

MINISTERIO DE INDUSTRIA
REGISTRO DE L. PROPIEDAD INDUSTRIAL



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

19 ES	11 460653	10 A1
21	22	FECHA DE PRESENTACION

PATENTE DE INVENCION

30 PRIORIDADES: 31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
704.585	12 de julio de 1976	NORTEAMERICA
47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C07H//A61K	
54 TITULO DE LA INVENCION		
PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR POLI(H-)SULFATOS DE POLIGALACTOSIDO-SUCROSA.		
71 SOLICITANTE (S)		
AMERICAN CYANAMID COMPANY.		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE		
Wayne, New Jersey, EE.UU. de A.		
72 INVENTOR (ES)		
Vijay Gopalan Nair, Joseph Peter Joseph, Seymour Bernstein.		
73 TITULAR (ES)		
74 REPRESENTANTE		
D. JOSE MIGUEL GOMEZ-ACEBO Y POMBO		

La presente invención se relaciona con un procedimiento para preparar ciertos poli(H-)sulfatos de poligalactósido-sucrosa y sus sales, útiles como inhibidores del sistema de complemento en animales de sangre caliente.

5 Galactósidosucrosas tales como rafinosa, estaquiosa, verbascosa y ajugosa son bien conocidas. Además, son conocidos mono- y trisulfatos de estaquiosa, sin embargo, no se ha dado a conocer ninguna utilidad para tales sulfatos, J. Pharm. Sec. Japan, 87: 1052-1056 (1967). El trisulfato de estaquiosa, preparado de acuerdo con la publicación japonesa precedente, ha sido ensayado en relación con la actividad de complemento utilizando los ensayos dados a conocer aquí y demostró carecer de actividad inhibidora de complemento. Ciertos polisacáridos sulfatados han sido registrados como que tienen actividad inhibidora de complemento, por ejemplo, heparina, J. Infect. Dis. 44: 250-253 (1929); carrageenina, Immunology, 8: 291 (1965); y polisulfo éster de pentosana, Chemical Abstracts, 75: 33179s (1971). Sin embargo, no se conoce ningún arte que de a conocer actividad anticomplementaria para las sales de polisulfato de galactósidosucrosa de la presente invención.

20 La expresión "complemento" se refiere a un grupo complejo de proteínas en fluidos del cuerpo que, actuando juntamente con anticuerpos u otros factores, juegan un papel importante como mediadores de reacciones inmunes, alérgicas, inmunológicas y/o inmunopatológicas. Las reacciones en que el complemento participa tienen lugar en suero sanguíneo u otros fluidos del cuerpo y, por lo tanto, son consideradas como reacciones humorales.

30 Con relación a la sangre humana, hay actualmente más de 11 proteínas en el sistema de complemento. Estas proteínas

de complemento son designadas por la letra C y por un número: C1, C2, C3 y así seguidamente hasta C9. La proteína de complemento C1 es en realidad un conjunto de subunidades designadas C1q, C1r y C1s. Los números asignados a las proteínas de complemento reflejan la sucesión en que se vuelven activas, con la excepción de la proteína de complemento C4, que reacciona después de C1 y antes de C2. Las asignaciones numéricas para las proteínas en el sistema de complemento se hicieron antes de comprenderse totalmente la sucesión de reacción. Una descripción más detallada del sistema de complemento y su papel en procedimientos del cuerpo puede hallarse en, por ejemplo, Bull. World Health Org., 39, 935-938 (1968); Scientific American, 229, (Nº 5), 54-66 (1973); Medical World News, Octubre 11, 1974, pp. 53-58; 64-66; Harvey Lectures, 66, 75-104 (1972); The New Journal England of Medicine, 287, 489-495; 545-549; 592-596; 642-646 (1972); The Johns Hopkins Med. J., 128, 57-74 (1971); y Federation Proceedings, 32, 134-137 (1973).

El sistema de complemento puede considerarse como que consiste en tres subsistemas: (1) una unidad de reconocimiento (C1q) que permite que se combine con moléculas de anticuerpo que han detectado un invasor extraño; (2) una unidad de activación (C1r, C1s, C2, C4, C3) que prepara un sitio en la membrana vecina; y (3) una unidad de ataque (C5, C6, C7, C8 y C9) que crea un "agujero" en la membrana. La unidad de ataque de membrana es no-específica; destruye invasores solamente por que es generada en su vecindad. De manera de reducir el daño a las células mismas del huésped, su actividad debe limitarse con el tiempo. Esta limitación se logra parcialmente mediante la descomposición espontánea de complemento activado y parcialmente mediante interferencia por inhibidores y enzimas destruc

toras. El control de complemento, sin embargo, no es perfecto, y existen veces en donde se producen daños a las células del huésped. La inmunidad por lo tanto es una espada de doble filo.

5 La activación del sistema de complemento también acelera la coagulación de la sangre. Esta acción ocurre por medio de la liberación mediada por complemento del factor coagulante de las plaquetas. Los fragmentos y complejos de complemento biológicamente activo pueden volverse involucrados en reacciones que dañan las células del huésped, y estas reacciones patógenas pueden resultar en el desarrollo de enfermedades immuno-complejas, Por ejemplo, en algunas formas de nefritis el complemento daña la membrana basal del riñón, resultando en el escape de proteína desde la sangre a la orina. La enfermedad lupus eritematoso diseminado pertenece a esta categoría; sus síntomas incluyen nefritis, lesiones viscerales y erupciones en la piel. El tratamiento de difteria o tétano con la inyección de grandes cantidades de antitoxinas resulta a veces en enfermedades del suero, una afección immune-compleja. Artritis reumática también involucra complejos inmunes. Igual que lupus eritematoso diseminado es una afección autoinmune, en donde los síntomas de la enfermedad son provocados por efectos patológicos del sistema inmune en los tejidos del huésped. En resumen, el sistema de complemento ha demostrado estar involucrado con inflamación, coagulación, fibrinólisis, reacciones de anticuerpo-antígeno y otros procedimientos metabólicos.

