



ESPAÑA

Case VIR.1

**PATENTE DE INVENCION**

(10) ES	(11) NUMERO	(12) A1
(21)	44 88 42	
(22)	FECHA DE PRESENTACION	

(30) PRIORIDADES: (31) NUMERO	(32) FECHA	(33) PAIS
76 15734	25 Mayo 1976	Francia

29 ABR. 1977

(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(57) CLASIFICACION INTERNACIONAL	(62) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C08E/A61M	

(64) TITULO DE LA INVENCION

"PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UNA NUEVA RESINA ANIONICA CON ACTIVIDAD HIPOCOLESTEROLEMIZANTE"

(71) SOLICITANTE (ES)

Etablissement VIRIDIS

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

9490 VADUZ (Liechtenstein)

(72) INVENTOR (ES)

Renato De Simone

(73) TITULAR (ES)

Etablissement VIRIDIS

(74) REPRESENTANTE

D. JAIME ISERN CUYAS, Agente Oficial de la Propiedad Industrial

MEMORIA DESCRIPTIVA

El presente invento se refiere a una nueva resina de intercambio iónico para utilizarse en la terapia humana como agente hipocolesterolemizante.

5. Se sabe que las resinas de intercambio iónico han encontrado empleo en la cura de diversos estados patológicos como, por ejemplo: hiperazidez, prevención de la disminución de  $\text{Na}^+$  en el tracto gastroentérico, inducción de la disminución de  $\text{K}^+$ , tratamiento del edema nefrótico, pancreático, cardíaco, tratamiento de la úlcera, neutralización de la acidez gástrica, etc.

10. Obviamente cada estado patológico particular requiere una resina de particulares características químicas, elegida del grupo constituido por: resinas débilmente ácidas, resinas fuertemente ácidas, resinas débilmente básicas, resinas fuertemente básicas, partiendo siempre de la presunción de que se trata de resinas carentes de toxicidad para el organismo humano. Se sabe que el empleo de resinas de intercambio iónico se ha extendido también en estos últimos años a la cura de la hiperlipidemia.

15. En efecto, a niveles excesivamente altos de lípidos (esencialmente colesterol y triglicéridos) en el organismo se le atribuye la arteriosclerosis, el infarto cardíaco y la trombosis cerebral. Existe por tanto un problema de gran amplitud para el que no se ha encontrado hasta ahora, el fármaco resolutivo. Se sabe también que para reducir a niveles normales los lípidos es necesario actuar desde el exterior, excluyendo todos aquellos alimen

tos que son ricos en lípidos o que proporcionan el material para sintetizarlos y en parte actuar en el interior, impidiendo la acumulación en parte del organismo.

5. La resina de intercambio iónico de carácter básico actúan en este segundo modo, fijando a nivel intestinal, los ácidos biliares e interrumpiendo, por consiguiente, la recirculación entero-hepática con la consiguiente pérdida de colesterol.

10. Las resinas básicas utilizadas hasta ahora, esencialmente resinas amónicas o amínicas, tienen una capacidad de intercambio máxima alrededor de 3,5 meq/g cuyo valor es bastante bajo para un resultado óptimo.

15. Por otra parte, no es posible aumentar el contenido de grupos básicos de la resina y por tanto su poder de intercambio fuera de dicho límite.

20. Ahora se ha descubierto, y ello forma el objeto del presente invento, un nuevo tipo de resina de intercambio iónico, específicamente apta para fijar los ácidos biliares que disfrutando, no sólo de la propiedad química, sino también de la estructura física, logra reunir un grado más elevado de poder de intercambio y llevar los niveles lipídicos alterados a valores normales.

25. La nueva resina de intercambio de iones objeto del presente invento, se caracteriza por los elementos siguientes:

- estructura fundamentalmente estirólica reticulada con grupos activos amónicos (resina aniónica fuerte) o amínicos (resina aniónica débil), con porcentaje de reticulación comprendido entre 8 y 20%.

