

040132



040132

MEMORIA DESCRIPTIVA de Patente de In
vención que, por veinte años en España y posesiones,
solicita la firma ANKERFARM, S.p.A., establecida en Ci
nisello Bálsamo (Milán), Viale Lombardía, 5, por: "PRO-
DEDIMIENTO PARA LA PRODUCCION DE TRI-HIDRATO DE AMPICI-
CILINA".

Inventores: D. Giorgio Bianchi - Vía G. Silva, 35 - Mi-
lán.

D. Michele Di Schiena - Vía De Gasperi, 2 -
Cinisello Bálsamo (Mi-
lán)

D. Enzo Zannini - Vía Costanza, 9 - Milán.

===oooOooo===

Esta invención está relacionada a un nuevo compues
to sintético con una alta actividad antibiótica, de gran
valor en la práctica clínica y veterinaria para el con-
trol de enfermedades infecciosas causadas por organismos
5 Gram-positivos y Gram-negativos. Se utiliza además, co

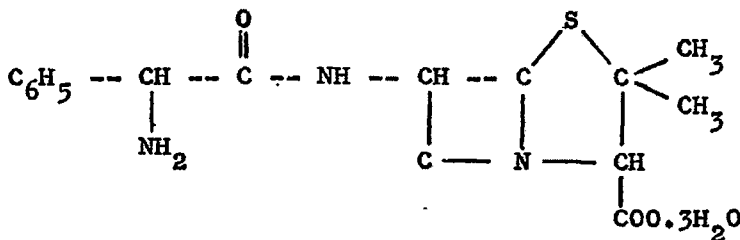


340132³

mo suplemento nutricional en la alimentación de animales.

Dicho compuesto tiene la siguiente fórmula estructural:

10



15

y es conocido como: ampicilina, ácido 6-(D-(-)-alfa-aminofenil-acetamido)-penicilánico, D-(-)alfa-aminobencilpenicilina, ácido D-(-)-alfa-aminobencilpenicilánico.

20

Muchos procesos de síntesis para la producción de dicho compuesto son bien conocidos y descritos en la literatura técnica y patentes. En todos los procedimientos mencionados, la reacción fundamental es la acilación del grupo amino del ácido 6-aminopenicilánico, por medio de un derivado acílico del ácido D-(-)-alfa-aminofenilacético.

25

La reacción acílica se efectúa sobre todo, en un solvente con grado de hidratación que oscila dentro de los más amplios límites.

30

Un factor común de dichos procesos es la dificultad de separar y purificar el antibiótico de las mezclas de reacción ya que ellas, junto con la penicilina deseada, contiene diferentes cantidades pero significativas de compuestos polimerizados, descompuestos y no siempre totalmente reaccionados.

35

Algunos de éstos compuestos muestran característi

340132



-3-

cas muy similares a las de la ampicilina y por ello, son muy difíciles de separar.

Además, por el mencionado proceso, se separa la ampicilina de la mezcla, como un monohidrato, con una solubilidad en agua de 20-25 mg/ml. a 20-25°C. y en su punto isoeléctrico de pH 4,85. Tal solubilidad es relativamente alta en comparación con la del tri-hidrato de ampicilina, o sea, 6 mg/ml. bajo la misma temperatura y condiciones de pH. Además, la estabilidad química y actividad microbiológica del tri-hidrato de ampicilina son mucho más altos. Todo ello, en la síntesis antes mencionada, proporciona muchos menores rendimientos del antibiótico puro, que el rendimiento esperado por el resultado de los análisis de las mezclas iniciales.

Hemos hallado un proceso que elimina todas las dificultades de recuperación y lleva directamente a la separación del tri-hidrato de ampicilina, proporcionando muy altos rendimientos de antibiótico puro, en comparación con los ensayos químicos y microbiológicos iniciales.

Este procedimiento ofrece la ventaja de ser muy simple y versátil, ya que puede ser utilizado como procedimiento de recuperación y purificación en la síntesis y como método de purificación eficiente para la ampicilina cruda.

En nuestro procedimiento, la ampicilina a recuperar y purificar debe de ser totalmente disuelta a un valor de pH ácido, lo suficiente como para permitir la total salificación del grupo amino en una mezcla forma



340132

70 da principalmente por un solvente. Tal solvente tiene una alta conductividad específica, es totalmente miscible en agua y tiene un grado de hidratación que oscila dentro de amplios límites pero no mayor del 20% del volumen total.

Tal mezcla, debidamente filtrada, de forma que que de totalmente clara, se alcaliza a un valor de pH entre 4,0 y 7,0 mediante una base orgánica en una concentración debida.

