



PATENTE DE INVENCION

Int. Cl.ª: CO7F/A61K

MEMORIA DESCRIPTIVA

-----

sobre:

"METODO PARA LA PREPARACION DE ANTIBIOTICOS HIDROXILADOS"

=====

Solicitante: ARCHIFAR Industrie Chimiche  
del Trentino S.p.A.,  
entidad italiana, establecida en  
ROVERETO, Trento (Italia),  
Via dei Colli 9.

-----

Prioridad: Solicitud de Patente Nº 22877 A/74,  
depositada en Italia  
en 17 de Mayo de 1974.

-----



La presente invención se refiere a un método para la preparación de antibióticos hidroxilados, y particularmente para la preparación en una sola etapa de D(-)-alfa-amino-p-hidroxi-bencil-penicilina, comúnmente denominada amoxicilina, directamente a partir de penicilinas naturales, preferentemente bencil penicilina y fenoximetil penicilina, o de líquidos orgánicos de extracción de los caldos de fermentación de las mismas. Es conocido, según la Patente alemana Nº 1.139.844, preparar D(-)-alfa-amino-p-hidroxibencil penicilina haciendo reaccionar ácido 6-amino-penicilánico con un derivado de p-hidroxifenil glicina, en el que el grupo carboxilo es activado y el grupo amino es protegido, y extrayendo luego el grupo protector del producto obtenido mediante hidrogenación catalítica.

Más recientemente se han descrito, en relación con la Patente alemana Nº 1.942.693, varios derivados de p-hidroxifenil glicina, los cuales proporcionan, mediante tratamiento con ácido 6-amino-penicilánico, comúnmente denominado 6-APA, y subsiguiente extracción de los grupos protectores, D(-)-alfa-amino-hidroxibencil penicilina.

En ambos casos, el producto de partida es ácido 6-amino-penicilánico, el cual se obtiene, a su vez, a partir de penicilinas naturales mediante una diacetilación química o microbiológica.

Los procedimientos según las Patentes arriba mencionadas Nº 1.942.693 y Nº 1.139.844 adolecen del inconveniente fundamental de ser costosos y complicados debido a que no parten directamente de las penicilinas naturales, requiriendo



por tanto esencialmente dos reacciones sucesivas en las que se aísla primeramente 6-APA y luego D(-)-alfa-amino-p-hidroxifenil glicina, resultando con ello también afectados los rendimientos.

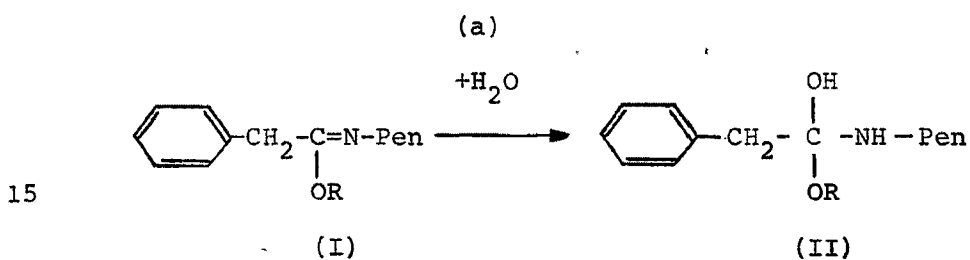
5        La finalidad primordial de la presente invención consiste en proporcionar un método para la preparación de D(-)-alfa-amino-p-hidroxibencil penicilina en una sola etapa, directamente a partir de penicilinas naturales, o casi directamente a partir de los líquidos orgánicos de extrac-  
10        ción de los caldos de fermentación, y que pueda realizarse de manera rápida y poco costosa.

      Esta y otras finalidades de la presente invención se logran mediante un método para la preparación de D(-)-alfa-amino-p-hidroxibencil penicilina directamente a partir de  
15        penicilinas naturales, preferentemente bencil penicilina y fenoximetil penicilina, o de caldos de fermentación de las mismas, en el que la penicilina natural se esterifica con un alquil clorosilano en presencia de un disolvente  
20        clorado y una base terciaria, y se convierte en el imino-cloruro correspondiente mediante adición de un agente clo-  
      rante y luego en el iminoéter mediante tratamiento con un alcohol primario que contenga 1-4 átomos de carbono, caracterizándose dicho método porque el citado iminoéter se hace reaccionar a una temperatura comprendida entre -30°C y 0°C  
25        con una cantidad equimolar de agua para proporcionar un imidato, el cual, si se hace reaccionar inmediatamente con un anhídrido mezclado de ácido D(-)N(1-metil-2-carbetoxi-  
      vinil)-alfa-amino-alfa-(p-hidroxifenil)acético y ácido