- elevada concentración de grupos activos, comprendida entre 15 y 30%.
- porosidad crítica según densidad de los poros comprendida entre 0,3-0,6 cc/g.
- 5. - porosidad crítica según la forma de los poros, específicamente apta para la absorción y la retención de sales biliares, con diámetro medio comprendido entre 150 y 200Å.

10. La nueva resina se prepara realizando las fases \* siguientes:

- 1.- Preparación de una matriz poliestirólica reticulada en presencia de un formador de poros.
- 2.- Aminación de la matriz poliestirólica porosa.

15. La fase 1 puede realizarse según diversas alternativas todas ellas empero caracterizadas por determinados elementos críticos, constantes, determinados por el hecho de que la cantidad y, sobre todo, la forma de los poros depende de:

- la naturaleza química y la estructura del formador de poros que debe tener una configuración espacial análoga a la de los esteroides, debe ser inerte en las condiciones de polimerización y fácilmente elimnable sin perjudicar el polímero de la polimerización,
- 20. - el porcentaje en peso del formador de poros sobre el peso de la mezcla de los monómeros,
- la velocidad de polimerización,
- el tipo de reticulante,
- 25. - el grado de reticulación.

- 1a La matriz de la resina se prepara copolimerizando estireno con un monómero reticulante elegido, de preferencia, del grupo constituido por: divinilbenceno, diviniltolueno, divinilnaftaleno, divinilxileno, diviniletilbenceno, trivinilbenceno y similares.
5. El comonómero preferido es el divinilbenceno.
- La cantidad de monómero reticulante debe estar comprendido entre 18 y 20% en peso sobre el peso total de la mezcla de los monómeros.
10. La polimerización se lleva a cabo en suspensión, suspendiendo la mezcla de los monómeros en un medio en el que sean prácticamente insolubles. Un medio apto es el medio acuoso en presencia de un dispersante como: sal de amonio de un copolímero estireno-anhídrido maleico, carboximetilcelulosa, bentonita o similares.
15. La polimerización es del tipo radicalico y se inicia mediante catalizadores elegidos, preferentemente, del grupo constituido por: lauroilperóxido, benzoilperóxido, terciobutilperóxido, peróxido de cumeno, acetilperóxido, etc.
20. La cantidad de catalizador requerido está ligada estrechamente al tipo de mezcla de los monómeros utilizada y puede variar entre 0,01 y 3%, de preferencia entre 0,5 y 2% en peso sobre el peso de los monómeros.
25. La polimerización se lleva a cabo en presencia del formador de poros que se elige del grupo constituido por: escualeno, parafina, sólida o líquida, esteroides hidrogenados, naftalina y compuestos similares con estructura espacial esteroidea y peso molecular comprendido entre

200 y 500.

5. La cantidad de agente formador de poros está comprendida, críticamente, entre 1,80 y 150% en peso. Los mejores resultados se han obtenido hasta ahora utilizando en calidad de agente formador de poros escualeno y utilizando una relación ponderal de 1:1 con respecto a la mezcla de los monómeros.

10. Una vez finalizada la polimerización se separa el agente formador de poros mediante extracción sucesiva con disolvente orgánico apropiado, eventualmente en caliente. Se obtienen buenos resultados con alcohol etílico.

15. La velocidad de polimerización debe regularse entre límites muy estrechos, dependiendo del tipo y porcentaje de monómero reticulante y del tipo y porcentaje del agente formador de poros.

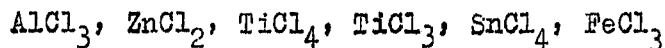
20. 1b La resina estirólica preparada según el procedimiento descrito en el párrafo precedente 1a, se modifica mediante introducción de un grupo fácilmente atacable por un compuesto amínico. De preferencia un grupo de esta índole es el grupo clorometílico.

La reacción de clorometilación se realiza mediante clorometil-metiléter o mediante bis-clorometil-éter.

25. Para la obtención de una resina de intercambio iónico final con un elevado contenido de grupos activos, comprendido en los límites indicados de 15 a 30%, es necesario introducir un fuerte porcentaje de grupos clorometílicos, comprendido en la proximidad del propio límite.