10

15

20

25

En presencia de complejo de anticuerpo-antígeno las proteínas de complemento se encuentran involucradas en una serie de reacciones que pueden llevar al daño irreversible de membrana si ocurren en la vecindad de membranas biológicas. De

30

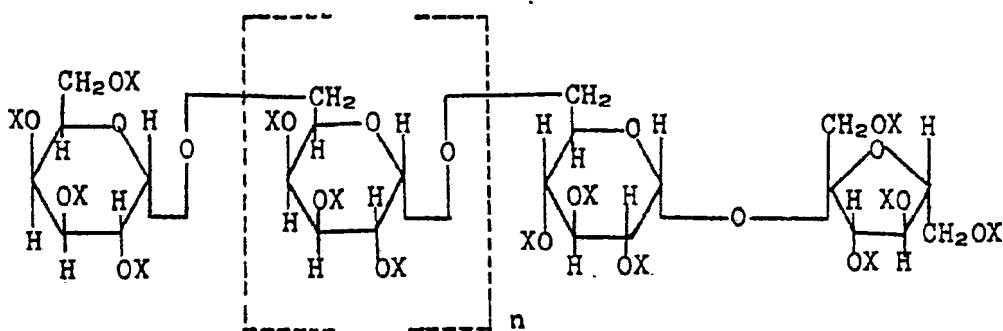
este modo, si bien el complemento constituye una parte del mecanismo de defensa del cuerpo contra infecciones también resulta en inflamaciones y daños de tejido en el procedimiento inmunopatológico. La naturaleza de ciertas proteínas de complemento, sugerencias con relación al modo de unión de complemento a membranas biológicas y la manera en que el complemento afecta el daño a membrana son tratadas en Anual Review in Biochemistry, 38, 389 (1969).

Se ha informado que los conocidos inhibidores de complemento ácido epsilon-aminocaprónico, Suramina Sódica y ácido tranexámico han sido utilizados con éxito en el tratamiento de edema antineurótica hereditaria, un estado de enfermedad que resulta de una deficiencia heredada o carencia de función del inhibidor de suero del primer componente activado de complemento (inhibidor C1), The New England Journal of Medicien, 286, 808-812 (1972); Allergol, Et, Immunopath, II, 163-168 (1974); y J. Allergy Clin. Immunol., 53, Nº 5, 298-302 (1974).

Ahora se ha descubierto un procedimiento para preparar ciertas sales de poli(H-)sulfato de poligalactósido-sucrosa que interaccionan con la sucesión de reacción de complemento, inhibiendo así la actividad de complemento en fluidos del cuerpo.

La presente invención se refiere a un procedimiento para preparar particularmente todas las sales farmacéuticamente aceptables de poli(H-)sulfato de poligalactósido-sucrosa que tienen actividad inhibidora de complemento, de fórmula general:

5



10

en donde X es $-\text{SO}_3\text{R}$; R es hidrógeno, metal alcalino, metal alcalinotérreo y aminas tales como amonio y amoniaco substituido seleccionado del grupo que comprende trialquilaminas (C_1-C_6); piperidinas, piracinas; cicloalcanolaminas (C_3-C_6); alcanolaminas (C_1-C_6); y \underline{n} es 0 a 7. Por ejemplo, cuando $\underline{n} = 0$, rafinosa; $\underline{n} = 1$, estaquiosa; $\underline{n} = 2$, verbascosa y $\underline{n} = 3$, ajugosa. Los compuestos obtenidos por la presente invención están completamente sulfatados y solo compuestos completamente sulfatados están abarcados por la misma.

15

20

25

30

Salas representativas de poli(H-)sulfato de poligalactósido-sucrosa dentro del alcance de la presente invención, incluyen, por ejemplo sal de trietilamina de poli(H-)sulfato de rafinosa; sal de trimetilamina de poli(H-)sulfato de rafinosa; sal sódica de poli(H-)sulfato de rafinosa; sal de trietilamina de poli(H-)sulfato de estaquiosa; sal de trimetilamina de poli(H-)sulfato de estaquiosa; sal sódica de poli(H-)sulfato de estaquiosa; sal sódica de poli(H-)sulfato de verbascosa; sal de trimetilamina de poli(H-)sulfato de verbascosa; sal de trietilamina de poli(H-)sulfato de verbascosa; sal sódica de poli(H-)sulfato de ajugosa; sal de trimetilamina de poli(H-)sulfato de ajugosa; y sal de trietilamina de poli(H-)sulfato de

ajugosa.

La presente invención también proporciona paralela-
mente un método para inhibir el sistema de complemento en un
fluido del cuerpo, tal como suero sanguíneo, que comprende so-
meter al complemento del fluido del cuerpo a la acción de una
5 cantidad efectiva inhibidora del complemento de una sal de po-
li(H-)sulfato de poligalactósido-sucrosa. El aspecto del méto-
do de uso de la presente invención se refiere además a un méto-
do para inhibir el sistema de complemento en un animal de san-
10 gre caliente que comprende administrar internamente a dicho ani-
mal una cantidad efectiva inhibidora del complemento de una sal
de poli(H-)sulfato de poligalactósido-sucrosa. El fluido del
cuerpo puede incluir sangre, plasma, suero, fluido sinovial,
fluido cerebroespinal, o acumulaciones patológicas de fluidos
15 tales como efusión pleural, etc.

