

373868



1969

373868

SECCION TECNICA	
CLASIFICACION I.P.C.	
CLASE <u>C-07</u>	<u>A-61</u>
SUBCLASE <u>C</u>	<u>K</u>

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de una

PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: ELI LILLY AND COMPANY

RESIDENCIA: 307 East McCarty Street,

INDIANAPOLIS, Indiana, USA.

ENUNCIADO: "UN PROCEDIMIENTO PARA PURIFICAR Y
MEJORAR EL RENDIMIENTO DEL ANTIBIO-
TICO DE CEFALOGLICINA".

Prioridad: Patente estadounidense n.º 799.991 del 17-2-69

373868



1 La presente invención se refiere a un procedi-
miento para purificar y mejorar el rendimiento de antibió-
tico de cefaloglicina.

5 Más específicamente, la presente invención pro-
vee un procedimiento para purificar y mejorar el rendimien-
to de antibiótico de cefaloglicina, caracterizado por (a)
disolver cefaloglicina con la ayuda de ácido en una mezcla
solvente de acetonitrilo:metanol:agua, siendo las propor-
10 ciones de los componentes de dicha mezcla, de aproximada-
mente 3:1:3 a aproximadamente 3:3:1 a aproximadamente 1:3:3
en volúmen, (b) tratar la mezcla de cefaloglicina de la -
etapa (a) con suficiente base para ajustar el pH de la mez-
cla al punto en el cual precipita la cefaloglicina, y (c)
separar la cefaloglicina precipitada de la mezcla solvente
15 tratada con base.

El ácido 7-(D-alfa-amino-alfa-fenilacetamido)ce-
falosporánico y su sal interna, están referidos en la pre-
sente mediante el nombre genérico, cefaloglicina.

20 Se ha encontrado un mejor solvente y sistema de
precipitación, y un procedimiento mejorado que incorpora -
ese sistema, para convertir la cefaloglicina de un estado
crudo o semi-puro a una cefaloglicina mas densa, más pura,
substancialmente exenta de reactivo de fenilglicina, un me-
25 jor rendimiento de lo que fué obtenible previamente. Una -
variación del procedimiento de la presente, comprende (1) -
disolver cefaloglicina con la ayuda de un ácido en una mez-
cla solvente, que comprende (a) de aproximadamente 1 a --
aproximadamente 3 partes en volúmen de acetonitrilo (b) de
aproximadamente 1 parte a aproximadamente 3 partes -
30 en volúmen de agua , (c) de aproximadamente 1 parte

-3-
373868



969

1 a aproximadamente 3 partes en volúmen de metanol., conte-
niendo dicha mezcla solvente un total de 3 a aproximadamen
te 9 partes en volúmen. (2) tratar la solución que contie-
ne cefaloglicina de la etapa 1, con suficiente base para -
5 ajustar el pH de la mezcla a la escala de pH en donde pre-
cipita la cefaloglicina, y (3) separar la cefaloglicina pre-
cipitada de la mezcla de solución tratada con base.

Un procedimiento alternativo que puede utilizar
se, es disolver cefaloglicina en una mezcla de los compo--
10 nentes de acetonitrilo y agua, con la ayuda de ácido, con
o sin una porción del componente metanol que está presente
inicialmente en la mezcla, y después agregar una porción o
la totalidad del componente de metanol con la base en la -
etapa 2. Este procedimiento alternativo ayuda a retardar -
15 el procedimiento de cristalización, para obtener cristales
de cefaloglicina más densos, más facilmente filtrados.

Opcional y preferiblemente, los cristales de ce-
faloglicina separados obtenidos a partir de la etapa (3) -
anterior, se tratan con agua o vapor de agua, para formar
20 el dihidrato de cefaloglicina a partir de los mismos, ya -
sea directamente, o después de lavar la cefaloglicina sepa-
rada con un alcohol tal como metanol, y secar. Se ha encon-
trado que las propiedades físicas mejoradas de los crista-
les de cefaloglicina obtenidos mediante el procedimiento -
25 anterior (etapas 1-3), pueden preservarse convirtiendo es-
ta cefaloglicina al dihidrato, mediante exposición a una -
humedad relativa elevada.

