



Int. Cl.:	C07G, A61K	P.:	51.601
		M8/nk:	02574-77

405274

MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar PATENTE DE INVENCION por 20 años

A nombre de CHINOIN GYÓGYSZER-ÉS VEGYÉSZETI TERMEKEK
GYÁRA RT.,

entidad húngara

con domicilio en 1-5, Tó utca, Budapest IV, Hungría

por: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UN CONCEN-
TRADO O MEZCLA DE HORMONAS"

(Clase Internacional C07g, A61k)

405274

28 JUN



El presente invento se refiere a una nueva hormona, a un concentrado o a una mezcla que contiene una hormona hasta ahora desconocida, designada en lo que sigue litoralona, que es producida por las glándulas paratiroides. El presente invento se refiere también a la preparación de litoralona y a concentrados y mezclas que lo contienen.

La bibliografía se ha ocupado ampliamente de hormonas de las glándulas paratiroides, a saber de la parathormona de peso molecular 8.500, que aumenta el nivel de calcio en la sangre del organismo.

(The Journ. of Biol. Chem. 236 : 759, 1961. Rasmussen y otros; Aislamiento y caracterización de la hormona de paratiroides de bovino; Biochemistry 5 : 344, 1966. Hawker y otros: Estudios adicionales acerca del aislamiento y caracterización de polipéptidos de paratiroides; Calc. Tiss. Res. 4 : 67, 1970. O'Riordan y otros : Las propiedades de hormonas de paratiroides de porcino; Annals of Int. Med. 70 : 1243, 1969. Aurbach y otros: Hormonas polipeptídicas y metabolismo del calcio; Hoppe Seylers Zrscht. fur Phys. Chem. 351 : 1581, 1970. Nial y otros : La secuencia de aminoácidos de hormonas de paratiroides de bovino; Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 67 : 1862, 1970. Brewer y otros: Hormonas de paratiroides de bovino Secuencia de aminoácidos; Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 68 :

405274

28



63, 1971. Potts y otros: Síntesis de la porción terminal en N biológicamente activa de hormona de paratiroides).

Esta hormona es una sustancia con una estructura de polipéptido.

5 Se prepara sometiendo glándulas de paratiroides trituradas y desengrasadas a extracción con ácido clorhídrico o fenol moderadamente caliente.

10 El producto bruto que puede ser precipitado con un valor de pH de 4,8, punto isoeléctrico, se obtiene a partir del extracto fraccionando varias veces con un disolvente y salificando y precipitando con ácido tricloroacético y purificando de modo adicional si es necesario. Este grado de pureza es apropiado desde el punto de vista terapéutico. La parathormona activa para el calcio, químicamente pura, es decir las isohormonas activas
15 de ésta, pueden ser preparadas por una tecnología de filtración en gel más complicada.

20 El presente invento está basado en el reconocimiento del hecho de que las glándulas paratiroides, además de la hormona conocida, contienen una sustancia o sustancias con efecto hormonal adicionales, que difieren esencialmente de las sustancias anteriormente descritas. Esta nueva hormona será denominada en lo que sigue como litoralona.

25 La estructura química de las sustancias con

405274

28



efecto hormonal denominadas litoralona todavía no ha sido esclarecida. Tampoco se ha aclarado sin ambigüedad todavía si se trata de una sustancia uniforme, de un grupo de sustancias, o de un alótopo físico o fisicoquímico con una estructura química uniforme.

La(s) nueva(s) hormona(s) puede(n) ser caracterizada(s) del siguiente modo:

Una sustancia apropiada para usos farmacéuticos y cosméticos caracterizada por los siguientes datos característicos: es soluble en agua, contiene C, H, N, O, S y/o P y no es ni una proteína ni un esteroide, es un compuesto heterocíclico con un peso molecular entre 200 y 1000, no es de carácter graso, no es soluble en benceno, cloroformo ni tetracloruro de carbono, y contiene las siguientes moléculas o fragmentos característicos: $C_7H_{11}N_5O_2S$; $C_5H_9N_5O$; posee los siguientes efectos fisiológicos: provoca fosfaturia, aumenta el peso de las glándulas de Herder de ratas, posee un efecto protector contra radiaciones, influye sobre la corteza adrenal y también sobre la concentración de elementos traza de la sangre; en el efecto clínico-terapéutico influye de modo favorable sobre el síndrome de Sjögren, la rino-laringo-faringitis seca, la paradontosis, el escleroderma, la candidiasis de la piel, el eritema por radiación y otros cuadros clínicos.

Las nuevas sustancias con efecto hormonal son

405274

28



5 inactivas para el calcio, y por lo tanto, de modo contrario a las hormonas anteriormente conocidas, carecen de influencia sobre el nivel de calcio en la sangre tanto en sentido positivo como en sentido negativo, pero aumentan el contenido de silicio de la sangre.

10 Las fracciones fuertemente purificadas despliegan un extenso efecto farmacológico y terapéutico - tal como se describe seguidamente - en una concentración biológicamente muy pequeña, por debajo de 1. $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal.

15 La nueva sustancia o sustancias muestran las siguientes características químicas: no pueden ser precipitadas con ácido tricloroacético, de manera que no son de modo carente de ambigüedad ni de carácter proteínico ni de carácter polipeptídico. Tampoco son de carácter graso, no pueden ser disueltas ni en benceno ni en cloroformo, y por el contrario son solubles en agua. La litoralona conserva su actividad biológica todavía después de un tratamiento de una de sus soluciones, el cual
20 tratamiento desnaturizaría las sustancias de carácter proteínico, por ejemplo después de un tratamiento con ácido nitroso u óxido de etileno.

25 El presente invento se refiere también a la preparación de la hormona litoralona arriba descrita y a concentrados o mezclas que la contienen, en que la

405274



glándula paratiroides aislada de un mamífero es secada y triturada y si se desea desengrasada, después de lo cual es sometida a extracción con agua y la solución obtenida es liofilizada. (Materiales de partida apropiados para la preparación de litoralona son por lo tanto los cultivos de tejidos o celulares derivados de las glándulas paratiroides de mamíferos).

El concentrado preparado de este modo (solución acuosa o polvo liofilizado) ya es apropiado para manifestar los efectos terapéuticos o biológicos que se describen seguidamente con detalle, en preparados farmacéuticos.

Concentrados más activos pueden ser preparados haciendo un esfuerzo para obtener un producto que contenga el ingrediente activo en una forma más concentrada o en una forma más pura y/o inactivando la hormona activa para el calcio acompañante. Los productos más puros son más convenientes para la finalidad de preparar productos farmacéuticos más apropiados en lo que se refiere al punto de vista estético o a una dosificación más precisa.

