



280958

P A T E N T E D E I N V E N C I O N

=====

a favor de

MERCK & CO., INC. - de nacionalidad norteamericana -
domiciliada en RAHWAY (New Jersey, E.U.) 126 East Lincoln
Avenue,

por:

" Procedimiento para preparar aminoácidos "

-----:oOo:-----

M e m o r i a D e s c r i p t i v a

Este invento se refiere a un nuevo procedimien-
to para obtener los isómeros ópticos de la α -metil-3,4-

280958



dihidroxifenilalanina en forma substancialmente pura.
Más concretamente, este invento se refiere a un proce-
dimiento para obtener los enantiomorfos ópticos de α -me-
til-3,4-dihidroxifenilalanina (denominada a veces α -me-
5 tildopa) en forma substancialmente pura, el cual compren-
de poner una solución acuosa sobresaturada de la forma
racémica en contacto con un cebo cristalino del isómero
que interesa. La citada solución contiene 0-90% del re-
ferido compuesto de alanina en forma de la sal de amina
10 de un ácido halógeno, hidrosoluble y no anfótero. Más espe-
cíficamente, se refiere también a un procedimiento para
disociar o resolver la α -metildopa en sus enantiomorfos
substancialmente puros, disolviendo el racemato en solu-
ción acuosa con 0-90% del ácido necesario para formar la
15 sal de amina; transformar dicha solución en otra sobresa-
turada del carácter antedicho; poner la solución sobresa-
turada en contacto con uno de los enantiomorfos en forma
cristalina; separar el agua madre y ponerla en contacto,
aumentando o no la sobresaturación, con el otro enantio-
20 morfo. Asimismo se refiere el invento a métodos conti-
nuos de efectuar tal resolución. En uno de estos métodos,
el agua madre procedente de la segunda cristalización men-
cionada vuelve a ciclar al disolver el racemato, y los
enantiomorfos cristalizados se retiran de cada cristaliza-
25 ción continua o intermitentemente. En otro, el proceso
de resolución continua de la α -metildopa comprende disol-
ver el racemato en una solución acuosa que suele contener
algo de ácido; dividir la solución en dos partes iguales;
formar una solución sobresaturada como la descrita con ca-
30 da parte, poner cada una de estas soluciones sobresa-
tura-

280958



das en contacto con uno de los enantioformos, uno de forma D y otro de forma L, y restituir al ciclo las aguas madres en la fase de disolución. Los enantiomorfos cristalizados se separan de los posos continúa o intermitentemente.

5

La L- α -metil-3,4-dihidrofénilalanina es un nuevo e importante medicamento contra la hipertención. La forma D, completamente inactiva en este sentido, presenta la misma toxicidad que la forma L. Por eso conviene separar la forma D, puesto que no contribuye en nada a reducir la hipertensión; esta propiedad radica sólo en la forma L.

10

Se ha comprobado que es posible cristalizar selectivamente por turno cada enantiomorfo en forma substancialmente pura a partir de una solución acuosa de la α -metil-3,4-dihidroximetilalanina recémica formando una solución sobresaturada y poniéndola en contacto con cristales de cebo del enantiomorfo buscado. La solución sobresaturada se puede formar en presencia del cebo, o bien se ceba después la solución sobresaturada. De este modo, la formación y el contacto con el cebo o semilla pueden ser simultáneos o sucesivos, según las condiciones lo requieran. La clave de tal cristalización radica en mantener el ácido disolvente en proporción al compuesto de fenilalanina de modo que haya 0-90% de este último a lo sumo como sal amónica del ácido halógeno, y el resto en forma de base libre. La α -metildopa se encuentra en la solución sobresaturada esencialmente como racemato. Puede haber excesos de un enantiomorfo por retirarse algo del otro de la solución en una cristalización anterior an-

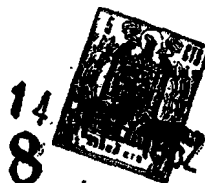
15

20

25

30

280958



tes de restituir el agua madre al ciclo. Aunque ninguna
cristalización separa del todo un isómero específico, ais-
lando la forma L y la D por separado de este modo, y aña-
diendo el racemato complementario a cada aislamiento o
5 cada par de aislamientos, a fin de mantener la solución
saturada o casi saturada y facilitar así la formación de
soluciones sobresaturadas, es posible aislar casi por com-
pleto la forma L.

Los ácidos halógenos que pueden emplearse compren-
10 den cualquier ácido no anfótero hidrosoluble. Se prefie-
ren los ácidos que tienen por lo menos un hidrógeno ácido
con una constante de ionización superior a 10^{-3} , y que no
oxidan. Por la sensibilidad de los hidroxilos de este com-
puesto a la oxidación para formar estructuras quinoides, es
15 preferible que el ácido no sea oxidante. Por tanto, el
término "no oxidante" se asigna a un ácido en el cual esos
hidroxilos sean inertes a la temperatura y a la concentra-
ción empleadas. A bajas temperaturas y con buena dilución,
pueden ser inertes ácidos como el nítrico, usualmente con-
20 siderados como oxidantes. Se prefiere la constante mínima
de ionización, a fin de disponer de un ácido suficientemen-
te enérgico para formar sin dificultad las sales de fenila-
lanina cuando se tomen cantidades no muy pequeñas de ácido,
que así se agrega a la cantidad de fenilalanina en solu-
25 ción. Cuando se emplean cantidades pequeñas o indicios de
ácido simplemente para mantener no alcalina la solución, pue-
de utilizarse cualquier ácido soluble en el disolvente, por
lo general agua. Tratándose de ácidos polibásicos, única-
mente los hidrógenos ionizables de K_a superior a 10^{-3} tie-
30 nen importancia si aquéllos se emplean en grandes propor-