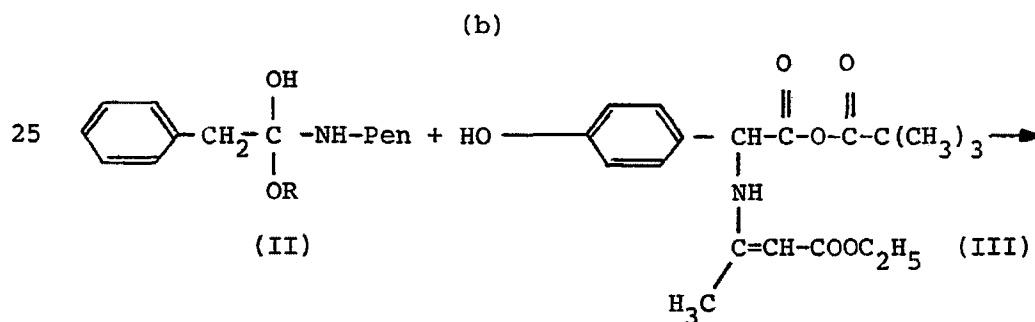


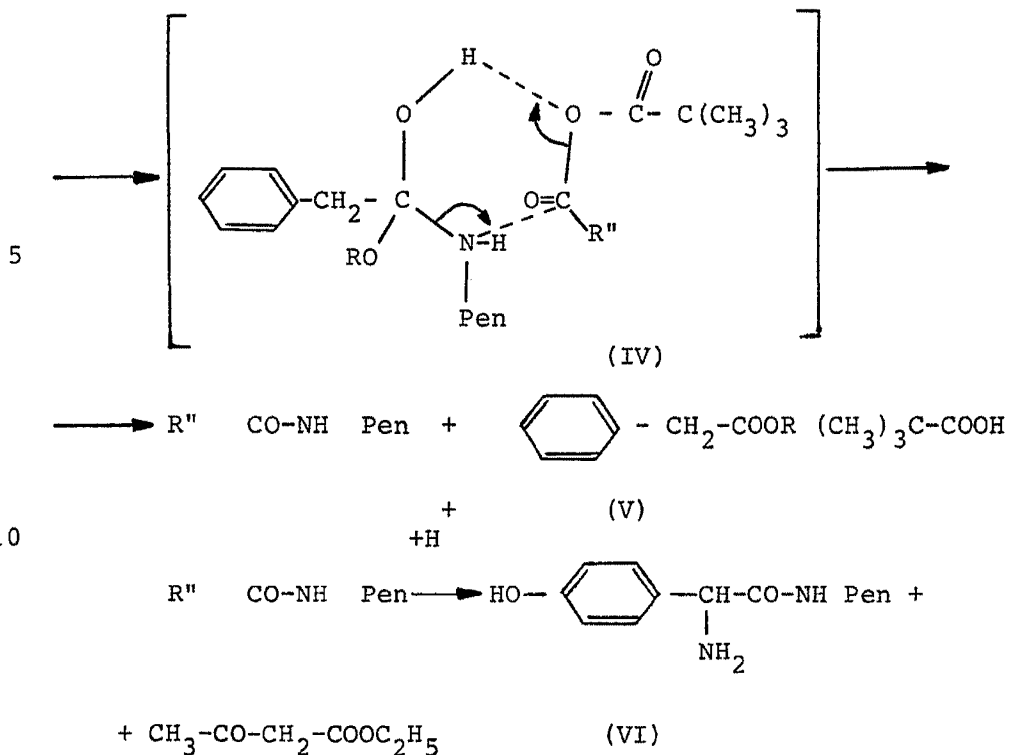
piválico, a un pH comprendido entre aproximadamente 6,5 y aproximadamente 9, proporciona un compuesto inestable altamente reactivo que se convierte instantáneamente en amoxicilina con el grupo amino protegido, hidrolizándose luego la amoxicilina con ácidos minerales diluidos a un pH de 1-3 y a una temperatura comprendida entre aproximadamente -5°C y +5°C, y precipitándose finalmente convirtiendo el pH en aproximadamente 4,5 - 5,5.

La reacción entre el iminoéter (I) y la cantidad equimolar de agua da lugar a la formación de un imidato (II) según el siguiente esquema:



La reacción entre el imidato (II) y el anhídrido mezclado (III), destinada a proporcionar el compuesto inestable altamente reactivo (IV), a formar la amoxicilina con grupo amino protegido (V) y a convertir luego esta última en amoxicilina (VI) después de la hidrólisis, se efectúa según el siguiente esquema:

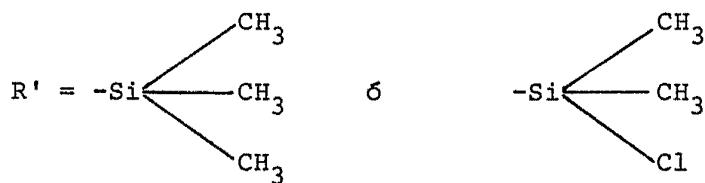
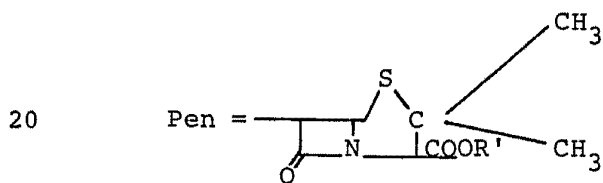