El extracto acuoso puede ser dejado libre de las proteínas y polipéptidos añadiendo al extracto un agente que precipita las proteínas y utilizando la solución obtenida después de haberse eliminado el agente precipitante.

405274

28 JUN 1972



Como agentes precipitantes de proteínas pueden utilizarse ácido tricloroacético, ácido sulfosalicílico, etc. También se pueden emplear métodos tales como eliminación de las proteínas añadiendo disolventes y precipitándolas por salificación. Como método más práctico y más eficaz se ha encontrado la precipitación con ácido tricloroacético. Unicamente es desventajoso el hecho de que es relativamente difícil eliminar el exceso del agente precipitante. Esto puede realizarse en la práctica por medio de una serie de extracciones con éter, pero también es posible calentar la solución acuosa libre de proteínas (la litoralona no es especialmente termoinestable, según se ha deducido de las últimas experiencias de la solicitante), y de esta manera se puede descomponer 90% del ácido tricloroacético (se forman cloroforno y dióxido de carbono).

De acuerdo con las observaciones de la solicitante la separación de proteínas, polipéptidos y otras fracciones se puede llevar a cabo también con muy buenos resultados mediante filtración en gel. En este caso la sustancia deseada puede obtenerse con una gran pureza en la fracción apropiada. Un método muy práctico consiste en la purificación por filtración en gel después de la eliminación de proteínas en la fracción acuosa. Por medio de la filtración en gel sobre una columna con

405274

28



El presente invento se refiere también a composiciones terapéuticas y/o preventivas, que contienen como ingrediente activo litoralona o fracciones de litoralona en mezcla con excipientes inertes, sólidos o líquidos. El contenido de ingrediente activo de dichas composiciones puede variar dentro de amplios límites y puede ser preferiblemente de alrededor de 0,05-10 mg/dosis en la terapia para seres humanos.

Estos productos pueden ser preparados de acuerdo con los métodos conocidos de la industria farmacéutica a partir de concentrados sólidos o líquidos que contienen litoralona, o a partir de mezclas de estos, en forma de tabletas, supositorios, soluciones, ungüentos, mezclas en polvo o aerosoles.

Tabletas con un contenido de ingrediente activo de 0,05-5 mg pueden ser preparadas mediante un procedimiento de granulación en húmedo, pero también es aplicable una tecnología en seco. Como aditivos puede emplearse cualquier clase de aditivos inertes e inocuos de los que se utilizan en la industria farmacéutica para producir tabletas.

Una solución inyectable puede ser preparada a partir de una solución acuosa en una concentración de alrededor de 0,05-5 mg/ml, pero en este caso es necesaria la eliminación de proteínas arriba mencionada y se requiere

405274

23 J



re además la perfecta eliminación de los agentes precipi-
tantes de proteínas. El modo de preparación más factible
de soluciones para inyección consiste en la filtración en
medio estéril del concentrado acuoso. La solución para in-
yección no tiene efecto irritador sobre los tejidos y no
provoca ningún efecto secundario anafiláctico.

También pueden prepararse a partir de esta
sustancia ungüentos que posean un contenido de ingredien-
te activo de 0,01 - 0,1 mg/g. Para este fin son apropia-
dos la mayor parte de los materiales de base para ungüen-
tos terapéuticos hidrófilos e hidrófobos. La situación es
similar en el caso de la preparación de supositorios en
donde además son apropiadas la manteca de cacao y otras
masas de base sintéticas para supositorios (Carbowax).

El contenido de ingrediente activo de los supositorios
depende del grado de pureza del concentrado, y es de apro-
ximadamente 0,05 - 5 mg.

El presente invento se refiere además a
preparados cosméticos que contienen litoralona como in-
grediente activo. Dichos preparados cosméticos pueden ser
producidos a partir de concentrados sólidos o líquidos
de litoralona con disolventes conocidos, después de adi-
ción de sustancias aditivas, de carga, diluyentes, lu-
bricantes y excipientes, en la forma de ungüentos, solu-
ciones, cremas, emulsiones, mezclas en polvo, aerosoles,

405274



etc., en una concentración de aproximadamente 0,01 - 0,5 mg/g. ^{28 III 1970}

5 Con los preparados que contienen litoralona se han llevado a cabo extensas investigaciones clínico-terapéuticas, tal como se describe seguidamente con detalle. La dosis diaria era de tres porciones, cada una de 0,1 - 0,5 mg, del concentrado que contenía litoralona por vía oral. No se observó ningún efecto secundario perjudicial sobre un grupo de pacientes de aproximadamente 3000
10 personas. En algunos casos se observó la aparición de una erupción del tipo de urticaria sobre la superficie de la piel, o de tiempo en tiempo una sensación de náuseas y de vómitos. Estas complicaciones aparecieron únicamente en un 5% de los pacientes tratados.

15 Los siguientes efectos fisiológicos son característicos de la nueva sustancia con actividad hormonal.

a) Efecto farmacológico

20 El nivel de calcio del suero sanguíneo no es afectado prácticamente. Se aumenta el contenido de silicio en la sangre y se cambia la concentración de otros elementos traza esenciales (por ejemplo Zn, Cu, F, etc.).

25 Se provoca fosfaturia y aumenta el contenido de monofosfatos orgánicos y monofosfatos cíclicos



405274

(cAMP) en la orina.

Se disminuye el contenido de azúcar en la sangre.

5 Se actúa sobre factores que influyen en la coagulación de la sangre.

Se aumenta la lipólisis.

Se aumenta o regula la actividad de las glándulas secretoras de mucos.

10 Se actúa sobre el sistema de corteza adrenal-hipófisis-hipotálamo.

(Se establece el estado de la resistencia
sindrómica adaptativa: se aumenta el nivel de cortisol
en el suero, se sensibiliza la corteza adrenal frente al
ACTH, se defiende a la superproducción de esteroides de
15 la corteza adrenal frente a tonificantes, se inhibe la
liberación endogénica de ACTH de la hipófisis, se defiende
contra la actividad hipertrófica de la glándula adre-
nal inducida por una dosificación prolongada de ACTH).

20 En dosificación crónica (1 año) la zona
glomerular es ligeramente hipertrófica, por el contrario
la zona fascicular muestra una suave hipofunción, toman-
do como base exámenes histopatológicos finos.