Las sales de poli(H-)sulfato de poligalactósido-su-
crosa de la presente invención hallan utilidad como inhibido-
res del complemento en fluidos del cuerpo y como tales pueden
utilizarse para reducir o evitar aquellas reacciones patológi-
cas que requieren la función de complemento y en el tratamien-
to terapéutico de animales de sangre caliente que tienen enfer-
20 medades inmunológicas tales como artritis reumática, lupus eri-
tematoso sistémico, ciertas clases de glomerulonefritis, cier-
tas clases de anemia hemolítica autoalérgica, ciertas clases
de desórdenes de plaquetas y ciertas clases de vasculitis. Las
25 sales de poli(H-)sulfato de poligalactósido-sucrosa también
pueden utilizarse en el tratamiento terapéutico de animales de
sangre caliente que tienen enfermedades no-inmunológicas tales
como hemoglobinurea nocturna paroxismal, edema angioneurótica
hereditaria (tales como Suramina Sódica, etc.) y estados infla-
30

matorios inducidos por la acción de enzimas bacterianas o lisosomales en los componentes apropiados de complemento como por ejemplo, inflamación que sigue a oclusión coronaria. También pueden ser útiles en el tratamiento de rechazo de trasplante y como medios de cultivo y transporte y como medio de cultivo y transporte de sangre.

El procedimiento de la presente invención para preparar dichos compuestos, se describe seguidamente.

Sulfatación: Procedimiento (A)

Una mezcla de la poligalactósido-sucrosa apropiada y del complejo de amina-azufre deseado, por ejemplo complejo de trióxido de trietilamina-azufre, en dimetilformamida seca, se calienta a una gama de 50°-90°C, durante un periodo de 20-24 hr. La solución se enfría y se agrega un exceso de acetona. El disolvente se decanta del producto separado y después de la purificación adicional se disuelve en cloruro de metileno y se evapora en vacío.

Procedimiento (B)

Una cantidad de la poligalactósido-sucrosa apropiada se agrega a una solución agitada del complejo de amina-azufre apropiado, por ejemplo complejo de trióxido de trimetilamina-azufre, mantenido a 65°-75°C. Al separarse el producto, la agitación se interrumpe y el calentamiento se continúa durante 20-24 hr. Al enfriarse, el disolvente se decanta y se realiza una purificación adicional con dimetilformamida seguido por trituración con alcohol etílico absoluto. El producto se recoge por filtración y se lava con alcohol absoluto seguido por éter dietílico anhidro y luego se deseca.

Sales de Metales Alcalinos o Alcalinotérreos

La sal apropiada, por ejemplo, la sal de trietil-

trimetilamonio, de la poligalactósido-sucrosa apropiada se disuelve en agua y se hace reaccionar con una solución acuosa al 30 % de un metal alcalino o alcalinotérreo tal como acetato de sodio o acetato de calcio. La adición de alcohol etílico absoluto se utiliza para asegurar la precipitación completa del producto que se purifica adicionalmente con etanol absoluto. La etapa de precipitación se repite y una purificación con etanol absoluto y éter dietílico anhidro proporciona el producto deseado, el cual se deseca.

Los siguientes ejemplos describen en detalle el procedimiento de preparación y formulación del compuesto representativo de la presente invención.

EJEMPLO 1

Sal de Trietilamina de Poli(H-)sulfato de Rafinosa

Una mezcla de 750 mg de pentahidrato de rafinosa y 3,6 g de complejo de trióxido de trietilamina-azufre se disuelve en 10 ml de dimetildormamida seca, con agitación a 50°-55°C, durante un período de 24 hr. La solución se enfría a temperatura ambiente y se agrega a la misma un gran exceso de acetona (aproximadamente 150 ml) con la separación de una goma espesa. La acetona se separa por decantación y el producto se tritura con acetona varias veces con decantación del solvente. El producto finalmente se disuelve en cloruro de metileno y luego se evapora en vacío. Se utiliza un elevado vacío para eliminar los últimos vestigios del disolvente a partir de la goma espesa incolora que es el producto del ejemplo.

EJEMPLO 2

Sal de Trimetilamina de Poli(H-)sulfato de Rafinosa

Una porción de 3,78 g de rafinosa se agrega a una solución agitada de 13,76 g de complejo de trióxido de trimetil-

amina-azufre en 150 ml de dimetilformamida mantenida a 75°C. En unos pocos minutos el azúcar se disuelve y la solución clara se calienta a 75°C durante aproximadamente 24 hr, una goma espesa incolora se separa durante este tiempo. La mezcla luego se enfría y la dimetilformamida se separa por decantación. El producto se tritura con dimetilformamida adicional y este disolvente se separa por decantación. La goma se tritura luego con alcohol etílico absoluto para formar un sólido granular que se filtra y se lava copiosamente con etanol absoluto seguido por éter dietílico anhidro para proporcionar un cristal incoloro como el producto del ejemplo.

