

OZ-2/P-2173

EX-P)



420208

Int. Cl.:	A61K
-----------	------

P A T E N T E D E I N V E N C I O N

por VEINTE años

cuyo privilegio se solicita para España,
sus territorios y plazas de soberanía, a
favor de:

INSTYTUT PRZEMYSŁU FARMACEUTYCZNEGO

entidad polaca, domiciliada en Varsovia,
Polonia, relativa a:

"PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE L-ASPARA
GINATO DE CARBONATO CICLICO DE ERITROMI
CINA A"

=====

Inventores: Halina Dahlig y Zdzisław Szyпка

Prioridad: Solicitud de patente en Polonia
nº P-164 368 de fecha 28 julio
1973.

27 JUL. 

MEMORIA DESCRIPTIVA

La invención tiene por objeto un L-asparaginato de carbonato cíclico de eritromicina A. Es un nuevo compuesto del grupo de antibióticos de eritromicina con gran actividad antibacteriana. - - - - -

5.

Entre los numerosos antibióticos conocidos hasta el presente, este nuevo antibiótico del grupo de la eritromicina presenta propiedades más ventajosas que el antibiótico matriz, es decir la eritromicina A, como uno de los pocos numerosos derivados, basado en el carbonato cíclico de eritromicina A - siendo probablemente un 9,11 carbonato obtenido por modificación química de la aglicona de eritromicina A, a partir de una reacción de un antibiótico de procedencia natural en presencia del carbonato de etileno. Tomado por vía bucal, este compuesto se caracteriza por una menor toxicidad y una mejor absorción, presenta una actividad dos veces superior a la actividad biológica de la eritromicina. El compuesto presenta un carácter básico con $pK'_a = 8,59$. La presencia en una molécula de dicho compuesto del grupo N,N-dimetilamínico en desoxiaminilo permite obtener diversos derivados, en particular diversos tipos de sales con ácidos. - - - - -

10.

15.

20.

Durante los ensayos efectuados, se han obtenido



tipos diversos de sales con ácidos inorgánicos, tales como por ejemplo, clorhidrato, yoduro, hidruro, ácidos alifáticos que contienen diversos grupos funcionales complementarios tales como por ejemplo lactato, L-glutaminato, laurilsulfato (H. Bojarska-Dahlig, W. Sławski, Roczniki Chem. 46, 2211/1972), ácidos aromáticos tales como diversos cina-
5. matos e hidrocina-
matos (H. Bojarska-Dahlig, T. Głabski, I. Dzięgielewska, Acta Polon. Pharm. - a aparecer). Todas estas sales guardan una gran actividad antibacteriana del
10. antibiótico matriz, pero se diferencian por el contrario por la toxicidad aguda (de valor LD₅₀) y la absorción, quedando en correlación por un factor aparente de división designado por la relación de concentraciones en el n-octanol y en agua en estado de equilibrio. - - - - -

15. Al realizar ensayos de estos compuestos, se han observado propiedades inesperadas, ventajosas desde el punto de vista farmacocinético y antibacteriano, para una sal desconocida hasta el presente de carbonato cíclico de eritromicina A con ácido L-asparagínico, que constituye uno de
20. los dos aminoácidos ácidos, es decir, el L-asparaginato de carbonato cíclico de eritromicina A. - - - - -

Se ha determinado la potencia biológica del L-asparaginato de carbonato cíclico de eritromicina A fabricado según la invención, según el método de placa cilíndrica,
25. utilizando una cepa de Bacillus pumilus 8241, y el resultado se cifra en 1185 u/mg, mientras que según British Pharmacopes 1968 la exigencia para la eritromicina implica



