derivado libre, puede obtenerse por acidificación de esta sal. Cuando se desean otras sales diferentes, pueden prepararse neutralizando el derivado del dextrán, libre, con la adecuada base; por ejemplo, un hidróxido o carbonato de un metal al 20 calino, alcalino-térreo o de amonio.

Como se ha indicado anteriormente, los derivados del dextrán, de la Invención y sus sales, forman complejos con una diversidad de metales. Sin embargo, los derivados y sus sales, especialmente los preparados a partir de dextráneos de bajo peso molecular, encuentran un 25 empleo especial en la preparación de complejos con hidróxido férrico. Por tanto, la Invención proporciona también complejos de hidróxido férrico con los derivados del dextrán de la misma o con sales de tales derivados.

30  
22.6.68.

Los complejos de la Invención pueden preparar-



26

se por reacción del derivado del dextrán o una de sus sales, con hidróxido férrico, preferiblemente coloidal, que puede haber sido formado total o parcialmente "in situ" en presencia de dicho derivado del dextrán. Alternativamente, puede haberse formado previamente con hidróxido férrico dializado. El hidróxido férrico coloidal se prepara, generalmente, mediante una reacción de doble descomposición entre una sal férrica y un álcali. Sales férricas adecuadas son el cloruro férrico, el nitrato férrico, el perclorato férrico, el tricloroacetato férrico, el acetato férrico amónico, el citrato férrico, el citrato férrico amónico y las oxisales férricas. Entre los álcalis adecuados se incluyen el hidróxido sódico, el carbonato sódico, el hidróxido potásico, el carbonato potásico, el hidróxido amónico, el carbonato amónico, etc.

En un proceso preferente, para la obtención del complejo del derivado del dextrán con el hidróxido férrico, el hidróxido férrico coloidal se forma parcialmente, con anterioridad, mediante la neutralización parcial, lenta, de una sal férrica con álcali, antes de que tenga lugar la reacción con el derivado del dextrán, terminando la neutralización en presencia de este derivado.

Cuando se prepara el complejo formando el hidróxido férrico "in situ" parcial o totalmente, en presencia del derivado del dextrán, la solución acuosa resultante del complejo, contiene también una sal, constituida por el anión de la sal férrica y el catión del álcali. El complejo puede librarse de sus impurezas sometiendo la solución a diálisis contra agua corriente, o precipitando el complejo, añadiendo una sustancia adecuada miscible con

25 JUN.



5 agua, que no le disuelva, como, por ejemplo, el alcohol metílico o el alcohol etílico, y volviendo a disolver, a continuación, el complejo en agua destilada. Se apreciará que esta fase de purificación es semejante a aquella en que el derivado del dextrán se recupera de la mezcla de reacción en la que se formó. Por consiguiente, no es necesario recoger dicho derivado del dextrán de su mezcla de reacción, sino que se usa dicha mezcla como sustancia de partida para preparar los complejos con tal derivado de dextrán.

10 Como se ha indicado con anterioridad, los complejos dextrán-hidróxido de hierro de la Invención, encuentran una aplicación especial en el tratamiento de las anemias ferropénicas. Por tanto, la Invención proporciona también, una composición farmacéutica que contiene uno de los complejos de la Invención.

15 Cuando los derivados del dextrán, de la Invención, se usan para preparar complejos hierro-dextrán, para administración parenteral, la solución de los complejos puede necesitar un pequeño tratamiento adicional, con objeto de hacerle más adecuado para tal uso. Así pues, puede ser necesario añadir cantidades adecuadas de productos tales como la glucosa o el cloruro de sodio para hacer prácticamente isotónica dicha solución. Puede, también, ser necesario ajustar el pH de dichas soluciones del complejo hierro-dextrán, con un ácido o álcali, con objeto de asegurarse de que dicho pH está comprendido entre 5,5 y 8,5, preferiblemente entre 5,5 y 7,0 y someter la solución a un calentamiento adicional a temperatura elevada, por ejemplo, entre 50 y 130°C, preferiblemente entre 90 y 120°C.

22.6.68.



Tal calentamiento adicional del producto, puede tener lugar, convenientemente, en autoclave.

5 Con complejos de hierro, preparados a partir de los derivados del dextrán, de la Invención, se ha encontrado que es posible obtener soluciones estables, concentradas. Desde el punto de vista, de la toxicidad, puede conseguirse una  $DL_{50}$  media en ratón, por vía intravenosa, superior a los 2000 mg/Kg. Tales complejos no se alteran por almacenamiento o por esterilización en autoclave, (que es el método normal para esterilizar un producto de este tipo), aunque naturalmente, tales productos pueden esterilizarse por otros métodos, como filtración, por ejemplo.

10 Con objeto de que la Invención pueda comprenderse bien, se incluye el siguiente ejemplo, a guisa de ilustración solamente, en el cual todas las partes son en peso y N y M indican, respectivamente, la normalidad o la molaridad de las soluciones.

EJEMPLO

20 Se disolvieron en agua 300 partes de dextrán de bajo peso molecular (peso molecular medio de 5.000), obteniéndose una solución de dicho producto al 22,2% p/v. Se añadió solución de hidróxido sódico 10 N para hacer la solución 1N respecto al álcali, y se calentó la mezcla a 60°C. Se añadió, hidróxido sódico 10 N adicional para conservar la solución 1N y se mantuvo la temperatura a 60°C, hasta que no admitió más hidróxido sódico.