280930

5 ciones. Los ácidos que es preferible usar son los ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfuroso, monocloraacético, dicloroacético, tricloroacético, fosforoso, fosfórico y similares. Pueden emplearse otros ácidos, como el acético, el nítrico o el perolórico diluidos, etc., pero es preferible no hacerlo, por su escasa acidez, que reduce la cantidad disuelta, o por su carácter oxidante. Los ácidos deben ser no anfóteros (es decir, que no convienen aminoácidos) por el carácter ambivalente de su forma neutra. Su forma carboxílica libre
10 requiere otros iones de hidrógeno ácido para neutralizar los grupos amino, que pueden servir asimismo para disolver el compuesto de fenilalanina.

15 La primera constante de ionización de la mayoría de los ácidos polibásicos es la única de importancia en la forma preferida del invento, pues suele ser la única de K_a superior a 10^{-3} . En tales casos, la función del ácido halógeno es neutralizar el grupo amino para formar las sales ácidas, como el bisulfito. En casos especiales, como el de H_2SO_4 , el segundo hidrógeno ácido tiene
20 una constante de ionización dentro del margen adecuado, y se obtienen sales neutras. La relación entre moles de aminoácido en solución y equivalentes de hidrógeno ácido con K_a mayor de 10^{-3} , en la forma de ejecución preferida, debe ser tal que 0-90% del aminoácido esté en la
25 forma de sal amínica en la solución sobresaturada final de la que ha de separarse el enantiomorfo buscado. Debe haber, pues, algo de base libre presente (más de 10%). El enantiomorfo que interesa cristaliza como base libre,
30 y deja un agua madre sobresaturada del otro enantiomor-

280958⁴



fo. La recuperación máxima del primero en cualquier cristalización es la cantidad presente como base libre. Por encima de 90% de aminoácido como sal amínica, la recuperación es pequeña. Aunque la solubilidad del aminoácido libre en agua es menor que la de la sal amínica, por lo menos en un método de realización del invento el aminoácido puede estar presente casi todo como amina libre, con poco o nada de ácido neutralizante. La solución no debe estar nunca en el sector alcalino en presencia de aire, para que no haya descomposición, y por eso suele ser preferible que haya al menos un indicio de ácido neutralizante, a fin de aumentar la estabilidad. Sin embargo, el método del invento se puede llevar a cabo sin ácido, y si se excluye el aire, aún en el sector alcalino, empleando sales del grupo funcional carboxilo. Sin embargo, es más fácil trabajar con un pH neutro, o mejor con un leve indicio de ácido.

El procedimiento de este invento se efectúa en solución en un disolvente polar, con preferencia acuoso, entendiéndose por tal uno que contenga al menos 10% de agua en volumen. El disolvente puede ser cualquier disolvente polar miscible con agua, como alcohol ligero (metanol, etanol, butanol secundario, etc.), dioxano, acetona y similares. Con disolventes que no sean los alcoholes, se necesita agua para ayudar a formar el ácido disolvente cuando se emplea SO_2 para disolver el aminoácido.

Las soluciones sobresaturadas según la invención se pueden formar de varios modos distintos. Uno de los más comunes consiste en utilizar el cambio de solubilidad con la temperatura. Se forma así una solución saturada

280958



a una temperatura (p.ej., 30-45°C.) y se enfría en presencia de los cristales de cebo a temperatura inferior (p.ej., menos de 25°C.). Este método, empleando tales temperaturas, dá resultados excelentes si el aminoácido se halla en la forma alotrópica adecuada. Se ha comprobado que la α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina racémica origina varias formas cristalinas alotrópicas distintas, en las que el gradiente de solubilidad difiere con la temperatura. Una forma particular que ha mostrado un buen gradiente de temperatura se caracteriza por puntas de rayos Roentgen (Ka 2 θ cobre) a 9°, 11° y 23°. Pero esta forma (IIA) es inestable, y pasa a la forma estable (I) en contacto con el agua, aún a temperatura ambiente. El cambio, lento a baja temperatura, se hace más rápido al elevarse ésta. La forma estable (I) se caracteriza por puntas de rayos Roentgen (Ka 2 θ cobre) a 10° y 13°. El gradiente de temperatura de la solubilidad de la forma I es pequeño, inferior a 50°C., pero se hace mucho mayor inesperadamente a temperaturas más altas. Así es posible disolver el material racémico a temperaturas entre 60° y 100°C., y formar la solución sobresaturada a temperaturas del orden de 5 a 40°C. Como la forma I es la estable en que se transforman las otras, se prefiere este modo de operar cuando se emplea el método térmico de sobresaturación. Es un método especialmente preferido de resolver de modo continuo la α -metildopa.

