

6 AGO



329950

329950

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de una

PATENTE DE INVENCION

Solicitante: BRISTOL-MYERS COMPANY

Residencia: Syracuse, New York 13201, Estados Unidos

Enunciado: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE
PENICILINA"

Prioridad: de la solicitud de patente estadounidense
No. 478.275 del 9 de Agosto de 1965.

- 6 AGO 1961



329950

1 Este invento se refiere a un procedimiento para la
preparación de una nueva forma de D-(-)- α -aminobencilpeni-
cilina de valor como agente antibacteriano, como suplemen-
to nutritivo en la alimentación de animales, como agente
5 para el tratamiento de la mastitis en el ganado vacuno, co-
mo agente terapéutico en el ganado aviar y animales, in-
cluido el hombre, y especialmente en el tratamiento de en-
fermedades infecciosas causadas por bacterias Gram positi-
vas y Gram negativas. Más particularmente, este invento se
10 refiere a un procedimiento para la preparación de una nue-
va forma cristalina estable de D-(-)- α -aminobencilpenici-
lina designada por D-(-)- α -aminobencilpenicilina Forma III
o ampicilina Forma III caracterizada por estar esencialmen-
te exenta de agua químicamente combinada, por presentar un
15 espectro de absorción infrarrojo prácticamente como el ex-
puesto en la Figura 1 de los dibujos y por poseer una esta-
bilidad de almacenamiento sustancialmente superior a la de
la D-(-)- α -aminobencilpenicilina monohidratada o dihidrata-
da.

20 Los agentes antibacterianos como la bencilpenicilina
han demostrado ser muy eficaces en el pasado en la terapia
de infecciones debidas a bacterias Gram positivas, pero ta-
les agentes tienen el grave inconveniente de ser ineficaces
frente a numerosas variedades de bacterias, por ejemplo la
25 mayoría de las bacterias Gram negativas. El compuesto de es



1 ta invención es particularmente útil porque posee una po-
tente actividad antibacteriana tanto contra las bacterias
Gram positivas como contra las Gram negativas cuando es
administrado por vía parenteral u oral y también es resis-
5 tente a la destrucción por los ácidos.

La D-(-)- α -aminobencilpenicilina, también conoci-
da por ácido D-6-(2-amino-2-fenilacetamido)-penicilánico,
ácido 6-[D-(-)- α -aminofenilacetamido]-penicilánico y am-
picilina, es conocida en la literatura técnica, habiendo
10 sido descrita, por ejemplo, en la patente canadiense núm.
695.820. De acuerdo con dicha patente, esta penicilina se
prepara haciendo reaccionar ácido 6-aminopenicilánico con
un agente acilante tal como el cloruro de ácido, bromuro
de ácido, anhídrido de ácido, anhídrido mixto, etc, de un
15 derivado del ácido D-(-)- α -aminofenilacético en el cual
el grupo amino está protegido por un carbobenzoxi u otro
grupo protector adecuado. Una vez completada la reacción
de acilación, se separa el grupo protector del grupo amino
por ejemplo mediante reducción con hidrógeno en presencia
20 de un catalizador. La D-(-)- α -aminobencilpenicilina está
descrita también en nuestra patente canadiense nº 720.117.

Los métodos conocidos para la preparación de D-(-)-
 α -aminobencilpenicilina por acilación del ácido 6-aminope-
nicilánico dan lugar a la preparación de mezclas acuosas
25 que contienen, además de la penicilina deseada, ácido 6 -



