



414683

A1 414.683 760516 C O7C 10/319

PATENTE DE INVENCION

Ref: Case No. 24.582.

C O7C, AGIK

Memoria Descriptiva

sobre:

Procedimiento para la purificación y recuperación de clorhidrato de 7-dimetilamino-6-desmetil-6-desoxitetraciclina a partir de una solución acuosa del mismo.

=====

Solicitante: AMERICAN CYANAMID COMPANY, entidad norteamericana, residente en Berdan Avenue, Township of Wayne, Estado de New Jersey, EE.UU. de A.

=====

La presente invención se relaciona con un procedimiento para la recuperación de 7-dimetilamino-6-desmetil-6-desoxitetraciclina purificada a partir de soluciones acuosas de la misma, como con un licor madre de cristalización. Más particularmente, se refiere

414683

- 2 -



- re a la preparación de un complejo de cloruro de calcio de clorhidrato de 7-dimetilamino-6-desmetil-6-desoxitetraciclina y la regeneración a partir del mismo de 7-dimetilamino-6-desmetil-6-desoxitetraciclina purificada por medio de una
5. reacción de metátesis.
- El compuesto 7-dimetilamino-6-desmetil-6-desoxitetraciclina (de aquí en adelante referido por su denominación genérica "minociclina") es un antibiótico valioso producido por la metilación reductiva de 7-(N,N'-dicarbobenciloxihidracino)-6-desmetil-6-desoxitetraciclina.
10. Métodos convencionalmente empleados para la recuperación por cristalización de monoclorhidrato de minociclina sufren de una pérdida por solubilidad en el orden de 10-30 mg/ml, correspondiendo a pérdidas de rendimiento de 6-18 %.
15. El licor madre en la cristalización de monoclorhidrato de minociclina contiene impurezas concentradas, primordialmente en la forma de epi-minociclina. El presente procedimiento está dirigido a la recuperación con buen rendimiento de una forma muy purificada de monoclorhidrato de minociclina como
20. un complejo de cloruro de calcio, a partir de estos licores madre como así también otras soluciones acuosas del mismo.
- Se sabe que minociclina forma quelatos con calcio a valores de pH por encima de 5,6, que contiene 1 a 2 moles de calcio por mol de minociclina. Estos quelatos son relativamente insolubles en agua. Intentos para aislar quelato de
25. calcio de minociclina a partir de licores madre en la gama de pH de 7,5-8,5 resulta en productos que eran extremadamente difíciles de filtrar. Además, estos productos contenían epi-minociclina en la gama de 22-28 %.
30. Ahora se ha descubierto que la aislación a un bajo pH



- de aproximadamente 3,5, en presencia de cloruro de calcio, lleva a la recuperación de un complejo de clorhidrato de minociclina-cloruro de calcio que tiene buenas características de filtración y un bajo contenido de epímero. A un pH de
5. 3,5, se aisló material que filtró bien y tenía un contenido de epímero de solamente 3,4%. Este material exhibió un comportamiento de solubilidad que difiere de clorhidrato de minociclina o sus quelatos de calcio. Cuando se aisla de soluciones diluídas, como ser licores madre de minociclina, comienza a cristalizarse a un pH de 2,8, se vuelve a disolver a un pH de 4,3-4,4 y se reprecipita a un pH de 5,8 (presumiblemente como un quelato). En una solución concentrada la precipitación comienza a un pH de 1,4. En contraste, clorhidrato de minociclina no comienza a precipitarse hasta un pH de 2,2 y no comienza a disolverse de nuevo hasta aproximadamente un pH de 6,5.
- 10.
- 15.