25 La proporción de mieloides-eritroides de la
médula ósea es aumentada. Se induce el efecto activador
del mesenquima : se estimula el crecimiento y la multipli-

405274



cación de fibroblastos así como la formación de la sustan-
cia de tejidos conectivos y del sistema fibroso fibrilar,
se mejora la curación de heridas inhibida por la cortiso-
na. Se aumenta el contenido de glicoproteínas y de seromu-
5 coides del suero sanguíneo. Se actúa sobre la recupera-
ción de tejido óseo y cartilaginoso y en una pequeña con-
centración se activan los osteoblastos y condrocitos. Las
sustancias son necesarias para la función fisiológica de
la matriz ósea, de los cartílagos, así como también de los
10 tendones y cordones articulares y membrana sinovial. Se
aumenta la densidad de electrones por actividad intracelu-
lar del aparato de Golgi y del retículo endoplasmático
en las células que constituyen los tejidos óseos y carti-
laginosos. Se suprime el latirismo experimental. Se dis-
15 minuye la concentración de citratos en el suero y se aumen-
ta la concentración de fosfatasa alcalina. Se defiende el
organismo del efecto perjudicial de las radiaciones elec-
tromagnéticas. Se disminuye el tiempo de regresión del
eritema cutáneo y se aumenta significativamente la super-
20 vivencia de ratas sometidas a irradiación con una dosis
letal de rayos y se defiende contra el daño para la médu-
la ósea inducido por irradiación. Se modera el efecto an-
timitótico de los mielocitos de médula ósea inducido por
radiaciones.

25 Se emplean con un efecto no sólo profilác-



tico sino también terapéutico contra los daños por radiaciones.

5 Se aumenta significativamente el peso de las glándulas de Herder de ratas, que son fotorreceptoras extrarretinales. Se influye sobre el efecto energético biológico de la radiación luminosa. Se aumenta la incorporación de glucosamina marcada con C_{14} en los túbulos renales y se aumenta significativamente la concentración de mucopolisacáridos de los tejidos renales. Se aumenta la
10 diuresis.

Se modera significativamente el efecto de la histamina de disminuir la temperatura rectal (efecto regulador de las anastomosis arteriovenosas).

15 Se actúa sobre los endotelios de las paredes de los vasos, o sobre la síntesis de mucopolisacáridos de sus interiores.

b) Efecto clínico

20 1) Efecto ejercido contra la alteración patológica de todo el sistema mucoso, membranoso y respiratorio del organismo

Síndrome de "ojo seco";

vulvovaginitis seca;

25 rino-laringo-faringitis seca;

405274

28



- bronquitis crónica;
ocena;
mucoviscidosis;
afección de membrana hialina;
5 sinusitis recidiva;
alteraciones pulmonares de origen sistémico (fibrosis pulmonar, alteraciones pulmonares escleróticas);
enfisema inicial;
10 perturbación de la descarga de glándulas mucosas;
leucoqueratosis y leucoplaquia de las membranas mucosas;
aftas recidivas y síndrome de Beheet;
15 candidiasis de la membrana mucosa;
síndrome de Plummer-Vinson;
síndrome de Reiter;
síndrome de Sjögren;
síndrome de Mikulicz;
20 daños para la membrana mucosa como resultado de una lesión por radiación.
- 2) Otros cuadros clínicos de origen ectodérmico:
25 Candidiasis de la piel;

22-7-72

405274



- Verruga juvenil y vulgar;
Condiloma acuminado;
Queratosis palmoplantar;
Acanthosis nigricans;
5 Esclerodermia, morfea;
Escleroedema;
Necrobiosis lipofídica;
Granuloma anular;
Seudoxanthoma elasticum;
10 Induratio penis plastica,
contracción de Dupuytren;
Liquen escleroso atroficante;
otras degeneraciones colagenosas;
radiodermas;
15 epidermolisis vesicular,
alopecia;
Onicodistrofia;
Telangiectasia y cutis marmorata;
Psoriasis pustulosa;
20 Impetigo herpetiformis;
ictiosis;
Perturbación de formación de pigmentos. Vi-
tiligo.
- 25 3) Enfermedades de los órganos de locomoción

22-7-72



405274

y de los huesos.

Los llamados cuadros clínicos degenerati-
vos originados por desgaste:

- 5 Artrosis;
- disoscopatía;
- espondilosis.
- Otros cuadros clínicos:
- Enfermedad de Bechterew;
- osteogénesis imperfecta;
- 10 osteoporosis idiopática;
- otras osteoporosis;
- osteofibrosis;
- osteopatía;
- tendovaginitis y bursitis.

15

4) Enfermedades neurológicas y psiquiátri-
cas.

- Estados atónicos o hipotónicos de los múscu-
los (Sclerosis multiplex);
- 20 Papilloedema;
- Psicosis de origen endocrino (distonía vege-
tativa, síntomas psíquicos de menopausia, síntomas psíqui-
cos que aparecen después de estrumectomía, psicosis de
Cushing, etc.).
- 25 Descompensación depresiva de origen neuró-

405274

28



tico.

Estados de déficit de impulsos e inactividad, o estados tenebrosos. Catatonia.

Terapia fundamental en la represión de abusos y narcomanías.

5

5) Cuadros clínicos de obstetricia y ginecología.

10

Toxemias de embarazo (hipertensión, edema, albuminuria, pre-eclampsia; eclampsia; toxemias de aposición).

Perturbaciones menstruales (enfermedades uterinas, amenorrea, raromenorrea, polimenorrea, etc.).

15

Síndrome menopáusic (hipertensión, ondulaciones térmicas, transpiración, síntomas psíquicos, perturbaciones de cambio de serocortisol circadianal).

20

Prurito o craurosis vulvar;
mastopatía fibrocística;
Erosio colli;
perturbaciones de lactancia;
síntomas androgénicos;
hipogonadismo.

25

6) Alteraciones conectadas con órganos sensoriales.

22-7-72

405274

28



Cataratas incipientes;
alteraciones escleróticas del fondo, retino
patía diabética;
glaucoma diabética,
5 perturbaciones de los sentidos del sabor y
del olor;
otoesclerosis;
otitis recidiva;
daños para las cuerdas vocales de origen
10 orgánico (ronquera).

7) Perturbaciones de termorregulación

Hipohidrosis o hiperhidrosis;
hiperhidrosis palmoplantar;
15 escalofríos, ondulaciones térmicas;
subfebrilidad de carácter endocrino;
perturbaciones de función de las anastomo-
sis arteriovenosas periféricas;
enfermedad de Raynaud;
20 acrocianosis.

8) Afecciones dentales y orales.

Parodontosis;
tendencia acrecentada a las caries;
25 perturbaciones en el crecimiento de los

405274

28 J



dientes,

hipoplasia dental.

9) Enfermedades del sistema vascular.

5

Retinopatía diabética;

Ulcus cruris;

Arteriosclerosis obliterans.