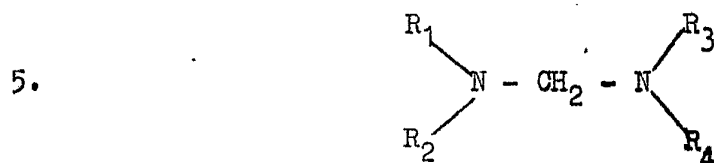
Para obtener este resultado la reacción de clorometilación debe llevarse a cabo en presencia de un ca-

talizador de tipo ácido de Lewis elegido del grupo constituido por:



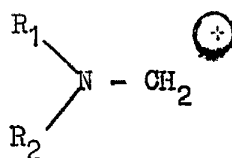
5. La matriz de la resina se prepara copolimerizando cloruro de vinilbencilo con un monómero reticulante elegido, de preferencia, del grupo constituido por: divinilbenceno, diviniltolueno, divinilnaftaleno, divinilxileno, diviniletilbenceno, trivinilbenceno y similares.
- El comonómero preferido es el divinilbenceno.
10. Todas las demas condiciones de polimerización son idénticas a cuanto se ha indicado en el párrafo 1a precedente.
- De este modo el polímero clorometilado se obtiene directamente en fase de polimerización con el porcentaje deseado de grupos clorometílicos. Para regular este porcentaje en los límites deseados comprendidos entre 15 y 30% se puede sustituir totalmente o sólo parcialmente, el estireno con cloruro de vinilbencilo en el procedimiento de copolimerización.
- 15.
20. La fase 2 de aminación de la matriz estirólica, o sea la fase de activación de la resina mediante introducción de los grupos reactivos al intercambio iónico, puede llevarse a cabo según diversas alternativas dependientes asimismo del tipo de polímero tratado y del tipo de grupo amínico que se desea introducir.
25. Sin embargo, esta fase puede variar sólo desde un punto de vista químico, por cuanto que la estructura química de la resina se fija en la primera fase de preparación y ya no se modifica.

2a La resina estirólica porosa obtenida según 1a, se somete a un procedimiento de amino-metilación por reacción con diamina del tipo



en donde  $R_1, R_2, R_3, R_4$  iguales o distintos entre sí son grupos alquílicos con 1 a 4 átomos de carbono.

10. Esta diamina en condiciones apropiadas (temperatura alrededor de 100°C y presión de unas 3 atm.) liberan el ión



15. capaz de reacción con los átomos de hidrógeno libres sobre el anillo estirólico.

20. Los grupos metilamínicos así enlazados a la matriz polimérica pueden alquilarse ulteriormente hasta alcanzar el grado máximo de sustitución del azufre (azufre cuaternario) con los agentes alquilantes comunes como sulfato de dimetilo y cloruro, bromo o yoduro de metileno.

25. 2b La resina estirólica modificada obtenida como se ha descrito en el párrafo 1b, se activa mediante reacción con amoníaco, con una dialquilamina o con una trialquilamina que se fija sobre el grupo clorometílico.

Los productos que contienen los grupos amínicos libres o dialquilamínicos pueden alquilarse ulteriormente hasta alcanzar el grado máximo de sustitución del azufre con los agentes comunes alquilantes.

Realizando esta alternativa del procedimiento, se puede alcanzar una concentración de grupos activos mayor que en el caso precedente y comprendida entre 25 y 30%.

5. 2c La resina estirólica obtenida según el procedimiento 1c se activa mediante introducción de grupos amínicos o amónicos, exactamente tal como se ha descrito en el párrafo 2b.

10. En resumen, la nueva resina según el invento, tiene las siguientes características críticas:

- concentración de los grupos activos 15-30%
- capacidad de intercambio 3,9-6 meq/g
- porcentaje de reticulación 8-20%
- diámetro medio de los poros unos 150-200 Å
- 15. - superficie específica 70-100 m<sup>2</sup>/g
- porosidad 0,4-0,6 cc/g
- densidad efectiva 0,9-1,1 g/cc
- densidad aparente 0,5-0,6 g/cc
- granulometría 60-80 mallas

20. Con el fin de aclarar mejor cuanto se ha expuesto se ofrecen algunos ejemplos preparativos que tienen carácter ilustrativo y no limitativo del invento.

