



229319

Memoria Descriptiva

para

una Patente de Invención
por veinte años en España

a favor de

The Upjohn Company
(sociedad de EE. UU.)

residente en

Kalamazoo (Michigan) - Estados Unidos -
301 Henrietta Street

por:

" PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR DIHIDROESTREPTONIVICINA "

.....
Prioridad solicitud patente norteamericana Serial nº 545.301
del día 7 de Noviembre de 1.955.

.....
INVENTOR: D. Herman Hoeksema; súbdito de Estados Unidos.
.....



229319

El presente invento se relaciona con un procedimiento para la preparación de nuevas composiciones de materia y se refiere en particular a la dihidroestreptonivicina y a sus sales y a preparados farmacéuticos que contienen a estos productos.

La estreptonivicina, también conocida como Antibiótico 66a y como ALBAMYCIN (marca registrada), es una sustancia antibiótica obtenida como un producto de elaboración del Streptomyces niveus. La estreptonivicina se halla caracterizada por poseer una rotación óptica $[\alpha]_{23-26}^D = -63,0^{\circ}$ (c = etanol absoluto al 1%, 2 decímetros); por ser muy soluble en el agua a un pH superior a 9, disminuyendo su solubilidad a aproximadamente cero a medida que el pH se reduce de 9,0 a 5,0; por ser soluble en alcoholes inferiores y en acetona; por poseer el siguiente análisis elemental:

<u>Elemento</u>	<u>Por ciento</u>
Carbono	59,40
Hidrógeno	6,44
Nitrógeno	4,54

por tener un peso molecular de aproximadamente 618 \pm 2%; por tener la siguiente fórmula empírica aproximada: $C_{30-32}H_{38-42}O_{11-12}N_2$; por la presencia de dos grupos de reacción ácida; pK_{a1} 4,3, pK_{a2} 9,1 en agua, y pK_{a1} y pK_{a2} 11,9 en formamida dimetílica; por existir en dos formas cristalinas, fundiéndose la Forma 1 con descomposición entre los 174 y los 178°C y fundiéndose la Forma 2 con descomposición entre los 149 y los 151°C, presentando estas formas espectros característicos de absorción de rayos infrarrojos y trazados característicos de difracción de rayos



229319

Concentración inhibidora mínima
(mcg/ml)

Organismo ensayado	Dilución en agar ^{""}	Dilución en caldo ["]	
		I	II
Proteus vulgaris	1000		5,1-2,5
Proteus rottgeri			6,2-400
Agrobacterium tumefaciens	100		1,5
Xantomonas campestris	100		1,5
Xantomonas pruni			3
Erwinia amylovora			100
Cornebacterium faciens			1,5
Mycobacterium tuberculosis H37RV			2,5

10 ^{""} Las valoraciones con dilución en agar representan valoraciones preliminares efectuadas con diluciones 1:10, mientras que las valoraciones con dilución en caldo representan valoraciones más extensivas y completas efectuadas con diluciones 1:2.

15 La estreptonivicina posee las ventajas de ser sumamente activa contra estafilococos resistentes, es decir, de no presentar resistencias cruzadas con los antibióticos que son generalmente utilizados para fines terapéuticos, de ser atóxi- ca, de reducir al mínimo las infecciones secundarias, de ser rá- pida absorbida en todas las formas de administración ya sea oral o parenteral, y de mantener niveles hemáticos desusadamente altos con todas las vías de administración.

20 La estreptonivicina posee sin embargo una desventa- ja, pues no se presta fácilmente a la preparación de preparados estables en vehículos acuosos. Las sales hidroxolubles de la es- treptonivicina no son suficientemente estables en el agua para permitir la formación de preparados envasados que comprenden ve- hículos acuosos. La estreptonivicina en su Forma cristalina 2 no es fácilmente absorbida y por esta causa no se halla bien ade- cuada para ser usada en vehículos acuosos. La estreptonivicina en su forma cristalina 1, si bien es fácilmente absorbida y por lo tanto es adecuada para ser usada en vehículos acuosos, ha si-



19

229319

do difícil de preparar en buenos rendimientos desde que se ha
contado con la forma cristalina β , que es la forma más estable.
Estas desventajas indican la deseabilidad de obtener un deriva-
do de la estreptonivicina que sea a la vez fácilmente absorbida
y estable en los preparados acuosos.

5

Se halló ahora que se retienen las ventajas de la
estreptonivicina y se evitan sus desventajas con la dihidroes-
treptonivicina. Se halló ahora que, al hidrogenar la estrepto-
nivicina con un catalizador de hidrogenación que es efectivo
para saturar la insaturación etenoide (existe una ligadura doble
etenoide aislada en la estreptonivicina), la estreptonivicina
es convertida en dihidroestreptonivicina que, fortuitamente, po-
see todas las ventajas de la estreptonivicina en cuanto a su
falta de toxicidad, amplio espectro antimicrobiano, niveles de-
susadamente altos en la sangre con la administración tanto pa-
renteral como oral, falta de resistencia cruzada y ausencia de
las debilitantes infecciones secundarias que suelen acompañar a
la administración de los antibióticos conocidos, mientras que
al mismo tiempo es estable en los vehículos acuosos y es fácil-
mente absorbida de los mismos.