10) Cuadros clínicos endocrinos.

10

Basofilismo juvenil;

enfermedad y síndrome de Cushing;

cretinismo;

enfermedad de Fagge;

hipoparatiroidismo;

15

adiposidades dolorosas;

lipodistrofia adiposogenital;

lipodistrofia progresiva;

síndrome corticogenital;

síntomas tardíos de diabetes, glomeruloes-

20

clerosis;

síndrome de Morgagni.

11) Cuadros clínicos de gastroenterología.

25

Hipoacidez o anacidez;

úlceras gigantes aletargadas;

22-7-72

405274

28



gastritis atrófica.

12) Protección contra los rayos, protección
contra el efecto de los ambientes externos.

5 Protección contra la radiación;
 terapia de daños por radiaciones;
 meteoropatía;
 medicina cosmonáutica.

10 13) Daños iatrogénicos.

 Supresión del efecto secundario perjudicial
de sustancias radioniméticas y supresoras de inmunidad.

 Tratamiento de daños por esteroides con
efecto de glicocorticoides;

15 Supresión de daños por anticonceptivos de
esteroides administrados por vía peroral;

 Tratamiento de cataratas iatrogénicas;
Fluorosis.

20 14) Cuadros clínicos de gerontología.

 Progerias,

 gerodermas,

 síntomas angiológicos y psiquiátricos de
las edades avanzadas.

25

22-7-72

15) Síndromes.

Numerosos síndromes adquiridos o hereditarios conectados con daños mesoectodérmicos generales (daños dermatológicos, oftalmológicos, psiquiátricos, endocrinológicos, pediátricos, locomotores, pulmonares, ginecológicos y urogenitales).

Se debe hacer observar que los efectos farmacológicos y clínicos arriba descritos indican únicamente el alcance y el carácter de los efectos de las nuevas hormonas descubiertas.

Los ensayos farmacológicos y químicos se han estado llevando a cabo regularmente desde hace varios años por ocho cátedras universitarias, institutos nacionales y factorías farmacéuticas. Los ensayos clínicos, por otro lado, se están llevando a cabo por veinte clínicas universitarias, institutos nacionales y hospitales en Budapest, de modo simultáneo. Los ensayos terapéuticos sobre diferentes cuadros clínicos se efectuaron hasta el momento sobre un grupo de pacientes registrados de 3000 personas. El efecto terapéutico para algunos cuadros clínicos aparece sólo después de un tratamiento regular durante varias semanas o algunos meses (por ejemplo la enfermedad de Bechterew). No obstante, hay también efectos relativamente tempranos y rápidos (por ejemplo ocena). En algunos casos la remisión es duradera, en otros casos depen

405274

28 JUN 1964



de de las hormonas y los pacientes recaen con rapidez después de interrupción del tratamiento (por ejemplo rino faringitis seca).

5 Las fracciones más puras manifiestan su efecto terapéutico ya en una concentración muy pequeña (en una concentración de 1/1000 ppm o por debajo de ésta, que corresponde a una dosis oral de 1 microgramo/kg de peso corporal).

10 Son sorprendentes la amplia escala de enfermedades y su aparente incoherencia, sobre las cuales ejerce la litoralona un efecto terapéutico. A este respecto se puede hacer referencia a la cortisona y sus derivados con efectos hormonales similares, que ejercen un efecto terapéutico sobre más de cien enfermedades. El efecto terapéutico de la litoralona puede ser comparado únicamente con el de los derivados de cortisona y abre un nuevo capítulo en la ciencia terapéutica, farmacológica y bioquímica. No obstante, difiere de los derivados de la cortisona no sólo en las indicaciones significativamente diferentes (en numerosos casos tiene el efecto opuesto), sino también en su toxicidad significativamente menor y en el carácter de su efecto. En general despliega un efecto lento, que se desarrolla gradualmente, contrario al efecto frecuentemente temprano de la cortisona, y ejerce una influencia favorable principalmente en progresiones cróni-

15

20

25

405274

28 JUL



resolver numerosos problemas fisiológicos fundamentales de la emersión desde el agua a la tierra firme. Los órganos respiratorios cambiaron de modo fundamental. Con el desarrollo de los pulmones hubo de resolverse el relajamiento de la tensión superficial de las células aéreas produciendo un "agente tensioactivo", de que los alveolos pueden no estar en un estado atelectático, y el facilitar el trabajo de inhalación. Hubo de procurarse hacer óptimo el contenido de vapor y la temperatura del aire que entraba en los pulmones y asegurar la ausencia de con-

5

10

taminaciones mecánicas en éste.

La córnea ocular y el tejido conjuntivo hubo de ser protegido contra la desecación, los microtraumas del polvo y de contaminación del aire, y hubo de procurarse una lubricación conveniente cuando el globo ocular se movía y compensar la diferencia de refracción entre el aire y la córnea. La glándula lacrimal y las glándulas accesorias se desarrollaron.

15

Se hubo de resolver el método de llevar el alimento seco al estómago (producción de saliva con contenido de mucina).

20

Los órganos auditivos y olfativos cambiaron en su configuración con la nueva bioesfera.

La piel adquirió fundamentalmente dos nuevas funciones. Había de proteger al organismo contra la dese-

25

28 JU



cación, contra los daños crecientes por radiación y los
daños externos. La termorregulación se volvió una tarea
esencial (el agua de los ríos y océanos tenía una tempera-
tura casi constante comparada con los extremados cambios
5 de temperatura de la tierra firme). Se desarrollaron las
glándulas sebáceas y sudoríparas, las células pigmentadas
y formaciones ectodérmicas accesorias (cabellos uñas y pe-
los). Para la trituración de los alimentos sólidos apare-
cieron dientes fijados a las mandíbulas mediante raíces y
10 también apareció el esmalte de estos dientes. Se formaron
las anastomosis arteriovenosas para una termorregulación
más exacta.

Por lo tanto, se hubieron de desempeñar nue-
vas funciones por parte de todas las superficies margina-
15 les que separaban el organismo vivo del aire exterior. Al
cesar el poder ascensional recayó un trabajo acrecentado
sobre los tejidos de soporte (aparecieron los huesos tubu-
lares). La médula ósea contenida en los huesos tubulares
proporcionó la hematopoyesis en lugar de hacerlo el hígado
20 y el bazo.