#### EJEMPLO 1

25. Se suspende, con agitación, una mezcla de 33,3 partes en peso de estireno, 16,7 partes de vinilbenceno (DVB) con un título del 60% y 50 partes en peso de escualeno, en una solución acuosa de gelatina al 20% en peso.

A la suspensión se le adiciona 1 parte de bentonita y, como catalizador, 0,2 partes de peróxido de lau-

roilo.

Se calienta la suspensión durante 40 horas a 65°C y luego durante 10 horas a 90°C.

5. Se lava cuidadosamente la perla opaca así obtenida, luego se extrae el escualeno con alcohol etílico en soxelet. A la extracción le sigue destilación con vapor y luego se seca en un circuito neumático. Se trata una parte del producto seco con cinco partes de clorometilmetiléter y dos de cloruro de zinc a la temperatura
10. de 50°C durante 7 horas hasta obtenerse un producto con un contenido en Cl del 19%.

A continuación se vierte la mezcla en 20 partes de H<sub>2</sub>O y se neutraliza con una solución acuosa concentrada de NaOH.

15. Se seca el clorometilado intermedio, se entumece con toluol (22% en peso) y se trata con 3 partes de una solución acuosa de trimetilamina al 70%, a la temperatura de 80°C, en una autoclave a presión durante 5 horas.

20. Luego se lava el producto primero con agua y luego con una solución al 5% de NaCl.

Se obtiene una resina de intercambio aniónico con las características siguientes:

- |     |                               |                      |
|-----|-------------------------------|----------------------|
|     | - porcentaje de reticulación  | 11,3                 |
|     | - capacidad de intercambio    | 3,9 meq/g            |
| 25. | - diámetro medio de los poros | unos 200 Å           |
|     | - superficie específica       | 70 m <sup>2</sup> /g |
|     | - porosidad                   | 0,4 cc/g             |
|     | - densidad efectiva           | 1,10 g/cc            |
|     | - densidad aparente           | 0,54 g/cc            |

- granulometría 60 - 80 mallas.

EJEMPLO II

Llevando a cabo la polimerización como en el ejemplo I, pero utilizando una relación monómero/agente formador de poros (1,2:1) y una composición formadora de poros constituida por: 70 partes de escualeno, 20 partes de n-octanol y 10 partes de parafina (42-45°C), se obtiene una resina con las características siguientes:

- porcentaje de reticulación 11,3
- 10. - capacidad de intercambio 4,5 meq/g
- diámetro medio de los poros unos 190 Å
- superficie específica 85 m<sup>2</sup>/g
- porosidad 0,6 cc/g
- densidad efectiva 1,11 g/cc
- 15. - densidad aparente 0,50 g/cc
- granulometría 60-80 mallas

EJEMPLO III

- Se prepara una matriz poliestirénica exactamente tal como se ha descrito en el ejemplo II. Sin embargo, en la fase de clorometilación se utiliza en calidad de catalizador FeCl<sub>3</sub> en lugar de ZnCl<sub>2</sub>, en la misma relación ponderal. Se obtiene un clorometilado intermedio que contiene 25% de Cl. Este intermediario se amina con una cantidad de dimetilamina (solución al 60%) igual a 60% en peso sobre el producto clorometilado en presencia de NaOH (100 %), a la temperatura de 140°C a 10 atm. durante 3 horas.

Se obtiene una resina con las características siguientes :

	- porcentaje de reticulación	11,3
	- capacidad de intercambio	5,7 meq/g
	- diámetro medio de los poros      unos	200 Å
	- superficie específica	85 m <sup>2</sup> /g
5.	- porosidad	0,06 cc/g
	- densidad efectiva	1,12 g/cc
	- densidad aparente	0,50 g/cc
	- granulometría	60-80 mallas

10.            Para demostrar la capacidad de la nueva resina del invento de eliminar los ácidos biliares presentes en el intestino y, por consiguiente, de interrumpir el ciclo entero-hepático de los lípidos, se han llevado a cabo algunas pruebas in vitro e in vivo, en comparación con una resina conocida.

