

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA  
Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

Se concede el Registro sin  
discriminación (R. Ed. 433)

PATENTE DE INVENCION

19 ES 11 11 479423 10 A1  
21  
22 FECHA DE PRESENTACION  
9 ABR. 1979

30 PRIORIDADES:	32 FECHA	33 PAIS
31 NUMERO		
221753A/78	11 Abril 1.978	Italia
20111 A/79	12 Febrero 1.979	Italia

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C07D 333/26; A61K 31/34	

64 TITULO DE LA INVENCION

"PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE 2-(2-TENOILTIO)-PROPIONILGLICI-  
NA"

71 SOLICITANTE (S)

MEDIOLANUM FARMACEUTICI s.r.l.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

Via S.G. Cottolengo, 23/12 e 31 MILAN (Italia)

72 INVENTOR (ES)

Franco Bolasco - Giuseppe Quadro

73 TITULAR (ES)

MEDIOLANUM FARMACEUTICI s.r.l.

74 REPRESENTANTE

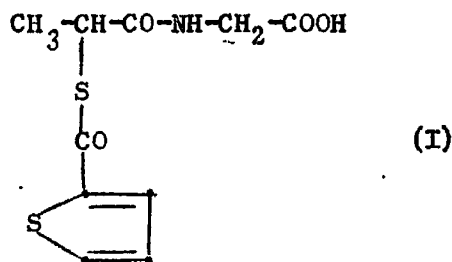
D. JAIME ISERN CUYAS, Agente Oficial de la Propiedad Industrial.

POOR  
QUALITY

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención se refiere a un nuevo compuesto y mas exactamente a la 2-(2-tiofenoil)-propionilglicina de fórmula (I)

5



10

y a sus sales farmacéuticamente tolerables.

La invención se refiere además a procesos para la preparación del compuesto (I). Además, ésta tiene por objeto compuestos farmacéuticos que contengan como principio activo el compuesto (I), o sus sales farmacéuticamente adecuadas para la cura de hepatopatías agudas y crónicas y de consecuencias de intoxicación.

15

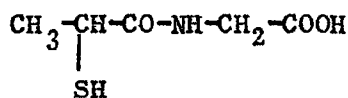
Finalmente, constituyen el objeto de la presente invención compuestos farmacéuticos de actividad mucolítica y anti-broncoespástica, que contienen como principio activo el compuesto (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables.

20

Es sabido que la 2-mercaptopropionilglicina

(II)

25



posee una interesante actividad farmacológica, que la hace idónea para la curación de hepatopatías agudas y crónicas y de consecuencias de intoxicación. Sin embargo, la 2-mercaptopropionilglicina (II) presenta varios incon-

30

venientes debidos a su escasa estabilidad. El más notable de estos inconvenientes está en el olor desagradable que emiten las formulaciones del compuesto (II) después de un período de conservación incluso relativamente corto; la citada característica tiene obviamente efectos psicológicos negativos sobre el paciente y repercute además desventajosamente sobre las propiedades terapéuticas de la formulación. Esta inestabilidad de la 2-mercaptopropionilglicina (II) se acentúa obviamente con el aumento de la temperatura, como puede suceder en países cálidos o directamente tropicales.

Se ha encontrado ahora que la 2-(2-tenoitio)-propionilglicina, de fórmula (I), anteriormente citada, posee características óptimas farmacológicas, que la convierten por lo menos en igualmente adecuada para la terapéutica de hepatopatías agudas y crónicas y de consecuencias de intoxicaciones, estando además dotada de una estabilidad bastante mayor que la del compuesto (II).

La falta de olor y de sabor característicos del compuesto según la invención le garantizan además una óptima tolerancia clínica a nivel gástrico en las distintas condiciones experimentadas.

Además, se ha encontrado, de modo sorprendente, que la 2-(2-tenoitio)-propionilglicina está igualmente dotada de una interesante actividad mucolítica y anti-broncoespástica, que permiten su utilización en la terapéutica de condiciones de infección agudas del aparato respiratorio con hipersecreción bronquítica, de síndromes mucoviscosos y similares.

Según la invención, el compuesto (I) se obtiene haciendo reaccionar el cloruro del ácido tiofen-2-car-

boxílico con 2-tiopropionilglicina, en presencia de una base. La reacción puede ser efectuada en un ambiente acuoso, utilizando como base el carbonato de un metal alcalino, en particular carbonato sódico o potásico. El método según la invención es ilustrado, aunque no queda limitado al mismo, por el ejemplo que sigue.

#### EJEMPLO

Se introducen 278 g de mercaptopropionilglicina en 1600 ml de agua. Se adicionan cuidadosamente, con agitación, 653 g de carbonato potásico a la suspensión. Siempre con agitación, se adicionan a gotas 240 g de cloruro del ácido tiofen-2-carboxílico a la solución resultante.

La temperatura es mantenida a 20°C.

Se agita hasta la desaparición de las gotas de cloruro acílico (aproximadamente 4 horas).