#6

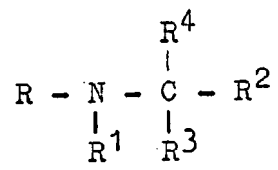
1 aminopenicilánico sin reaccionar, agente acilante hidroliz-
zado y productos de reacciones secundarias tales como pro-
ductos de reacción del agente acilante consigo mismo y/o
5 con la penicilina deseada, así como otras impurezas. La
D-(-)- α -aminobencilpenicilina puede ser entonces recupera-
da de la mezcla de reacción acuosa por concentración hasta
volumen reducido y recuperación del producto por filtra-
ción. Generalmente la D-(-)- α -aminobencilpenicilina se ob-
tiene en forma de monohidrato, dihidrato o mezcla de ambos.
10 Los monohidratos (así como los dihidratos) de la D-(-)- α -
aminobencilpenicilina son poco estables. Recientemente, se
ha hallado que el trihidrato de D-(-)- α -aminobencilpenici-
lina, descrito en nuestra solicitud de patente canadiense
copendiente n° 897.089, es estable y también se ha encontra-
15 do que es estable una forma anhidra de D-(-)- α -aminobencil-
penicilina, descrita en la patente estadounidense n° 3.144.-
445, que ha sido designada aquí por D-(-)- α -aminobencilpe-
nicilina Forma II. La Forma III de D-(-)- α -aminobencilpeni-
cilina, descrita y reivindicada aquí, es una forma distinta
20 de D-(-)- α -aminobencilpenicilina anhidra y se distingue fá-
cilmente de la Forma II, por su espectro de absorción infra-
rojo.

Un objeto de esta invención es proporcionar un proce-
dimiento para la preparación de una nueva forma de D-(-)- α -
25 -aminobencilpenicilina que posee buena estabilidad de alma-



1 cenamiento.

Este y otro objetos se consiguen mediante la práctica de esta invención que consiste en hacer reaccionar una sal de adición con ácidos de la D-(-)-α-aminobencilpenicilina con una amina de fórmula



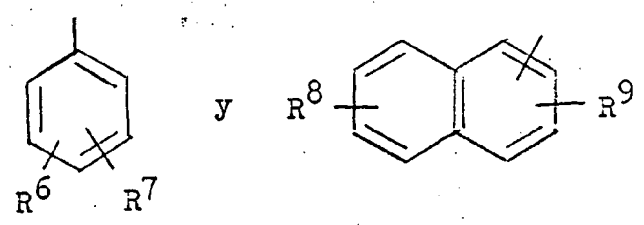
10 donde R es un radical alifático de 10 a 15 átomos de carbono, R¹ es hidrógeno o un grupo alquilo inferior y R², R³ y R⁴ son todos ellos grupos alquilo que tienen en total de 11 a 14 átomos de carbono, en un disolvente inmiscible con el agua que contenga por lo menos una cantidad mínima de agua, a una temperatura de 60°C por lo menos, para convertir la sal de adición con ácido de la D-(-)-α-aminobencilpenicilina en su forma anfótera con lo que precipita la Forma III de la D-(-)-α-aminobencilpenicilina, que se recoge. También pueden utilizarse mezclas de las aminas citadas.

20 Las sales de adición con ácidos de la D-(-)-α-aminobencilpenicilina que pueden emplearse en el procedimiento de esta invención incluyen las sales de adición con ácidos orgánicos e inorgánicos. En una realización preferida, la sal de adición con ácidos de la D-(-)-α-aminobencilpenicilina es la sal de un ácido arilsulfónico de fórmula R⁵SO₃H, donde R⁵ representa un miembro seleccionado entre el grupo formado por



6

1 radicales de fórmulas



10 donde R^6 , R^7 , R^8 y R^9 son radicales seleccionados entre el grupo formado por hidrógeno, alquilo de 1 a 12 átomos de carbono (incluidos los radicales de cadena recta y ramificada), alcoxi (inferior), alquiltio (inferior), nitro, alcanoilamino (inferior), alcanoiloxi (inferior), sulfamilo, cloro, bromo, yodo, fluór, trifluormetilo, alquilsulfonilo (inferior), carboalcoxi (inferior), bencilo, fenetilo, cicloheptilo, ciclohexilo y ciclopentilo. Tales arilsulfonatos pueden prepararse poniendo en contacto una solución acuosa de D-(-)- α -aminobencilpenicilina con un ácido aril sulfónico soluble en agua o una sal del mismo de fórmula $(R^5 - SO_3)_x M$, donde M es un radical seleccionado entre el grupo formado por hidrógeno, amonio, amonio sustituido, metales alcalinos y metales alcalino-térreos, x es un número entero igual a la valencia de M y R^5 es el definido anteriormente. Entre los ácidos arilsulfónicos específicos que pueden emplearse se encuentran los ácidos naftalensulfónico, p-nonilbencenosulfónico, p-toluensulfónico y p-cimensulfónico. El β -naftalensulfonato de D-(-)- α -aminobencilpeni