Cuando se disuelve la cefaloglicina en un siste-
ma solvente que eventualmente contiene acetonitrilo, agua
30 y metanol, y se agrega base para precipitar la cefaloglicina

373868



1 de conformidad con el procedimiento de la presente descri-
to antes, la cefaloglicina cristalina obtenida es más den-
sa, más pura, y se precipita mas completamente en la solu-
5 ción, mejorando así los rendimientos de la cefaloglicina -
recuperada a partir de cantidades dadas de cefaloglicina di-
suelta. De esta manera, las así llamadas etapas 1 y 2 del
procedimiento de esta invención, pueden conducirse separa-
damente, según se describió primero antes o las dos etapas
10 pueden ser combinadas mediante la adición del metanol con
la base.

La escala útil de la mezcla solvente de acetoni-
trilo:metanol:agua, utilizada en el procedimiento de esta
invención para la purificación de cefaloglicina y mejorar
el rendimiento, esta aproximadamente dentro de las propor-
15 ciones de 1:3:3 a 3:1:3, a 3:3:1, en volúmen, de acetoni-
trilo:metanol:agua, respectivamente. Fuera de estos lími-
tes generales, se obtienen geles, cristales muy finos u -
otras formas indeseadas de cefaloglicina.

El ácido utilizado para efectuar la solución -
20 de cefaloglicina en la mezcla solvente, puede ser cualquier
ácido miscible en agua, fuerte, que tiene un pKa de menos
de cuatro. Los ácidos preferidos son los ácidos minerales
económicos tales como los ácidos clorhídrico , sulfúrico,
nitríco y ortofosfónico. Pueden también utilizarse los -
25 ácidos hidrocarburo-sulfónicos, especialmente los ácidos
alcansulfónicos de C₁ a C₆ tales como los ácidos metansul-
fónico, propansulfónico y hexansulfónico, así como también
los ácidos hidrocarburosulfónicos aromáticos de C₆ a C₁₂
30 tales como el ácido bencensulfónico, p-toluensulfónico, -
alfa-naftalensulfónico, y el ácido bifenilsulfónico, y el

373868



1969

1 ácido hidrocarburosulfónico aromático de C_6 a C_{12} haloge-
nado, ácidos p-bromobencensulfónicos y similares. Pueden -
también utilizarse ácidos carboxílicos alcanóicos de C_1 a
5 C_6 más débiles, tales como acético, propiónico y similares,
porque compensan su acidez más débil, agregando sus propie-
dades solventes al sistema solvente.

Pueden emplearse otros alcanonitrilos tales co-
mo propionitrilo y butironitrilo por parte o la totalidad
del acetonitrilo en el sistema solvente, pero se prefiere
10 el acetonitrilo. Pueden emplearse el etanol y los alcoholes
de C_3 a C_6 , por parte del metanol, pero el empleo de canti-
dades grandes de aquellos alcoholes hace la cristalización
más difícil de controlar. Por lo tanto, el metanol es el -
alcohol preferido.

15 La base agregada en la etapa 2 del procedimien-
to, puede ser cualquier base miscible en agua que tenga un
pKa regularmente fuerte, digamos superior a 4. Se agrega -
preferiblemente en solución para evitar la elevación exce-
siva en el pH local, y se agrega en cantidad suficiente -
20 para ajustar el pH de la mezcla a la escala de pH en donde
precipita la cefaloglicina. Generalmente, ocurre una preci-
pitación máxima a un pH de 3,5 a 5,0. Las bases preferidas
son hidróxido de amonio, hidróxido de sodio o de potasio,
trilaquilaminas de C_1 a C_3 , tales como trietilamina y si-
25 milares. La base se agrega preferiblemente en forma concen-
trada con agitación, hasta que el régimen de precipitación
de cefaloglicina es satisfactorio. Una medida conveniente
es agregar la base hasta que ésta es equivalente a la can-
30 tidad de ácido que se agregó en la etapa 1, pero no se re-
quiere una equivalencia estequiométrica exacta con todos los

373868



1969

1 sistemas solventes.

5 Cuando la totalidad o la mayor parte de la cefaloglicina ha precipitado en la mezcla solvente, la separación de la misma se logra mediante métodos convencionales, v.gr. filtración, centrifugación, lavados si se desea, con metanol o acetona, y secado a de aproximadamente 30º a -- aproximadamente 60ºC., preferiblemente bajo vacío, durante aproximadamente de 1 a 6 horas o hasta que el peso se hace constante. Los cristales de cefaloglicina obtenidos mediante este proceso pueden secarse para contener menos de 1 % en peso de agua, preferiblemente menos de 0,5 % de agua. La cefaloglicina anhidra que resulta de estos procedimientos, tiene el mismo patrón de rayos X de la cefaloglicina anhidra que aquella obtenida mediante procedimientos previos, y los cristales de cefaloglicina anhidra están substancialmente exentos de fenilglicina llevada a través del procedimiento de manufactura, y se obtiene en un rendimiento mejorado con relación a los rendimientos mediante los procedimientos anteriores.