15.            Los resultados se exponen a continuación.

Se utilizaron las resinas preparadas según el ejemplo 2 y el ejemplo 3, identificadas respectivamente con las siglas SSC<sub>1</sub> y SSC<sub>2</sub>.

20.            En calidad de resina comparativa se utilizó la Colestiramina, con las características siguientes, que puede considerarse el mejor producto actualmente disponible :

	porcentaje de reticulación	2
	capacidad de intercambio	3,2 meq/g
25.	densidad efectiva	1,07 g/cc

La resina carece de porosidad.

1. - Ligamento in vitro del colato de sodio a Colestiramina, SSC<sub>1</sub> y SSC<sub>2</sub>.

Se preparan tres cubetas conteniendo cada una

5. 20 cc de Na-Colato a la concentración de 2 mg/cc en tampón fosfato 0,02 M (pH6); a cada cubeta se adiciona 1 cc de H<sub>2</sub>O y concentraciones en aumento de las 3 resinas. Después de agitarse durante 30 minutos a 25<sup>a</sup> se filtra el contenido de la cubeta y se dosifica el ácido cólico del filtrado en mg total con métodos espectrofotométricos después de reaccionar con ácido sulfúrico (Kier y col, J. Clin. Invest. 40.755, 1952).

10. En la Tabla 1 se exponen los resultados obtenidos como media de 10 pruebas efectuadas por cada resina.

TABLA I

mg de resina seca	20	40	60	80	100
15. Colestiramina	19 ± 0,8	12 ± 0,6	8 ± 0,2	6 ± 0,2	4 ± 0,8
SSC <sub>1</sub>	12 ± 0,4 <sup>++</sup>	4 ± 0,5 <sup>++</sup>	ND	ND	ND
SSC <sub>2</sub>	11 ± 0,3 <sup>+</sup>	8 ± 0,2 <sup>+</sup>	1 ± 0,2 <sup>+</sup>	ND	ND

ND = ácido cólico no dosificable

20. + B < 0,05 frente a Colestiramina

++ P < 0,01 " "

25. A partir de los valores que preceden resulta evidente que las nuevas resinas SSC<sub>1</sub> y SSC<sub>2</sub> fijan in vitro mas Colato de sodio de la Colestiramina con igual peso en seco.

2. - Eliminación in vivo del colato de sodio con Colestiramina, SSC<sub>1</sub> y SSC<sub>2</sub>.

Ratas machos de 150 g de peso de tipo Wistar se sometieron a una dieta estándar conteniendo 1%

de colesterol y 0,50 % de colato de sodio.

Las ratas se dividieron en 4 grupos de 6 cada uno.

5. En el primer grupo las ratas recibieron solo la dieta estandard, en el segundo grupo también la resina Colestiramina, en el tercer grupo la resina SSC<sub>1</sub> y en el cuarto grupo la resina SSC<sub>2</sub>.

10. Todas las resinas utilizadas se administraron per os con dosis de 800 mg/kg en dos administraciones por día.

15. Después de 7 días del inicio del tratamiento se suministró a las ratas, al atardecer y durante 3 días, mediante sonda gástrica, una solución de Na colato disuelto en tampón fosfato conteniendo 10 cc de colato y 0,1 micra de C de Na colato C<sup>14</sup>.

Las ratas se transfirieron en jaulas metabólicas individuales y se recogieron las defecaciones para medir la radioactividad durante 3 días a partir del inicio del tratamiento con Na-Colato C<sup>14</sup>.

20. La radioactividad fecal se controló cotidianamente y los resultados se expresan en tanto por ciento de los controles.

25. Con la Colestiramina se evidenció al primer día un aumento del 80% de la radioactividad presente con respecto a los controles. El porcentaje de aumento fué del 84% y del 87% en los dos días sucesivos.

Con la SSC<sub>1</sub> el aumento de excreciones de radioactividad en los tres días fué del 126, 144 y 163%.