Se acidifica después cuidadosamente hasta un pH 3 con ácido sulfúrico al 10%.

Se obtiene un precipitado cristalino que, poco más tarde, es recogido por filtración, lavado con agua destilada y secado al aire a 40°C. Por recristalización con acetonitrilo se obtienen 472 g de producto incoloro, con un punto de fusión de 168-170°C. Los datos analíticos y espectroscópicos (IR, NMR) confirman la naturaleza del compuesto.

El compuesto (I) es soluble en una solución saturada de bicarbonato sódico, y además, en cloroformo, siendo escasamente soluble en los demás disolventes orgánicos. Es inodoro y prácticamente sin sabor.

La 2-(2-tenoitio)-propionilglicina ha señalado, como ya se ha dicho, una notable actividad hepatoprotectora que, por las pruebas efectuadas (indicadas a continua

ción más adelante) resulta siempre significativamente superior a la de la 2-mercaptopropionilglicina, utilizada como fármaco de comparación. También los datos toxicológicos han resultado ser plenamente satisfactorios, tal como resulta de las siguientes consideraciones.

5

#### PRUEBAS DE TOXICIDAD

##### a) Toxicidad aguda en el ratón

Han sido utilizados ratones albinos, raza Swiss, peso 20-23 g, subdivididos en grupos de 5 individuos, dejados ayunar 16 horas antes del experimento, con agua a voluntad. La 2-(2-tenoiltio)-propionilglicina (I) y la 2-mercaptopropionilglicina (II) han sido suministradas por vía oral y endovenosa, por medio de una administración única, en dosis gradualmente crecientes a intervalos constantes.

10

15

##### DL<sub>50</sub> por vía oral

La DL<sub>50</sub> ha resultado ser superior a 2500 mg/kg para las dos sustancias. Sin embargo en tanto que ningún animal murió incluso con la dosis mas alta de 2-(2-tenoiltio)-propionilglicina suministrada, a 2500 mg/kg la sustancia comparativa ha presentado una mortalidad del 20% de los animales (ver tabla 1)

20

##### DL<sub>50</sub> por vía endovenosa

La DL<sub>50</sub> ha resultado ser superior a 1250 mg/kg para las dos sustancias. Tampoco en este caso han habido muertes con el compuesto (I), en tanto que el fármaco de comparación ha presentado una mortalidad del 30% a 1250 mg/kg (ver la tabla 2).

25

##### b) Toxicidad aguda en la rata

Han sido utilizadas 140 ratas albinas, raza Sprague-Dawley, peso 120-135 g, subdivididas en grupos de

30

5 animales cada uno. A los animales, dejados en ayunas durante 16 horas antes del experimento, se les administró por vía oral e intramuscular; por medio de una administración única y en dosis crecientes, la 2-(tenoiltio)-propionilglicina (I) y la 2-tiopropionilglicina (II) (fármaco de comparación). Para cada producto ha sido evaluada la DL<sub>50</sub> según Litchfield y Wilcoxon, a base de la mortalidad de los 7 días siguientes al tratamiento.

DL<sub>50</sub> por vía oral

Tampoco con la rata han habido muertes hasta la dosis más alta de compuesto (I), en tanto que con el fármaco de comparación se ha registrado una mortalidad del 20% a la dosis más alta (ver tabla 3).

DL<sub>50</sub> por vía intramuscular

La DL<sub>50</sub> del producto bajo examen ha resultado igual a 1801 mg/kg, en tanto que el fármaco de comparación ha presentado una DL<sub>50</sub> de 1630 mg/kg (ver tabla 4).

T A B L A 1

DL<sub>50</sub> en el ratón por vía oral

Compuesto	Dosis mg/kg	Nº de animales por dosis	nº de animales muertos	% de mortalidad	DL <sub>50</sub>
I	1500	10	0	0	
	2000	10	0	0	2500
	2500	10	0	0	
II	1500	10	0	0	
	2000	10	1	10	2500
	2500	10	2	20	

T A B L A 2

DL<sub>50</sub> en el ratón por vía endovenosa

5	Compuesto suministra do	Dosis mg/kg	nº de animales por dosis	nº de animales muertos	% de mortalidad	DL <sub>50</sub>
	I	500	10	0	0	1250
		750	10	0	0	
		1000	10	0	0	
		1250	10	0	0	
10	II	500	10	0	0	1250
		750	10	0	0	
		1000	10	1	10	
		1250	10	3	30	
15						

T A B L A 3

DL<sub>50</sub> en la rata por vía oral

20	Compuesto suministra do	Dosis mg/kg	nº de animales por dosis	nº de animales muertos	% de mortalidad	DL <sub>50</sub>
	I	1500	10	0	0	2500
		2000	10	0	0	
		1500	10	0	0	
25	II	1500	10	0	0	2500
		2000	10	0	0	
		2500	10	2	20	

T A B L A 4

DL<sub>50</sub> en la rata por vía intramuscular

Compuesto suministra do	Dosis mg/kg	no de animales por dosis	no de animales muertos	% de mortalidad	DL <sub>50</sub>
I	1250	10	0	0	
	1500	10	1	0	1801
	1750	10	4	40	
	2000	10	10	100	(1747-1864)
II	1250	10	0	0	
	1500	10	2	20	
	1750	10	6	60	1630
	2000	10	10	100	(1580-1692)

15 c) Toxicidad crónica en la rata y en el perro

Rata: han sido utilizadas 80 ratas albinas (Sprague-Dawley - peso 100 g) subdivididas en 4 grupos: 1) control (carboximetilcelulosa), 2) 2-(2-tenoiltio)-propionilglicina, (200 mg/kg/intramuscular).