EJEMPLO 3

Sal de Sodio de Poli(H-)sulfato de Rafinosa

Una porción de 1,5 g de sal de trietilamina de poli(H-)sulfato de rafinosa (preparada como en el Ejemplo 1) se disuelve en 5 ml de agua destilada, luego se agrega 10 ml de una solución acuosa al 30 % de acetato de sodio, luego se agrega alcohol etílico absoluto hasta que se completa la precipitación (se deposita como un sólido pegajoso). El líquido se separa por decantación y la goma se redissuelve en agua y se agrega 5 ml de la solución de acetato de sodio al 30 % seguido por la adición de alcohol etílico absoluto. La solución de etanol acuosa se decanta y la goma se tritura luego con etanol absoluto para proporcionar un sólido granular incoloro que se filtra y se lava varias veces con alcohol etílico absoluto, seguido por éter dietílico anhidro. El producto final del ejemplo se seca en vacío para proporcionar un polvo incoloro que se almacena en un desecador.

EJEMPLO 4

Sal de Trietilamina de Poli(H-)sulfato de Estaquiosa

Una porción de 666 mg de estaquiosa se disuelve en 10 ml de dimetilformamida seca, luego se agrega 3,24 g de complejo de trióxido de trietilamina-azufre y la mezcla se agita a 90° C aproximadamente durante 24 hr aproximadamente. La mezcla de reacción se enfría y se agrega acetona, obteniéndose la separación de una sustancia gomosa. Todo el disolvente se separa por decantación y la goma se disuelve en cloruro de metileno. Este disolvente se evapora luego en vacío para proporcionar el producto del Ejemplo como un material vitreo castaño pálido que se deseca.

EJEMPLO 5

Sal de Trimetilamina de Poli(H-)sulfato de Estaquiosa

Una porción de 55,0 g de complejo de trióxido de trimetilamina-azufre se agrega a 350 ml de dimetilformamida seca, la mezcla se calienta con agitación en un baño de aceite mantenido a 75° C. Se obtiene una solución clara en unos pocos minutos que se enfría levemente, luego se agrega 15,76 g de tetrahidrato de estaquiosa y la mezcla resultante se calienta en un baño de aceite a 65° C (se fija un tubo secador al matraz de manera de excluir humedad). El azúcar se disuelve gradualmente resultando en una solución clara que, en unos pocos minutos, se vuelve gradualmente nebulosa y se separa un aceite espeso. Es necesario interrumpir la agitación en este momento, sin embargo, el calentamiento se continúa durante un total de 20 hr. Se separa y se deposita en el matraz una goma espesa, la dimetilformamida se separa por decantación y la goma se tritura luego con dos porciones de 50 ml de dimetilformamida que también se decanta. El producto se agita luego con 400 ml de alcohol etílico absoluto y la goma gradualmente se convierte en un sólido cristalino incoloro. El sólido se filtra rápidamente y se

lava copiosamente con etanol absoluto y finalmente tres veces con éter dietílico anhidro. El producto del ejemplo se coloca luego en un desecador.

EJEMPLO 6

Sal de Sodio de Poli(H-)sulfato de Estaquiosa

5 Una porción de 71,0 g de sal de trimetilamina de poli(H-)sulfato de estaquiosa (preparada como en el Ejemplo 5) se disuelve en 100 ml de agua destilada y se agrega a la misma 125 ml de una solución acuosa al 30 % de acetato de sodio. La
10 solución se filtra hasta estar libre de cualquier impureza suspendida. El filtrado se deja reposar durante aproximadamente 10 minutos y luego se agrega aproximadamente 250 ml de alcohol etílico absoluto para provocar la separación de una goma espesa. Después de dejar reposar durante unos pocos minutos, se
15 agrega etanol absoluto adicional para asegurar la precipitación completa del producto. El líquido sobrenadante claro se separa por decantación y el producto gomoso que permanece se tritura con alcohol etílico absoluto para proporcionar gradualmente un sólido granular incoloro que se filtra y se lava copiosamente con etanol absoluto seguido por éter dietílico anhidro. El sólido obtenido se redisuelve en aproximadamente
20 100 ml de agua destilada, luego se agrega al mismo 100 ml de solución de acetato de sodio acuoso al 30 % y la operación total se repite. El producto final granular incoloro del ejemplo se filtra y se lava como se describió anteriormente y luego se almacena en un desecador.

EJEMPLO 7

Preparación de Tabletas Comprimidas

	<u>Ingrediente</u>	<u>mg/Tableta</u>
	⊗ Compuesto activo	0,5-500
	Fosfato de calcio dibásico N.F.	cs
	Almidón FEU	40
5	Almidón modificado	10
	Estearato de magnesio FEU	1-5
	⊗ Las sales de poli(H-)sulfato de poligalactósido-sucrosa dadas aquí.	

EJEMPLO 8

10 Preparación de Tabletas Comprimidas de Acción Prolongada

	<u>Ingrediente</u>	<u>mg/Tableta</u>
	Compuesto activo	0,5-500 (como equivalente de ácido
	como Laca de Aluminio [⊗] , Micronizado	
	Fosfato de calcio dibásico	cs
15	Acido algínico	20
	Almidón FEU	35
	Estearato de magnesio FEU	1-10
20	⊗ Complemento inhibidor más sulfato de aluminio proporciona complemento inhibidor de aluminio. El contenido del complemento inhibidor en laca de aluminio varía de 5-30 %.	