La nueva biosfera transformó o desarrolló
fundamentalmente los órganos de locomoción. (Sustancia
cóndrica, articulaciones, desarrollo de las membranas si-
noviales, aumento de la tensión muscular, etc.). En la vi-
25 da en el agua, las branquias tomaban parte en la regula-

403274

28



ción del equilibrio iónico del organismo además de atender a la función de respiración. Esto fué posible debido al hecho de que el agua de mar contenía todos los iones necesarios para la vida, juntamente con los elementos traza esenciales. Como consecuencia de la alteración de la biosfera, este papel recayó en las dos hormonas de la glándula paratiroides, es decir en la parathormona y la litoralona, así como también en la hormona de aldosterona de la corteza adrenal. La parathormona dirige en primer lugar la regulación del equilibrio de calcio y de magnesio, la hormona de aldosterona dirige el equilibrio de potasio y de sodio, mientras que la litoralona dirige principalmente el equilibrio de los elementos traza esenciales, entre otros, el de silicio, flúor y cobre. En la regulación de los iones fosfato y sulfato toman parte las dos hormonas de paratiroides.

La concentración de ión citrato en el suero es aumentada por la parathormona y es disminuida por la litoralona.

Tomando en consideración el hecho de que al haber cesado la vida en el agua ya no había ningún camino posible para dirigir la ingestión de los iones necesarios a partir de la biosfera a través de las biomembranas, la única posibilidad que quedaba a los organismos superiores era la regulación del equilibrio iónico por la ingestión

405274

28 J



de alimentos y por excreción de los mismos. (La regulación hormonal de la absorción de los vellos intestinales y de los túbulos renales).

5 El sistema óseo desarrollado requerido por la estructura más sólida o firme de la vida en tierra seca, se ofreció por su parte como almacén de iones.

10 El hecho de que la litoralona influye significativamente sobre el contenido de silicio en la sangre y tiene un papel decisivo en la regulación del mismo (en 30 días el tratamiento de ratas y conejos con litoralona da como resultado un aumento de más de 100% del contenido de silicio en la sangre), llama expresivamente la atención sobre el papel fisiológico muy importante del silicio en la síntesis de glico-mucoproteidos y en el gobierno de sus 15 funciones fisiológicas (de modo similar al ión sulfato).

20 Como resultado de la investigación sobre la litoralona, el ácido silícico y sus complejos alcanzarán una categoría distinguida, desde su enumeración hasta ahora despreciada de propiedades fisiológicas (tejidos braditróficos y la formación de tejidos elásticos, regulación de la osificación, etc.). Por otro lado, el contenido de silicio de la sangre humana es igual al del agua marina (3-4 ppm), en donde primitivamente se desarrollaba la vida.

25 El desarrollo de la vida en tierra firme

405274

28 JUN 1964



causó simultáneamente el máximo efecto estimulador en la historia de la vida en la tierra para los órganos que se adaptaron espontáneamente a la vida en la tierra firme. Estos efectos estimulantes afectan significativamente de modo más intenso a los organismos vivos en tierra firme que a los organismos que viven en los mares incluso después de la aparición de los mamíferos y de la adaptación a la vida en tierra firme (por ejemplo efectos climáticos, radiaciones electromagnéticas, etc.).

10 En las épocas de la geohistoria, la desaparición de algunas especies animales y la aparición de otras nuevas, tales como por ejemplo hace 60 millones de años en el periodo cretáceo tardío la exterminación de los reptiles prehistóricos y la aparición de mamíferos - es puesta en relación por la mayor parte de los científicos con el cambio de la composición cualitativa y cuantitativa de la radiación en contacto con la tierra (independiente del hecho de si se debió a desplazamiento de los polos o a actividad solar).

20 Por otro lado, la glándula paratiroides y su grado de desarrollo determinaron - como la única sustancia de origen natural protectora contra la radiación y el envejecimiento - la supervivencia del mundo animal superior en tierra firme y el desarrollo de las especies más resistentes frente a los cambios que afectaron a to-



da la superficie exterior de la tierra.

El agua de mar absorbe los rayos ionizantes. Puede considerarse como seguro el hecho de que el desarrollo más intenso de la glándula paratiroides de mamíferos causó el desarrollo de especies más resistentes contra daños por influencias cósmicas. La litoralona tiene un papel muy esencial y hasta ahora escasamente apreciable en su importancia en la protección o disminución de la generación de radicales libres como consecuencia de la radiación fundamental, que es una de las causas principales de los procesos de envejecimiento. El efecto en este caso no sólo es profiláctico, sino que los daños de este tipo aparecen ya como restituyéndose gradualmente por sí mismos (al menos en algunos casos). La existencia del síndrome adaptativo está garantizada para las criaturas vivas de categorías superiores por el sistema de tálamo-hipotálamo-hipófisis-corteza adrenal. La hormona de litoralona de la glándula paratiroides es una parte integral del sistema de adaptación neuro-endocrínico y su actividad causa la estabilización y el aumento de la resistencia al síndrome de adaptación. Aumenta la disposición del organismo para impedir daños por efectos exteriores perjudiciales. En esta relación, tiene un efecto expreso también sobre la actividad nerviosa y cerebral superior y también es indispensable en la función

405274

28



fisiológica de la misma.

Se debe hacer observar que los métodos de supervivencia son bastante diferentes en la vida en tierra firme y en la vida en el agua. El desarrollo del embrión en la cavidad corporal y la alimentación después del nacimiento a partir de los pechos se desarrolló, por el efecto apremiante de la vida en tierra firme, como la forma de vida más desarrollada en dicha tierra firme (los mamíferos de los mares volvieron de la tierra firme a los mares). Esto aseguró la supervivencia más segura de los descendientes. La glándula paratiroides ejerce un cierto efecto fisiológico expreso sobre las gónadas y sobre los órganos reproductores y también sobre los pechos de los mamíferos.

15

RESUMEN

La litoralona como hormona de la glándula paratiroides actúa en el sentido de aumentar y reforzar las propiedades fundamentales de la sustancia viva. Aumenta la constante de Rubner y de este modo el potencial de los seres vivos, que es la ley fundamental de la evolución. Existe valor terapéutico para todas las enfermedades, cuya etiopatogénesis se encuentre en relación causal con el desarrollo de la vida en tierra firme y con la adaptación a dicha vida. La litoralona ha hecho posible

25

405274

28 JUL 1972



transpiración, atrofia de las glándulas sebáceas;

perturbación de la calcificación de los dientes y huesos;

- 5 debilidad de los músculos, hipotonía;
púrpura;
subfebrilidad;
neurosis.

10 Tal como puede verse, el total de los síntomas arriba mencionados no sólo era inexplicable desde el punto de vista etiológico antes de desarrollarse la teoría terapéutica evolutiva, sino que también era inaccesible desde el punto de vista terapéutico. La litoralona influye terapéuticamente sobre todos estos síntomas de
15 una manera muy favorable (tanto objetiva como subjetivamente), bien sea en el conjunto total de síntomas, bien sea separadamente cuando éstos se presentan de modo parcial.