En general, cuanto mayor sea la diferencia entre la temperatura a que se forma la solución saturada y la de cristalización, más aumenta la tendencia del racemato a precipitar. Por consiguiente, es necesario mantener la

280958



diferencia de temperatura entre estas dos operaciones lo más baja posible, mientras sea satisfactorio el ritmo de cristalización; se necesita al menos una diferencia de 10°C. La existente entre las temperaturas de disolución y de cristalización no debe exceder de 60°C., pues si es mayor, el material racémico tiende a precipitar. La forma estable (I), aunque presenta una curva de solubilidad relativamente plana a bajas temperaturas, puede emplearse por ello en el método diferencial con temperaturas más altas, hasta de 100°C.

El procedimiento diferencial de temperaturas preferido, en general, consiste en formar una solución saturada del racemato a 50-100°C., mejor a unos 75°C. en agua que contenga un poco (p.ej., menos de 0,2 equivalentes por mol. de alanina) de un ácido como el clorhídrico o el sulfúrico, para obtener una solución de α -metildopa con 0 a 20% del aminoácido en forma de sal. La relación entre sal de aminoácido y aminoácido se regula convenientemente añadiendo compuesto de fenilalanina en exceso a una cantidad dada de ácido. Con preferencia, sólo hay un indicio de ácido, usualmente sulfuroso, para asegurar la estabilidad. El racemato no disuelto se filtra, y el filtrado contiene automáticamente aminoácido más clorhidrato o bisulfito de aminoácido disuelto en la solución. El filtrado se ceba con cristales del enantiomorfo buscado. La solución cebada se enfría luego a 5-40°C., mejor a unos 35°C.

Aunque el anterior es el método preferido de emplear las diferencias de temperatura para formar una solución sobresaturada, el procedimiento se puede aplicar también con temperaturas de disolución y de cristalización

280958



más bajas. El racemato puede disolverse a 35°C. y enfriarse a menos de 20°C. Por ser aplanado el gradiente de solubilidad dentro de este margen, tales operaciones no son tan eficientes como empleando los márgenes preferidos, sobre todo cuando existen cantidades pequeñas de ácido.

La solución cebada fría, saturada o aún algo sobresaturada del enantiomorfo que interesa, según el tiempo de maduración, y sobresaturada también del otro enantiomorfo, se filtra y da 30-50% de uno de ellos, con grados de pureza de 95 a 100%. El empleo de cristales de cebo del enantiomorfo buscado varía con la forma de proceder. Con preferencia se añaden no menos de 5 g. de cebo por litro de solución sobresaturada, generalmente 150 g. por litro, o más. La cantidad de esos cristales es cuestión de práctica; el límite superior se ajusta a la viscosidad del sedimento. La cantidad de cebo utilizable depende también en parte del tamaño de las partículas, pues las partículas pequeñas tiene más superficie de cebo por unidad de peso. El efecto de cebo (o sea la combinación de la cantidad y el tamaño de las partículas) regula el ritmo de descarga de la sobresaturación. Si la cantidad es pequeña, o grandes las partículas, este ritmo es lento. Cantidades grandes y partículas pequeñas aumentan la rapidez de cristalización; y a menor ritmo se hace mayor una posible contaminación.

Un segundo método alternativo de formar una solución sobresaturada consiste en trabajar a temperatura constante, pero cambiando la cantidad de ácido halógeno presente por neutralización. Esto es particularmente ventajoso cuando el aminoácido se ha transformado en una de las

200358



formas alotrópicas con diferencias muy bajas de la temperatura de solubilidad. Según este método, se prepara una solución en el ácido halógeno, que puede estar en exceso, aunque no es necesario; en tal caso, la solución no está saturada, y contiene el aminoácido como sal amínica. Si hay exceso, se necesita más base para formar una solución saturada y luego sobresaturada, con lo que se libera algo del aminoácido de la sal amínica. Es preferible formar una solución saturada, pero sin emplear ácido en exceso. El material no disuelto se separa de nuevo, y se añade una base. Al neutralizar el ácido disolvente, se forma una solución sobresaturada. La relación entre aminoácido y ácido halógeno debe ser asimismo tal que haya 0-90% de α -metil dopa como amina libre. La neutralización se hace despacio, en presencia de cristales de cebo de uno de los enantiomorfos, o bien se satura más tarde mediante agitación vigorosa la solución sobresaturada. La técnica de neutralización puede efectuarse a temperatura constante o combinada con un cambio de temperatura, aunque en general es mejor mantener la mezcla a temperatura constante, a fin de evitar que el producto se contamine con racemato. Es posible neutralizar con cualquier base adecuada, por ejemplo, hidróxido amónico, hidróxido sódico, cal, magnesia, hidróxido potásico y similares, así como carbonatos o bicarbonatos de estos iones metálicos. Cuando el catión forma sales solubles con el ácido disolvente y el compuesto de fenilalanina, puede emplearse la técnica de neutralización en presencia de cebo. Si se forman sales insolubles con el ácido halógeno, hay que filtrar la solución sobresaturada antes de cebar. Deben rehuirse las bases que for-

290958



men sales insolubles de α -metildopa, pues neutralizan el ácido inadecuado, y eliminan el racemato de la solución.