15

20

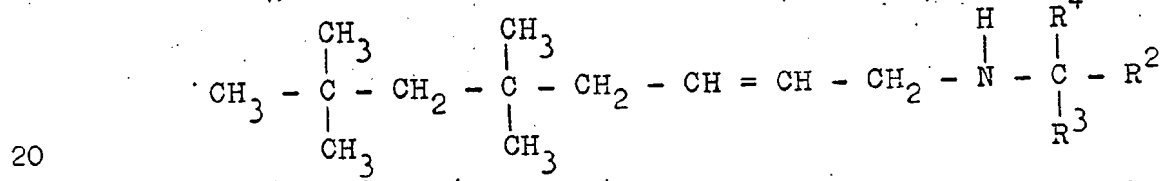
25



1 cilina, un material de partida particularmente preferido, es
tá descrito en nuestra solicitud de patente canadiense copen
diente nº 886.900.

5 Para obtener altos rendimientos de la Forma III de D-
(-)- α -aminobencilpenicilina es preferible utilizar como ma-
terial de partida D-(-)- α -aminobencilpenicilina purificada.
Es particularmente recomendable lavar la D-(-)- α -aminoben -
cilpenicilina, antes de ser usada, con una dialquilcetona
10 (inferior), por ejemplo acetona. Cuando se hace reaccionar
la sal de adición con ácidos de la D-(-)- α -aminobencilpeni-
cilina con la amina descrita anteriormente, se ha encontrado
que es necesario que el disolvente contenga por lo menos una
cantidad mínima de agua, puesto que la reacción no tiene lu-
gar en un medio anhidro.

15 Un grupo preferido de aminas de la clase descrita más
arriba son aquellas aminas y mezclas de las mismas que tie -
nen la fórmula



donde R², R³ y R⁴ son todos ellos un radical hidrocarbonado
alifático y donde R², R³ y R⁴ contienen en total de 11 a 14
átomos de carbono. Estas aminas líquidas y mezclas de las
mismas se añaden a la solución en su forma de base libre. La
25 cantidad utilizada de tales aminas varía generalmente entre



1 el 68 y el 250 % en peso, aproximadamente, y preferiblemente
entre el 85 y el 150 % en peso, de la sal de adición con áci
do de D-(-)- α -aminobencilpenicilina. Aunque pueden emplear-
se cantidades mayores de amina, no se obtiene ninguna ventaja
5 ja apreciable por utilizar más del 250 % en peso, aproximada-
mente, sobre la sal de D-(-)- α -aminobencilpenicilina.

El disolvente inmiscible con el agua en cuyo seno se
pone en contacto la sal de adición con ácidos de D-(-)- α -
aminobencilpenicilina con la amina es, de preferencia, metil
10 isobutil-cetona. Otros disolventes que pueden emplearse son
otras cetonas (inferiores), ésteres alifáticos (inferiores)
tal como acetato de butilo, hidrocarburos halogenados infe-
riores tal como cloroformo o cloruro de metileno, hidrocarbu
ros aromáticos tal como tolueno, éteres alquílicos (inferio-
res) tal como éter diamílico y mezclas de los mismos entre
15 sí o con metil-isobutil-cetona. La cantidad de disolvente
utilizada no es un factor crítico y pueden emplearse grandes
cantidades del mismo puesto que la D-(-)- α -aminobencilpeni-
cilina Forma III no es soluble en estas sustancias.

20 Para obtener la Forma III de D-(-)- α -aminobencilpeni-
cilina es esencial poner en contacto la sal de adición con
ácidos de D-(-)- α -aminobencilpenicilina con la amina a una
temperatura de 60°C por lo menos. Si se emplean temperaturas
inferiores a 60°C, se forma el trihidrato de D-(-)- α -amino-
25 bencilpenicilina. La temperatura preferida para hacer reac -

- 6 AGO



1 cionar la sal de adición con ácidos de D-(-)- α -aminobencilpenicilina con la amina para preparar la Forma III de la misma es de unos 60-70°C. La cristalización de la Forma III de D-(-)- α -aminobencilpenicilina puede iniciarse, si es necesario, sembrando. Una vez que la precipitación del producto es completa, se recupera por cualquier medio adecuado, por ejemplo por filtración. A continuación el producto puede lavarse con un disolvente orgánico tal como metil-isobutil-cetona, secándolo después.