10

15

20

Se prepara la dihidroestreptonivicina hidrogenando
la estreptonivicina con níquel de Raney u óxido de platino (ca-
talizador de Adams) u otro catalizador similar de hidrogenación
para saturar una ligadura doble etenoide. La hidrogenación es
efectuada en la presencia de un disolvente para la estreptonivi-
cina tal como uno de los alcoholes alifáticos inferiores, por
ejemplo metanol, etanol y otros alcanoles inferiores similares
y β -metoxietanol, β -etoxietanol, β -butoxietanol y otros alco -

25



229319

5 rietanoles (Cellosolves) inferiores similares, u otro disolvente similar. La temperatura puede variar dentro del orden aproximado de 0 a 100°C y la presión dentro del orden aproximado de 0 a 70 kg/cm² de presión de manómetro. Puede considerarse que la reac-
ción se ha completado cuando se ha absorbido un mol de hidróge-
no por cada mol de estreptonivicina, lo que generalmente tarda
de cinco a aproximadamente treinta minutos. Sin embargo, pueden
usarse períodos más prolongados de hasta aproximadamente 24 ho-
ras.

10 Al completarse la reacción se retira el cataliza-
dor, el filtrado es diluido con agua y acidulado, adecuadamente
con ácido clorhídrico, para convertir en el ácido libre a cua-
lesquiera sales que puedan hallarse presentes como resultado de
la alcalinidad del catalizador. Generalmente la mezcla de reac-
15 ción tendrá un pH de aproximadamente 4 a 5 y será suficiente aci-
dularla a un pH de aproximadamente 1 a 2. El catalizador puede
ser eliminado por filtración y el filtrado resultante diluido
con varios volúmenes de agua, por ejemplo de tres a cinco volú-
menes por cada volumen de filtrado. Al agregarse el ácido se for-
20 ma un precipitado blanco. Al filtrar y secar a baja presión, por
ejemplo a alrededor de 25 micrones de mercurio y a la temperatu-
ra ambiente, se obtiene dihidroestreptonivicina en rendimientos
de 90 por ciento o más. El material así obtenido es amorfo. Al
recristalizarlo en cloroformo u otro disolvente hidrocarburado
25 clorado similar se lo obtiene en la forma de hermosos cristales
blancos que tienen un punto de fusión de 163-165°C. Se obtiene
el mismo producto ya sea si el producto inicial es estreptonivi-
cina con cristales de la Forma 1 ó 2 o se hidrogena y luego pu-

19



229319

rifica a una estreptonivicina bruta.

El producto se diferencia de la estreptonivicina por tener una absorción ligeramente diferente de los rayos ultravioletas en etanol ácido con un pico en 328 milimicrones en comparación con un pico en 334 milimicrones para la estreptonivicina; por la característica de punto de fusión de sus cristales; por la fácil absorción de sus cristales en comparación con la absorción muy mala de los cristales de la Forma 1 de la estreptonivicina; por su mayor solubilidad en cloroformo (0,5% en peso/volumen a 25°C) y en acetato amílico y por su espectro característico de absorción de rayos infrarrojos, según lo demuestra la siguiente tabla:

TABLA II

ABSORCION DE RAYOS INFRARROJOS EN CENTIMETROS RECIPROCOS (PASTA EN ACEITE MINERAL)

	<u>Dihidro-estreptonivicina"</u>	<u>Estreptonivicina</u>	
		<u>Forma 1</u>	<u>Forma 2</u>
	3450	3500	3480
	3350	3445	3360
	3200	3395	3280
	2620		
	1736	1744	
	1706	1738	1715
20	1667	1694	1690
	1633	1642	1635
	1602	1607	1610
	1580		1586
	1535	1542	1534
	1502	1500	1507
	1372	1374	1374
		1360	1344
	1317	1320	1315
	1285	1294	1293
25	1270	1280	
	1251	1252	1259
		1235	
		1219	
	1205		1186
	1172		1157
		1162	

19



229319

TABLA II (continuación)

	<u>Dihidro- estreptonivicina"</u>	<u>estreptonivicina Forma 1</u>	<u>Forma 2</u>
	1140	1138	
	1117	1124	1121
		1103	
5	1090	1091	
		1080	1084
	1060	1062	1064
		1029	1022
	1009	1000	998
	970	969	972
	937	930	934
	911	904	919
	879	881	
		846	837
10	814		818
		800	809
	790	789	789
	780	770	781
	762	755	761
			753
	743	739	741
	720	716	

"Recristalizada en cloroformo

15

En otros sentidos, por ejemplo, en su rotación óptica, solubilidad en el agua a valores pH diferentes, solubilidad en disolventes orgánicos, absorción de rayos ultravioletas en solución básica en etanol acuoso, y espectro antimicrobiano y puntos finales, sus propiedades no difieren esencialmente de las de la estreptonivicina.

20

Al efectuar la hidrogenación cuantitativa, la estreptonivicina absorbe alrededor de 3,6 miligramos de hidrógeno por cada gramo de estreptonivicina. Dado que, mediante mediciones cristalográficas ópticas y con rayos X efectuadas con cristales de la Forma 2, se ha demostrado que la estreptonivicina tiene un peso molecular de 618,41 \pm 2%, se verá que se absorben aproximadamente 1,1 moles de hidrógeno por cada mol de estrep -

25

19 JUL



229319

tonivicina. Por lo tanto, el peso molecular de la dihidroestrep-
 tonivicina es de entre aproximadamente 608 y 632. Su fórmula em-
 pírica, determinada mediante el análisis elemental de la estrep-
 tonivicina y el peso molecular, es $C_{30-32}H_{40-44}O_{11-12}N_2$. Un pe-
 so molecular de 620 corresponde con la fórmula $C_{31}H_{44}O_{11}N_2$; y
 616 con $C_{31}H_{40}O_{11}N_2$.