5 Otro método de formar una solución sobresaturada es el de volatilizar el disolvente en la solución saturada, elevando la temperatura o reduciendo la presión. Este método es especialmente factible cuando la solución acuosa contiene una pequeña cantidad de un disolvente polar, como metanol, que es muy volátil.

10 Otro método de formar la solución sobresaturada consiste en disolver el aminoácido en un exceso de ácido que tenga un anhídrido volátil en solución acuosa, y transformar ésta en solución sobresaturada por volatilización del anhídrido del ácido disolvente en la solución saturada. Un ejemplo de ácido de esta clase es el sulfuroso, del cual sólo la primera constante de ionización es superior a 10^{-3} . Así, al llevar a cabo esta variación, se forma una solución saturada del aminoácido racémico en forma de bisulfito burbujeando dióxido de azufre en una
15 suspensión del compuesto de fenilalanina, o añadiendo un exceso de α -metildopa a una solución de SO_2 en agua. Debe emplearse en cualquiera de los dos casos un exceso del aminoácido para tener presente al menos 10% del aminoácido disuelto en la solución sobresaturada final como base
20 libre. El material no disuelto se separa, y se ceba el filtrado como antes. El filtrado cebado se hierve luego a presión atmosférica, o a presión reducida, o se rocía con un gas inerte, como nitrógeno, para retirar parte del SO_2 , y formar así una solución sobresaturada de aminoácido
25 libre. Asimismo es posible aislar por filtración un amino-
30

280958



ácido ópticamente activo de gran pureza.

5 El procedimiento es especialmente ventajoso, por adaptarse a un trabajo contínuo, fácil de regular, y porque, a diferencia del de neutralización, no se forman sales inorgánicas en el agua madre devuelta al ciclo. Sin embargo, se prefiere el método térmico, por razones de economía.

10 Una ventaja muy importante del invento en conjunto, tanto del procedimiento, por cargas o contínuo, pero sobre todo del procedimiento contínuo, es la pureza del enantiomorfo recuperado. Tanto en cargas como contínuo, el método del invento es notable porque dá un isómero substancialmente puro (con más de 97% de un enantiomorfo sobre la proporción del otro, y generalmente cerca de 100%). Ningún procedimiento directo de los que se dicen utilizados
15 con otros compuestos dá una resolución tan completa en los casos comunicados, ni se ha descrito ninguna otra resolución contínua.

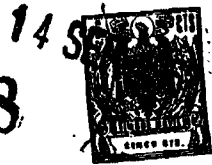
20 Se realiza un trabajo contínuo pasando una solución, saturada o casi saturada, de α -metildopa en solución acuosa no alcalina, a cristalizadores separados que contengan enantiomorfos de cebo, y formando contínuamente soluciones saturadas en presencia del cebo o núcleo de cada enantiomorfo, que entonces cristaliza en parte. Las cristalizaciones separadas de cada enantiomorfo pueden efectuarse en
25 serie o en paralelo. Cuando las cristalizaciones se hacen en serie, el agua madre de la primera cristalización se lleva contínuamente a la que sigue, y el agua madre respectiva se devuelve contínuamente al ciclo en un recipiente de disolución, cargando solución saturada en los cris-
30

14 SEP



talizadores. Cuando las cristalizaciones se hacen en paralelo, la corriente de solución saturada se divide en dos partes, cada una de las cuales vá a uno de los cristalizadores, y las aguas madres se reúnen y devuelven al ciclo en la fase de disolución. Regularmente se agrega más racemato al recipiente de disolución, para mantener saturada su descarga por la presencia constante de racemato sólido. Es posible lograr mediante esta técnica la resolución completa del aminoácido racémico en sus enantiomorfos.

El carácter continuo de este procedimiento depende de la regulación de las velocidades de transporte de las respectivas soluciones a cada recipiente sucesivo del circuito, a fin de mantener constantes en cada cristalizador las condiciones adecuadas para que cristalice el enantiomorfo cebado. El recipiente de disolución se mantiene a la temperatura conveniente si se emplea una técnica de esta clase para formar la solución sobresaturada, o se trata con SO_2 , si se emplea la técnica del anhídrido volátil, a velocidad regulada. Se carga de vez en cuando más racemato para mantener siempre una fase sólida presente en la vasija de disolución. La solución saturada se retira a ritmo regulado a través de una admisión de filtro (para evitar el transporte de racemato sólido), y se lleva al primer cristalizador cebado. En éste se forma continuamente la solución sobresaturada en presencia de los cristales de cebo (manteniendo la temperatura a nivel adecuado, añadiendo continuamente una base neutralizante, rociando con un gas inerte, manteniendo una presión más baja, etc., según la técnica utilizada).