20 El producto de cefaloglicina anhidro de este procedimiento puede utilizarse como tal para formar suspensiones y soluciones acuosas útiles para la terapia antibiótica. Se convierte preferiblemente a la forma cristalina de dihidrato de cefaloglicina (aproximadamente de 8 a 10% de agua, en peso) para emplearse para hacer formulaciones reconstituibles sólidas, secas, para terapia antibiótica. Las propiedades de densidad y de flujo volumétrico mejoradas de los cristales de cefaloglicina anhidra obtenidos mediante el procedimiento de esta invención, pueden preservarse exponiendo la cefaloglicina substancialmente anhidra



1969

373868

1 a una humedad relativa elevada en un aparato de sacudida
o de mezclado adecuado, hasta que se forman el dihidrato
de cefaloglicina. Pueden utilizarse sin embargo otros mé-
5 todos de hidratación. Como un ejemplo, la cefaloglicina --
substancialmente anhidra preparada según se describió an-
tes puede rehidratarse a un contenido de agua de aproxima-
damente 8 a 10 % en peso, moliendo los cristales de cefa-
loglicina anhidra durante aproximadamente 0,5 horas en --
10 agua, filtrando la mezcla, lavando el sólido con acetona,
y secando después en una estufa al vacío a un peso cons--
tante.

Un ejemplo de una formulación farmacéutica que
contiene la cefaloglicina rehidratada, y útil para adminis-
tración antibiótica, es el siguiente:

15

FORMULA PARA SUSPENSION
DE CEFALOGLICINA PARA
PROVEER 250 mg/5 cc.

PESO

	Hidrato de cefaloglicina cristalina	5,5 g.
	Sacarosa, calidad Baker	50,0 g.
20	Sacarina soluble	0,2 g.
	Ciclamato de sodio	1,0 g.
	Cloruro de sodio, polvo U.S.P.	0,5 g.
	Polvo de ácido cítrico	0,1 g.
	Polvo de citrato de sodio	0,2 g.
25	Amarillo F.D. y C No. 6 aluminio lacustre certificado	0,05 g.
	Imitación de sabor de jugo de naranja, 59,107/AP Firmenich, Inc.	1,0 g.
	Sabor de menta E 1395	0,1 g.
30		<hr/> 58,65 g.

- 8 -
373868



1

5

10

15

20

25

30

Pueden almacenarse muestras de las formulaciones anteriores como una mezcla de polvo seco en recipientes sellados, a 25, 57 y 50°C. durante períodos de hasta 1 mes. Cuando se toman muestras para análisis microbiológico normal de contenido de cefaloglicina de la mezcla seca, o en la preparación de la suspensión acuosa para administración, se agregó una cantidad apropiada de agua purificada para hacer que la suspensión contenga aproximadamente 50 mg. de cefaloglicina por cc. de suspensión.

La invención se ilustra además mediante los siguientes ejemplos detallados.

EJEMPLO 1

Se suspendieron 10 g. de una porción de cefaloglicina en 400 ml. de una mezcla solvente que consiste de acetonitrilo:metanol:agua en una proporción de 1:1:1 en volúmen. A esta suspensión, se agregaron 3 ml. de ácido clorhídrico concentrado (12 normal) gota a gota, hasta que la solución de cefaloglicina que se efectúa se hace clara, excepto por unos cuantos terrones que fueron separados por filtración. A esta solución de cefaloglicina resultante, se agregó gota a gota hidróxido de amonio concentrado (14 normal) hasta que la cantidad del mismo fué equivalente al ácido agregado. La mezcla resultante se dejó reposar mientras se formaron cristales de cefaloglicina. Los cristales se separaron de la mezcla solvente neutralizada y se secaron a 30°C., bajo vacío, a un contenido de agua de menos de 0,5 % en peso.