20 De modo similar a esta teoría, ha resultado explicable la formación de otros numerosos síndromes que responden terapéuticamente al tratamiento. Por lo tanto se hizo posible la percepción de nuevos síndromes o quedaron unidos los límites de muchos síndromes registrados separadamente. Se ha probado que el déficit de hormona de
25 litoralona tiene una función muy importante y en muchos.



casos una función exclusiva en un amplio margen de enfermedades, y tiene un efecto terapéutico no sólo en los casos de déficit. La litoralona actúa sobre los tejidos o sobre las células de los organismos superiores (glándulas apocrinas, condrocitos, linfocitos, osteocitos, mastocitos, fibroblastos, células de Kupfer, etc.) de modo similar a las hormonas, mediante la liberación de monofosfato de adenosina cíclico, estimulando la enzima de adenilciclase.

La diferencia entre los dos tipos de hormonas de glándulas paratiroides, entre la parathormona y la litoralona, puede ser explicada de modo más conciso diciendo que la parathormona ejerce un efecto del carácter de la vitamina D y que la litoralona ejerce un efecto del carácter de la vitamina A. Parece probable que las hormonas con carácter de litoralona son producidas en las llamadas células eosinófilas de la glándula paratiroides.

Los siguientes ejemplos sirven para ilustrar detalles adicionales del invento, sin tener ningún carácter limitativo.

EJEMPLO 1

10 g de polvo de glándulas liofilizado y triturado son desengrasados de una manera conocida (según

405274



Aurbach) del siguiente modo:

El polvo de glándulas es mezclado a la temperatura ambiente con 25 ml de acetona absoluta y luego es filtrado en un filtro de vidrio No. G₄. El polvo de glándulas bien filtrado con succión es mezclado de nuevo a la temperatura ambiente con 25 ml de cloroformo y es filtrado sobre un filtro de vidrio No. G₄; se repite esta operación. La sustancia filtrada es suspendida de nuevo en 25 ml de acetona absoluta y es filtrada con succión sobre un filtro de vidrio No. G₄. El polvo de glándulas obtenido es secado en vacío a la temperatura ambiente. El peso de la sustancia seca obtenida varía entre 7 y 9 g, dependiendo del contenido de grasas de la sustancia inicial.

10 g de polvo de glándulas desprovistos de su contenido de grasa y de agua son extraídos tres veces con porciones de 100 ml cada una de agua destilada a la temperatura ambiente durante 1-1 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. Entre las extracciones, el polvo de glándulas es separado de la parte líquida por medio de una centrífuga de laboratorio de gran velocidad. Las fracciones extraídas son almacenadas a una temperatura de 3-5°C en una atmósfera de nitrógeno hasta ser tratadas. Los extractos acuosos son positivos frente a la ninhidrina, al biuret y al ácido tricloroacético.

Después de esto, los extractos acuosos son



recogidos y se añade una cantidad de 50% en volumen de ácido tricloroacético con una velocidad de adición por goteo constante y con agitación, de tal modo que la concentración final de ácido tricloroacético sea de 15%.

5 Después de reposar durante 1 hora a una temperatura de 3-5°C el precipitado con ácido tricloroacético es centrifugado. La capa superior es una solución acuosa transparente, que es negativa frente al biuret y al ácido tricloroacético y es positiva frente a la ninhidrina.

10 El exceso de ácido tricloroacético es eliminado mediante extracciones en serie a la temperatura ambiente con una solución acuosa de éter (1-1,2 volúmenes de éter : 1 volumen de agua). Para la total eliminación del ácido tricloroacético son necesarias en general 17-18
15 extracciones; en la práctica se llevan a cabo 20-25 extracciones.

Después de la última extracción el pH de la fase acuosa debe tener un valor de 4,5-5.

20 La eliminación de éter dura 6 horas y se lleva a cabo en una atmósfera de nitrógeno, mediante una bomba de agua a una temperatura no superior a 30°C.

La eliminación de éter lleva aparejada una disminución del volumen (se separa por destilación además una parte de la fase acuosa).

25 La total eliminación de éter es comprobada

405274

28 JU



por el olor.

La solución acuosa después de ello es liofilizada y almacenada en un recipiente bien cerrado (es higroscópica).

5 El rendimiento con relación a la cantidad total de polvo de glándulas inicial (antes de desengrasado) es de 10-15%, dependiendo del contenido de grasas.

EJEMPLO 2.

10 Aplicando el método descrito en el Ejemplo 1, un extracto liberado del contenido de proteínas y del agente precipitante es preparado a partir de un extracto acuoso de las glándulas paratiroides desengrasadas. 5 g de un producto liofilizado inactivo frente a ácido tri-
15 cloroacético son filtrados en gel sobre una columna que contiene Sephadex G₁₅. El tamaño de la columna es 4,3 veces 144 cm. El agente eluyente es agua.

La velocidad de circulación es de 60 ml/hora.

20 El tamaño de las fracciones de 15 ml.

Peso de las muestras liofilizadas recogidas durante el fraccionamiento:

25

22-7-72



405274

	Número de tubos	Peso/mg
	46 - 83	913
	84 - 98	1126
5	99 - 118	999
	119 - 136	1416
	137 - 154	24
	155 - 170	3
	185 - 198	19
10	221 - 230	2
	238 - 265	15
	279 - 285	1
T O T A L :		4518 mg (90%)

15

La fracción principal, tubos números 46-83, que contiene 913 mg es bastante rica en litoralona y posee en una dosis de 5-10 microgramos/kg de peso corporal una actividad fisiológica o terapéutica expresa.

20

Esta es la sustancia que contiene los dos primeros máximos de la filtración en gel.

La separación apropiada de la fracción puede efectuarse con los siguientes métodos de detección:

25

22-7-72

405274



28 JUL. 1972

- a) Medición espectrofotométrica de la absorción a 280 milimicras;
- b) Medición espectrofotométrica de la absorción a 234 milimicras;
- 5 c) Medición espectrofotométrica de la absorción a 360 milimicras;
- d) Medición de la conductividad eléctrica.
- e) Un análisis cuantitativo de iones cloruro con nitrato de plata.
- 10 f) La medición del pH de las fracciones que pertenecen a los diferentes máximos.
- g) Investigación con reactivo de ninhidrina.
- h) Investigación a simple vista de la opalescencia y del color (amarillento).
- 15

El rendimiento de la fracción principal, tubos nº 46-83, es de 2-2,5% calculado con relación al polvo de glándulas paratiroides seco no desengrasado.

20

EJEMPLO 3.