La dihidroestreptonivicina y la estreptonivicina
 tienen los mismos espectros antimicrobianos y los mismos puntos
 finales determinados mediante la valoración con dilución en cal-
 do. La siguiente tabla muestra la íntima coincidencia de los pun-
 tos finales de su acción contra algunas de las bacterias patóge-
 nas más comunes:

TABLA III

Espectro antimicrobiano

Organismo ensayado	Concentración inhibidora mínima (mcg/ml)	
	Dihidro- estreptonivicina	Estreptonivicina
S. aureus	0,6	0,1
S. hemolyticus	2	3,1
D. pneumoniae	0,6	1,5
S. typhosa	10	12,5
K. pneumoniae	10	6,2
P. multocida	3	1,5

Al igual que la estreptonivicina, la dihidroestrep-
 tonivicina forma sales ácidas y neutras. Así, mediante la neu-
 tralización de la dihidroestreptonivicina con la base apropiada,
 se obtienen sales de metales alcalinos y alcalino-térreos, sales
 de magnesio y otras sales similares de metales. Tratando una so-
 lución o suspensión del antibiótico con uno o dos equivalentes
 de una base apropiada, tal como hidróxido de sodio, hidróxido de



229319

5 potasio, hidróxido de calcio u otra base similar, o los corres-
pondientes alcóxidos tales como los metóxidos (en un medio anhi-
dro), se obtienen las sales ácidas y neutras. Con un equivalen-
te de la base se obtiene la sal monosódica, monopotásica, hemi-
cálcica y otras sales similares de la dihidroestreptonivicina.
En forma similar, con dos equivalentes de la base se obtiene la
correspondiente sal sódica, potásica, cálcica y otras sales neu-
tras similares de la dihidroestreptonivicina. También pueden
formarse las sales ácidas mediante una doble descomposición con
10 sales de un ácido más débil tal como el acetato de sodio. Tam-
bién se las puede formar mediante una doble descomposición basa-
da sobre la solubilidad diferencial; por ejemplo, la dihidroes-
treptonivicina sódica reacciona en solución acuosa o etanólica
con las sales solubles de calcio la dihidroestreptonivicina de
15 hemicalcio insoluble.

En forma similar se obtienen las sales de amonio de
la dihidroestreptonivicina, reemplazando la base inorgánica con
una base nitrogenosa, tal como amoníaco o una amina adecuada.
Ventajosamente, la neutralización es efectuada en un disolvente
20 orgánico tal como metanol, etanol, propanol, butanol, acetato
amílico u otro disolvente similar. Pueden utilizarse los hidró-
xidos de amonio cuaternario, tal como el hidróxido de tetrameti-
lamonio, para formar las correspondientes sales de amonio cua-
ternario. Así, tratando a la dihidroestreptonivicina con amonia-
25 co, mono-, di- y tri-metilaminas, mono-, di- y trietilaminas,
mono-, di- y tripropilaminas (iso y normales), etildimetilamina,
bencildietilamina, ciclohexilamina, bencilamina, dibencilamina,



229319

N,N-dibenciletilenodiamina, bis-(orto-metoxifenilisopropil) amina y otras aminas alifáticas inferiores, cicloalifáticas inferiores y aralifáticas inferiores similares que tienen hasta e incluso aproximadamente ocho átomos de carbono; aminas heterocíclicas tales como piperidina, morfina, pirrolidina, piperazina, y sus derivados alcohólicos inferiores, tales como 1-metilpiperidina, 4-etilmorfina, 1-isopropilpirrolidina, 1,4-dimetilpiperazina, 1-n-butilpiperidina, 2-metilpiperidina, 1-etil-2-metilpiperidina y otras sustancias similares; aminas que contienen grupos hidro-solubilizantes o hidrófiles tales como monodiy trietanolaminas, etildietanolamina, n-butilmonoetanolamina, 2-amino-1-butanol, 2-amino-2-etil-1,3-propanodiol, 2-amino-2-metil-1-propanol, tris-(hidroximetil)-aminometano, fenilmonoetanolamina, p-fenildietanolamina amílica terciaria, y galactamina, N-metilglucamina, N-metil glucosamina, efedrina, fenilefedrina, epinefrina, procaina, y otras sustancias similares; hidróxido de tetraetilamonio y otros hidróxidos similares de amonio cuaternario; guanidina y otras sustancias similares, se obtienen las correspondientes sales ácidas de amonio. En forma similar pueden usarse las sales de amonio de aminas más complejas, tales como las neomicinas, incluso neamina, neomicina y neomicina C, y las eritromicinas, incluso eritromicina y eritromicina B. Por lo general sólo se obtienen sales ácidas de amonio.

La dihidroestreptonivicina también reacciona con los diazoalcanos para formar los correspondientes productos alcoilados. Por ejemplo, al tratarla con diazometano de acuerdo con el método habitual para efectuar la esterificación con diazoalcanos, se obtiene dihidroestreptonivicina metilada. Además, al ha



229319

cer reaccionar dihidroestreptonivicina con un halogenuro de un ácido o un anhídrido de un ácido orgánico, se obtienen los acilatos correspondientes. Así, cuando se hace reaccionar dihidroestreptonivicina con una solución de anhídrido acético en piridina fría se obtiene la correspondiente dihidroestreptonivicina acetilada.

La dihidroestreptonivicina y sus derivados son útiles para las mismas finalidades que la estreptonivicina y los derivados correspondientes, y que ya han sido detalladas con anterioridad. Así, la dihidroestreptonivicina y sus derivados son útiles en la industria azucarera para combatir el cieno originado por L. mesenteroides, para combatir la hinchazón de la unión del tallo y la raíz de las plantas de raíz, causada por A. tumefaciens y el agostamiento del maíz causado por X. campestris. También son útiles para tratar enfermedades causadas por infecciones bacterianas en el hombre y los animales y son particularmente ventajosos en este sentido por ser activos contra los organismos estafilocócicos resistentes y también contra las infecciones resistentes causadas por organismos Proteus. Debido a su gran actividad contra estos y una gran variedad de microorganismos patógenos en los seres humanos y los animales, y debido a que origina los mismos altos niveles hemáticos que la estreptonivicina cuando se la administra por vía bucal o parenteral, la dihidroestreptonivicina es efectiva para el tratamiento de una gran variedad de enfermedades, muchas de las cuales no responden fácilmente a los agentes antibacterianos actualmente existentes.