10 Aunque la α -aminobencilpenicilina puede existir en dos formas isómeras ópticamente activas [los diastereoisómeros D-(-) y L-(+)], así como en la forma DL que es una mezcla de las dos formas ópticamente activas, siendo el isómero D-(-) el más activo biológicamente, todavía no se ha determinado si las formas L-(+) y DL pueden prepararse en forma cristalina con las características de la Forma III de D-(-)- α -aminobencilpenicilina. Por lo tanto, la invención que se describe y ejemplariza aquí se ha dirigido solamente al isómero D-(-) de la α -aminobencilpenicilina.

20 La nueva forma cristalina de D-(-)- α -aminobencilpenicilina de esta invención está exenta o prácticamente exenta de agua combinada químicamente, conteniendo menos del 1,8 % aproximadamente de agua, y por esta razón ha sido denominada D-(-)- α -aminobencilpenicilina Forma III o ampici-
25 lina Forma III. La Forma III se caracteriza por su distinta



1 forma cristalina, como indica su espectro infrarrojo, un
ejemplo del cual se muestra en la Figura 1 de los dibujos.
La Forma III de la D-(-)- α -aminobencilpenicilina se dis-
tingue fácilmente de la D-(-)- α -aminobencilpenicilina an-
5 hidra descrita en la patente estadounidense nº 3.144.445
(denominada aquí Forma II) y de la penicilina descrita en
la patente canadiense nº 695.820 (denominada aquí Forma I),
de cuyos espectros infrarrojos se muestran ejemplos en las
Figuras 2 y 3 de los dibujos, respectivamente, comparando
10 el espectro infrarrojo de la Figura 1 con los de las Figu-
ras 2 y 3. La original forma cristalina de la ampicilina
de esta invención se caracteriza además por el hecho de
que puede ser almacenada durante largos periodos de tiempo
sin pérdida sustancial de su potencia. Se ha hallado que la
15 nueva forma cristalina de ampicilina posee una estabilidad
de almacenamiento sustancialmente mayor que la de la D-(-)-
 α -aminobencilpenicilina cristalina hidratada, es decir, los
monohidratos y dihidratos de D-(-)- α -aminobencilpenicilina.

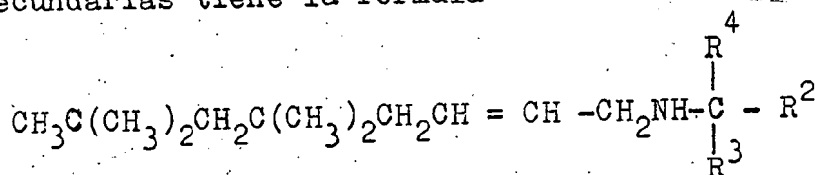
Los picos a 2530, 1429 y 1009 cm^{-1} en los espectros
20 de absorción infrarrojos de las Figuras 1, 2 y 3 son artifi-
ciales y han sido causados por operaciones dentro del espec-
trofotómetro infrarrojo y por lo tanto no constituyen parte
de ninguno de los espectros de absorción.

Los siguientes Ejemplos ilustran la invención aquí
25 descrita sin restringirla indebidamente.



Ejemplo 1

Sobre 100 litros de metil-isobutil-cetona, intensamen-
te agitados, se añaden 5 litros de agua y 10 litros de una
mezcla de aminas secundarias en la que cada una de las ami-
nas secundarias tiene la fórmula



donde R^2 , R^3 y R^4 son todos ellos un radical hidrocarbonado
alifático y donde R^2 , R^3 y R^4 contienen en total de 11 a 14
átomos de carbono. Esta mezcla particular de aminas secunda-
rias, a la que algunas veces se designa por "Mezcla Líquida
de Aminas nº I", es un líquido transparente de color ámbar
que tiene las siguientes propiedades físicas: viscosidad a
25°C, 7 cps; peso específico a 20°C, 0,845; índice de re-
fracción a 25°C, 1,467; intervalo de destilación a 10 mm:
hasta 160°C - 4 %, de 160 a 210°C - 5 %, de 210 a 220°C -
74 %, por encima de 220°C - 17 %. Esta mezcla se calienta a
60-65°C y después se le añade lentamente, a lo largo de un
periodo de 30 minutos, 10 kg de β -naftalensulfonato de D-(-)
 α -aminobencilpenicilina. La mezcla se agita durante 30 mi-
nutos a 60-65°C. Precipita el producto, Forma III de D-(-)-
 α -aminobencilpenicilina, y se recoge por filtración. La
torta del filtro de producto se lava con metil-isobutil-ce-
tona, se vuelve a suspender en 60 litros de metil-isobutil-



1 cetona, se filtra, se lava con metil-isobutil-cetona y después se seca a 50-55°C.