EJEMPLO 9

Preparación de Cápsulas de Revestimiento Duro

	<u>Ingrediente</u>	<u>mg/Tableta</u>
	Compuesto activo	0,5-500
25	Lactosa, secada por rociado	cs
	Estearato de magnesio	1-10

EJEMPLO 10

Preparación de Líquidos Orales (jarabes)

	<u>Ingrediente</u>	<u>% P/V</u>
	Compuesto activo	0,05-5
	Azúcar líquido	75,0
	Metil parabeno FEU	0,18
5	Propil parabeno FEU	0,02
	Agente aromatizante	cs
	Agua purificada cs ad	100,0

EJEMPLO 11

Preparación de Líquidos Orales (Tónicos)

10	<u>Ingrediente</u>	<u>% P/V</u>
	Compuesto activo	0,05-5
	Alcohol FEU	12,5
	Glicerina FEU	45,0
	Jarabe FEU	20,0
15	Agente aromatizante	cs
	Agua purificada cs ad	100,0

EJEMPLO 12

Preparación de Suspensiones Orales (Jarabes)

	<u>Ingrediente</u>	<u>% P/V</u>
20	Compuesto activo	0,05-5
	como laca de aluminio, micronizado (equivalente de ácido)	
	Polisorbato 80 FEU	0,1
	Silicato de magnesio y aluminio, coloidal	0,3
	Agente aromatizante	cs
25	Metil Parabeno FEU	0,18
	Propil Parabeno FEU	0,02
	Azúcar líquido	75,0
	Agua purificada cs ad	100,0

EJEMPLO 13

30 Preparación de Soluciones Inyectables

<u>Ingrediente</u>	<u>% P/V</u>
Compuesto activo	0,05-5
Alcohol bencílico F.N.	0,9
Agua para inyección	100,0

5

EJEMPLO 14

Preparación de Aceites Inyectables

<u>Ingrediente</u>	<u>% P/V</u>
Compuesto activo	0,05-5
Alcohol bencílico	1,5
Aceite de sésamo cs ad	100,0

10

EJEMPLO 15

Preparación de Productos Intra-Articulares

<u>Ingrediente</u>	<u>Cantidad</u>
Compuesto activo	2-20 mg
Na Cl (solución salina fisiológica)	0,9 %
Alcohol bencílico	0,9 %
Carboximetilcelulosa de sodio pH regulado a 5,0-7,5	1-5 %
Agua para inyección cs ad	100 %

20

EJEMPLO 16

Preparación de Suspensiones Depo Inyectables

<u>Ingrediente</u>	<u>% P/V</u>
Compuesto activo	0,05-5 (equivalente de ácido)
Polisorbato 80 FEU	0,2
Polietilen Glicol 4000 FEU	3,0
Cloruro de sodio	0,8
Alcohol bencílico F.N.	0,9
HCl hasta pH 6-8	cs
Agua para inyección cs ad	100,0

30

Las sales de poli(H-)sulfato de poligalactósido-sucro
sa de la presente invención pueden administrarse internamente,
es decir, oral o parenteralmente, por ejemplo intra-articular-
mente, a un animal de sangre caliente para inhibir el complemen
5 to en el fluido del cuerpo del animal, siendo tal inhibición
útil para la reducción o prevención de aquellas reacciones que
dependen de la función del complemento, tal como un procedimiento
inflamatorio y un daño de membrana celular provocado por comple
10 jos de antígeno-anticuerpo. Puede emplearse una gama de dosis
dependiendo del modo de administración, el estado que se trata
y el compuesto en particular que se utiliza, Por ejemplo, para
uso intravenoso o subcutáneo puede utilizarse de aproximadamen
te 5 a aproximadamente 50 mg/kg/día, o cada 6 horas para sales
más rápidamente excretadas. Para uso intraarticular de grandes
15 articulaciones tales como en la rodilla, puede utilizarse apro
ximadamente 2 a aproximadamente 20 mg/articulación por semana,
con dosis proporcionalmente más pequeñas para articulaciones
más pequeñas. La gama de dosificación debe resultarse para pro
veer una respuesta terapéuticamente óptima en el animal de san
20 gre caliente que se trata. El general, la cantidad del compues
to administrado puede variar a través de una amplia gama para
proveer de aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg
del peso corporal del animal por día. La dosificación diaria
usual para un sujeto de 70 kg puede variar de aproximadamente
25 350 mg a aproximadamente 3,5 g. La dosis unitaria del ácido o
sal puede contener de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente
500 mg.

En uso terapéutico los compuestos de la presente in
vención pueden administrarse en la forma de composiciones farma
30 céuticas convencionales. Tales composiciones pueden formularse

de manera de ser apropiadas para administración oral o parenteral. El ingrediente activo puede combinarse mezclado con un portador farmacéuticamente aceptable, portador que puede tomar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para administración, es decir, oral o parenteral. Los compuestos pueden utilizarse en composiciones tales como tabletas. Aquí, el ingrediente activo principal se mezcla con ingredientes formadores de tabletas convencionales tales como almidón de maíz, lactosa, sucrosa, sorbitol, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, fosfato dicálcico, goma, o materiales similares como diluentes o portadores no tóxicos farmacéuticamente aceptables. Las tabletas o comprimidos de las nuevas composiciones pueden laminarse o combinarse de alguna otra manera para proveer una forma de dosificación que proporciona la ventaja de acción prolongada o demorada o acción sucesiva predeterminada de la medicación encerrada. Por ejemplo, la tableta o comprimido puede comprender un componente de dosificación interna y uno de dosificación externa, este último estando en la forma de una envoltura sobre el primero. Los dos componentes pueden separarse mediante una capa entérica que sirve para resistir la desintegración en el estómago y permite que el componente interno pase intacto al duodeno o que sea demorado en su liberación. Puede utilizarse una variedad de materiales para tales capas o recubrimientos entéricos, incluyendo tales materiales un número de ácidos poliméricos o mezclas de ácidos poliméricos con materiales tales como goma laca, goma laca y alcohol cetílico, acetato de celulosa y similares. Un recubrimiento entérico particularmente ventajoso comprende un copolímero de estireno y ácido maléico junto con materiales conocidos que contribuyen a las propiedades entéri-

cas del recubrimiento. La tableta o comprimido puede colorearse mediante el uso de un colorante no tóxico apropiado, de manera de proveer una apariencia agradable.