Cuando se lo administra, por ejemplo, por vía pa-



229319

renteral, el antibiótico también es útil en el tratamiento de una infección de animales causada por Pasteurella multocida, el microorganismo causal de la septicemia hemorrágica, una fiebre que infecta a gran número de cabezas de ganado cuando éstas se hallan en tránsito al matadero. Debido a su actividad contra No-
5 cardia asteroides, el organismo causal de la actinomicosis en los animales y seres humanos, también se halla indicada la utilización de la dihidroestreptonivicina y sus derivados contra esta infección. El material antibiótico también puede ser usado
10 como un suplemento alimenticio a fin de promover el desarrollo de animales y aves, ya sea sólo o en combinación con otros antibió-
ticos.

Para estas finalidades, la estreptonivicina y sus derivados pueden ser preparados en muchas formas diferentes para
15 formar composiciones terapéuticamente efectivas. Así, la dihidroestreptonivicina y sus derivados pueden ser dispersados en un vehículo farmacéuticamente aceptable que puede ser un material sólido (pulverulento o no) o un líquido (disolvente o no disol-
vente) para formar composiciones adecuadas para la administración
20 por vía parenteral y oral. Estas composiciones pueden adquirir la forma de comprimidos, tabletas efervescentes, polvos, gránulos, cápsulas (de cubierta tanto blanda como dura), suspensiones en aceites comestibles, suspensiones acuosas, u otras formas de dosificación que son particularmente útiles para la admi-
25 nistración por vía bucal. También pueden adoptar la forma de soluciones o suspensiones estériles para la administración parente-
ral, es decir, por vía inyectable. En estas composiciones el vehículo estéril puede ser un disolvente estéril o un líquido sus



229319

5 pensor estéril que comprende un aceite inyectable o agua que contiene coloides hidrófilos, tales como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, pirrolidona polivinílica, gelatina, tragacanto y otras sustancias similares, la dihidroestreptonivicina es particularmente valiosa en estas fórmulas acuosas debido a su gran estabilidad en la presencia de agua y su fácil absorción, tal como se ha detallado más particularmente más arriba.

10 Las composiciones pueden adoptar la forma del material activo, es decir, el material antibiótico, mezclado con diluyentes sólidos y/o coadyuvantes de la formación de comprimidos tales como almidón de maíz, lactosa, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, gomas, y otros materiales similares. Puede utilizarse cualquiera de los materiales encapsulantes o formadores de tabletas o comprimidos usados en la práctica farmacéutica cuando no exista ninguna incompatibilidad con el antibiótico.

15 Pueden formarse tabletas con los materiales con o sin coadyuvantes. Alternativamente, el antibiótico puede ser colocado en la habitual cápsula o material reabsorbible, tal como la habitual cápsula de gelatina, y administrado en esta forma. En aún otra

20 realización, el material puede ser envasado en bolsitas para polvo y utilizado en esta forma. La dihidroestreptonivicina, incluso sus sales de metales y derivados, puede ser preparada en la forma de una suspensión de sabor agradable en un adecuado aceite fijado que contiene alrededor de dos por ciento de monoestearato de aluminio como agente suspensor. Esta suspensión puede ser administrada como tal por vía bucal o puede ser envasada en cápsulas.

25 El antibiótico en la forma de pomadas, incluso con una base de grasa del tipo de la vaselina, cremas, emulsiones de agua en



229319

aceite y lociones, es útil para la aplicación tópica; puede realizarse una terapéutica tópica útil con gotas nasales, pulverizaciones, pastillas y supositorios. Para el uso veterinario, la preparación es esencialmente útil en la forma de velas, pomadas para mastitis, suspensiones oleosas y en otras formas similares. El antibiótico del presente invento es particularmente útil cuando se lo administra por vía bucal o intramuscular; una dosis útil para los seres humanos es de aproximadamente 50 a aproximadamente 1000 miligramos por dosis y, en pediatría, una cantidad tan reducida como aproximadamente 25 miligramos por dosis. Se administran las dosis de aproximadamente una a seis veces por día, según la edad y las condiciones del paciente, la infección, la vía de administración y otros factores similares.

Puede variar la cantidad por ciento del ingrediente activo contenido en estas composiciones. Es necesario que el ingrediente activo constituya una proporción tal como para que se obtenga una dosis útil. Evidentemente puede administrarse al mismo tiempo varias formas de dosis unitarias. Si bien se halló, particularmente con la inyección endovenosa, que es efectiva una cantidad por ciento de menos que aproximadamente 0,10% del antibiótico, es preferible no utilizar menos que aproximadamente 0,10% del mismo. La efectividad del antibiótico aumenta a medida que aumenta la cantidad del antibiótico que se administra. Son útiles las tabletas que contienen de aproximadamente 50 a aproximadamente 1000 miligramos de dihidroestreptonivicina o sus derivados. El vehículo farmacéutico útil puede tener la forma de una cápsula de gelatina.