EJEMPLO 2

En este ejemplo, se suspendieron 10 g. de cefaloglicina en 100 ml. de una mezcla de acetonitrilo:agua en

373868



1969

1 una mezcla de 1:1 en volúmen, y después se agregaron apro-
ximadamente 2,5 ml. de ácido clorhídrico concentrado, hasta
que se efectuó la solución de la cefaloglicina. Después se
5 agregó el metanol (50 ml.), con la cantidad equivalente de
amoniaco empleado para neutralizar el ácido, y efectuar la
cristalización de la cefaloglicina. Por separación de los
cristales de cefaloglicina del sistema solvente neutraliza-
do, y secado bajo vacío a 30°C., durante 3 horas, los cris-
tales fueron de la forma cristalina de cefaloglicina anhi-
10 dra, y se formaron mejor y de un tamaño mas grande que aque-
llos obtenidos del método de formamida-metanol.

EJEMPLO 3

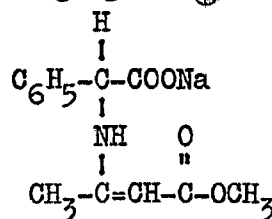
Este ejemplo establece un procedimiento típico
para preparar cefaloglicina, acilando ácido 7-aminocefalos-
15 poránico (7-ACA), con una forma de anhídrido mixto de N-ami-
no bloqueado de fenilglicina, seguido por un ejemplo del -
procedimiento de recristalización y purificación de esta -
invención.

Bloqueo del grupo amino

20 Se suspendió D-alfa-fenilglicina, levógira, en -
benceno en un destilador de acero inoxidable. Se agregó una
solución al 50 % de hidróxido de sodio, y la mezcla se ca-
lentó a 50°C-70°C. durante 1 hora. Se agregó acetoacetato -
de metilo. Los contenidos del destilador se pusieron a re-
25 flujo hasta que se hubo separado toda el agua, mediante --
destilación azeotrópica, La mezcla de reacción se diluyó -
con un volúmen igual de acetona, transferida después a un
recipiente de salmuera y se enfrió. Se filtraron los cris-
tales de la sal 3-(D-alfa-carboxibencilamino)crotonato de
30 sodio



373868



se lavaron con acetona, se secaron con aire a 65°C., y se molieron a un polvo fino.

Preparación de sal tosilato de 7-ACA

Se suspendió ácido 7-aminocefalosporánico (7-ACA), en un recipiente de salmuera recubierto con vidrio, y se agregó solución de monohidrato de ácido p-toluensulfónico (tosilato) en acetona, a de 5°C. a -5°C. La mezcla se agitó durante una hora, después se filtró para separar las impurezas insolubles. Se precipitó el dihidrato de tosilato de 7-ACA a partir del filtrado, mediante la adición de agua, se separó por filtración, se lavó con acetona, y se secó con aire a temperatura ambiente.

Formación de anhídrido mixto

Se suspendieron en 3-(D-alfa-carboxibencilamino) crotonato de sodio y una cantidad catalítica de N,N-dimetilbencilamina, en acetonitrilo, en un recipiente de salmuera de acero inoxidable o recubierto con vidrio, y la suspensión se enfrió a de -10°C, a 0°C. Se agregó cloroformiato de metilo rápidamente, y la mezcla se agitó unos cuantos minutos para formar el anhídrido metílico mixto de la fenilglicina N-bloqueada. Mientras tanto, se convirtió el tosilato de 7-ACA a la sal soluble de trietilamina en una mezcla de 50 % de agua-50% de acetonitrilo de 0°C. a 5°C.

Acilación y separación del grupo N-protegido

Se agregó rápidamente la solución de la sal de



NOV. 1969

373868

1 7-ACA trietilamina al anhídrido mixto mientras se agita. La
agitación se continúa durante unos cuantos minutos, y des-
pués se disolvió cualquier material insoluble con triétila-
mina. Después de agitar durante media hora, la solución se
5 ajustó a un pH de 1,5 con ácido clorhídrico concentrado a
de -5º a + 5ºC., para efectuar la disociación del grupo --
amino protegido de la molécula de cefaloglicina. Se agregó
metanol con agitación durante 1,5 horas adicionales, y el
pH se elevó a 4,5 para precipitar los cristales de cefalo-
10 glicina crudos. El metanol mejora el tamaño de cristal de
las cefaloglicinas para los propósitos de filtración o cen-
trifugación.