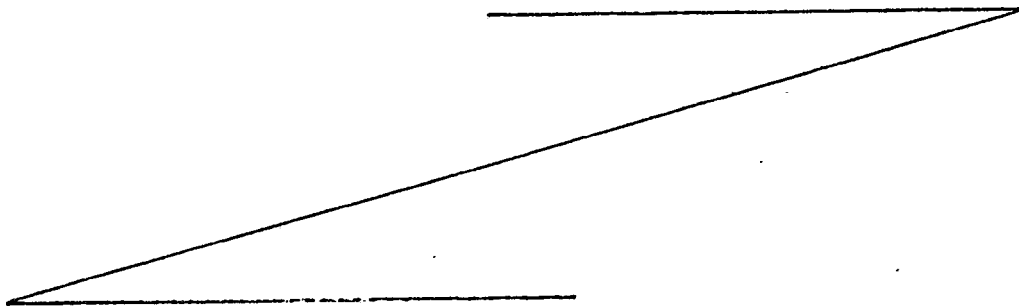
5 Las formas líquidas en que las nuevas composiciones de la presente invención pueden incorporarse para administración incluyen emulsiones aromatizadas apropiadas con aceites comestibles, tales como, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco, aceite de maní, y similares, como así también tónicos y vehículos farmacéuticos similares. Pueden prepararse suspensiones o soluciones estériles para uso parenteral. También deseables para uso por inducción preparaciones isotónicas que contienen preservativos apropiados.

15 La expresión forma de dosificación según se describe aquí se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas para dosificación unitaria para sujetos animales de sangre caliente, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de componente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el diluyente, portador o vehículo farmacéutico deseado. La especificación para las nuevas formas de dosificación de la presente invención están indicadas por características del componente activo y el efecto terapéutico particular a ser logrado o las limitaciones inherentes en el arte de combinar tal componente activo para uso terapéutico en animales de sangre caliente según se da a conocer en la presente descripción. Ejemplos de formas de dosificación oral de acuerdo con la presente invención son tabletas, cápsulas, comprimidos, paquetes en polvo, gránulos, obleas, sellos, cucharaditas, gotas, ampollas, ampolletas, múltiples segregados de cualquiera de los precedentes y otras formas según se describen aquí.

La actividad inhibidora de complemento de los compuestos de la presente invención han sido demostrada mediante uno o más de los siguientes ensayos identificados: (i) Ensayo, Código O26 (inhibidor de C1) - Este ensayo mide la capacidad del C1 humano activado para destruir C2 humano en fase de fluido en presencia de C4 y diluciones apropiadas del compuesto de ensayo. Un inhibidor activo protege C2 de C1 y C4; (ii) Ensayo, Código O35 (inhibidor de C3-C9) - este ensayo determina la capacidad de los componentes tardíos de complemento humano (C3-C9) para lisis de EAC 142 en presencia de diluciones apropiadas del compuesto de ensayo. Un inhibidor activo protege EAC 142 contra la lisis por C3-C9 humano; (iii) Ensayo, Código O36 (inhibidor de C-Desviado) - En este ensayo eritrocitos humanos vueltos frágiles se someten a lisis en suero autólogo por medio del trayecto desviado activado por factor de veneno de cobra en presencia de diluciones apropiadas del compuesto de ensayo. La inhibición del trayecto desviado resulta en el fracaso de la lisis; (iv) Ensayo de Vasculitis de Forssman. Aquí, la bien conocida lesión dependiente de complemento, vasculitis de Forssman se produce en conejillos de la India mediante inyección intradérmica de antisuero de conejo anti-Forssman. La lesión se mide en términos de diámetro, edema y hemorragia y luego se registra el grado al cual un índice combinado de estos es inhibido por inyección intraperitoneal anterior del compuesto de ensayo a 200 mg/kg a menos que se indique lo contrario; (v) Ensayo de Skock de Forssman - Se produce un skock letal en conejillos de la India mediante inyección i.v. de antisuero de anti-forssman y el tiempo de muerte media armónica de conejillos de la India tratados se compara con aquel de controles simultáneos; (vi) Ensayo de Reducción

del Nivel de Complemento - En este ensayo, los conejillos de la India precedentemente dosificados, u otros, se sangran con relación al suero y se determina el nivel de complemento en suero no diluido mediante el método de tubo capilar de la patente norteamericana N^o 3.876.376 y se compara con conejillos de la India de control no tratados; y (vii) Ensayo de Cap 50 - Aquí, cantidades apropiadas del compuesto de ensayo se agregan a una recolección de suero de conejillos de la India in vitro, luego de lo cual se realiza el ensayo con tubo capilar con suero no diluido referido anteriormente. Se registra la concentración del compuesto que inhibe 50 %.

