

328690



1966

328690

MEMORIA DESCRIPTIVA

Correspondiente a la solicitud de registro de Patente de In
vención que, por veinte años, se solicita para España y sus
Colonias, a favor de la firma SOCIETE DE PRODUITS CHIMIQUES
ET DE SYNTHESE, de nacionalidad francesa, residente en Be--
zons (Val d'Oise), 29, rue Emile Zola, con prioridad de las
Patentes francesas núms. 25.206 y 63.803, de fechas 20 de --
Julio de 1.965 y 2 de Junio de 1.966, respectivamente.-----

p o r

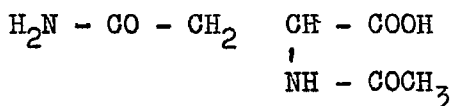
" PROCEDIMIENTO PERFECCIONADO DE PREPARACION DE N-ACETIL-AS
PARAGINA "



La acetilización con nitrógeno de los alfa-aminoácidos -
 es un medio de protección funcional frecuentemente empleado
 en las síntesis peptídicas. En otros casos, los derivados -
 acetilados son buscados por ellos mismos por sus interesan-
 5 tes propiedades farmacodinámicas.

Como para las reacciones de carbobenzoxilación, de sulfo-
 nilación o de benzoilación mediante los cloruros correspon-
 dientes, la acetilación de los aminoácidos ha recurrido así
 siempre a la reacción de Schotten-Baumann o a sus variantes:
 10 empleo del cloruro de acetilo o del anhídrido acético, muy
 diluído, por ejemplo en una fase protectora de éter o de --
 benceno. En este procedimiento, el pH de la solución acuosa
 inicial de aminoácido es mantenido generalmente con una adi-
 ción simultánea de sosa o de carbonato de sosa diluído.

Esta técnica general ha sido preconizada por numerosos -
 autores en el caso de los ácidos glutámico y aspártico, de
 la tirosina, de la cistina, de la leucina, del triptofano,
 de la arginina, de la glutamina, de la asparagina, etc., y
 de numerosos polipéptidos. También ha sido aplicada para la
 20 preparación de derivados cloroacetilados. Sin embargo, tie-
 ne el inconveniente de requerir grandes volúmenes de agua y
 de disolvente orgánico y, si el compuesto de acetilación es
 soluble, de hacer muy laborioso su aislamiento (evaporación
 en seco, separación de las sales, extracción, etc.). En és-
 25 te caso de la N-acetil-asparagina:



Todos los procedimientos descritos para la preparación -
 de este compuesto recurren a la acetilación en medio acuoso
 30 alcalino; Karrer y Schlosser, especialmente, emplearon una
 solución sódica al 9% de asparagina y anhídrido acético en



35 exceso, sin disolvente protector; previa neutralización con ácido sulfúrico, evaporación en seco a baja temperatura y separación de la gran cantidad de sales minerales mediante acetato de etilo, los autores obtuvieron N-acetil-asparagina con un rendimiento del 60% (Helv.Chim.Acta., 6, 415, 1923).

40 Más recientemente, la Patente británica Nº 792.576/58 reivindica un método sensiblemente análogo en el cual el anhídrido acético es diluido en quince veces su volumen de éter sulfúrico. El aislamiento es realizado de la misma manera que antes, con alcohol como agente de extracción.

45 Estas técnicas requieren la evaporación de cantidades considerables de agua y de disolvente orgánico debido a la gran solubilidad de la N-acetil-asparagina, luego una separación difícil del producto y de las sales minerales mediante un disolvente orgánico, con reflujo. Dichas sales minerales, compuestas especialmente por sulfato de sosa hidratado, pueden representar hasta 6 veces el peso de la acetil-asparagina.

50 Se ha comprobado, además, que dichos procedimientos dejan que desear cuando se quiere aplicarlos a unidades de operación industriales, siendo entonces de mala calidad la asparagina obtenida por estar contaminada por productos secundarios.