20 Los tratamientos han sido efectuados diariamente, 6 veces por semana y durante 16 semanas.

Resultados:

mortalidad	normal
estado general	óptimo
tolerancia	óptima
comportamiento	normal en los animales tratados y en los controles
aumento corporal	superior al de los controles
parámetros hematológicos y hematquímicos	como en los controles
peso de los órganos	como en los controles.

30

También en el perro los resultados han sido óptimos.

ACTIVIDAD PROTECTORA EN LA INTOXICACION POR TETRACLORURO DE CARBONO

5 Han sido utilizadas 50 ratas macho Sprague-Dawley peso 180-200 g), subdivididas en 5 grupos: un grupo no recibía ningún tratamiento, en tanto que los otros 4 han sido intoxicados durante 7 días consecutivos con 0,5 ml/mg de  $CCl_4$ /s.c. Simultáneamente, los animales reci-

10 bían por vía intramuscular 2-(2-tiociltio)-propionilglicina (200 y 300 mg/kg) y 2-tiopropionilglicina (300 mg/kg).

Resultados: Tanto el compuesto en examen como la 2-tiopropionilglicina son capaces de impedir el aumento de peso del hígado como consecuencia de la administración de  $CCl_4$ .

15 Además, los dos fármacos han señalado un efecto favorable sobre los lípidos del hígado (el contenido de grasas queda reducido) y sobre las proteínas (significativamente superior el contenido con respecto a los valores obtenidos de los animales únicamente receptores del tratamiento intoxicante.)

20

A igualdad de dosificación, el compuesto (I) ha señalado, con respecto a la 2-mercaptopropionilglicina, una eficacia estadísticamente significativa al impedir el aumento de peso del hígado y al reducir los niveles hepáticos de grasas.

25

ACTIVIDAD PROTECTORA EN LAS INTOXICACIONES POR BROMOBENCENÓ

Han sido utilizadas 50 ratas machos (sprague-Dawley peso 180-200 g) subdivididos en 5 grupos de 10 animales a los cuales se administraron por vía oral las siguien

30

tes sustancias:

- 1) Goma arábiga al 5% en agua de fuente,
- 2) Goma arábiga al 5% en agua de fuente
- 3) 2-(tenoiltio)-propionilglicina - 200 mg/kg
- 5 4) 2-(tenoiltio)-propionilglicina - 300 mg/kg
- 5) 2-mercaptopropionilglicina (300 mg/kg).

Después de 7 días, a los animales de los grupos 2-3-4-5 les fue suministrado bromobenceno (150 mg/rata) por vía s.c. en tanto que el grupo restante (control) recibía un volumen igual de solución fisiológica.

Después de otros 7 días, a 5 de los animales de cada grupo le eran administrados 25 mg/kg de Nembutal/e.p. y se calculaba el tiempo de sueño.

A los 5 animales restantes de cada grupo, les eran inyectados por vía endovenosa 50 mg de bromoftaleína; después de 30 minutos éstos eran sacrificados y se determinaban en la sangre la bromoftaleína y la transaminasa glutámico-pirúvica.

Resultados: el fármaco examinado resulta capaz de limitar el daño hepático producido por el bromobenceno con la consiguiente disminución, estadísticamente significativa, del tiempo de sueño.

El tratamiento con el fármaco ha determinado una reducción significativa de las concentraciones en el suero de SGPT, notablemente aumentadas por el daño hepático causado por el bromobenceno.

La velocidad de excreción de bromoftaleína ha resultado ser menos evidente después de la administración de 2-(2-tenoiltio)-propionilglicina que en los controles intoxicados.

Sobre estos parámetros, la 2-tiopropionilglicina ha presentado un efecto hepato-protector inferior al del compuesto en examen y no estadísticamente significativo.

5 ACCION PROTECTORA CONTRA LOS COMPUESTOS MERCURIALES "IN VIVO"

Han sido utilizados 40 ratones machos (Swiss - peso medio 22 g), subdivididos en 4 grupos:

- 1) 20 mg/kg/i.p. de cloruro mercurico
- 2) 20 mg/kg/i.p. cloruro mercurico + 200 mg/kg/e.p. de compuesto (I)
- 10 3) 20 mg/kg/i.p. cloruro mercurico + 300 mg/kg/e.p. de compuesto (I)
- 4) 20 mg/kg/i.p. de cloruro mercurico + 300 mg/kg/2.p. de 2-tiopropionilglicina.