Debido a su marcada actividad antibacteriana y su



229319

baja toxicidad, la dihidroestreptonivicina y sus derivados son útiles como agentes terapéuticos en el tratamiento de varias enfermedades. Así, ya sea solo o en combinación con compuestos sulfamidados tales como sulfadiazina, sulfamerazina, sulfametazina (en proporción de aproximadamente una parte del antibiótico por cada dos partes de sulfamida total), y otros compuestos similares, o con antibióticos tales como tetraciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina u otros similares, el antibiótico es útil para el tratamiento de infecciones pulmonares y respiratorias a estafilococos, estreptococos y neumococos. La forma de administración puede ser por vía tópica, bucal o parenteral. El antibiótico también es útil en combinación con varias vitaminas tales como tiamina, riboflavina, ácido ascórbico, niacinamida, piridoxina, ácido pantoténico, o pantotenatos, vitamina B₁₂, ácido fólico y otras vitaminas similares. También pueden combinarse otros materiales terapéuticamente útiles con el antibiótico. La dihidroestreptonivicina y sus derivados también son útiles en el tratamiento de piodermatitis, faringitis, peritonitis, otitis, rinitis y otras afecciones similares, y en combinación con los corticoides aumenta su actividad terapéutica en el tratamiento de dermatitis atópicas y de contacto, neurodermatitis, pruritos y otras afecciones similares. Entre los corticoides adecuados se halla la cortisona, la hidrocortisona, y sus ésteres; Δ^1 -cortisona y Δ^1 -hidrocortisona incluso los ésteres de estos compuestos en la posición 21, tales como el acetato, ciclopentilpropionato y otros similares; 2-metil hidrocortisona incluso sus ésteres, y otras sustancias similares.

El presente invento podrá ser comprendido ahora con



229319

mayor claridad haciendo referencia a los ejemplos siguientes, que sólo se incluyen para fines ilustrativos y que no deben ser considerados como limitantes.

Ejemplo 1

5 Preparación de dihidroestreptonivicina.

A una solución de 40 gramos de estreptonivicina cristalina en 400 mililitros de etanol absoluto tibio se agregaron 10 gramos de catalizador de Adams (Organic Synthesis, Volumen Colectivo nº 1, Segunda Edición, página 463, John Wiley & Sons, Nueva York, EEUU de América, 1932) y la mezcla fué hidrogenada a 25-40°C durante una hora bajo una presión de hidrógeno de 2,8 kg/cm² en el manómetro. Se desprendió una cantidad considerable de calor y la hidrogenación se completó en aproximadamente 15 minutos. La mezcla fué filtrada por tierra de diatomeas y el filtrado fué diluído con 1400 mililitros de agua mientras se efectuaba una fuerte agitación. A la emulsión resultante se agregaron 20 mililitros de ácido clorhídrico 0,1 normal, originando la formación de un precipitado blanco. Este fué filtrado y secado a baja presión (25 micrones de mercurio) en un desecador a la temperatura ambiente. Se obtuvieron 36 gramos (rendimiento del 90 por ciento) de dihidroestreptonivicina como un polvo amorfo blanco. Tenía una potencia contra K. pneumonias igual a la del material inicial.

25 El producto amorfo así obtenido fué disuelto en cloroformo caliente para formar una solución al uno por ciento y luego enfriada a 4°C, con lo que se precipitó dihidroestreptonivicina. Después de separar el líquido madre y secar se obtuvo dihidroestreptonivicina cristalina, que tenía un punto de fu -



229319

sión de 163-165°C y que se hallaba caracterizada en sus demás aspectos por las características previamente detalladas. En la figura 1 de los dibujos adjuntos se reproduce el espectro de este material en una pasta en aceite mineral (Nujol) con los rayos infrarrojos.

5

Valores analíticos:

Calculado para $C_{31}H_{44}O_{11}N_2$: C, 59,98; H, 7,15; N, 4,41.

Calculado para $C_{31}H_{40}O_{11}N_2$: C, 60,38; H, 6,54; N, 4,54.

Determinado: C, 60,31; H, 6,21; N, 4,58.
C, 60,37; H, 6,26; N, 4,46.

10

También se obtiene dihidroestreptonivicina cristalina triturando cinco gramos de dihidroestreptonivicina amorfa en 100 mililitros de cloroformo a 25°C. En aproximadamente una a veinte horas todo el material amorfo queda convertido en dihidroestreptonivicina cristalina.

15

Ejemplo 2

Preparación de dihidroestreptonivicina.

A una solución de diez gramos de estreptonivicina en 120 mililitros de etanol absoluto se agregaron 10 g de catalizador de níquel de Raney. El material fué hidrogenado durante 24 horas bajo una presión de hidrógeno de 2,8 kg/cm² en el manómetro en un hidrogenador Parr. El catalizador fué separado y el disolvente fué evaporado hasta quedar reducido a 30 ml. Luego se agregaron 50 ml de acetona y 200 ml de hexano técnico (Skellysolve B) para producir un aceite. Este fué separado y secado al vacío. El material sólido amorfo fué disuelto en cloroformo y la solución fué lavada con medio volumen de ácido clorhídrico 0,1 normal. Luego el cloroformo fué evaporado hasta la mi-

20

25



229319

tad de su volumen y enfriado para precipitar 4,5 gramos de dihidroestreptonivicina cristalina que tenía una actividad igual a la del material inicial.

Ejemplo 3

5 Preparación de dihidroestreptonivicina ácida de sodio.

Una solución de 4 g (6,45 milimoles) de dihidroestreptonivicina cristalina en 90 ml de acetona fué sacada durante 30 minutos sobre sulfato de magnesio anhidro. A esta solución seca se agregaron 350 mg (6,4 milimoles) de metóxido de sodio y la mezcla fué agitada durante 24 horas a 25°C. El metóxido de sodio se disolvió gradualmente y simultáneamente se cristalizó la dihidroestreptonivicina ácida de sodio. Los cristales precipitados fueron separados, bien lavados con 90 ml de acetona anhidra y secados a 25°C bajo vacío. Se obtuvieron 3,5 gramos (81% de la cantidad teórica) de dihidroestreptonivicina ácida de sodio, p.f. 225-235°C con descomposición, que tenía una potencia contra K. pneumoniae igual a la del material inicial y de la estreptonivicina pura. En la figura 2 de los dibujos adjuntos se reproduce el espectro obtenido con rayos infrarrojos con una pasta de este material en un aceite mineral (Nujol).