Recristalización y Purificación

15 Se redisolvió después la cefaloglicina cruda en -
una mezcla de 1:1:1 (volumen) de agua, acetonitrilo, y me-
tanol, empleando ácido clorhídrico para completar la solu-
ción y después se reprecipita en la solución, agregando -
triethylamina para precipitar la cefaloglicina. Después de
filtrar la cefaloglicina y lavar con metanol, se secó al -
20 vacío a 30ºC., a un peso constante. Fué una cefaloglicina
substancialmente anhidra que contiene menos de 0,5% de agua
en peso. La separación de la fenilglicina incrementada se
efectuó mediante el empleo de una mezcla de 2:1:1 (volumen)
de agua, acetonitrilo, y metanol, respectivamente, pero el
25 rendimiento promedio de los cristales de cefaloglicina pu-
rificados por precipitación en la misma, tendió a ser un -
poco mas bajo que con la mezcla solvente proporcionada an-
teriormente.

Rehidratación

30 La cefaloglicina substancialmente anhidra se --

373868



1969

1 mezcló con agua desionizada en un secador de vacío equipado
con un agitador interno de un mezclador de amasado. El agua
en exceso se separó mediante secado al vacío, y el dihidra-
to de cefaloglicina se molió según se requirió.

5 En resumen la Patente de Invención que se soli-
cita deberá recaer sobre las siguientes:

10

15

20

25

30

373868



REIVINDICACIONES

1

1.- Un procedimiento para purificar y mejorar -
el rendimiento del antibiótico de cefaloglicina, caracte-
rizado por (a) disolver cefaloglicina con la ayuda de ácido
5 en una mezcla solvente de acetonitrilo:metanol:agua, siendo
las proporciones de los componentes de dicha mezcla de apro-
ximadamente 3:1:3 a aproximadamente, 3:3:1 a aproximadamen-
te 1:3:3 en volúmen, (b) tratar la mezcla de cefaloglicina
de la etapa (a) con suficiente base para ajustar el pH de
10 la mezcla al punto en el cual precipita la cefaloglicina,
y (c) separar la cefaloglicina precipitada de la mezcla --
solvente tratada con base.

5

10

15

2.- El procedimiento de la reivindicación 1, ca-
racterizado porque incluye las etapas de mezclar la cefalo-
glicina precipitada de la etapa (c) con agua, para formar
un material cristalino de dihidrato de cefaloglicina.

20

3.- El procedimiento de la reivindicación 1 ó 2,
caracterizado porque en la etapa (b) se agrega una tria-
quilamina de C_1 a C_3 en una cantidad suficiente para preci-
20 pitar cefaloglicina de la mezcla solvente.

25

4.- El procedimiento de la reivindicación 1, 2
ó 3, caracterizado porque en la etapa (a), la mezcla solven-
te comprende acetonitrilo, metanol y agua, en partes subs-
tancialmente iguales en volúmen, y se utiliza ácido clorhí-
25 drico para efectuar la solución de la cefaloglicina en la
mezcla solvente.

30

5.- El procedimiento de la reivindicación 1, 2
ó 3, caracterizado porque en la etapa (a), la mezcla solven-
te comprende acetonitrilo, metanol y agua, en las proporci-
30 nes de aproximadamente 1 parte de acetonitrilo, 1 parte de

37¹⁴5868



1969

1 metanol y de 1 a aproximadamente 2 partes de agua, y se -
agrega ácido clorhídrico en una cantidad suficiente para
efectuar la solución de la cefaloglicina en la mezcla sol-
vente.

5 6.- El procedimiento de cualquiera de las reivin-
dicaciones 1 a 5, caracterizado porque en la etapa (a) la
cefaloglicina se disuelve con la ayuda de ácido en una mez-
cla de los componentes de acetonitrilo y agua, y el compo-
nente metanol se agrega con la base en la etapa (b).

10 7.- Se reivindica por último como objeto sobre
el que ha de recaer la Patente de Invención que se solici-
ta: "UN PROCEDIMIENTO PARA PURIFICAR Y MEJORAR EL RENDI-
MIENTO DEL ANTIBIOTICO DE CEFALOGLICINA".

15 Todo conforme queda descrito y reivindicado en
la presente Memoria descriptiva, que consta de catorce pá-
ginas mecanografiadas.

Madrid, 24 de noviembre 1969

BERNARDO UNGRIA

P.P.

20 

25

30