5 El producto cristalino seco obtenido, D-(-)- α -aminobencilpenicilina Forma III, pesa 5,15 kg, contiene 0,9 % de agua (determinada por el método de análisis de Karl Fisher), tiene una potencia de 975 mcg/mg determinada por bioanálisis y el espectro de absorción infrarrojo indicado en la Figura 1 de los dibujos.

Ejemplo 2

10 Se realiza un ensayo para comparar la estabilidad de la D-(-)- α -aminobencilpenicilina Forma III con la de la D-(-)- α -aminobencilpenicilina Forma I. Se colocan en unos viales provistos de tapón a presión unas muestras de D-(-)- α -aminobencilpenicilina Forma III (producto del Ejemplo 1) y de D-(-)- α -aminobencilpenicilina Forma I y se almacenan a 56°C. Se determina la potencia de cada muestra por bioanálisis antes y después del almacenamiento. Se determina el contenido en humedad de cada muestra por el método de Karl Fisher antes del almacenamiento. La Muestra 1 es la Forma III y las Muestras 2-5 son la Forma I de D-(-)- α -aminobencilpenicilina.

15

20

Los resultados de los ensayos se dan en la Tabla siguiente.



TABLA

Estabilidad de la potencia a 56°C

| Muestra | % de humedad | Bioanálisis mcg/mg | | Pérdida de potencia, % | | |
|---------|--------------|--------------------|-------|------------------------|-------|-------|
| | | Original | Meses | | Meses | |
| | | | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 1 | 0,7 | 965 | 910 | 980 | 6 | + 1,5 |
| 2 | 3,7 | 920 | 640 | 450 | 30 | 51 |
| 3 | 4,8 | 940 | 580 | | 38,5 | |
| 4 | 5,2 | 960 | 620 | 480 | 35,5 | 50 |
| 5 | 6,5 | 955 | 500 | | 51 | |

En la Tabla se observa que la D-(-)- α -aminobencilpenicilina Forma IIF (Muestra 1) es más estable en almacenamiento que la D-(-)- α -aminobencilpenicilina Forma I (Muestras 2-5).

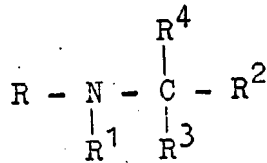
Aunque esta invención ha sido descrita e ilustrada en función de su realización preferida, los expertos en la técnica observarán que pueden introducirse modificaciones sin apartarse del espíritu y alcance de la misma.

En resumen, la Patente de Invención que se solicita, - recaerá sobre las siguientes Reivindicaciones.



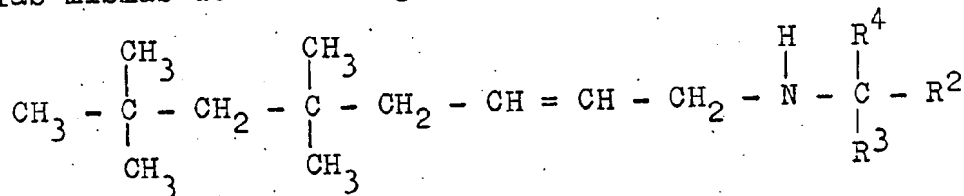
REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la preparación de D-(-)- α -aminobencilpenicilina Forma III que consiste en hacer reaccionar una sal de adición con ácidos de D-(-)- α -aminobencilpenicilina con una amina de fórmula



donde R es un grupo alquilo de 10 a 15 átomos de carbono, R¹ es hidrógeno o alquilo (inferior), y R², R³ y R⁴ son todos ellos grupos alquilo que tienen en total de 11 a 14 átomos de carbono, en un disolvente orgánico inmiscible con el agua que contenga por lo menos una cantidad mínima de esta última, a una temperatura de 60°C por lo menos.