25 La mezcla de la degradación alcalina se dializó contra agua corriente durante 16 horas, después de cuyo período el pH de la solución había descendido a 8, aproximadamente. El dextrán, tratado con álcali, crudo, se pre



precipitó entonces de la solución añadiendo etanol.

5 Se disolvieron 200 partes del dextrán precipitado en 700 volúmenes de agua y la solución se pasó por una columna (50x10 cm) de DEAE-celulosa preparada en forma acetato, por sucesivos lavados con acetato potásico 0,5 M y agua. La columna se lavó entonces, lentamente, con agua hasta que el eluato se encontró libre de hidrato de carbono, lo que se determinó midiendo la rotación óptica de dicho eluato. Se encontró que el producto obtenido, mediante el lavado con agua, era dextrán sin cambiar.

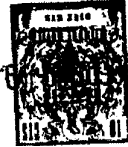
10 La columna se eluyó entonces con acetato potásico 10 M hasta que el hidrato de carbono se eluyó completamente. El derivado del dextrán (en forma de sal potásica) se recuperó del eluato precipitándole con etanol acuoso, encontrándose que representaba el 80%, aproximadamente, del dextrán original, degradado por el tratamiento con álcali.

15 Este producto se empleó a continuación, para preparar un complejo hierro-dextrán de la siguiente manera:

20 Se añadió lentamente, a una solución de cloruro férrico (50,4 partes) en agua (159 Vols.), con agitación constante y en el transcurso de unas 3 horas, solución de carbonato sódico (120 vols. de una solución al 30% p/v). Se mantuvo la temperatura de la mezcla a 30°C durante todo el tiempo.

25 El pH de la solución al final de la adición era 1,55. Se añadió entonces una solución acuosa del derivado del dextrán (104 vols. de solución al 20,5% p/v, preparada como se describió anteriormente) de forma similar,

30  
22.6.68.



aproximadamente en 1,5 horas. A continuación se añadió solución de carbonato sódico (75 vols. de solución al 16%) con objeto de llevar el pH de la solución final a 4,3.

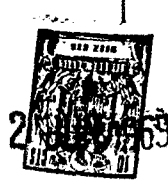
5 El hierro-dextrán se precipitó por adición de etanol (1000 vols.) y el precipitado se recogió por centrifugación. Después de lavar tres veces con etanol del 60%, se disolvió el precipitado en agua destilada (500 vols.) y se ajustó el pH a 6,0, añadiendo solución de hidróxido sódico (12 vols. de solución al 10%). La solución se calentó a 90°C durante 2 horas, manteniendo el pH a 5,9 - 6,0, por adición de sucesivas cantidades de álcali.

10 La solución se concentró a 100 vols., en vacío, a 45°C, se filtró y calentó en autoclave durante 30 minutos.

15 El producto tenía un pH de 6,1. El contenido en hierro era del 15,4% y el contenido en sólidos totales del 46,2%. La DL<sub>50</sub> ratón no era inferior a 2.500 mg.Fe/Kg.

20 Cuando el producto se inyectó, por vía intramuscular, en la pata posterior de un conejo a la dosis de 40 mgs. de Fe/Kg, menos del 20% del hierro permaneció en el lugar de la inyección, después de 7 días.

25 La presente solicitud que corresponde a la presentada en Gran Bretaña, el 13 de Mayo de 1967, bajo el número 22.278/67, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.



REIVINDICACIONES

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

5

1.- Un procedimiento para producir una sal de un derivado del dextrán, que comprende el tratamiento del dextrán con un álcali.

10

2.- Un procedimiento, según se reivindica en la reivindicación 1, en que el tratamiento se realiza a temperatura elevada.

15

3.- Un procedimiento, según se reivindica en la reivindicación 2, en que la temperatura está comprendida entre 40 y 80°C.

20

4.- Un procedimiento, según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en que se realiza el tratamiento calentando una solución alcalina del dextrán, que tiene un pH de 8, por lo menos.

25

5.- Un procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en que se continúa la adición de álcali al dextrán, hasta que, prácticamente, no admite más álcali.

30

6.- Un procedimiento, según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en que el derivado deseado se separa subsiguientemente de la mezcla de reacción.

7.- Un procedimiento, conforme a la reivindicación 5, en que la separación se consigue mediante técnicas de precipitación con disolventes.



8.- Un procedimiento, conforme a la reivindicación 6, en que el derivado del dextrán, sal o lactona del mismo, se purifica, además, pasando una solución del mismo a través de una resina de cambio aniónico.

5 9.- Un procedimiento, conforme a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en que el derivado o la lactona del mismo se obtiene a partir de la sal del derivado.

10 10.- Un procedimiento para producir un complejo, dextrán-hidróxido férrico, que comprende la reacción de un derivado del dextrán o una lactona o sal del mismo, con hidróxido férrico coloidal a una temperatura elevada.

15 11.- Un procedimiento, según la reivindicación 10, en que una parte, al menos, del hidróxido férrico coloidal se ha obtenido previamente por la neutralización parcial, lenta, de una solución de una sal férrica con un álcali, y la neutralización se completa en presencia del derivado del dextrán.

12.- Un procedimiento, conforme a la reivindicación 10, en que el hidróxido férrico se obtiene "in situ".

20 13.- Un procedimiento, según la reivindicación 10, en que la reacción se realiza a una temperatura comprendida entre 50 y 130°C.

14.- Un procedimiento para producir una sal de un derivado del dextrán.

25 Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y para los fines que se han especificado.

30

2 JUN



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

Madrid,

2 JUN 1969

P.A.

*[Handwritten signature]*  
Ministerio de Hacienda  
Madrid

30.5.69 LJM.