5 Por la técnica en serie, el agua madre (que está sobresaturada de un enantiomorfo, pero no del otro) se retira también continuamente a través de una admisión filtrante a un segundo cristalizador, cebado con el otro enantiomorfo. El segundo cristalizador devuelve análogamente su agua madre al recipiente de disolución, y la rapidez de cada uno de estos trasiegos se regula con cuidado para componer un sistema equilibrado. A fin de asegurar la recuperación casi total del segundo enantiomorfo en exceso

10 de una mezcla racémica en el segundo cristalizador, se prefiere verter también otra cantidad, menor esta vez, de SO_2 de este cristalizador, o, si se emplea el método de diferencias de temperatura, es mejor mantener el segundo cristalizador a una temperatura algo más baja, pero esto

15 no es absolutamente necesario para recuperar algo del segundo enantiomorfo. Cada cristalizador lleva un sistema de eliminación de sedimentos, y los enantiomorfos cristalizados se retiran regularmente para que los posos no se hagan demasiado gruesos. Los posos así retirados se

20 filtran, y los filtrados se devuelven al recipiente de procedencia o al de disolución.

25 Por la técnica en paralelo, la solución saturada se divide y se pasa continuamente a cristalizadores separados. El sedimento de enantiomorfo cristalizado se mantiene en agitación, y el exceso se pasa por un filtro. Las aguas madres se recombinan, y se reincorporan al ciclo en el recipiente de disolución.

El invento puede ilustrarse por medio de los siguientes ejemplos:

14 SEP.



280958

Se deslién 37 g. de α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina racémica, a 35°C., en 100 cc. de ácido clorhídrico normal. El exceso de sólidos se filtra, y deja una solución saturada que contiene 34,6 g. de aminoácido racémico, 61% del mismo presente en forma de clorhidrato. Luego se ceba la solución a 35°C. con 7 g. de L- α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina racémica hidratada (6,2 g. de material anhidro). La mezcla se enfría a continuación a 20°C. en treinta minutos, y se deja una hora a 20°C.

5 El material separado se aísla por filtración, se lava dos veces con porciones de 10 cc. de agua fría, y se seca en vacío. Se obtienen así 14,1 g. de L- α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina en forma de sesquihidrato de 100% de pureza, determinada por la rotación del complejo de cobre.

10 Una porción de las aguas madres de la fase precedente (45 ml.) contiene 3,65 g. de ácido clorhídrico y 10,4 g. de α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina, con un 61% de la forma D. El agua madre se calienta a 35°C., y se agita con 2,4 g. de racemato. Los sólidos en exceso se retiran por filtración, y queda una solución de filtrado que contiene 12,2 g. de α -metildopa, con 67% de clorhidrato. El filtrado se ceba a 35°C. con 2,7 g. de D- α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina hidratada (2,4 g. de sustancia anhidra). La mezcla se enfría a 20°C. por espacio de treinta minutos, y se deja reposar una hora a 20°C.

15 El material precipitado se aísla por filtración, se lava dos veces con 5 cc. de agua fría, y se seca en vacío. Así se obtiene un total de 5,5 g. de D- α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina en forma de sesquihidrato de 100% de pureza. Las aguas madres contienen el aminoácido racémico

20

25

30



con un insignificante exceso de uno u otro enantiomorfo. Estas aguas madres se vuelven al ciclo y se emplean como solución ácida para componer la mezcla inicial de reacción.

5

EJEMPLO 2º

Se añaden 10 g. de DL- α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina [forma cristalina 2A, caracterizada por puntas de rayos Roentgen (Ka 2 θ cobre) a 9º, 11º y 23º] a 50 cc. de solución 0,5n de ácido clorhídrico a 35ºC. La suspensión resultante se agita treinta minutos a 35ºC. Los sólidos no disueltos se separan por filtración, y una vez desecados, pesan 0,22 gramos. Las temperaturas del filtrado y del sedimento se mantienen a 35ºC. durante la filtración. Se añaden al filtrado, aún a esta temperatura, 1,5 g. de L- α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina. Luego se ceba el filtrado a 20ºC. a razón de 1/2ºC. por minuto, se deja reposar una hora, y se filtra. La torta húmeda pesa 4,11 g. (2,93 g. después de secar a 40ºC.). El producto es el sesquihidrato, y la rotación específica de la sal de cobre es de +170º a una longitud de onda luminosa de 589 m μ . La proporción de isómero obtenido es de 26%.

10

15

20

EJEMPLO 3º

Se deslíen 48 g. de DL- α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina (forma I, caracterizada por puntas de rayos Roentgen (Ka 2 θ cobre) a 10º y 13º) en 100 cc. de ácido clorhídrico 2n, a 25ºC. durante una hora. Los sólidos no disueltos se separan por filtración y se secan; su peso

25

14 SEP.



958

es de 0,90 gramos. Se añaden al filtrado 8 g. de cebo
de L- α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina, y luego 40 cc.
de hidróxido sódico 2n a razón de 1/2 cc. por minuto,
manteniendo la temperatura a 25°C. La suspensión se de-
5 ja reposar una hora a 25°C., y se filtra. El producto
seco (incluido el cebo) pesa 18,5 gramos. El producto
es sesquihidrato de L- α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina,
y la rotación específica de su sal de cobre es de +170°
a una longitud de onda luminosa de 589 m μ . El rendimien-
10 to en isómero es de 39%.