Ejemplo 4

25 Preparación de dihidroestreptonivicina disódica.

4 g (6,45 milimoles) de dihidroestreptonivicina cristalina fueron suspendidos en 20 ml de agua y se agregaron gradualmente 12,9 ml (12,9 milimoles) de solución de hidróxido de sodio 1 N. La solución resultante (pH 10,5) fué filtrada y secada por evaporación desde el estado congelado. Se obtuvieron 4,25 g (100% de la cantidad teórica) de dihidroestreptonivicina



229319

disódica. El producto tenía una potencia contra K. pneumoniae que era igual a aproximadamente 80% de la del material inicial y de la estreptonivicina pura. En la figura 3 de los dibujos ad-
juntos se reproduce el espectro obtenido con rayos infrarrojos
5 con una pasta de este material en un aceite mineral (Nujol).

Ejemplo 5

Producción de la sal hemiacética de dihidroestreptonivicina.

A una solución de 62 g (0,1 mol) de dihidroestrep-
tenivicina disueltos en 250 ml de acetona se agregaron 4 g (0,1
10 mol) de hidróxido de sodio en 50 ml de agua. Cuando se obtuvo
una solución, ésta fué filtrada y se le agregaron 12,7 ml de
cloruro de calcio 4 M con calentamiento y agitación para indu-
cir la cristalización. Durante las 3 horas siguientes se agrega-
ron 300 ml de agua y la pasta líquida fué refrigerada durante
15 una noche. Luego se la filtró y se secaron los cristales blan-
cos. Se obtuvieron 55 gramos (85% de la cantidad teórica) de la
sal hemiacética de dihidroestreptonivicina.

Ejemplo 6

A un gramo de dihidroestreptonivicina cristalina
20 disuelta en 20 ml de acetato amílico se agrega 0,162 gramo (un
equivalente) de di-n-propilamina. El resultante precipitado amor-
fo blanco, la sal de di-n-propilamina de dihidroestreptonivici-
na, es separado y secado.

25 Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo
5, salvo por la substitución de la di-n-propilamina con un equi-
valente de la amina apropiada, se obtienen las sales ácidas de
dihidroestreptonivicina y las aminas precedentemente detalladas.

La dihidroestreptonivicina en forma cristalina, tal



229319

como se la obtiene en el ejemplo 1, tiene las siguientes características de absorción de rayos ultravioletas:

En etanol al 70% que contiene ácido sulfúrico 0,01 normal:

5

<u>Milimicrones</u>	$\frac{1\%}{E_{1\text{ cm}}}$
328 (pico principal)	417
305 (inflexión)	302
278	208
260	202
248 (inflexión)	219
232 (inflexión)	312

10

En etanol al 70% que contiene hidróxido de potasio 0,01 normal:

15

<u>Milimicrones</u>	$\frac{1\%}{E_{1\text{ cm}}}$
308 (pico principal)	547
288 (inflexión)	398
253 (inflexión)	192
232 (inflexión)	317

Ejemplo 7

Una suspensión acuosa para ser usada por vía bucal, que contiene 100 miligramos de dihidroestreptonivicina en cada dosis de 5 cm³, es preparada con los siguientes tipos y cantidades de materiales:

20

25

Dihidroestreptonivicina "	20 gramos
Acido cítrico USP	2 gramos
Acido benzoico USP	1 gramo
Metilparaben USP	1 gramo
Propilparaben USP	0,5 gramo
Glicerina USP	150 cm cúbicos
Tragacanto en polvo USP	7,5 gramos
Concentrado sazonador de aceite de esencias	0,2 cm cúbicos
Sucrosa USP	400 gramos
Agua desionizada, c.s.p.	1000 cm cúbicos

" La dihidroestreptonivicina usada en los ejemplos



229319

salvo cuando se indica distintamente, se halla en la forma amorfa obtenida mediante el procedimiento del ejemplo 1.

El ácido cítrico es disuelto en 500 cm³ de agua.

El ácido benzoico y los parabens son dispersados en la glicerina en un recipiente separado, agregándose luego la dihidroestreptonivicina finamente pulverizada, el tragacanto y los sazonadores en el orden citado. Se mezcla bien hasta obtener una suspensión uniforme y la suspensión es agregada entonces a la solución acuosa de ácido cítrico mientras se agita rápidamente. Finalmente se agrega el azúcar y se mezcla bien a la mezcla total, la que es pasada luego por un molino para coloides. Se utiliza una cantidad suficiente de agua para enjuagar al molino y se utiliza el agua empleada para enjuagar a fin de llevar el volumen final de 1000 cm³. Se valora la potencia de la suspensión y se la utiliza clínicamente.

15

Ejemplo 8

Una suspensión acuosa para use por vía bucal, que contiene 100 miligramos de dihidroestreptonivicina en cada dosis de un cm³, es preparada mediante el procedimiento del ejemplo 1 con los siguientes tipos y cantidades de materiales:

20

Dihidroestreptonivicina	100 gramos
Poli-etileno glicol 4000 USP	60 gramos
Carboximetilcelulosa de sodio de baja viscosidad	5 gramos
Acido benzoico USP	1 gramo
Metilparaben USP	1 gramo
Acido cítrico USP	1 gramo
Sacarina soluble	1 gramo
Sucrosa USP	700 gramos
Concentrado sazonador de aceite de esencias	0,1 gm ³
Agua desionizada, c.s.p.	1000 cm ³

25

Se valora la potencia de la suspensión y se la usa clínicamente.