60 Según la presente invención, se ha comprobado que la l-asparagina puede ser cómodamente acetilada por anhídrido acético en medio ácido acético. Aunque la forma hidratada de la l-asparagina del comercio es muy poco soluble en este disolvente, la reacción se desarrolla regularmente y concluye en algunas horas si se tiene el cuidado de triturar hasta una suficiente finura el producto inicial. Es sorprendente



65 te comprobar que la misma se produce constantemente en me--
dio heterogéneo, siendo insoluble en el medio el producto -
acabado mismo; sólo una modificación de la forma cristalina
indica a la vista el comienzo de la reacción. Por otra par-
te, ésta puede ser seguida en cada instante por un sencillo
control químico : previo secado de una muestra y lavado con
70 alcohol, se efectúa la búsqueda del grupo alfa-aminoácido -
libre con minhidrina, caracterizada por la reacción violeta
bien conocida. Cuando esta búsqueda llega a ser negativa, -
la acetilación ha concluído y el producto puede entonces --
ser aislado por simple secado.

75 Por lo tanto, la invención concierne en primer lugar a -
un procedimiento para la preparación de N-acetil-asparagina
en estado de gran pureza y con un elevado rendimiento, con-
sistiendo dicho procedimiento en hacer reaccionar la aspara-
gina, en forma ópticamente activa o en su forma racémica, -
en estado de fina división y en suspensión en ácido acético
80 glacial, con un exceso de anhídrido acético.

Según un primer modo de realización, este procedimiento
puede ser ejecutado en ausencia de todo catalizador.

A título de ejemplo, se procederá de la siguiente manera:

Ejemplo 1

85 Se ponen en suspensión en 1600 partes de ácido acético -
glacial 800 partes en peso de l-asparagina monohidratada fi-
namente triturada. Agitando vivamente, se añaden entonces,
en 15 minutos aproximadamente, 1300 partes de anhídrido acé-
tico al 98%. La reacción se manifiesta con una elevación es-
90 pontánea de la temperatura, que alcanza aproximadamente ---
45°C., al cabo de 2 horas. Se agita la suspensión durante -
2 horas más (búsqueda con minhidrina de los alfa-aminoáci--
dos negativos), y luego se enfría a 10° C. y se filtra en un

328690^{5.11}



embudo de Büchner.

95 Se lava dos veces la l-N-acetil-asparagina así obtenida, con 800 partes de alcohol cada vez, y se seca en estufa a 60^o C. Se obtiene así, con un rendimiento del 75%, un producto puro que funde a 165-166^o y que posee un poder rotatorio $[\alpha]_D^{20} = 295$ (c=2%) en agua. N % hallado = 16,12; N %
100 calculado = 16,07.

Este procedimiento es aplicable también a la acetilación de la dl-asparagina : en las mismas condiciones, se obtiene la dl-N-acetil-asparagina con un rendimiento del 90%. P.f. = 166-167^o.

105 Según otro modo de realización, la reacción de acetilación de la asparagina, en las condiciones de trabajo de la invención, es acelerada y mejorada en su rendimiento por la adición de muy pequeñas cantidades de ácido sulfúrico o de un ácido arilsulfónico o de ácido fosfórico.

110 Como ácidos arilsulfónicos, se emplearán especialmente el ácido bencenosulfónico, el ácido p-toluenosulfónico y los ácidos xilenosulfónicos.

Se ha ensayado un gran número de catalizadores ácidos, así como unos catalizadores del tipo Friedel y Crafts. Cier
115 to número de ellos tales como el fluoruro de boro, el tricloruro de fósforo, el oxicloriguro de fósforo, el ácido metano sulfónico - aceleran ligeramente la velocidad de reacción, pero proporcionan rendimientos apreciablemente iguales a los del procedimiento de la invención.

120 Otros - como el ácido clorhídrico seco, el ácido perclórico, el cloriguro de cinc - aceleran ligeramente la velocidad de acetilación, pero también hacen bajar ligeramente el rendimiento de acetil-asparagina. Incluso en estas condiciones desfavorables, el procedimiento de la invención sigue -

328690

-5. 6/1



125 siendo ventajoso con respecto a los procedimientos anterior-
mente conocidos por su rendimiento más elevado, su rapidez
y la sencillez de las operaciones.

El empleo de los catalizadores : ácido sulfúrico, ácido
arilsulfónico, ácido fosfórico, constituye una realización
130 preferida del procedimiento de la invención, sin por otra -
parte limitar su carácter general.

Cantidades muy pequeñas de dichos catalizadores son su-
ficientes : de 0,001 a 0,01 mol cada 1 mol de asparagina ob-
tenida.