- Un análisis elemental del material aislado a un pH de 3,5 en presencia de cloruro de calcio coincide con aquel de un producto que tiene la composición $(\text{minociclina.HCl})_4 \cdot \text{CaCl}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ donde n puede ser un entero de 7 a 13, inclusive, dependiendo del grado de secado. El contenido de cloro de la molécula es demasiado elevado para un quelato, por lo tanto, el compuesto es un complejo de cloruro de calcio y clorhidrato de minociclina. Como se ha mencionado previamente quelatos de calcio de tetraciclina son conocidos. Este producto, en base a análisis espectrofotométrico, de titulación y elemental no es un quelato sino una sal doble (o complejo) con cloruro de calcio, poseyendo $1/4$ mol de cloruro de calcio por mol de minociclina HCl. Quelatos, aislados a pH superiores,
- 20.
- 25.
30. contienen 1 a 2 moles de calcio por mol de minociclina neutra

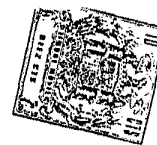


y generalmente no contiene ningún ión cloruro.

5. En la práctica, el complejo de cloruro de calcio-clorhidrato de minociclina puede aislarse en la gama de pH de 3,1-4,2, si bien se obtiene una mínima solubilidad en la gama de pH de 3,3-3,9. La relación molar de calcio a minociclina puede variarse de 0,3 a 1,2, con una gama óptima de 0,5-0,9. La adición de aproximadamente 15 % a aproximadamente 20 % p/v de sales de cloruro ionizables, como ser cloruro de amonio, cloruro de sodio, o cloruro de potasio, reduce la solubilidad del complejo y apreciablemente aumenta la cantidad de precipitación. El producto puede cristalizarse a temperaturas de aproximadamente 0°C a aproximadamente 40°C. Será obvio que pueden obtenerse similares, pero no necesariamente óptimos, resultados utilizando otras sales de calcio tal como acetato de calcio, nitrato de calcio, etc.
- 10.
- 15.

20. Se obtienen características de filtración y rendimiento óptimos agregando el cloruro de calcio a la solución de minociclina a 40°C y luego enfriando lentamente la solución a 0°C. La suspensión se envejece un mínimo de 2 horas a 0°C antes de la filtración para mejores resultados. De esta manera, dependiendo del porcentaje de impurezas y la potencia del licor madre, se obtienen rendimientos de minociclina que varían de 27-89 % de la actividad espectrofotométrica en el licor madre. Rendimientos típicos son 60-65 %. En todos los casos el nivel de impurezas en el producto está en el orden de 3-4 % con epi-minociclina como la impureza principal.
- 25.

30. El contenido de minociclina del complejo precipitado puede regenerarse mediante una reacción de metátesis para romper el complejo y separar el componente del cloruro de calcio con relación al componente antibiótico. La separación



5. se logra mediante una descomposición doble que produce una sal de calcio insoluble en agua. Para este fin se puede emplear ácido clorhídrico, ácido láurico, ácido oxálico, ácido palmítico, o ácido tartárico por lo cual se producen las correspondientes sales de calcio insolubles en agua que se recuperan por filtración. El procedimiento de regeneración preferido involucra el tratamiento de una solución de ácido clorhídrico diluida en el complejo con ácido oxálico, separando por filtración el oxalato de calcio resultante y regulando el pH a aproximadamente 4,0 por lo cual se cristaliza de la solución el clorhidrato de minociclina.

10. La presente invención se describirá con mayor detalle en combinación con los siguientes ejemplos específicos.

15. EJEMPLO 1 - Preparación de complejo de monoclóridato de minociclina-cloruro de calcio

20. Se agregaron a 250 ml de licor madre, derivado de recristalización de clorhidrato de minociclina (representando 32,2 mg/ml de minociclina.HCl anhidra), 5,18 g de dihidrato de cloruro de calcio. Se reguló el pH a 3,5. Se filtraron los cristales que se formaron, se lavaron con 5 ml de agua y se secaron a 40°C en vacío. El rendimiento era de 2,66 g de material representando 813 mcg/mg de clorhidrato de minociclina anhidra (26,9 %). El producto contenía 1,6 % de calcio y 27,5 mcg/mg de epi-minociclina.