EJEMPLO 4º

Se deslíen 35 g. de DL- α -metil-3,4-dihidroxife-
nilalanina en 200 cc. de solución acuosa 0,46 molar de
dióxido de azufre, a 24°C. Al cabo de 70 minutos, el
15 sedimento se filtra a presión (utilizando nitrógeno).
Los sólidos no disueltos dan un peso en seco de 10,8 gra-
mos. Se ponen 210 cc. (total = 214 cc.) del filtrado y
12,6 g. de D- α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina en un
frasco de Morton de 500 cc. provisto de agitador y tubos
20 de entrada de nitrógeno. Con el agitador a 420 rpm. se
introducen 0'019 m³ de nitrógeno por un contador y lue-
go por el cristalizador durante 35 minutos. Se deja re-
posar el sedimento una hora a 24°C., y se filtra a pre-
sión (con nitrógeno como impulsor). El peso del produc-
25 to (con el cebo) es de 14,6 gramos. Las aguas madres se
valoran con hidróxido sódico hasta el punto azul final
del verde de bromocresol. El contenido en dióxido de
azufre se supone igual a la solución caústica empleada.
La concentración de dióxido de azufre por esta técnica



es 0,28m. El producto es sesquihidrato de D- α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina, y la rotación específica de la sal de cobre es de +170-172° a 589 m μ . La proporción de isómero D obtenida asciende a 17%.

5

EJEMPLO 5º

10

15

20

El aparato utilizado para cristalización continua consiste en 3 marmitas de resina de vidrio Pyrex de 3 litros, provistas de 4 tabiques y una turbina impulsora de 4 paletas. Cada recipiente tiene un filtro interno (16 mm. de diámetro externo x 10'15 cm. de longitud) de Pyrex de porosidad mediana. Este filtro permite operar con cualquier concentración conveniente de sólidos en suspensión. Cada cristizador (dos de los recipientes) comprende también un sistema de eliminación de posos. La temperatura se regula sumergiendo los recipientes en un baño con termostato. Cada recipiente lleva un termómetro para medir la temperatura. Las soluciones se trasiegan de un recipiente al otro en circuito cerrado, empleando bombas peristálticas y tubo de caucho. Se suministra nitrógeno a los cristalizadores por medio de rotámetros. La marmita de disolución lleva un rotámetro para medir la adición de dióxido de azufre.

25

A continuación se describe la marcha de una tanda típica. Cada recipiente se carga con el agua que contenía en la tanda anterior. Se ajusta la temperatura del agua del baño a 42°C. para obtener la de 40°C. dentro del recipiente. Se añaden 94,3 g. de cebo L al cristizador L, 98,4 g. de cebo D al cristizador D, y en el recipiente de disolución se cargan 458 g. de α -metil-3,4-dihidroxifenil-



280958

fenilalanina filtrada del contenido del mismo en la tanda anterior. Se ponen en actividad las bombas peristálticas, y se ajustan para una descarga de 50 cc. por minuto. Se añade dióxido de azufre al recipiente de disolución, a razón de un litro por minuto. Se inyecta nitrógeno a través del cristalizador D, a razón de 4,8 litros por minuto, y por el cristalizador L, a razón de 0,96 litro por minuto. Cada media hora se añaden al recipiente de disolución 30 g. de DL- α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina. Se retiran muestras de cada vasija a intervalos de media hora, y se determina el contenido en dióxido de azufre valorando con lejía cáustica hasta el punto azul final del verde de bromocresol, y el contenido en α -metildopa mediante absorción UV a 281 m μ en un espectrofotómetro de Beckman. Estos valores son razonablemente constantes, y pueden resumirse como sigue:

	<u>Concentración de SO₂(moles/litro)</u>	<u>Concentración de α-metildopa (moles/litro)</u>
20 Recipiente de disolución	0,63	0,58
Cristalizador D	0,30	0,515
Cristalizador L	0,25	0,47

Después de operar en estas condiciones durante seis horas, se detiene la tanda. Se filtra el contenido de cada recipiente. Del cristalizador D se recuperan 258 g. de isómero D (incluido el cebo); del cristalizador L, 267 g. de isómero L, y del recipiente de disolución, 359 de cristales DL. Los isómeros son los sesquihidratos.

280958



La rotación de la sal de cobre del isómero L es de +170-172°C. a 589 mp; y la del isómero D, de + 170-172°C. a 589 mp. La producción de isómero L por 1,5 litros de capacidad de cristalización es de 26 g. por hora, y el rendimiento es de 97,4%.

5

Al poner en marcha el sistema continuo para la tanda inicial, se cargan en el recipiente de disolución 3 litros de agua, y se hace pasar SO₂ a razón de 1,8 litros por minuto. Se añade alrededor de 1 kg. de racemato.

10

Cuando el contenido en SO₂ es 0,64M, el trasiego de solución saturada por el filtro interno al cristalizador D empieza a 50 cc. por minuto. Después se vierte agua en el recipiente de disolución con la misma rapidez, para mantener un volumen constante; también se añaden al mismo 28 g. de racemato cada media hora.