Con la SSC<sub>2</sub> estos valores fueron del 138, 151,

149%. El análisis estadístico de los datos demuestra que estas diferencias de las dos resinas con respecto a la colestiramina son altamente significativas.

5. Las pruebas llevadas a cabo en clínica han confirmado los resultados obtenidos en las pruebas de laboratorio, ofreciendo todavía más marcada la superioridad de la nueva resina con respecto a la Colestiramina.

10. La prueba de toxicidad llevada a cabo sobre la resina preparada según los ejemplos 1, 2 y 3 ha indicado que la  $DL_{50}$  no es determinable.

Las dosis terapéuticas están comprendidas entre 15 y 20 g/día con una administración de 5-7 g una hora antes de la comida.

15.

#### REIVINDICACIONES

Déscribo el objeto del presente invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones con prioridad de la solicitud de patente francesa núm. 76 15734 de 25 de mayo de 1976.

20.

1.- Procedimiento para la preparación de una nueva resina aniónica con actividad hipocolesterolemizante, constituida por una matriz poliestirólica reticulada, conteniendo grupos activos metilamínicos y/o metilamónicos, caracterizado porque para su realización en una primera fase, se prepara una matriz poliestirólica reticulada en presencia de un agente formador de poros de estructura espacial esteroidea, y, en una segunda fase del proceso, se amina la matriz poliestirólica porosa, para constituirse la resina de intercambio iónico que tiene:

25.

- |    |                                 |                           |
|----|---------------------------------|---------------------------|
|    | capacidad de intercambio        | 3,9-6 meq/g               |
|    | concentración de grupos activos | 15 - 30 %                 |
|    | porcentaje de reticulación      | 8 - 20 %                  |
|    | porosidad                       | 0,4-0,6 cc/g              |
| 5. | diámetro medio de los poros     | 150-200 Å aprox.          |
|    | densidad efectiva               | 0,9-1,1 g/cc              |
|    | densidad aparente               | 0,5-0,6 g/cc              |
|    | granulometría                   | 60 - 80 mallas            |
|    | superficie específica           | 70 -100 m <sup>2</sup> /g |
10.                   2.- Procedimiento, de conformidad con la rei  
vindicación 1, caracterizado en su realización porque en  
la primera fase se prepara una matriz poliestirólica con  
reticulación comprendida entre 8 y 20%.
- 3.- Procedimiento, de conformidad con la rei-  
vindicación 1, caracterizado porque en calidad de agente  
formador de poros se utiliza un producto o una mezcla de  
productos de estructura especial esteroides elegida del  
grupo constituido por: escualano, parafina sólida o lí -  
quida, esteroides hidrogenados, naftalina, con peso mole  
20.                   cular comprendido entre 200 y 500.
- 4.- Procedimiento, de conformidad con la rei  
vindicación 1, caracterizado porque el agente formador de  
poros se utiliza en una cantidad comprendida entre 1,80  
y 150% en peso sobre el peso de los monómeros.
25.                   5.- Procedimiento, de conformidad con la rei-  
vindicación 1, caracterizado porque una vez ultimada la  
primera fase se separa el agente formador de poros me -  
diante extracción repetida del disolvente orgánico iner-  
te apropiado.

6.- Procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque en la segunda fase de su realización, la matriz poliestirólica porosa, que no contiene grupos activos, se amina mediante reacción con alquilendiamina.

5.

7.- Procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la matriz poliestirólica porosa que contiene grupos activos se amina mediante reacción con amoníaco, amina primaria y secundaria.

10.

8.- Procedimiento, de conformidad con la reivindicación 6 y 7, caracterizado porque la matriz poliestirólica porosa aminada se alquila ulteriormente con agentes alquilantes.

15.

9.- Procedimiento para la preparación de una nueva resina aniónica con actividad hipocolesterolemizante.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 17 hojas foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

20.

Madrid, a 14 Junio 1976

p.a.

JAMIE AMELIN

P. P.

Firmado: JOSÉ L. MORA