

404748

Int. Cl.ª: A61K



SECCION TECNICA
CLASIFICACION I. P. C.
CLASE _____
SUBCLASE _____

404748

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de una

PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: BEECHAM GROUP LIMITED

RESIDENCIA: Beecham House, Great West Road,
BRENTFORD, MIDDLESEX, Inglaterra

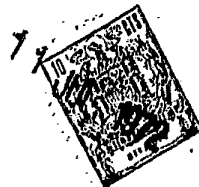
ENUNCIADO: UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION
DE MICROPARTICULAS FINAMENTE DIVIDI
DAS DE TIROSINA.

Prioridad: Patente británica n.º 32780/71 del 13.7.71.

MGS. -

**POOR
QUALITY**

404748



1 Esta invención se refiere a un procedimiento para la
preparación de micropartículas finamente divididas de tiro-
sina con alérgeno dispersado en ellas. Las micropartículas
preparadas de acuerdo con la invención pueden estar suspen-
5 didas en un vehículo líquido fisiológicamente aceptable pa-
ra producir una composición inyectable, adecuada para uso
en la desensibilización de individuos que son sensibles al
alérgeno.

10 En la memoria de la patente inglesa nº 1.155.036, se
describe y reivindica una inyección de composición terapéu-
tica que comprende micropartículas sólidas finamente divi-
didas de una sustancia metabolizable con una droga activa
incorporada físicamente a la estructura de dichas micropar-
tículas, estando suspendidas las citadas micropartículas en
15 un vehículo líquido fisiológicamente aceptable o no tóxico.
El procedimiento descrito en dicha memoria consiste en di-
solver la sustancia metabolizable en agua caliente o solu-
ciones salinas neutras calientes, añadir la droga activa y
aislar el precipitado formado al enfriar. Las composiciones
20 como las descritas en dicha memoria son especialmente úti-
les cuando la droga activa es un alérgeno, ya que en estos
casos la composición inyectable puede ser utilizada en la
terapia desensibilizante con menos riesgo de reacciones se-
cundarias adversas. Para este fin, una sustancia metaboli-
zable especialmente útil es la tirosina, pero hemos encontra-
25 do que con la tirosina y los alérgenos activos, el procedi-
miento descrito en la memoria de la patente inglesa
nº 1.155.036 dista mucho de ser satisfactorio. En primer
lugar, como la tirosina solamente es soluble en agua calien-
te en un grado muy pequeño (0,244 g/100 ml a 75°C), los
30

404748



1 grandes y engorrosos volúmenes de material hacen difícil el
proceso. En segundo lugar, con el procedimiento conocido,
el control del tamaño de las micropartículas precipitadas
es muy difícil, implicando entre otras cosas un grado con-
5 trolado de sobreenfriamiento. Como las micropartículas están
destinadas a la inyección, es evidente que es inaceptable
la presencia de incluso un solo cristal grande de tirosina
en el precipitado microfino, ya que la aguja hipodérmica
puede ser bloqueada durante la administración de la inyec-
10 ción.

Esta invención se basa en el descubrimiento de un
procedimiento mediante el cual se superan sustancialmente
estos inconvenientes del procedimiento conocido.

De acuerdo con esta invención, se proporciona un pro-
15 cedimiento para la preparación de micropartículas finamente
divididas de tirosina, con un alérgeno dispersado en ellas,
cuyo procedimiento consiste en mezclar una solución de tiro-
sina en un ácido fuerte acuoso con una solución acuosa o
miscible con agua del alérgeno deseado y simultánea o suce-
20 sivamente neutralizar la solución resultante, precipitando
con ello las micropartículas finamente divididas deseadas
de tirosina, conteniendo el alérgeno. Preferiblemente no se
deja que el pH del medio de reacción pase de un valor supe-
rior a 7 durante un periodo de tiempo sustancial durante el
25 proceso de esta invención, ya que el grado de combinación
del alérgeno por la tirosina disminuye si la precipitación
se produce a valores de pH más altos.

En el sentido utilizado en la memoria, por "neutra-
lización" debe entenderse el ajuste del pH a un valor com-
30 prendido entre 4 y 7 aproximadamente.