75 El voluminosos precipitado formado, grandemente - impregnado con el solvente, es filtrado, lavándolo primeramente con la mezcla del solvente, hasta que todas las impurezas orgánicas hayan desaparecido y después - se lava con agua hasta que desaparezcan las sales orgánicas, secándolo después a 40-50°C al aire.

80 Se obtiene así un producto muy blanco, correspondiente al tri-hidrato de ampicilina, químicamente puro, muy estable, y con una alta potencia microbiológica.

85 Los rendimientos, expresado como ácido anhidro de ampicilina, oscila entre el 80% y 90%, calculado en - los ensayos de la mezcla ácida, realizados antes de la alcalinización.

90 Es interesante el observar que el precipitado, formado en el solvente, retiene en sus cristales una cierta cantidad de solvente orgánico, que forma la mezcla de reacción; tal cantidad corresponde a unas 12 veces el peso de la sustancia seca. Al secar el producto, se puede obtener un antibiótico con una potencia no mayor que el 70% como ácido anhidro, pero muy poco estable a 95 la temperatura ambiente.

340132



-5-

Dicho producto muestra, mediante análisis, ser una mezcla de mono y di-hidrato de ampicilina y bajo las condiciones específicas de nuestra invención, muestra una retención de agua hasta la formación del tri-hidra
100 to y tomar las características de estabilidad y potencia química y microbiológica del tri-hidrato.

Si se ensaya la estabilidad del tri-hidrato de ampicilina mediante la comparación de algunas muestras del precipitado, debidamente secados al vacío a temperaturas no mayores que las del medio ambiente, resulta
105 que la potencia química y microbiológica del tri-hidrato obtenido por nosotros, permanece invariable; además, cuando se guarda a 40°C durante más de 15 días.

El precipitado seco, por el contrario, sufre grandes cambios morfológicos (se vuelve amarillo y emana olor sulfúrico) y su potencia química se pierde en aproximadamente un 13%, cuando se almacena en la oscuridad a 37°C. Cuando se almacena en la oscuridad a temperatura ambiente, pierde aproximadamente 5%. La luz produce
115 una disminución de 5% en el precipitado seco, que pierde además 1% diariamente al ser almacenado a 0°C. en la oscuridad. La acción combinada de la temperatura a 40°C., y de la luz, produce una degradación diaria irreversible que puede ser mayor del 25%, de la potencia químico-microbiológica inicial.
120

Por medio de una cromatografía de sección fina sobre placas de sílica en gel (desarrolladas como descritas en ejemplo 1), se revelan los cambios irreversibles causados por la luz y el calor en la estructura química íntima del precipitado en cuestión, cuando se seca
125

340132



-6-

130 además con el mayor cuidado. En las placas cromatográficas, aparecen puntos con valores R_f más bajos que los valores R_f de la ampicilina pura; ellos pueden ser comparados con los puntos de una muestra de D-(-)-alfa-ácido-aminofenilacético. Sobre las mismas placas aparecen además, algunos puntos con un valor R_f más alto; ellos pueden ser comparados con los puntos formados por muestras de ácido penicílico, obtenido por medios diferentes.

135 Los siguientes ejemplos ilustran la presente invención sin que por ello, sea limitada.

Ejemplo 1.

140 A una mezcla de reacción, obtenida por la acilación del ácido 6-aminopenicilánico y un acilado derivativo N del ácido D-(-)-alfa-aminofenilacético, se le añade de acetona hasta un 80% del volúmen inicial, de forma que el grado de hidratación final disminuye a un 6% aproximadamente.

145 La mezcla así obtenida, proporciona una potencia iodométrica de unos 25 g/lt. de D-(-)-alfa-aminobencilpenicilina, calculada como ácido anhidro. Otros análisis y cromatografías muestran la presencia de unos 2 g/lt. de ácido 6-aminopenicilánico, 6 g/lt. de D-(-)-alfa-fenilglicina y cantidades variables de otras impurezas (ácido peniciloico, cloruros orgánicos e inorgánicos y acetatos).

150 La mezcla es enfriada a 0°C y acidificada a pH 1 con ácido clorhídrico concentrado; se filtran entonces los posibles cuerpos del fondo, por medio de un filtro obstruido con carbón animal. El filtrado claro se alca

340132



-7-

liza a pH 5,8 mediante la cuidadosa adición de trietil-
amina.

160 Se separa un productos cristalino muy voluminoso
muy blanco, que es filtrado por succión y después con
6% de acetona, para así obtener lavados incoloros.

La masa del filtrado bien presada se lava repeti-
damente con pequeñas porciones de agua helada, hasta
que el filtrado precipita con nitrato de plata.

165 El producto así obtenido es secado en corriente
de aire, a una temperatura no superior a los 50°C.

170 Se obtiene así un polvo muy blanco y cristalino
que, ensayado iodométricamente, dá una potencia de
86,6% como ácido D-(-)-alfa-aminobencilpenicilina an-
hidra con un contenido de agua del 13,4% ensayado de
acuerdo al método de Karl Fischer.