- una potencia superior a 920 u/mg, Standard 950 u/mg. La menor concentración inhibitoria del crecimiento (MIC) para unas cepas tales como, por ejemplo, Staphylococcus aureus 209, Salmonella thyphi 4, Proteus vulgaris 355, Escherichia coli 308, Escherichia coli 10536, Bacillus subtilis 6633, Bacillus subtilis 9524, Diplococcus pneumonise, Enterococcus, se revela del mismo orden que el del carbonato cíclico de eritromicina A. Conservando las cualidades antes mencionadas, el L-asparaginato de carbonato cíclico de eritromicina A presenta, con respecto al carbonato cíclico de eritromicina A, por tanto de mayor comparación con la eritromicina, un mejor poder de absorción, y el mismo, eventualmente una toxicidad inferior. Así, por ejemplo, unas dosis aplicadas por vía bucal a unos ratones, iguales en peso, de las dos preparaciones, tomando los porcentajes de carbonato cíclico de eritromicina A en el suero de sangre en los períodos sucesivos como 100%, se obtiene para el L-asparaginato de carbonato cíclico de eritromicina A convenientemente: después de 15 mn - 186%, después de 30 mn - 226%, después de 1 hora - 172%, después de 2 horas - 132%, después de 3 horas - 100%, después de 5 horas - 103%, después de 7 horas - 130%.

- Se obtiene conformación en el tejido pulmonar tomando el porcentaje de 100% en los períodos sucesivos después de la toma por vía bucal del carbonato cíclico propiamente dicho, para su L-asparaginato: después de 1 hora - 188%, después de 2 horas - 242%, después de 3 horas - 322%, después de 5 horas - 250%, después de 7 horas - 446%. - - -



- Después de haber dado a los ratones por vía bucal las mismas cantidades en peso de L-asparaginato de carbonato cíclico de eritromicina y de eritromicina, tomando los porcentajes de eritromicina en el suero de sangre en los períodos sucesivos como 100%, se obtiene convenientemente:
5. después de 15 mn - 156%, después de 30 mn - 430%, después de 1 hora - 477%, después de 2 horas - 212%, después de 3 horas - 170%, después de 5 horas - 103%, y para los mismos criterios en el tejido pulmonar: después de 1 hora - 1010%,
10. después de 2 horas - 973%, después de 3 horas - 1590%, después de 5 horas - 1300% y después de 7 horas - 514%. - - -

- La toxicidad aguda (LD_{50}) del carbonato cíclico de eritromicina A para los ratones blancos es igual a 4,05 g/kg, la de la eritromicina 2,58 g/kg, por el contrario el
15. L-asparaginato de carbonato cíclico de eritromicina A administrado a estos animales en dosis de 2,5 g/kg a 5 g/kg, no implican ningún efecto tóxico. - - - - -

- El factor aparente de división en el sistema n-oc
20. tanol-agua determinado para el L-asparaginato de carbonato cíclico de eritromicina A como relación de concentraciones convenientes en estado de equilibrio es igual a 109. - - -

- El procedimiento de fabricación del L-asparaginato de carbonato cíclico de eritromicina A según la invención, se realiza actuando sobre el carbonato cíclico de eritromicina A en cantidades estequiométricas de ácido L-asparagínico en un medio acuoso, o de una solución de agua y de
- 25.



solvente orgánico, a la temperatura ambiente hasta la ebullición de la mezcla de reacción, durante el período indispensable para obtener la solución. Obtenida esta solución, es sometida seguidamente a liofilización o a evaporación del solvente orgánico y del agua, después de lo cual, eventualmente, el agua es eliminada en forma de una mezcla azeotrópica con dos o tres componentes, adicionando si es necesario un agente azeotropante. - - - - -

Este compuesto forma un monohidrato de fórmula
10. bruta $C_{42}H_{72}N_2O_{18} \cdot H_2O$ en forma de una substancia incolora soluble en agua. El espectro IR (KBr) en la gama de 1100 a 1900 cm^{-1} presenta unas bandas características para las cifras de onda siguientes: 1180, 1250, 1395, 1475, 1630, 1750 y 1820 cm^{-1} . El espectro NMR (deuterio-metanol diluido) demuestra para la gama de 1δ a 3δ unas señales netas para
15. $\delta = 2,86/s$, 6H - $N(CH_3)_2$; $\delta = 1,61$; $\delta = 1,25$. - - - - -