15 La cuenta de las muertes ha sido efectuada cada hora durante las 5 primeras horas y a continuación después de 24 horas.

RESULTADOS: Todos los animales tratados únicamente con el cloruro de mercurio han muerto en las 24 horas siguientes al tratamiento. En los ratones tratados se han obtenido los resultados siguientes:

200 mg/kg/2.p. de compuesto (I)	}	10% de muertes
300 mg/kg/2.p. de 2-tiopropionilglicina		
25 300 mg/kg/e.p. de compuesto (I)	}	ninguna muerte

PRUEBAS DE ESTABILIDAD

Como se ha dicho al principio, la 2-(2-tiocetil-tio)-propionilglicina resulta ser notablemente más estable que la correspondiente 2-tiopropionilglicina.

30 Las pruebas de estabilidad han sido realizadas según el método no isotérmico de Rogers, debidamente in-

tegrado con la evaluación de los datos organolépticos, del punto de fusión, de la variación de peso y del título espectrofotométrico. Las pruebas en sí han sido realiza-  
5 das, para cada una de las dos sustancias, con una serie de muestras de 100 mg de peso, adicionadas con 1 ml de aguas destilada para las pruebas en húmedo. En el caso del compuesto (I) se obtenía así una suspensión blanca, en tanto que la 2-tiopropionilglicina daba lugar a una solución límpida. La tabla 5 indica los resultados correspondientes  
10 al aspecto, a los caracteres organolépticos y a la variación de peso. Las muestras eran mantenidas en termostato con temperatura creciente de 25 a 80°C. La temperatura final ha sido elegida teniendo en cuenta el punto de fusión más bajo de las dos sustancias a ensayar (2-tio-  
15 propionilglicina, punto de fusión 93-95°C). La temperatura programada según la fórmula de Rogers, era de 40°C al final de la primera hora, de 50°C al final de la segunda, de 57°C al final de la tercera, de 63°C al final de la cuarta, de 69°C al final de la quinta, de 73°C al final de la sexta,  
20 de 77°C al final de la séptima y, como ya se ha dicho, de 80°C al final de la octava hora.

Siempre en la tabla 5, las muestras de 1 a 5 se refieren, para cada uno de los dos compuestos, a la sustancia seca; las muestras 6 a 10 a la solución o suspensión  
25 acuosa, obtenida como se ha dicho anteriormente.

El peso final de las distintas muestras se determinaron en el momento de la extracción del termostato; 1½ horas para las muestras nº 1; 3 horas para las muestras nº 2; 5 1/4 horas para las muestras nº 3; 8 horas para las muestras nºs.  
30 4 y 5. En el caso de las muestras tratadas por vía húmeda, el peso final ha sido determinado únicamente en las muestras



En las muestras nº 5 - después de calentadas durante 8 horas en las condiciones anteriormente citadas - y en las muestras nº 10 - después de calentamiento y evaporación hasta secado como se ha descrito anteriormente - se ha determinado el punto de fusión en un tubito capilar, en idénticas condiciones. Los resultados vienen dados en la tabla 6: en tanto que el compuesto (I) no presenta variaciones, la 2-tiopropionilglicina (II) sufre una neta disminución del punto de fusión en el caso de la muestra por vía húmeda.

T A B L A N º 6

PUNTO DE FUSION

PRODUCTO	<u>P.f. Inicial</u>	<u>P.f. final</u> en seco (muestra 5)	en húmedo (muestra 10)
II	93-95°C	93-94°C	86-88°C
I	166-167°C	166-167°C	166-167°C
	con descomposición	con descomposición	con descomposición

También la variación del título espectrofotométrico de los dos compuestos se presta a consideraciones significativas al variar los tiempos de calentamiento.

Hay que tener presente que la 2-tiopropionilglicina presenta un máximo de  $E = 0,329$  a 232 nm, en tanto que el compuesto (I) presenta  $E = 0,438$  a 292 nm.

Las muestras 1 a 9 de las dos sustancias, con los tiempos de calentamiento anteriormente indicados, presentan las variaciones de extinción (y de título espectrofotométrico) indicadas en la tabla 7: es evidente la mayor estabilidad del compuesto según la invención

30

T A B L A n<sup>o</sup> 7

EXTINCCIONES Y TITULO ESPECTROFOTOMETRICO

Sustancia	Muestra N <sup>o</sup>	Peso mg	E a 232 nm	E a 292 nm	Título %
2-tiopropionilglicina (II)	(tal cual)	99,8	0,329	-	101,43
	1	98,7	0,325	-	101,32
	2	99,0	0,324	-	100,70
	3	100,5	0,325	-	99,50
	4	101,3	0,324	-	98,41
	6	101,6	0,333	-	100,85
	7	102,1	0,325	-	97,94
	8	100,4	0,320	-	98,06
	9	98,5	0,300	-	93,71
2-(2-tenoiltio)-propionilglicina (I)	(tal cual)	100,0	-	0,438	100,0
	1	100,7	-	0,440	99,76
	2	99,5	-	0,435	99,81
	3	100,5	-	0,440	99,96
	4	100,7	-	0,440	99,76
	6	104,0	-	0,455	99,88
	7	103,2	-	0,450	99,60
	8	101,0	-	0,435	99,33
	9	95,6	-	0,412	98,25

Los datos de la tabla 7 han sido elaborados según el método de Rogers, extrayendo los valores de las energías de activación de las reacciones de descomposición en seco y en húmedo, la constante de velocidad específica y el periodo de validez. Los resultados vienen dados en la tabla 8.