15

Cuando el cristalizador D contiene 1200 cc., se inicia una corriente de nitrógeno a razón de 4,8 litros por minuto. Se añade una carga de 100 g. de D- α -metildopa. Cuando el cristalizador D contiene 1500 cc., comienza a retirarse agua madre a 50 cc. por minuto a través del filtro interno, y esta agua madre se trasiega al cristalizador L.

20

Cuando el cristalizador L contiene 1200 cc. de solución, se añaden 100 g. de L- α -metildopa, y comienza a inyectarse nitrógeno a razón de 0,96 litro por minuto. Cuando el cristalizador L contiene 1500 cc. comienza a retirarse agua madre a través del filtro interno, a razón de 50 cc. por minuto. Esta segunda agua madre se vierte en el recipiente de disolución, y cesa la adición de agua complementaria. El sistema está entonces en la fase con-

25

30

14 SEP 1954

tínua, para conducirse como ya se ha descrito.

EJEMPLO 6º

5 El aparato consta de 3 marmitas de resina de 3
litros, 3 bombas, un filtro poroso interno, 2 filtros
de producto, agitadores, termómetros, tubo de caucho y
baños de temperatura constante. La primera marmita, de
disolución, tiene agitador, termómetro, baño y filtro po-
roso interno. La línea iniciada en el filtro se divide
en dos, cada una de las cuales pasa a través de una bom-
10 ba y entra en una de las otras dos marmitas (cristalizadores),
igualmente provistas de termómetro, agitador y baño.
El derrame de cada marmita pasa a un filtro de producto.
Las líneas de filtrado que salen de éste se reúnen y vuel-
ven a través de una bomba a la vasija de disolución.

15 Al principio, el sistema se carga como sigue: Se
ponen en el recipiente de disolución 2.600 ml. de ácido
clorhídrico 0,1n y 226 g. de DL- α -metil-dihidroxi-
fenilalanina. Esta suspensión se calienta a 35°C. con un baño
de agua, y se mantiene a 35°C. durante toda la operación.
20 En los cristalizadores, 152,4 g. de DL- α -metil-dihidroxi-
fenilalanina se disuelven en 3100 ml. de ácido clorhídri-
co 0,1n a 20°C. La solución se filtra para eliminar con
seguridad partículas suspendidas, y se vierte en los cris-
talizadores: 1550 ml. en el D, y 1610 ml. en el L. Ambos
25 recipientes se mantienen a 20°C. mediante un baño de agua
durante la operación. Se añaden 17,7 g. de D- α -metildi-
hidroxifenilalanina muy pura (como hidrato) al cristali-
zador D, y 17,7 g. del isómero L (como hidrato) al crista-
lizador L.



280958

La cristalización resolutive o disociativa se obtiene impeliendo desde la vasija de disolución, a través del filtro poroso interno, una solución de DL- α -metil-dihidroxifenilalanina, a razón de 24 ml. por minuto. Este caudal se ajusta para suministrar 12 ml. por minuto a cada cristalizador (D, L). De cada cristalizador rebosa una suspensión del respectivo isómero y cae en un filtro interno de producto. A intervalos regulares, de cada filtro vuelve un volumen igual de agua madre D y de agua madre L al embudo de carga del recipiente de disolución, donde las dos corrientes se mezclan y se restituyen a esta vasija.

Durante nueve horas de operación, se cargan en la marmita de disolución 108,2 g. de DL- α -metil-dihidroxifenilalanina (sólida). De manera análoga, se cargan en sus respectivos cristalizadores otros 8,85 g. de isómeros D y L puros (sólidos). Al terminar la tanda, los sedimentos de cada vasija se filtran por separado, y se miden y valoran los sólidos y el líquido diáfano. Estas filtraciones y los filtros continuos de producto dan 47,75 g. de isómero D (como hidrato) y 51,8 g. de isómero L (como hidrato), que representan una ganancia neta (sobre el peso de cristales de cebo) de 21,25 g. de isómero D y 24,8 g. de isómero L. La pureza óptica de estos productos se determina por la rotación de una solución del complejo de aluminio: $[\alpha]_D = + 26,3^\circ$, $[\alpha]_D = - 26,2^\circ$.

El análisis de los líquidos y de los sólidos no disueltos procedentes del recipiente de disolución da un balance de 98,5% de α -metil-dihidroxifenilalanina.

280058



Se deslién 15 g. de DL- α -metildopa en 200 cc. de ácido clorhídrico 0,001n durante 30 minutos a 35°C. Se filtra la suspensión, y el filtrado se ceba con 1,75 g. de sesquihidrato de L- α -metildopa. Se enfría la solución
5 1/2º por minuto hasta 20°C., y se agita suavemente por espacio de una hora. El producto se filtra, se lava dos veces con 3 cc. de agua fría, y se seca en vacío. El producto anhidro neto pesa 1,5 g., y muestra una pureza óptica de 99%.

10

EJEMPLO 8º

Se disuelven 2 g. de DL- α -metildopa en 50 cc. de agua destilada, calentando a 75°C. Se filtra la solución, y se ceba con 0,500 g. de sesquihidrato de L- α -metildopa. Luego se enfría a 25°C., y se deja reposar hora y media,
15 agitando suavemente. El producto se filtra, se lava con 4 cc. de agua fría, y se seca en vacío. El producto anhidro neto obtenido pesa 191 mg., con una pureza óptica de 100%.