Con referencia a la Tabla I, conejillos de la India con un peso de aproximadamente 300 g se dosificaron intravenosamente (i.v.) o intraperitonealmente (i.p.) con 200 mg/kg del compuesto del ensayo disuelto en solución salina y regulado a pH 7-8. Luego de 1 hora de dosificación, los conejillos de la India se decapitaron, se recogió la sangre y se separó el suero. El suero se ensayó con relación a complemento total utilizando el ensayo con tubo capilar. El porcentaje de inhibición se calculó por comparación con controles simultáneos. Los resultados aparecen en la Tabla I juntos con los resultados de ensayo, código 026, 035, 036, Cap 50, % de inhibición y shock Forssmann. La Tabla I demuestra que los compuestos de la presente invención poseen actividad inhibidora de complemento.



T A B L A I

Actividades Biológicas

Compuesto	Actividad <u>In Vitro</u>			Cap	Actividad <u>In Vivo</u> (Conejillo de Indias) Inhibición Porcentual								
	026*	035*	036*		Intraperitoneal Tiem po (horas)		Intravenosa		Tiempo (ho- ras)				
					30	60	120	2	30	120			
Sal de trietilamina de Poli(H-) sulfato de rafínosa	10**	N	N										
Sal de Poli(H-)sulfato de rafínosa	9	N	N	430									
Sal de trietilamina de Poli(H-) sulfato de estaquiosa	14	N	2	140									
Sal de trimetilamina de Poli(H-)sulfato de estaquiosa	11	N											
Sal de sodio de Poli(H-)sulfato de estaquiosa	12	N		148									
	13	N	4	134									
	11	N	2	291	200	-47	-56	-65	-86	-93	-17		
	11	N	4	193									

* - La designación de código para los ensayos se emplearon según se refiere aquí,

** - Avididad en receptáculos, un ensayo de dilución en serie. Un número de receptáculo mayor indica una mayor actividad. Las diluciones en serie son dobles

T A B L A I

Actividades Biológicas

Compuesto	Actividad <u>In Vitro</u> Cap				Activi
	026 [¶]	035 [¶]	036 [¶]	50 [¶]	
					Dosis
Sal de trietilamina de Poli(H-)-sulfato de rafinosa	10 ^{¶¶}	N	N		
	9	N	N	430	
Sal de Poli(H-)-sulfato de rafinosa	9	N	1	330	
Sal de trietilamina de Poli(H-)-sulfato de estaquiosa	14	N	2	140	
Sal de trimetilamina de Poli(H-)-sulfato de estaquiosa	11	N			
	12	N		148	
Sal de sodio de Poli(H-)-sulfato de estaquiosa	13	N	4	134	
	11	N	2	291	20
	11	N	4	193	

¶ - La designación de código para los ensayos se emplearon según se refier
 ¶¶ - Avididad en receptáculos, un ensayo de dilución en serie. Un nuero de
 en serie son dobles

I

cas

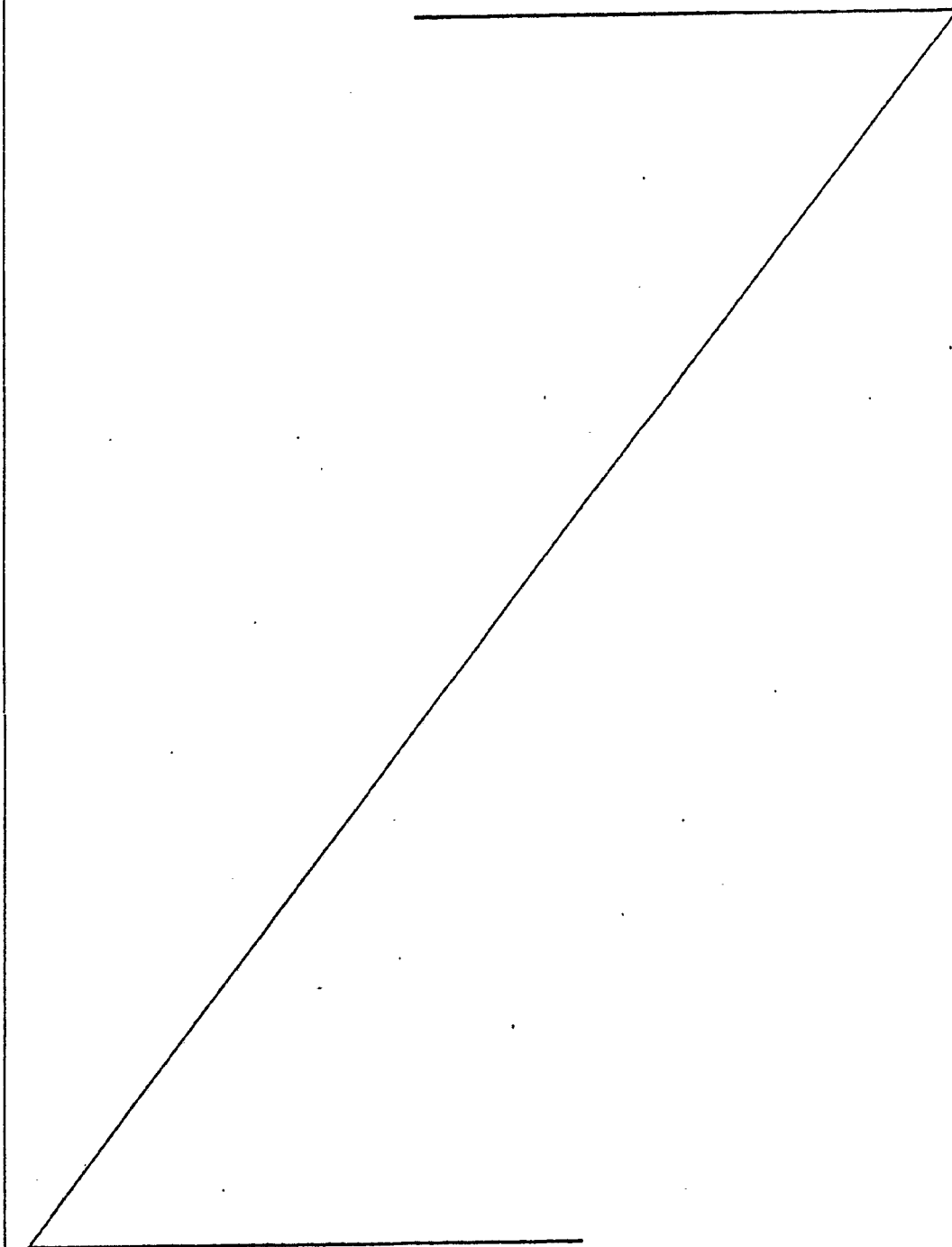
Cap	Actividad <u>In Vivo</u> (Conejillo de Indias) Inhibición Porcentual						
	50 ^μ	Dosis mg/kg	Intraperitoneal Tiem po (hóras)			Intravenosa Tiempo (ho- ras)	
30			60	120	2	30	120
430							
330							
140							
148							
134							
291	200	-47	-56	-65	-86	-93	-17
193							