TABLA 8

Energías de activación, velocidades específicas y periodos de validez

Sustancia	Condiciones	Energía de activación en Kcal/mol	K a 25°C en horas	Periodo de validez
2-tiopropionilglicina	seco	15,66	$2,58 \cdot 10^{-6}$	40847 horas = 1702 gg = 4 años 8 meses
	húmedo	11,54	$2,14 \cdot 10^{-5}$	4924 horas = 205 días
2-(2-tenoiltio)-propionilglicina	seco	12,28	0	ilimitado
	húmedo	13,27	$2,61 \cdot 10^{-6}$	40377 horas = 1682 días = 4 años 7 meses

Es evidente, también en la tabla 8, la neta superioridad de la estabilidad de la 2-(2-tenoiltio)-propionilglicina (I)

Para la utilización terapéutica con hepatoprotector, el compuesto (I) puede ser formulado en forma de cápsulas de 100 - 400 mg y de jarabes de concentraciones que suministren las dosis unitarias correspondientes.

La posología diaria prevista es de 2-4 cápsulas de 250 mg; de uno o más frascos de 250 mg por vía intramuscular o endovenosa; de 2-3 cucharadas de jarabe, a razón de aproximadamente 250 mg por cucharada.

ACTIVIDAD MUCOLITICA ANTIBRONCOESPASTICA

a) Bronquitis experimental en la rata

La evaluación de la actividad mucolítica de (I) ha sido efectuada sobre la rata a la cual se le había producido una dolencia a nivel broncopulmonar por medio de inhala

ciones de  $SO_2$ : Para este fin han sido utilizadas 40 ratas de raza Sprague-Dawley machos, de 320 - 370 g de peso, subdivididas en 4 grupos de 10 individuos, sometidos a los siguientes tratamientos:

- 5 Grupo 1: tratamiento intoxicante ( $SO_2$ ).
- Grupo 2: intoxicación con  $SO_2$  y tratamiento con (I) por vía oral.
- Grupo 3: intoxicación con  $SO_2$  y tratamiento con (I) por aerosol.
- 10 Grupo 4: intoxicación con  $SO_2$  y tratamiento con (I) por vía subcutánea.

En cada caso la dosis de (I) era de 50 mg/kg

Para la intoxicación, los animales se expusieron a un flujo constante de aire conteniendo 0,3% de  $SO_2$ .

15 El tratamiento intoxicante se efectuó durante 15 días sometiendo las ratas a 2 horas diarias de inhalación de  $SO_2$  durante periodos de 15 minutos. Simultáneamente, en los grupos en los cuales estaba previsto, se efectuó el tratamiento protector con (I). Los animales se sacrificaron el día siguiente a la última inhalación.

20

Los pulmones se extrajeron juntos con la tráquea, se fijaron en formalina al 10% y se sometieron a examen macroscópico; a continuación se sumergieron en el mismo fijador durante 24 horas y posteriormente durante 1 hora en alcohol absoluto.

25

A continuación se puso en evidencia el árbol bronquial con azul Alcian, y a continuación se efectuó una coloración subsiguiente con reactivo de Schiff, para poner en evidencia los mucopolisacáridos.

30

A cada pulmón le fue asignada la siguiente

puntuación arbitraria:

- 1) Examen macroscópico: 0 = pulmón normal  
 1 = pulmón enrojecido  
 2 = pocos puntos hemorrágicos  
 3 = muchos puntos hemorrágicos  
 4 = algunas manchas hemorrágicas  
 5 = bastas manchas hemorrágicas

5

2) Observación del árbol bronquial con Azul Alcian:

- 0 = coloración uniforme  
 1 = coloración casi uniforme  
 2 = coloración irregular  
 3 = coloración totalmente irregular

10

3) Alteraciones broncopulmonares bajo examen microscópico:

- 0 = ninguna alteración  
 1 = ligeras alteraciones  
 2 = alteraciones discretas  
 3 = alteraciones marcadas

15

Los resultados vienen dados en las tablas siguientes

TABLA Nº. 9 - EXAMEN MACROSCOPICO

20

GRUPOS				
	1	2	3	4
V	4,00 ± 0,26	1,25 ± 0,31	1,12 ± 0,39	1,25 ± 0,36
S	-	a.s.	a.s.	a.s.