El análisis elemental para el $C_{16}H_{19}N_3O_4S \cdot 3H_2O$ dá:
C= 47,6; H=6,3; N= 10,4; S=7,9; $H_2O= 13,4\%$; para nues-
tro producto, proporciona: C= 47,3; H= 6,4; N=10,2; S=
7,4 y $H_2O= 13,3\%$.

175 La rotación específica es de $D^{21}_D + 240^\circ$ (c= 0,32
en agua).

180 La potencia microbiológica, ensayada por el méto-
do de difusión-agar, utilizando Bacillus subtilis como
organismo de prueba, es de 85% como ácido D-(-)-alfa-
aminobencilpenicilina anhidra.

185 La cromatografía de capa fina)desarrollada con
placas de silica gel, de 5 mm. de espesor, ácido acéti-
co eluente-butanol-agua 10:40:50, ninhidrina alcohólica
como desarrollador) revela una sola mancha con un valor
Rf (aprox. 0,4) perfectamente similar al de una muestr_a

340132



-8-

de control perfectamente pura de tri-hidrato de ampicilina.

El rendimiento, calculado en el ensayo de la mezcla ácida, es de 91%.

190

Ejemplo 2.

195

100 g. de ampicilina cruda, con una potencia iodométrica de 41% calculada como ácido anhidro D-(-)-alfa-aminobencilpenicilina y conteniendo 5% de agua (de acuerdo al método de Karl Fischer) y algunos productos de degradación, se suspenden en 200 ml. de acetona, con 5% de agua.

200

La suspensión es acidificada a pH 1 con ácido clorhídrico acuoso 37% y, después de revolverlo por 3 horas a 0°C., se filtra muchas veces a través de carbón animal para así obtener una solución perfectamente clara, que se ajusta a pH 7 con tri-etilamina. El abundante precipitado formado, se filtra por succión y se lava con acetona acuosa al 5% para obtener lavados incoloros.

205

La masa de filtrado se prensa bien y se lava con 5 partes de agua helada hasta que el filtrado pierde la característica de reacción a iones cloro.

Se seca el filtrado a 45°C, en una corriente de aire.

210

Se obtiene así 34 g. de tri-hidrato de ampicilina muy blanca. Su potencia química y microbiológica, su rotación específica y su cromatografía de capa fina muestran que corresponde al producto obtenido en la muestra 1.

340132



-9-

215 N O T A . - Se reivindica la propiedad de ésta Baten-
te de Invención:

1) - Procedimiento para la producción de tri-hidrato
de ampicilina, en el que la ampicilina a purificar se
disuelve en un solvente miscible en agua con una alta
220 conductividad específica, a un valor de pH entre 4 y
7, siendo la hidratación total del solvente, no mayor
a 20% del volúmen.

2) - Procedimiento para la producción de tri-hidrato
de ampicilina, de acuerdo a la reivindicación 1, en la
225 que la ampicilina es precipitada en forma cristalina,
al ajustar la solución clara básica a un valor de pH
entre 4 y 7 por medio de una base orgánica o inorgá-
nica, lo suficientemente fuerte como para neutralizar
la acidez mineral presente y en una concentración tal
230 como para mantener la hidratación final total por de-
bajo del 20%.

3) - Procedimiento para la producción de tri-hidrato
de ampicilina, de acuerdo a las reivindicaciones 1 y
2, en el que el precipitado, separado por filtración,
235 se lava con la misma mezcla de solvente descrita en la
reivindicación 1 y con el mismo grado de hidratación,
para quitar las impurezas orgánicas.

4) - Procedimiento para la producción de tri-hidrato
de ampicilina, de acuerdo a las reivindicaciones 1, 2
240 y 3, en el que el precipitado, separado por filtración
y libre de impurezas orgánicas, se hidrata por medio
de lavados repetidos sobre el filtro con agua helada,
cambiando así a tri-hidrato de ampicilina, dejando con
los lavados las impurezas orgánicas y salinas.

340132 -3



245 5) - Procedimiento para la producción de tri-hidrato
de ampicilina, de acuerdo a las reivindicaciones pre-
cedentes, en el que la ampicilina cruda con una baja
potencia iodométrica, contenida en las mezclas de reac-
ción y por ello en presencia de impurezas formadas por
250 la reacción de síntesis, se convierten en tri-hidrato
de ampicilina pura.

6) - "PROCEDIMIENTO PARA LA PRODUCCION DE TRI-HIDRATO
DE AMPICILINA".

Esta Memoria Descriptiva consta de diez hojas fo-
liadas y mecanografiadas por una sola cara.

Madrid,

- 3 MAYO 1967

C. ALCONADA

Per por 