404748

1 El ácido fuerte que se utiliza en este proceso es ha-
bitualmente un ácido inorgánico. Se prefiere el ácido clor-
hídrico ya que normalmente se encuentra en los humores bio-
lógicos, pero también pueden utilizarse los ácidos nítrico
5 y sulfúrico. Aunque el ácido fosfórico puede ser utilizado,
es un disolvente mucho peor y, por lo tanto, no se recomien-
da. La cantidad molar de ácido requerida varia con su con-
centración. Por ejemplo, con HCl a un intervalo de concen-
traciones de 3,0 a 3,5 N, son suficientes alrededor de
10 0,00924 moles para disolver 1 g de tirosina, pero a concen-
traciones más bajas son necesarias cantidades mayores. Para
determinar la cantidad requerida de cualquier ácido parti-
cular, generalmente es suficiente seguir un proceso normal
de prueba y error.

15 La solución de alérgeno, que es añadida a la solución
de tirosina, puede encontrarse en un medio totalmente acuoso
o en un medio que contenga uno o más disolventes misci-
bles con agua, por ejemplo glicerol.

20 La base empleada para neutralizar la solución de tiro-
sina y alérgeno es habitualmente hidróxido sódico, por ra-
zones de economía y comodidad, pero la identidad de la base
no es crítica aparentemente. Más importante que la identidad
de la base es la necesidad de asegurarse de que en ningún
momento, o por lo menos no durante un periodo de tiempo pro-
longado durante la neutralización, el pH de la solución su-
25 be apreciablemente por encima de 7. Esta condición puede
ser cumplida agitando fuertemente la solución y utilizando
solamente la cantidad requerida de base (es decir, evitan-
do un exceso de base sobre la cantidad teóricamente neces-
ria para neutralizar el ácido fuerte). Si se desea, pueden
30

404748



1 incorporarse varios agentes reguladores a la base neutralizante para facilitar el control del pH. Hemos encontrado que el pH final de la solución neutralizada debe estar comprendido preferiblemente entre 4 y 6.

5 Si se cumplen las condiciones de pH, la mayor parte del precipitado microfino de tirosina conteniendo el alérgeno precipitará inmediatamente de la solución neutralizada y es preferible completarlo dejando en reposo durante un periodo comprendido entre algunas horas y un día o dos. 10 La finura del precipitado puede ser controlada hasta cierto punto variando la velocidad de neutralización y el grado de agitación de la solución durante la neutralización. En general, cuanto más rápidamente se lleve a cabo la neutralización y más intensa sea la agitación, más fino es el precipitado obtenido.

15 La solución de alérgeno que se mezcla con la solución de tirosina en este procedimiento se prepara por métodos conocidos. Los extractos alérgicos de alérgenos completos como pólenes, polvo doméstico, piel de gato, pelo de perro y similares, son muy conocidos en la terapia de desensibilización. Sin embargo, debe observarse que algunos alérgenos son sensibles a los ácidos y cuando han de ser sometidos estos alérgenos al procedimiento de esta invención, es necesario un cuidado especial para asegurarse 20 de que el alérgeno no es sometido a condiciones ácidas extremas. Esto puede conseguirse por el método ilustrado en el Ejemplo 4 dado más adelante, en el que la solución de alérgeno y una solución del agente neutralizante son agregados independientemente a la solución ácida de tirosina 25 con un riguroso control del pH.

30



404748

1 El producto de este procedimiento es un precipitado
microfino de tirosina que contiene el alérgeno. Este preci-
pitado puede ser separado de la solución por centrifugación
o filtración, lavado, por ejemplo con fenol-solución salina
5 y finalmente suspendido de nuevo en un vehículo líquido fi-
siológicamente aceptable, como fenol-solución salina, para
producir una composición inyectable adecuada para uso en la
terapia de desensibilización.

Los siguientes ejemplos ilustran esta invención:

10 EJEMPLO 1

Se disuelve 1 g de DL-tirosina en ácido clorhídrico
diluido. La cantidad molar de ácido requerida varía con su
concentración. Dentro del intervalo de concentración de
3-3,5 N, son suficientes 0,00924 moles de HCl, pero a con-
15 centraciones más bajas, se requieren cantidades mayores.
Después se añade un extracto de pólenes de hierba mezclados,
que pueden encontrarse en un medio totalmente acuoso o en
un medio que contiene glicerol u otros disolventes misci-
bles con agua (por ejemplo 3,33 ml de un extracto contienien-
do 60.000 unidades Noon/ml, que ha sido preparado por extrac-
20 ción de pólenes de hierbas mezcladas con una mezcla de
3000 g de cloruro sódico, 295 ml de fenol licuado (Farmaco-
pea británica), 24 litros de agua destilada y 23 litros de
glicerina (Farmacopea británica)). Antes de la adición de
la solución de tirosina, el extracto de polen se diluye
25 con agua suficiente para dar un volumen total de 10,76 ml
cuando se añade a la solución de tirosina. Inmediatamente
después se añaden lo más rápidamente posible, enfriando y
agitando fuertemente, NaOH 1 N (equivalente al HCl origi-
nalmente empleado: v.g. 9,24 ml en el ejemplo citado). El
30

404748



1 pH final debe encontrarse en la zona ácida del intervalo de
neutralidad y preferiblemente entre 4 y 6. Es preferible de-
jar en reposo la suspensión durante un periodo comprendido
entre 1 y 24 horas y después centrifugar. El precipitado se
5 lava repetidas veces con una mezcla de fenol y solución sa-
lina y finalmente se suspende de nuevo hasta una concentra-
ción conveniente, por ejemplo 50 mg/ml de tirosina.

EJEMPLO 2

10 Se disuelven 947,5 g de L-tirosina en 2,5 litros de
ácido clorhídrico 3,5 N y la solución se filtra a través de
un filtro esterilizante. Se dializa un extracto al 20 % en
peso/volumen de polvo doméstico en solución de Evan, se
concentra hasta dos quinceavos de su volumen inicial y el
concentrado se filtra a través de un filtro esterilizante.
15 Se mezclan 2,4 litros de la solución de tirosina con 3 li-
tros de la solución de polvo doméstico. Las soluciones com-
binadas se agitan intensamente en condiciones estériles y
se añade una solución de fosfato sódico en hidróxido sódico
(1000 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 10 litros de NaOH 1 N) hasta que
20 se alcanza un pH de 5,0. La suspensión se deja en reposo
durante 24 horas, después se centrifuga, se lava repetidas
veces con fenol-solución salina y finalmente se suspende de
nuevo en el mismo medio hasta un volumen de 6 litros.

EJEMPLO 3

25 Se disuelven 300 g de L-tirosina en 800 ml de ácido
clorhídrico 3,5 N. Se mezclan 800 ml de esta solución fil-
trada estéril con 1000 ml de un extracto estéril al 6 % de
pólenes de hierbas mezclados, que han sido extraídos con el
medio glicerólico descrito en el Ejemplo 1 y 1500 ml de
30 agua destilada estéril. La mezcla agitada se trata con so-



404748

1

REIVINDICACIONES

5

1. Un procedimiento para la preparación de micro-partículas finamente divididas de tirosina con un alérgeno dispersado en ellas, cuyo procedimiento consiste en mezclar una solución de tirosina en un ácido fuerte acuoso con una solución acuosa o miscible con agua del alérgeno deseado y simultánea o posteriormente neutralizar (en el sentido antes definido) la solución resultante, precipitando con ello las micropartículas finamente divididas deseadas de tirosina conteniendo el alérgeno.

10

2. Un procedimiento según la Reivindicación 1, en el que dicho ácido fuerte acuoso es ácido clorhídrico.

15

3. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 1 ó 2, en el que la solución de tirosina y alérgeno es neutralizada empleando hidróxido sódico.

20

4. Un procedimiento según cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en el que el alérgeno se encuentra en solución en glicerol acuoso.

25

5. Un procedimiento según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, sustancialmente como el descrito en cualquiera de los Ejemplos 1 a 4.

30

6. Un procedimiento según cualquiera de las precedentes reivindicaciones, que comprende la etapa adicional de suspender de nuevo la tirosina conteniendo el alérgeno en un vehículo líquido fisiológicamente aceptable, para producir una composición inyectable.

7. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la patente de invención que se solicita:

UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE MICROPARTICULAS FINAMENTE DIVIDIDAS DE TIROSINA.

A handwritten signature or mark, possibly initials, located at the bottom of the page.



404748

1 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la
presente memoria descriptiva que consta de diez páginas me
canografiadas.

Madrid, 11 julio 1.972

5 BERNARDO UNGRIA

P.P

10

15

20

25

30

**POOR
QUALITY**