229319

Ejemplo 9

Una suspensión acuosa estéril para uso intramuscular, que contiene 300 miligramos de dihidroestreptonivicina en cada cm³, es preparada con los siguientes tipos y cantidades de materiales;

5	Dihidroestreptonivicina	300 gramos
	Carboximetilcelulosa de sodio, de baja viscosidad	7,5 gramos
	Polivinilpirrolidona "	7,5 gramos
	Polisorbato 80 USP	4 gramos
	Metilparaben USP	2,5 gramos
	Propilparaben USP	0,17 gramos
	Agua para inyección USP	1.000 cm. cúbicos

10 " La polivinilpirrolidona es vendida por The General Aniline and Film Co² bajo la marca registrada "PLASDONE" y se halla caracterizada por tener un coeficiente de viscosidad, es decir, un valor K, de 26 a 36 y un peso molecular de aproximadamente 40.000.

15 La carboximetilcelulosa de sodio, la polivinilpirrolidona y el polisorbato 80 son dispersados en una cantidad suficiente de agua y esterilizados en una autoclave a 120°C durante 30 minutos. La dihidroestreptonivicina finalmente pulverizada, el metilparaben y el propilparaben son separadamente es-
20 terilizados mediante el tratamiento con óxido de etileno, luego bien mezclados en un adecuado aparato mezclador estéril y finalmente esterilizados en el vehículo tratado en autoclave y enfriado. La suspensión estéril terminada es envasada asépticamente en pequeñas ampollas estériles, luego de lo cual se valora su potencia y se la usa clínicamente.

Ejemplo 10

25 Una suspensión acuosa para uso por vía bucal, que contiene en cada dosis de 5 cm³ medio gramo de sulfamidas totales y 250 miligramos de dihidroestreptonivicina, es preparada mediante el procedimiento del ejemplo 1 con los siguientes

19 JUN 1954



229319

tipos y cantidades de materiales:

	Dihidroestreptonivicina	50	gramos
	Sulfadiazina	33,3	gramos
	Sulfamerazina	33,3	gramos
	Sulfametazina	33,3	gramos
	Acido cítrico USP	2	gramos
5	Acido benzoico USP	1	gramo
	Metilparaben USP	1	gramo
	Propilparaben USP	0,5	gramo
	Sacarina soluble	1	gramo
	Sucrosa USP	700	gramos
	Tragacanto en polvo USP	5	gramos
	Concentrado sazonador de aceite de esencias	0,2	cm cúbicos
	Agua desionizada c.s.p.	1.000	cm cúbicos

10 Se valora la potencia de la suspensión y se la usa clínicamente.

Ejemplo 11

15 Se prepara una suspensión acuosa estéril para uso ocular u óptico con los siguientes tipos y cantidades de materiales;

	Dihidroestreptonivicina, micronizada	10	gramos
	Sulfato de neomicina	6	gramos
	Hidrocortisona micronizada	10	gramos
	Citrato de sodio USP	4,5	gramos
	Polietileno glicol 4.000 USP	120	gramos
	QUATRESIN (cloruro de miristil - Y- picolinio)	0,2	gramo
	Polivinilpirrolidona	1	gramo
20	Agua para inyección, c.s.p.	1.000	cm. cúbicos

25 Todos los materiales hidrosolubles son disueltos en el agua para inyecciones y la solución resultante es esterilizada por filtración. Los materiales insolubles, la dihidroestreptonivicina y la hidrocortisona, son esterilizados por tratamiento con óxido de etileno y luego dispersados en el vehículo estéril previamente preparado. La suspensión final es tratada en un molino para coloides estéril para asegurar una dispersión uniforme del material insoluble. La preparación estéril es envasada en



229319

frascos-gotero estériles para uso oftálmico, y luego se valora su potencia y se la usa clínicamente.

5 Debe quedar entendido que el presente invento no queda limitado a los detalles exactos de procedimiento o a los compuestos exactos ilustrados y descritos, pues los expertos en la materia podrán hallar fácilmente modificaciones y equiva- lentes evidentes; por lo tanto, el invento sólo queda limitado por el alcance de las reivindicaciones adjuntas.



N O T A 229319

Este registro consta de las siguientes reivindicaciones:

5 1.- Procedimiento para preparar dihidroestreptonivicina caracterizado porque comprende reaccionar estreptonivicina con hidrógeno en presencia de un catalizador de hidrogenación y recuperar dihidroestreptonivicina.

10 2.- Procedimiento según la reivindicación 1 en el cual la estreptonivicina se caracteriza por una rotación óptica $[\alpha]_D^{23-26}$ = menos 63.0 grados (c, 1 por ciento de etanol absoluto, 2 decímetros); por ser muy soluble en el agua encima de pH 9 con disminución de su solubilidad en el agua en aproximadamente cero durante el descenso del pH de 9 a 5; por ser soluble en alcoholes inferiores y acetona; por el siguiente análisis elemental:

15	<u>Elemento</u>	<u>Por ciento</u>
	Carbono	59.40
	Hidrógeno	6.44
	Nitrógeno	4.54

20 por un peso molecular de aproximadamente 618 \pm 2 por ciento; por una fórmula empírica de $C_{30-32}H_{38-42}O_{11-12}N_2$; por la presencia de dos grupos ácidos; pK_{a1} 4.3, pK_{a2} 9.1 en agua y pK_{a1} 5.7 y pK_{a2} 11.9 en dimetilformamida; por existir en dos formas de cristales, Forma 1 fundiendo con descomposición entre 174 y 178° C. y Forma 2 fundiendo con descomposición entre 149 y 151° C. cuyas formas cristalinas poseen espectros de absorción infrarrojos característicos indicados en la Tabla II; por formar sales ácidas y neutras; y por máxima absorción ultravioleta en 334 milimicro-

25



229319

nes en 0.01 de ácido sulfúrico normal en etanol acuoso y 311 milimicrones en 0.01 de hidróxido potásico normal en etanol acuoso.