135 Los ejemplos siguientes ilustran esta variante :

Ejemplo 2

Se suspenden en 200 ml de ácido acético glacial 100 g de
monohidrato de l-asparagina finamente triturada; agitando -
bien, se introducen 135 ml de anhídrido acético que contie-
140 ne 0,005 moles de ácido sulfúrico.

Se mantiene constantemente la temperatura sobre 35-37º C.

Al cabo de 5 horas, la reacción a la minhidrina se ha he-
cho negativa, indicando que toda la l-asparagina ha sido --
transformada. Se enfría a 10º C., se seca la acetil-aspara-
145 gina y se lava reamasándola en etanol. Se seca hasta peso -
constante, es estufa, a 50º C.

Se obtienen 93 g de N-acetil-l-asparagina. P.f. = 165---
166º. Rendimiento : 80%.

Trabajando sin adición de ácido sulfúrico, y por lo de--
150 más en igualdad de otras condiciones, se obtiene un rendi-
miento del 75%.

Ejemplo 3

En las condiciones de trabajo del Ejemplo 1, se sustituye
el ácido sulfúrico con ácido fosfórico (0,005moles). El
155 rendimiento de N-acetil-l-asparagina es de 82%.

328690



Ejemplo 4

En las condiciones de trabajo del Ejemplo 1, se constituye el ácido sulfúrico con ácido p-toluenosulfónico (0,002 moles). El rendimiento de derivado acetilado es del 78%.

160

N O T A

EN RESUMEN: La Patente de Invención que, por veinte años se solicita para España y sus Colonias, con prioridad de las Patentes francesas núms. 25.206 y 63.803, de fechas 20 de Julio de 1.965 y 2 de Junio de 1.966, respectivamente, ha de recaer sobre las siguientes reivindicaciones:

165

1a.- "PROCEDIMIENTO PERFECCIONADO DE PREPARACION DE N---ACETIL-ASPARAGINA", caracterizado por hacerse reaccionar la asparagina, en estado de fina división, en suspensión en ácido acético glacial, sobre un exceso de anhídrido acético.

170

2a.- "PROCEDIMIENTO PERFECCIONADO DE PREPARACION DE N---ACETIL-ASPARAGINA", según la reivindicación 1a, caracterizado por el hecho de que la asparagina inicial se encuentra en forma levogira, dextrogira o racémica.

175

3a.- "PROCEDIMIENTO PERFECCIONADO DE PREPARACION DE N---ACETIL-ASPARAGINA", según las reivindicaciones 1a y 2a, caracterizado por el hecho de que la reacción es ejecutada entre 20 y 100° C.

180

4a.- "PROCEDIMIENTO PERFECCIONADO DE PREPARACION DE N---ACETIL-ASPARAGINA", según las reivindicaciones 1a a 3a, caracterizado por el hecho de conducirse la reacción en medio heterogéneo en ausencia de todo catalizador.

185

5a.- "PROCEDIMIENTO PERFECCIONADO DE PREPARACION DE N---ACETIL-ASPARAGINA", según las reivindicaciones 1a a 3a, caracterizado por ejecutarse la reacción en medio heterogéneo en presencia de un catalizador constituido por un 0,001 a 0,01 mol de ácido sulfúrico, de ácido arilsulfónico o de --

328690-5



ácido fosfórico por cada mol de asparagina.

190 6a.- "PROCEDIMIENTO PERFECCIONADO DE PREPARACION DE N-
ACETIL-ASPARAGINA", según cada una de las anteriores reivin-
dicaciones, caracterizado por purificarse la acetilasparagi-
na obtenida por amasado y lavado con un disolvente orgánico
en el cual es insoluble.

195 7a.- Por último, se reivindica el objeto sobre el cual -
ha de recaer la Patente de Invención que, por veinte años,
se solicita para España y sus Colonias,-----

p o r

" PROCEDIMIENTO PERFECCIONADO DE PREPARACION DE N-ACETIL-AS-
PARAGINA "

200 Todo conforme queda expresado en la presente Memoria des-
criptiva que, consta de ocho hojas escritas a máquina por -
una sólo cara.

Madrid, a 5 de Julio de 1.966

P.A.,

ANTONIO ARICHA
P. P.