2. Un procedimiento según la Reivindicación 1 en el cual la amina está seleccionada entre las aminas y mezclas de las mismas de fórmula general

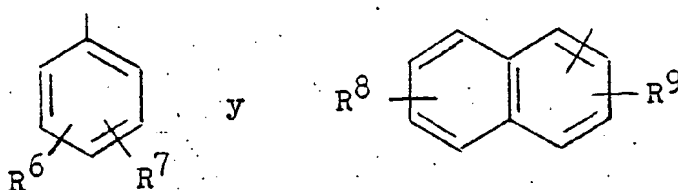


donde R², R³ y R⁴ son todos ellos grupos alquilo y donde R², R³ y R⁴ contienen en total de 11 a 14 átomos de carbono.

3. Un procedimiento según la Reivindicación 2 en el cual la sal de adición con ácidos de D-(-)- α -aminobencilpenicilina es un compuesto seleccionado entre el grupo forma-



do por sus sales de adición con ácidos minerales, sus sales de adición con ácidos orgánicos y sus sales con un ácido arilsulfónico de fórmula R^5SO_3H , donde R^5 representa un grupo seleccionado entre el grupo formado por radicales de fórmula



dónde R^6 , R^7 , R^8 y R^9 son radicales seleccionados entre el grupo formado por hidrógeno, alquilo de 1 a 12 átomos de carbono (incluidos los grupos de cadena recta y ramificada), alcoxi (inferior), alquiltio (inferior), nitro, alcanoilamino (inferior), alcanoiloxi (inferior), sulfamilo, cloro, yodo, bromo, flúor, trifluormetilo, alquilsulfonilo (inferior), carboalcoxi (inferior), bencilo, fenetilo, cicloheptilo, ciclohexilo y ciclopentilo.

4. Un procedimiento según la Reivindicación 2 en el cual la citada sal de adición con ácidos de D-(-)- α -aminobencilpenicilina es β -naftalensulfonato de D-(-)- α -aminobencilpenicilina.



5. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita: "UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE PENICILINA".

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria descriptiva, que consta de dieciseis páginas mecanografiadas y dibujos adjuntos.

Madrid 6 de agosto de 1.966

BERNARDO UNGRIA
p.p.

329250

329250



9 AGO 1966

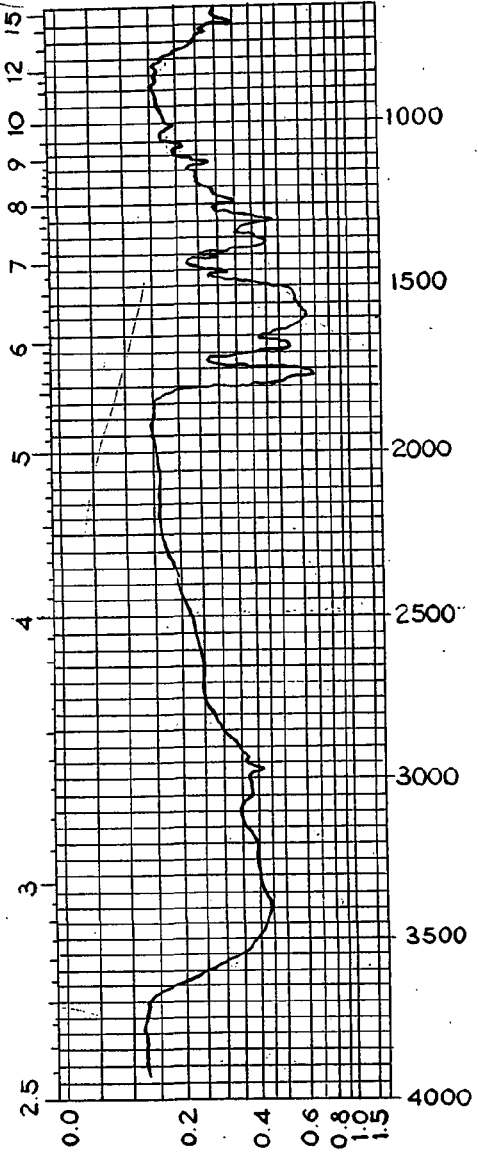


FIG-3

ESCALA VARIABLE
 6 de agosto de 1966
 Madrid, BERNARDO UNGRIA
 P.P.