5 3.- Procedimiento según la reivindicación 1 caracterizado porque el catalizador es óxido de platino o níquel de Raney.

4.- Procedimiento según la reivindicación 1 caracterizado porque la reacción se conduce en un disolvente orgánico, v.g., alcohol alifático inferior.

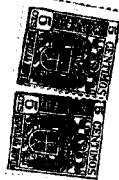
10 5.- Procedimiento según la reivindicación 1 caracterizado porque la reacción se conduce bajo presión de hidrógeno.

6.- Procedimiento para preparar dihidroestreptonivicina.

15 Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva.

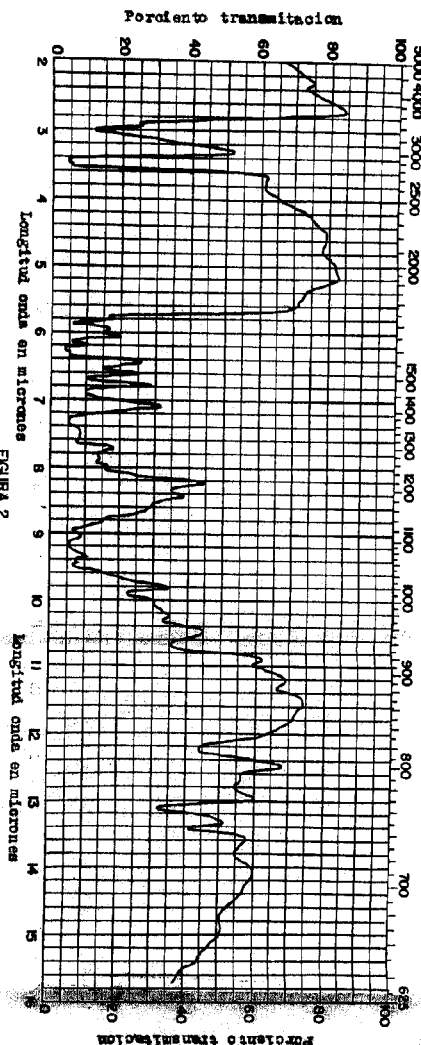
Consta esta memoria de veintisiete hojas foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, a 19 JUN 1956

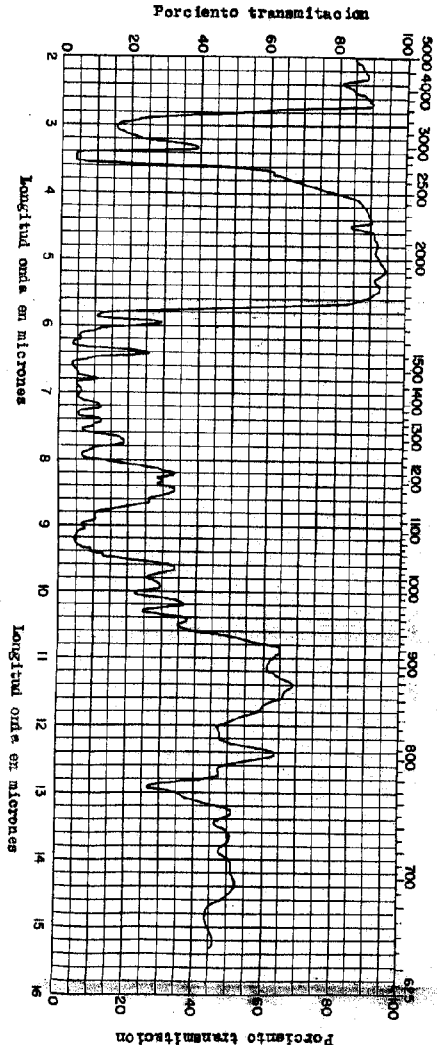


229319

ESPECTRO DE ABSORCION INFRARROJO DE DITHIOSEPTENOLITICA
Num. onda en cm⁻¹



ESPECTRO DE ABSORCION INFRARROJO DE DITHIOSEPTENOLITICA MONOSODICA
Num. onda en cm⁻¹

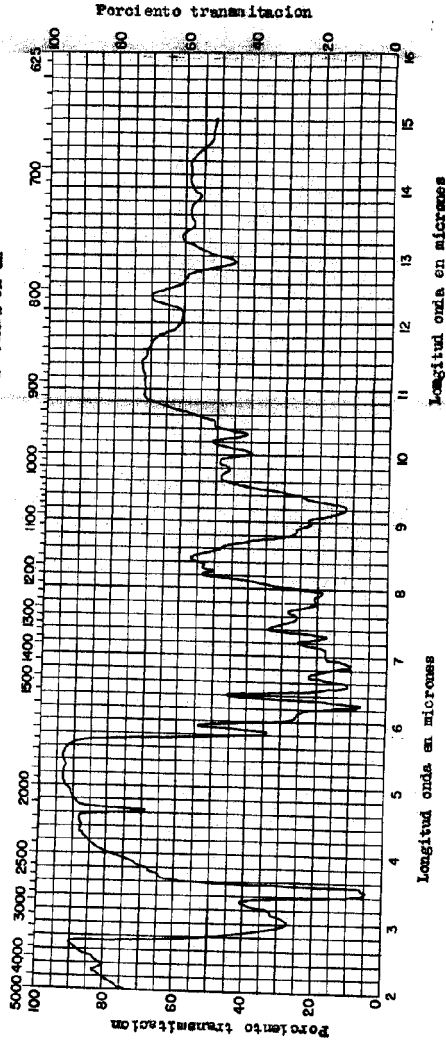


Handwritten signature or initials.



220310

FIGURA 3
ESPECTRO DE ABSORCION INFRAROJO DE SAL SODICA DE DIHIDROSTREPTOMICINA



Handwritten signature or initials