25

V = valoración; media ± error standard

S = significancia en relación con los controles

a.s. = altamente significativo

30

TABLA Nº 10  
EXAMEN VISUAL DEL ARBOL BRONQUIAL

5

GRUPOS				
	1	2	3	4
V	$2,50 \pm 0,26$	$0,87 \pm 0,29$	$0,87 \pm 0,29$	$0,75 \pm 0,31$
S	-	a.s.	a.s.	a.s.

10

NOTA: Para los símbolos, ver tabla 9.

TABLA nº 11 EXAMEN MICROSCOPICO

15

GRUPOS				
	1	2	3	4
V	$2,75 \pm 0,16$	$0,87 \pm 0,29$	$0,75 \pm 0,31$	$1,00 \pm 0,26$
S	-	a.s.	a.s.	a.s.

20

NOTA: para los símbolos, ver tabla 9.

Los resultados obtenidos y su alta significancia permiten afirmar que el compuesto (I) ejerce una acción protectora destacada en los enfrentamientos con la bronquitis experimental inducida en la rata por medio de  $SO_2$ .

25 b) Bronquitis experimental por ácido cítrico en el cobaya.

Han sido utilizados 24 cobayas abigarrados, de raza morini, de un peso de aproximadamente 450 g, agrupadas en 4 grupos de 6 animales cada uno, sometidos a los siguientes tratamientos:

30 Grupo 1: tratamiento intoxicante con ácido cítrico

Grupo 2: tratamiento con ácido cítrico, posteriormente con (I) por vía horal

Grupo 3: tratamiento con ácido cítrico, posteriormente con (I) por aerosol

Grupo 4: tratamiento con ácido cítrico, a continuación con (I) por vía rectal.

5

En todos los casos, la dosis de (I) fue de 50 mg/kg.

10

La intoxicación se efectuó poniendo los animales en jaulas de plexiglas, estancas, que contenían una solución de ácido cítrico al 7,5%, durante 15 minutos diarios, durante 6 días por semana, durante 4 semanas. Simultáneamente con el tratamiento intoxicante se efectuó en los grupos en los cuales estaba previsto, el tratamiento con (I).

15

Los animales se sacrificaron al día siguiente a la última aplicación, y los pulmones se sometieron al mismo tratamiento a las mismas evaluaciones, con el mismo tanteo que ya fueron descritos para la rata.

20

Los resultados se ofrecen en las siguientes tablas.

25

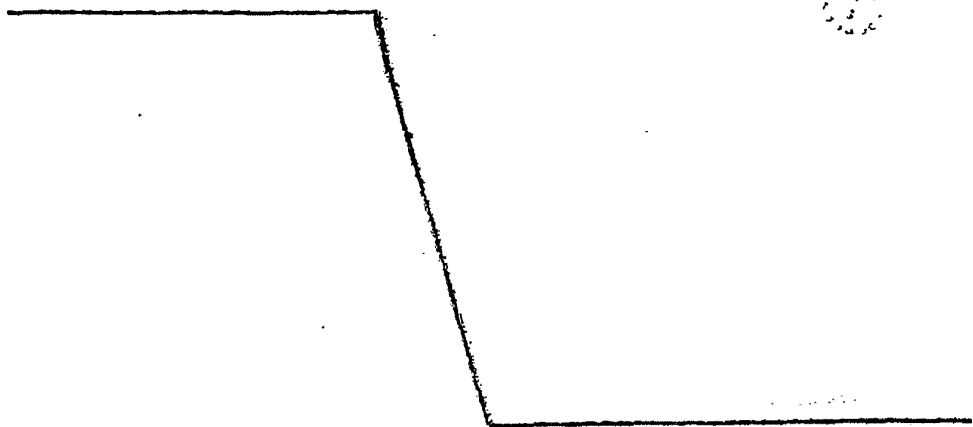


TABLA Nº 12 - EXAMEN MICROSCOPICO

5

GRUPOS				
	1	2	3	4
V	4,00 ± 0,25	2,00 ± 0,36	2,33 ± 0,49	1,83 ± 0,40
S	-	a.s.	a.s.	a.s.

NOTA: Para los símbolos ver la tabla 9

TABLA nº 13 OBSERVACION VISUAL DEL ARBOL BRON

10

15

GRUPOS				
	1	2	3	4
V	2,83 ± 0,16	1,16 ± 0,30	1,00 ± 0,36	1,00 ± 0,44
S	-	a.s.	a.s.	a.s.

NOTA: Para los símbolos ver la tabla 9

TABLA nº 14 - EXAMEN MICROSCOPICO

20

25

GRUPOS				
	1	2	3	4
V	3,00±0,00	0,83±0,30	1,00±0,36	0,66±0,42
S	-	a.s.	a.s.	a.s.