25. EJEMPLO 2 - Preparación de complejo de monoclóridato de minociclina-cloruro de calcio

30. Se agregaron a una mezcla de 18,8 ml de cloruro de calcio de 0,5 molar y 3,33 ml de ácido clorhídrico 6N, 10 g de clorhidrato de minociclina (representando 858 mcg/mg como minociclina neutra). Se redujo el pH de la mezcla a 1,35 con

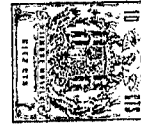


- HCl 6N y se agregó a la solución resultante hidróxido de sodio 5N en incrementos. A un pH de 2,0 la suspensión que contenía precipitado se volvió muy espesa para agitar, requiriendo la adición de 20 ml de agua. A continuación se reguló la suspensión a un pH de 3,5, se agitó durante 1 hora, se filtró y el precipitado se secó en vacío a 35°C. El rendimiento era 9,57 g de un producto anaranjado que espectrofotométricamente representó 800 mcg/mg como minociclina neutra y 864,4 mcg/mg como clorhidrato de minociclina anhidra (89,3 %).
- 5.
10. Análisis calculado para $(C_{23}H_{27}N_3O_7 \cdot HCl)_3 \cdot CaCl_2 \cdot 12H_2O$:
C, 47,97; H, 5,95; N, 7,30; Cl, 9,24; Ca, 1,74; pérdida al secarse, 9,39; ensayo espectrofotométrico (como clorhidrato de minociclina anhidra), 85,8.
Hallado: C, 48,10; H, 6,15; N, 7,25; Cl, 8,90; Ca, 1,73; pérdida al secarse, 10,25; ensayo espectrofotométrico, 86,4.
- 15.

EJEMPLO 3 - Preparación de complejo de monoclorhidrato de minociclina-cloruro de calcio

- Se agregaron 225 g de cloruro de sodio a 1,5 litros de licor madre de cristalización de minociclina, representando 10,800 mcg/ml como minociclina neutra, y la solución se calentó a 40°C. Se agregó una porción de 31,9 ml de solución de cloruro de calcio 1 molar y luego el pH se reguló a 3,5. La mezcla se enfrió a 5°C. A continuación se envejeció la suspensión cristalina resultante durante 6 horas a 5°C y se separó el producto por filtración. Después de secar en vacío a 40°C se obtuvo 15,35 g (72,0 %) de material que representó 760,2 mcg/mg como minociclina neutra y que contenía 1,71 % de calcio y 17,8 mcg/mg de epi-minociclina.
- 20.
- 25.

- EJEMPLO 4 - Conversión de complejo de clorhidrato de minociclina-cloruro de calcio en clorhidrato de minociclina-cloruro de calcio
- 30.

clina

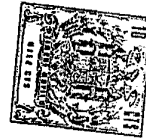
- Se disolvieron 7,56 g de complejo de clorhidrato de minociclina-cloruro de calcio (representando 730,4 mcg/mg como minociclina neutra y que contenía 1,565 % de calcio), en 15,1
5. ml de ácido clorhídrico 1N, seguido por 848 mg de dihidrato de ácido oxálico. Se reguló el pH de la mezcla a 1,9 con hidróxido de sodio 5N y se agregaron a la misma 80 mg de carbón agtivado, Darco G-60[®]. Se agitó la suspensión durante 2 horas a 5°C, se filtró a través de tierra de diatomeas, Celite[®] y
10. se lavó la torta con 5,8 ml de solución de cloruro de sodio al 5 %. Se reguló el pH del filtrado y lavado combinados a 4,0 con hidróxido de sodio 5N y se envejeció la suspensión resultante de cristales de clorhidrato de minociclina 1 hora a temperatura ambiente y durante la noche a 5°C. Se separó
15. el producto por filtración y se lavó con 3,8 ml de solución de cloruro de sodio al 5 %. Se volvieron a disolver los cristales húmedos en 5,12 ml de una solución preparada mezclando 4,8 ml de ácido clorhídrico concentrado con 29 ml de agua, se trató 15 minutos con 90 mg de Darco G-60[®] y se filtró a tra
20. vés de Celite[®]. Se lavó la torta de filtro con 1,91 ml de agua y el pH del filtrado y lavado combinados se reguló a 4,0 con hidróxido de sodio 5N. Luego se envejecer durante la noche a 5°C el producto se separó por filtración, se lavó con
25. 5,8 ml de agua y se secó a 40°C en vacío. Se obtuvo así 4,28 g (68,8 %) de clorhidrato de minociclina que representó 887,1 mcg/mg como minociclina neutral que contenía 11,6 mcg/mg de epi-minociclina.