EJEMPLO 9º

20

El aparato consta de 3 recipientes de 3 litros, cada uno de ellos rodeado de un baño de calefacción o de refrigeración, y provisto de agitador y de filtro interno que conduce a una tubería de salida. El primer recipiente, de disolución, contiene DL- α -metildopa sólido y solución saturada;
25 su baño se mantiene a 75°C. El conducto que sale de su filtro interno se divide en dos, cada uno de los cuales conduce a uno de los otros recipientes, catalizadores, por medio de una bomba de contador y un permutador térmico, que

230958

14 SEP



5 se mantiene a 45°C. por circulación de agua refrigerante a través de la camisa. Cada tubería pasa luego a través de un segundo filtro (para que no contamine la cristalización el racemato que pueda haber cristalizado en los permutadores de calor) a uno de los cristalizadores. Los baños que rodean estos recipientes se mantienen a 35°C., y cada uno contiene solución sobresaturada y el cebo de un enantiomorfo, como se describe más adelante. El conducto de salida procedente del filtro interno de cada
10 cristizador pasa por una bomba de contador, y ambos se juntan luego para formar un tubo de retorno al recipiente de disolución.

Para comenzar el experimento, los cristalizadores se cargan primero de soluciones de racemato casi saturadas a la temperatura del baño (35°C.), pero exentas de material disuelto. Estas soluciones contienen 0,069 equivalente de SO₂ por litro. Cada cristizador se carga después con 225 g. de cebo por litro de solución; en uno de ellos se pone cebo de la forma D, y en el otro, cebo de la forma L. Se carga a continuación el recipiente de disolución con racemato sólido y solución saturada que contiene 0,069 equivalente de SO₂ por litro, y se calienta agitando hasta que se sature a la temperatura de esta vasija (75°C.). Esta solución se impele por los tubos de salida hasta el cristizador, con rapidez adecuada para que la permanencia nominal en cada cristizador sea de una hora. Al mismo tiempo, las aguas madres procedentes de los cristalizadores se devuelven al recipiente de disolución a la misma velocidad. El bombeo prosigue en este
25 circuito con adición discontinua de racemato sólido al re-
30



280958

5 cipiente de disolución, a fin de que siempre haya en él racemato sólido. De cada cristalizador se retiran a intervalos porciones de las suspensiones; se filtran, y el filtrado se devuelve al recipiente de disolución, por un conducto separado del de restitución al ciclo, la entrada del cual se introduce en el cristalizador cuando se usa. Esta eliminación suele bastar para mantener una concentración de 225 g/litro en cada cristalizador.

10 Se toman de vez en cuando muestras del contenido de cada recipiente para análisis, y al final se obtiene un balance de materiales recuperando esos contenidos. Los resultados son:

	<u>Concentración de α-metildopa</u>	<u>(g/litro)</u>
	Recipiente de disolución	55-58
15	Cristalizador D	50-53
	Cristalizador L	50-53

Calidad del producto (rotación específica del complejo de cobre):

20 D, $\pm 152^\circ$ a 546 mp
L, $\pm 152^\circ$ a 546 mp

Productividad: 1-9 g. por litro y hora.

Balance de materiales:

25 Entrada 832,0 g. DL
 301,0 g. cebo D
 301,0 g. cebo L



Salida	429,6 g. D	28958
	422,1 g. L	
	257,0 g. sólidos DL en el disolvedor	
	221,8 g. DL en líquidos	
	34,9 g. perdidos al lavar	
5		25,0 g. perdidos al tomar muestras
Producto neto	128,6 g. D	
	121,1 g. L	

-----; N O T A :-----

10 Se reivindica como objeto de esta patente:

15 1.- Procedimiento para preparar aminoácidos, especialmente isómeros ópticos de α -metil-3,4-dihidroxifenilalanina en forma substancialmente pura, el cual comprende poner en contacto una solución acuosa sobresaturada de la mezcla racémica de dicho compuesto de alanina con el

20 cebo cristalino del isómero buscado, conteniendo la citada solución 0 a 90% de la referida alanina en forma de sal amínica de un ácido no anfótero hidrosoluble.

25 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la proporción del cebo cristalino es por lo menos de 5 g. por litro de solución; la solución sobresaturada de ácido contiene 10 a 90% del compuesto de alanina en forma de la sal amínica del ácido disolvente, y el ácido tiene al menos un hidrógeno ácido con constante de ionización superior a 10^{-3} .

3.- Procedimiento según las reivindicaciones 1 o 2, en el que la solución sobresaturada se obtiene preparando una solución substancialmente saturada de la mezcla



280958

racémica en una solución acuosa del mencionado ácido no anfótero hidrosoluble, cuyo anhídrido se volatiliza fácilmente en sus soluciones acuosas; separando el exceso de la mezcla racémica, y volatilizando una porción del anhídrido de ácido.

5

4.- Procedimiento según la reivindicación 3, en el que el anhídrido de ácido es dióxido de azufre.

5.- Procedimiento para preparar aminoácidos.

Esta memoria consta de veintisiete páginas escritas por una sola cara.

10

14 SEP. 1962

BARCELONA,

P. A.