NOTA: Para los símbolos, ver la tabla 9

30

Los resultados obtenidos permiten afirmar que (I) ejerce una destacada acción protectora en el caso de bronquitis experimentales inducidas en el cobaya por

medio de inhalaciones de ácido cítrico.

c) Espasmo bronquial de aerosol de histamina en el cobaya

Se utilizaron 30 cobayas abigarrados de raza Morini, machos, de peso de 400 - 500 g, subdivididos en 5 lotes de 6 animales. Los animales se colocaron uno por uno en una jaula de pléxiglas perfectamente cerrada en la cual se aerosolizaba una solución acuosa al 0,1% de clorhidrato de histamina. Se determinó el tiempo de resistencia al espasmo desde el momento de la introducción en la jaula hasta el momento en que apareció la crisis disnéica. La valoración se repitió después de 24 horas y después de una hora de los siguientes tratamientos:

- Grupo 1: controles sin ningún tratamiento
- Grupo 2: tratados con (I) por vía oral
- Grupo 3: tratados con (I) por aerosol
- Grupo 4: tratados por vía intraperitoneal
- Grupo 5: tratados con (I) por vía rectal

En todos los casos la dosis fué de 50 mg/kg

Los resultados obtenidos se ofrecen en las siguientes tablas.

TABLA nº 15 - ACTIVIDAD ANTIBRONCOESPASTICA DE (I)

OBSERVACIONES ANTES DEL TRATAMIENTO

GRUPOS					
	1	2	3	4	5
v	116,8 <sub>±</sub> 4,73	116,00 <sub>±</sub> 8,84	113,00 <sub>±</sub> 5,62	112,16 <sub>±</sub> 7,9	117,5 <sub>±</sub> 6,39

v = valoración; media ± error standard, expresada en segundos

I Los grupos son estadísticamente homogéneos.

TABLA 16 - ACTIVIDAD ANTIBRONCOESPASTICA DE (I)  
OBSERVACIONES DESPUES DE UNA HORA DEL  
TRATAMIENTO

	1	2	3	4	5
V	114,1±5,4	184,7±14,2	170,3±10,9	187,2±16,1	178,5±11,9
S	-	a.s.	a.s.	a.s.	a.s.

5

10

NOTA: Para los símbolos ver tabla 9.

Los resultados obtenidos permiten afirmar que el compuesto (I) ejerce una notable acción antibroncoespástica para todos los medios de administración ensayados.

15

El éxito de la experiencia farmacológica, en unión con la bajísima toxicidad del compuesto (I), ha permitido pasar a la experimentación con los seres humanos.

Los resultados obtenidos pueden resumirse en los términos siguientes.

d) Pruebas clínicas

20

El fármaco ha sido probado, en cuanto a su acción mucolítica, en treinta pacientes ancianos (edad mínima 57 años, máxima 87, media 72). Veintiseis de ellos han presentado una neta mejora con respecto a las condiciones clínicas de partida, después de haber recibido diariamente, durante seis días consecutivos, dos supositorios/día conteniendo cada uno 0,36 g de compuesto (I). La mejora ha sido evaluada a base de los siguientes parámetros:

25

- disminución de la cantidad diaria de expectoración;
- disminución de la viscosidad de la expectoración;
- aumento del índice de Tiffeneau;
- mejora de la velocidad de sedimentación de eritrocitos.

30

A un grupo de veinte pacientes de la misma edad, media, se ha suministrado, a título de control, un fármaco conocido, la N-acetilcisteína. Aunque los resultados obtenidos con la N-acetilcisteína sean en conjunto comparables con los obtenidos en el compuesto (I) en lo referente a la disminución de la expectoración, se ha observado que el compuesto (I) es netamente superior en cuanto a rapidez de acción.

La superioridad de (I) con respecto a la N-acetilcisteína se revela además en la administración en forma de aerosol: no se ha observado de hecho para (I) ningún acceso de tos, como en cambio sucede frecuentemente a los pacientes sometidos a aerosol de N-acetilcisteína.

e) Pruebas clínicas (en pediatría)

En el curso de un experimento dirigido a establecer la eficacia mucolítica del compuesto (I) en las bronconeumopatías de la edad pediátrica, han sido tratados cincuenta pacientes de una edad comprendida entre los 3 meses y los 9 años (promedio 26 meses) en presencia de un estado flogístico infectivo agudo del aparato respiratorio con hipersecrección bronquial o - en algunos casos - de un síndrome mucoviscoso.

Los resultados son netamente positivos para 45 pacientes (90%), con normalización de los siguientes parámetros:

- tos

- disnea

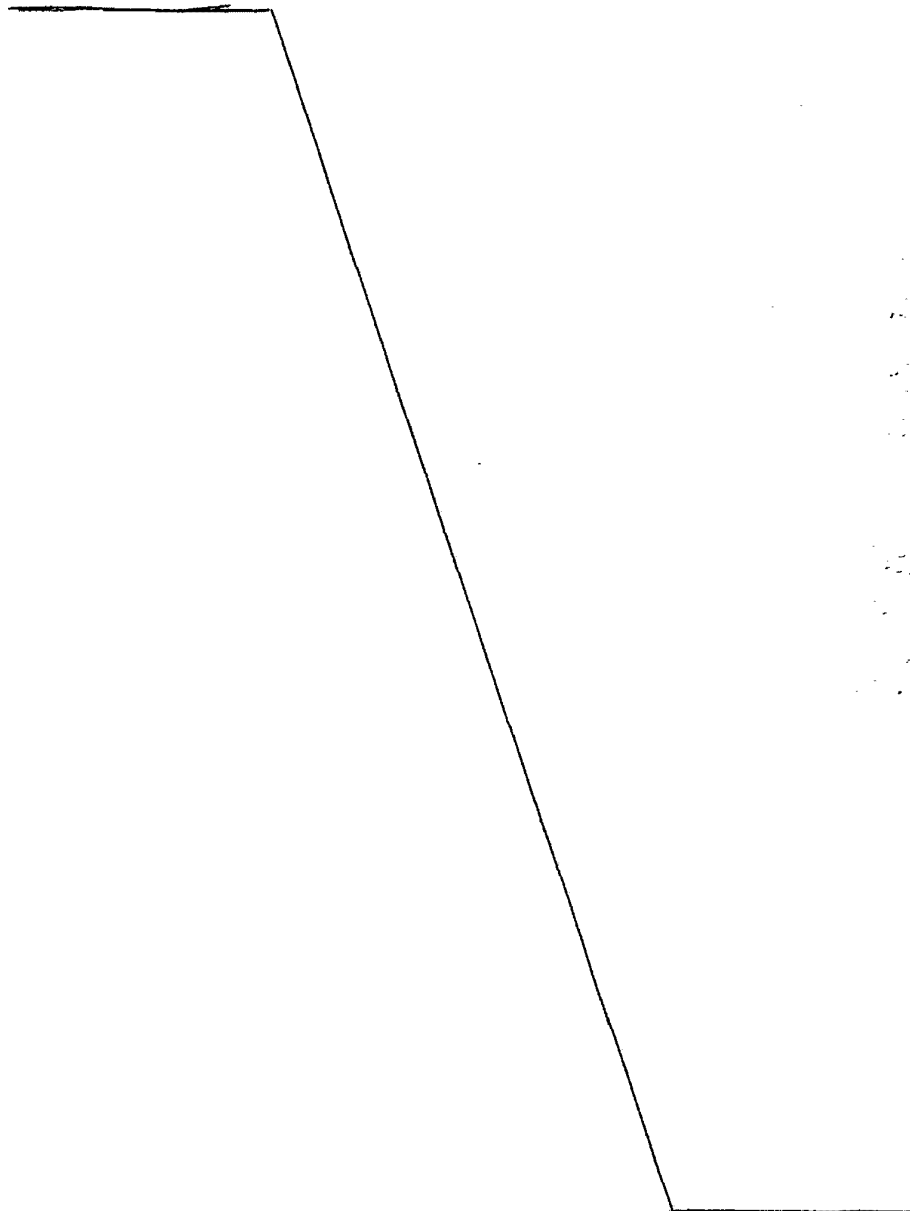
rumores húmedos en la auscultación.

Además se ha evidenciado una disminución media del valor viscosimétrico del moco de  $292,4 \pm 92,1$  g/Hg a  $155,4 \pm 61,3$  g/Hg



- sacarina g 0,20
- aroma de naranja g 0,5
- liofilizado de naranja g 10
- sacarosa cantidad suficiente para 100 g

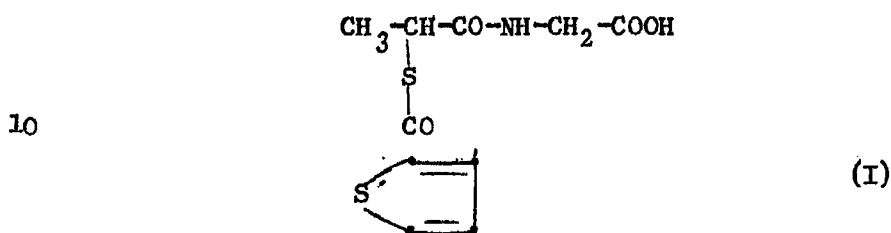
= . =



REIVINDICACIONES

Descrito el objeto del presente invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones:

- 5 1.- Procedimiento para la preparación de 2-(2-tienoiltio)-propionilglicina, de fórmula (I)



15 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, que constituye el principio activo en composiciones farmacéuticas para la terapéutica de hemopatías agudas y crónicas y de resultados de intoxicaciones y en composiciones de actividad mucolítica y antibroncoespásticas, caracterizado por hacer se reaccionar la 2-tiopropionilglicina con cloruro del ácido tiofen-2-carboxílico en presencia de una base.

20 2.- Procedimiento según la reivindicación 1 caracterizado por el hecho de operarse en ambiente acuoso.

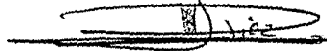
25 3.- Procedimiento según la reivindicación 2 caracterizado por preferirse para su realización como base carbonato sódico o potásico.

4.- Procedimiento para la preparación de 2-(2-tienoiltio)-propionilglicina.

30 Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 28 hojas foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, a 9 ABR. 1979  
P.a.

JAIMÉ ISERN  
P. P.



Firmado: JESUS PICAZO

mc.