Se lleva a cabo el procedimiento de acuerdo con el Ejemplo 2, excepto que los dos primeros máximos son recogidos en fracciones principales separadas. Así, 302 mg de fracción principal I y 555 mg de fracción principal II se obtienen a partir de 5 g de un extracto

25

405274

28 JUL 1972



acuoso libre de proteínas.

Después de esto la fracción principal II es nuevamente filtrada en gel. Se recogen en la columna 456 mg de la sustancia y se utiliza agua como agente elu-
5 yente. El tamaño de la columna es 4,3 veces 144 cm, y la velocidad de circulación es de 50 ml/hora. El tamaño de las fracciones es de 10 ml.

Relleno: Sephadex G₁₅.

De este modo, la fracción principal II puede ser desdoblada en otros tres máximos. Las fracciones
10 que pertenecen al máximo central son reunidas. El peso después de liofilización es de 237,5 mg.

El rendimiento, calculado con relación a un polvo de glándulas paratiroides seco no desengrasado es de 0,6 - 0,8 %.
15

Propiedades características: una sustancia higroscópica coloreada de amarillo que contiene C, H, N, O, S; y/o P. Grupos característicos son: -SH, -COOH, -OH. De acuerdo con un análisis por espectrografía de masas
20 se encontraron los siguientes fragmentos característicos: $C_7H_{11}N_5O_2S$, $C_5H_9N_5O$, y C_4H_6NO .

Puede suponerse que una de las moléculas es un derivado de purina (guanina) con una cadena lateral que contiene un grupo sulfhidrilo.

25 La fracción contiene además otras estruc-

405274



turas (por ejemplo aminoácidos como impurezas). Esta frac-
ción tiene un efecto fisiológico y terapéutico definido
incluso en una dosis de 1 microgramo/kg de peso corporal.

5 El producto puede ser purificado por métodos
de cromatografía o de otro tipo.

Mediante una columna rellena con celulosa
o con una resina de intercambio de iones se pueden eli-
minar los aminoácidos contaminantes (lisina, ácido glutá-
mico, glicina). De este modo se puede obtener una litora
10 lona, todavía contaminada, en un rendimiento de 0,3-0,4%
calculado con relación al polvo de glándulas paratiroides
seco. Este producto es eficaz en una concentración infe-
rior a 1 mcg/kg de peso corporal.

Ejemplo 4

15 La sustancia descrita en el ejemplo 1 se filtra
en gel en Sephadex G-15 ["Pharmacia" fabricado en Suecia,
tamaño de partícula 90-120 micras] con tecnología descen-
dente.

20 El diagrama de elución se mide a una extinción
de 280 nm. Midiendo el volumen de la cantidad de líquido
descendente en función de la extinción, el segundo pico
desde el comienzo contiene el Litoralon.

Los parámetros característicos de la filtración
con gel son los siguientes:

25 Medida: 5,1 g de sustancia [a partir del Ejemplo 1 disuel

405274



ta en 10 ml de agua]

Diámetro de la columna: 4,85 cm

Altura de la columna: 149 cm

Velocidad de la corriente: 0,78 ml/minuto

5 Tiempo: 10 minutos

Tamaño de la fracción: 7,8 ml/tubo

	pico A	77-103 tubos
	pico B	104-128 "
	pico C	129-134 "
10	pico D	135-162 "
	pico E	163-189 "
	pico F	190-217 "
	pico G	218-227 "

El pico B contiene el ingrediente activo.

15 El volumen de elución de 104 tubos es 814 ml.

El volumen total del pico B es 188 ml.

Entre los picos D y E la reacción del cloro es positiva. El peso del liofilizado seco del pico B varía entre 0,43-0,53 g en el caso de aproximadamente 5 g de material de partida.

20

Identificación por filtración con gel:

Después de filtración con gel en Sephadex G-15 la sustancia tiene que aparecer en el eluato a $\sphericalangle 0,67 \pm 0,02 \sphericalangle x V_0$ si es detectada por absorción a 280 nm en solución acuosa. V_0 significa el volumen al cual la sal

25

405274



aparece en el eluato. [Reacción del cloro positiva].
El pico B se fracciona [rendimiento posterior] en una
columna Dowex 50x2 a pH 1,8.

5 Se introducen 301 mg de sustancia en solución
acuosa al 30% en una columna Dowex 50x2 de 132x1 cm, la
cual ha sido previamente equilibrada con una mezcla de
ácido fórmico-ácido acético a pH 1,8. Velocidad de la
corriente: 13 ml/hora. Tamaño de fracción: 4 ml. La frac-
ción es detectada a 280 nm. Se obtienen 9 picos de elu-
10 ción.

	Signo	Tubos	Peso /mg/
	A	9-12	8,4
	B	13-17	18,4
	C	18-23	64,4
15	D	24-29	5,2
	E	30-36	2,2
	F	37-42	0,5
	G	43-50	3,1
	H	51-47	7,3
20	I	58-80	6,8
			<hr/> 116,3 /38,6 %/

El ingrediente activo puede ser detectado en las
fracciones D, E y F.

25 Las fracciones antes mencionadas son aplicadas
a un papel de la marca Whatman 3 MM de 22 cm de ancho y

405274



sometidas a electroforesis a pH 1,8 y 1500 V durante 90 minutos:

5 El ingrediente activo es positivo a la ninhidrina y emigra uniformemente desde la línea de partida hacia el polo positivo /5 cm/ 90 min/-/1500 V/.

El producto aislado por medio de electroforesis se eluye con agua y se ensaya su actividad biológica. El rendimiento del producto aislado es de 0,01-0,02 calculado en el polvo de glándula seco.

10 La Litoralona obtenida de este modo puede ser considerada químicamente puro y su actividad biológica fue comprobada mediante los ensayos siguientes:

15 El peso de la glándula Harder de las ratas fue aumentado significativamente por una dosificación de 3g/120 g. Con la misma dosificación se disminuye significativamente el azúcar de la sangre. /Dosificación: s.c./

20 Con una dosificación de tabletas orales de 7 microgramos, 3 diarias se curaron los síntomas de Rino-laringofaringitis sicca en el hombre y aumentó significativamente la cantidad de AMP descargada en la orina.

Ejemplo 5

25 Después de llevar a cabo el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, el producto final liofilizado es sometido a una diálisis. Después de disolver 700 mg de la sustancia en 33 ml de agua destilada, se dializa en

405274



una membrana de diálisis marca Kalle 44. La diálisis se
lleva a cabo frente a 2 veces 100 ml y 13 veces 150 ml
de agua destilada, cambiándose la fase acuosa exterior ca-
da 3,5 horas; en las tres noches la fase acuosa debe ser
5 cambiada de 16 en 16 horas. La diálisis se lleva a cabo
a una temperatura de 5°C.