32 9050

32 9050

DOS HOJAS/1a

BRISTOL-MYERS COMPANY



19 90

Fig-1

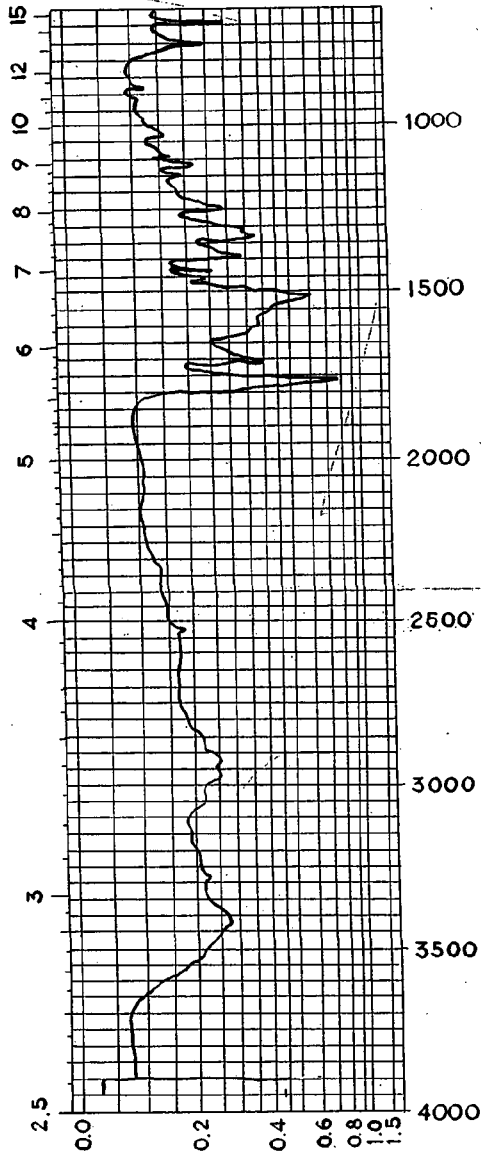
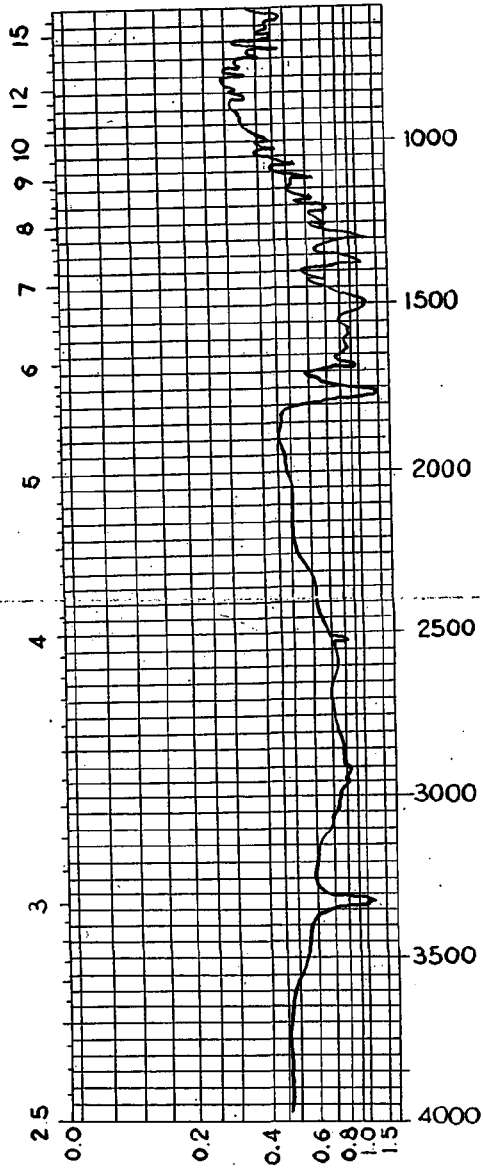


Fig-2



ESCALA VARIABLE.
 Madrid, 5 de agosto de 1966
 BERNARDO UNGRIA
 P.P.