- N O T A -

30. Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse cons

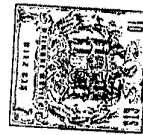
414683

- 8 -



- tar, que las disposiciones anteriormente indicadas, son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a una Solicitud de Patente, presentada en
5. Norteamérica, con fecha 11 de mayo de 1972, bajo el número 252.175, acogiéndose por lo tanto a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España, sobre:
10. PROCEDIMIENTO PARA LA PURIFICACION Y RECUPERACION DE CLORHIDRATO DE 7-DIMETILAMINO-6-DESMETIL-6-DESOXITETRACICLINA A PARTIR DE UNA SOLUCION ACUOSA DEL MISMO; caracterizándose por lo siguiente:
15. 1ª.- Procedimiento para la purificación y recuperación de clorhidrato de 7-dimetilamino-6-desmetil-6-desoxitetraciclina a partir de una solución acuosa del mismo, caracterizado porque se agrega cloruro de calcio a la solución acuosa de clorhidrato de 7-dimetilamino-6-desmetil-6-desoxitetraciclina en una relación de 0,3 mol de cloruro de calcio a 1,2 mol de
20. tetraciclina mientras se mantiene el sistema a un pH entre 3,1 y 4,2 y se recupera el complejo de monoclóridato-cloruro de calcio así formado, seguido por regeneración de la sal de clorhidrato por una reacción de metátesis.
25. 2ª.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la reacción de metátesis se realiza con ácido oxálico, en un medio acuoso.
30. 3ª.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se incluye como primera etapa la adición de 15 % a 20 % peso/volumen de cloruro de sodio a la solución acuosa de clorhidrato de 7-dimetilamino-6-desmetil-6-desoxite

ME



traciolina.

5. 4^a.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se disuelve el cloruro de calcio en una solución en relación molar de cloruro de calcio a clorhidrato de 7-dimetilamino-6-desmetil-6-desoxitetraciclina dentro de la gama de 0,3 a 1,2; se regula el pH de la solución hasta dentro de la gama de 3,1-4,2; se separa el complejo de cloruro de calcio, así precipitado, de clorhidrato de 7-dimetilamino-6-desmetil-6-desoxitetraciclina a partir de la suspensión resultante; se disuelve el complejo en ácido clorhídrico diluido; se disuelve suficiente ácido oxálico en la solución de complejo para reaccionar con sustancialmente todos los iones de calcio presentes; se elimina el oxalato de calcio así precipitado de la suspensión resultante; se regula la solución clarificada hasta un pH dentro de la gama de 3,0-5,0; y se separa el precipitado de clorhidrato de 7-dimetilamino-6-desmetil-6-desoxitetraciclina así formada.

10.

15.

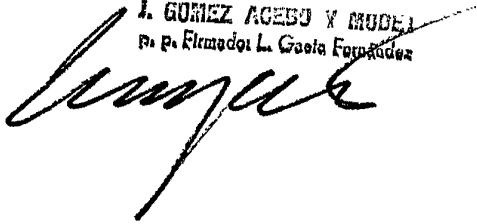
20. 5^a.- Procedimiento para la purificación y recuperación de clorhidrato de 7-dimetilamino-6-desmetil-6-desoxitetraciclina a partir de una solución acuosa del mismo, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de 9 hojas, escritas a máquina por una sola cara.

10 MAYO 1973

Madrid

25. AMERICAN CYANAMID COMPANY
 J. GÓMEZ ACEBO Y MUÑOZ
 P. P. Elmadou L. Gascó Fernández



mg