on según se refiere aquí,

erie. Un número de receptáculo mayor indica una mayor actividad. Las diluciones

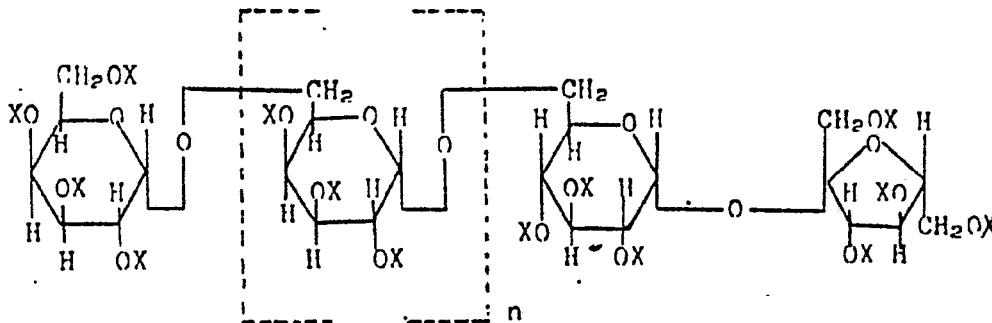
Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental.

5



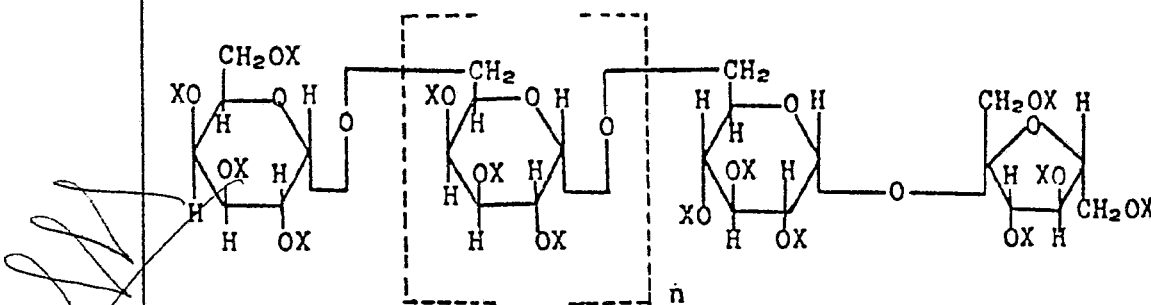
REIVINDICACIONES

1.- Procedimiento para preparar poli(H-)sulfatos de poligalactósido-sucrosa, de fórmula



5 en donde X es $-\text{SO}_3\text{R}$; R es un metal alcalino, metal alcalinotérreo, amonio y amoniaco seleccionado entre trialquilaminas (C_1-C_6); piperidinas, piracinas; cicloalcanolaminas (C_3-C_6); alcanolaminas (C_1-C_6); y n es 0 a 7; caracterizado por
10 que comprende calentar una poligalactósido-sucrosa con un complejo de amina-azufre, en presencia de un disolvente, y hacer reaccionar opcionalmente la sal así obtenida de poli(H-)sulfato de poligalactósido-sucrosa con un metal alcalino o metal alcalinotérreo.

15 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque para preparar una sal de metal alcalino o trialquilamina (C_1-C_6) de poli(H-)sulfato de poligalactósido-sucrosa de fórmula:



5 donde X es $-SO_3R$; R es trialquilamina (C_1-C_6) o un metal alcali
no, se calienta una poligalactósido-sucrosa con un complejo de
trióxido de trialquilamina (C_1-C_6)-azufre en presencia de un di
solvente, y se hace reaccionar opcionalmente la sal así obteni
da de poli(H-)trialquilamina (C_1-C_6)sulfato de poligalactósido-
sucrosa con un metal alcalino.

3.- Procedimiento para preparar poli(H-)sulfatos de
poligalactósido-sucrosa, tal y como queda sustancialmente des-
crito en la presente Memoria.

10 Esta Memoria consta de 24 hojas escritas a máquina por
una sola cara.

Madrid, 9 JUN. 1978

AMERICAN CYANAMID COMPANY

U.S. PATENT OFFICE
WASHINGTON, D.C.