A continuación, algunos ejemplos ilustran el procedimiento de obtención de este compuesto. - - - - -

EJEMPLO I

20. Se adicionan a 3,8 g de carbonato cíclico de eritromicina A disueltos en 10 ml de acetona hirviente una solución de 0,665 g de ácido L-asparagínico en 50 ml de agua, calentando hasta disolución. A continuación la acetona es destilada bajo presión reducida, y el residuo obtenido es sometido a
25. liofilización, obteniendo un monohidrato de L-asparaginato



de carbonato cíclico de eritromicina A con temperatura de fusión de 131 a 142°C para un rendimiento teórico, según el análisis elemental de la fórmula $C_{42}H_{72}N_{20}O_{18} \cdot H_2O$, el cálculo da: C 55,38%; H 8,19%; N 3,07%; O 33,38%. Se ha hallado: 5. C 55,57%; H 8,24%; N 2,62% y O 33,40%. - - - - -

EJEMPLO II

Se adicionan a 3,8 g de carbonato cíclico de eritromicina A disueltos en 40 ml de etanol de 96%, una solución de 0,665 g de ácido L-asparagínico en 40 ml de agua, mezclando hasta disolución. Después de evaporación bajo presión reducida de la mayor parte de los solventes, se adiciona a la mezcla después de reacción del etanol anhidro en el cual se ha destilado el resto de agua. Se ha obtenido un producto idéntico al del ejemplo I. El secado prolongado bajo presión reducida da un producto anhidro. 10. - - - - -
15. - - - - -

EJEMPLO III

Se adicionan a 3,8 g de carbonato cíclico de eritromicina A disueltos en 10 ml de acetona hirviente una solución de 0,665 g de ácido L-asparagínico en 20 ml de agua caliente, después la mezcla es calentada hasta la obtención de una solución clara. Después de la eliminación de los solventes bajo presión reducida, se adiciona benceno y se destila el resto de agua. 20. - - - - -

EJEMPLO IV

Se vierten en 3,8 g de carbonato cíclico de eritromicina A 25.



5. disueltos en 10 ml de etanol del 96%, 0,665 g de ácido L-asparagínico, calentando hasta ebullición y se adiciona agua gradualmente hasta obtención de una solución. Seguidamente se adiciona a la mezcla de reacción benceno y se evaporan los solventes bajo presión reducida. - - - - -

EJEMPLO V

10. Se adiciona una suspensión de 3,8 g de carbonato cíclico de eritromicina A en 50 ml de agua, una solución de 0,665 g de ácido L-asparagínico en 25 ml de agua caliente. Se calienta la mezcla hasta obtención de una solución clara, después de lo cual es enfriada y sometida a liofilización. - - - - -

N O T A

Se declaran de novedad y propiedad para España, sus territorios y plazas de soberanía, las siguientes: - -

15. R E I V I N D I C A C I O N E S

20. 1.- Procedimiento de obtención de L-asparaginato de carbonato cíclico de eritromicina A, caracterizado porque se actúa sobre el carbonato cíclico de eritromicina A con ácido L-asparagínico en un medio acuoso o una mezcla de agua y solventes orgánicos, se mezcla, eventualmente se calienta, hasta el momento de la obtención de una solución, después la solución obtenida del producto, después de eliminación eventual del solvente, es sometida a liofilización,



o sea que se evaporan el solvente y el agua, eliminando el resto del agua en forma de una mezcla azeotrópica. - - -

5. 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque se actúa sobre el carbonato cíclico de eritromicina A en cantidad estequiométrica de ácido L-asparagínico. - - - - -

3.- "PROCEDIMIENTO DE OBTENCION DE L-ASPARAGINATO DE CARBONATO CICLICO DE ERITROMICINA A". - - - - -

10. Todo ello conforme se describe y reivindica en la presente memoria que consta de nueve hojas, foliadas y mecanografiadas por una sola de sus caras.

BARCELONA, 27 JUL. 1974

P. A. M. CURELL SUÑOL

maf.