En la membrana se retienen 41 ml de la so-
lución (porción no dializada).

El producto liofilizado contiene 35 mg de una
10 sustancia seca. Al evaporar la fase exterior a 30°C en
vacío y liofilizar, se obtienen 662 mg de una sustancia
seca.

Ejemplo 6

Procediendo tal como se describe en el Ejem-
15 plo 1 y partiendo de 20 g de polvo de glándulas (liofili-
zado y no desengrasado) la solución acuosa liberada de
proteínas y de éter es evaporada en vacío hasta un tercio
de su volumen, después de lo cual es mezclada tres veces
con una mezcla de 1:1 (en volumen) de cloroformo y agua.
20 La capa acuosa es liberada de cloroformo bajo atmósfera
nitrógeno en vacío. La solución acuosa libre de clorofo-
mo es evaporada adicionalmente en vacío hasta un volumen
de 20 ml y se añade una cantidad 5 veces mayor de aceto-
na. La solución es dejada reposar durante la noche sobre
25 hielo. A partir de la fase acetónica casi incolora se se

405274



para una parte oleosa coloreada de amarillo. La solución acetónica es decantada y la sustancia oleosa de color amarillo es secada en vacío hasta que su peso sea constante. Se obtienen (A) 1,1 g de un concentrado resinoso.

5 La solución acetónica decantada es evaporada hasta sequedad en vacío. Se obtiene (B) 1 g de un concentrado resinoso.

Ejemplo 7

10 50 g de un polvo de glándulas liofilizado son desengrasados del modo descrito en el Ejemplo 1. Se obtienen 38 g de un polvo de glándulas desengrasado, los cuales son mezclados con 400 ml de una solución al 10% de urea, después de reposar durante 1 hora son añadidos a 400 ml de ácido acético glacial y 400 ml de acetona.

15 La mezcla es dejada reposar durante 1 hora y luego se añade una cantidad adicional de 1200 ml de acetona y 11,2 ml de una solución 1 N de hidróxido de sodio, se deja precipitar, y se filtra a través de una capa de tela metálica. Se añaden 2 litros de éter a la solución acetónica acuosa que contiene urea, que luego es dejada reposar durante la noche y decantada. La suspensión es centrifugada, lavada dos veces con 50 ml cada vez de una mezcla 1:1 de acetona-éter. El precipitado obtenido es mezclado con 200 ml de una solución al 10% de ácido acético

20 y es disuelto. A partir de la solución se obtiene un pre

25

405274



5 cipitado añadiendo 10 g de cloruro de sodio. El precipi-
tado es disuelto en 50 ml de agua. Es dializado 6 veces
cada vez con 2 litros de agua, el agua de dialización
agotada es decantada y el residuo es liofilizado. Se ob-
tienen 732 g de un concentrado sólido (sustancia C). La
sustancia retenida en la solución (197 ml) después de
precipitar con cloruro de sodio y de centrifugar, es tra-
tada con 40 ml de ácido tricloroacético al 45% y es cen-
trifugada. Luego la capa superior es dializada 4 veces
10 con 3 litros de agua cada vez, es evaporada en vacío y
liofilizada. Se obtienen 86 g de un concentrado (sustan-
cia D).

15 La presente solicitud, que corresponde a la
presentada en Hungría, el 4 de Agosto de 1.971, bajo el
Nº CI-1146, se acoge a los beneficios del artículo 51 del
vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

20

REIVINDICACIONES

25 Los puntos de invención propia y nueva que
se presentan para que sean objeto de esta solicitud de

3-9-73

- 47 -

405274



Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

5 1ª.- Un procedimiento para la preparación de hormonas que contiene concentrado o una mezcla de la nueva hormona (u hormonas) de litoralona producidas por la glándula paratiroides o por el cultivo de tejidos o celular de las mismas, caracterizado porque la glándula paratiroides aislada de mamíferos es secada y triturada, si se desea es desengrasada y, también si se desea es extraída con agua, y la solución así obtenida es liofilizada.

15 2ª.- Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1ª, caracterizado porque las proteínas o los polipéptidos que se encuentran en la glándula paratiroides son desnaturalizados, preferiblemente por tratamiento con ácido nitroso, óxido de etileno o formalina, etc.

20 3ª.- Un procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1ª-2ª caracterizado por la eliminación de proteínas y polipéptidos desde el extracto acuoso, preferiblemente por adición al extracto de agentes precipitantes de proteínas, tales como ácido tricloroacético, ácido sulfosalicílico, etc.

25 4ª.- Un procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1ª-3ª, caracterizado por la liofilización o precipitación del concentrado acuoso libre de proteínas,

405274



5 si se desea después de purificación adicional (por ejemplo filtración en gel), con lo cual las sustancias aisladas de los cultivos de tejidos y de células de la glándula paratiroides de mamíferos pueden ser utilizadas también para este fin además de la glándula paratiroides.

10 5ª.- Un procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1ª a 4ª, caracterizado por el hecho de que el componente activo que se encuentra en la solución acuosa que contiene hormonas es desdoblado en fracciones, preferiblemente por precipitación con disolventes orgánicos y/o por cromatografía, y/o por filtración en gel, y/o por diálisis, y/o por extracción, y/o por precipitación salina fraccionada, y/o por tratamiento con resinas intercambiadoras de iones.

15 6ª.- Un procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 4ª a 5ª, caracterizado porque la litoralona o fracciones de litoralona son purificadas mediante precipitación fraccionada, mediante extracción repetida o mediante cristalización.

20 7ª.- Un procedimiento para la preparación de una composición farmacéutica o preventiva, caracterizado porque la hormona, concentrado o mezcla que contiene litoralona, o una combinación de las mismas con otros productos farmacéuticos (tales como vitamina A, esteroides, etc.)
25 es formulada en la forma, por ejemplo, de tabletas, supo-

405274



sitorios, soluciones, ungüentos, mezclas de polvos o esteroides, por métodos de por sí conocidos.

v5 8ª.- Un procedimiento para la producción de preparados cosméticos caracterizado porque un concentrado o mezcla que contiene hormonas de litoralona es formulado en la forma, por ejemplo, de ungüentos, soluciones, cremas, emulsiones, mezclas de polvos y aerosoles, por métodos de por sí conocidos.

10 9ª.- Un procedimiento para la preparación de un concentrado o mezcla de hormonas.

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

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

Madrid,

P.A.

9 OCT. 1973

Alberto de Eizaburu
Per Redat

3-9-73

- 50 -