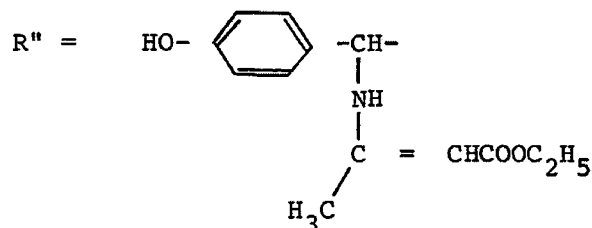


15 En las reacciones arriba expuestas significan:

(c)

$R = \text{CH}_3; \text{C}_2\text{H}_5; \text{C}_3\text{H}_7; \text{C}_4\text{H}_9$





5 La clave del método según la presente invención, mediante el cual es posible obtener amoxicilina a partir de penicilinas naturales o directamente de los líquidos orgánicos de extracción de los caldos de fermentación, consiste en la reacción entre el anhídrido mezclado y el  
10 imidato, debiéndose efectuar esta reacción en presencia de cantidades casi equimolares de agua, a fin de que el imidato no hidrolíce en absoluto a 6-APA.

En efecto, debe tenerse en cuenta que si se formase 6-APA, este compuesto no reaccionaría bajo las condiciones  
15 de reacción del método según la invención,

La cantidad equimolar de agua proporciona conjuntamente con el imidato una forma activa que reacciona rápidamente y con elevados rendimientos con dicho anhídrido mezclado.

Para una mejor comprensión de las características del  
20 método según la presente invención se describen a continuación algunas formas de realización del mismo, a título de ejemplo no limitativo.

#### EJEMPLO 1

Con 37 g de penicilina potásica G se formó una suspen-  
25 sión en 400 ml de cloroformo a temperatura ambiente. También a temperatura ambiente se añadieron a la suspensión 43 g de N,N-dimetilanilina y 20 g de dimetildiclorosilano y la solución se agitó durante 1 hora. La masa se enfrió a



-35°C y luego se le añadieron 21,2 g de  $\text{PCl}_5$ . Después de 3 horas de reacción, la temperatura se disminuyó a -45°C, añadiéndose luego una mezcla constituida por 50 ml de n-BuOH y 100 ml de acetona. Manteniéndose la masa a -45°C se la agitó durante 2 horas más. Luego se añadió una mezcla de 60 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  y 200 ml de acetona. La temperatura se elevó a -20°C y el pH a 8 mediante la adición de trietilamina, manteniéndose el pH y la temperatura mencionados a los niveles arriba citados durante 30 minutos, añadiéndose luego una mezcla preparada independientemente y constituida por:

Acetona	300 ml
D(-)N(1-metil-2-carbetoxi- vinil-alfa-amino-alfa (p-hidroxifenil)potasio acetato	37,4 g
Cloruro de pivaloilo	14,6 g

La reacción se mantuvo a -20°C durante 2 horas y el pH a 7,2. Luego se efectuó la hidrólisis con 10 % HCl para extraer el grupo protector sobre  $\text{NH}_2$ . Se extrajo la fase orgánica, se lavó la fase acuosa con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y luego se la transformó a un valor pH 5 con NaOH concentrado. La masa se agitó a 0°C durante 12 horas, luego se filtró y el sólido resultante se lavó con  $\text{H}_2\text{O}$  y acetona y se secó bajo vacío. Se formó un precipitado de amoxicilina trihidratada. Se obtuvieron 35,2 g de producto. El título espectrofotométrico de la base anhidra era de 98 %.

Agua (K.F.) 13,7 %

#### EJEMPLO 2

Con 37 g de penicilina potásica G se formó una suspensión en 400 ml de  $\text{CHCl}_3$  a temperatura ambiente. Todavía



a temperatura ambiente se añadieron 43 g de N,N-dimetil-anilina y 20 g de dimetildiclorosilano y la solución se agitó durante 1 hora. La masa de la reacción se enfrió a  $-35^{\circ}\text{C}$  y se le añadieron 21,2 g de  $\text{PCl}_5$ .

5 Después de 3 horas de reacción se redujo la temperatura a  $-45^{\circ}\text{C}$  y se añadieron a la masa 100 ml de n-BuOH. La reacción se prolongó durante 2 1/2 horas a  $-40^{\circ}\text{C}$ . Luego se añadió una mezcla de 30 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  y 50 ml de acetona. La temperatura se mantuvo a  $-20^{\circ}\text{C}$  y el pH se elevó a 8,5  
10 mediante la adición de trietilamina. En estas condiciones se prosiguió la reacción durante 1 hora, añadiéndose luego una mezcla preparada independientemente y constituida por:

	Acetona	300 ml
15	D(-)-N-(1-metil-2-carbetoxivinil)- alfa-amino-alfa-(p-hidroxifenil)potasio acetato	37,4 g
	Cloruro de pivaloilo	14,6 g

La masa se hizo reaccionar a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 1 hora y el pH se mantuvo a 8. El grupo N-(metil-carbetoxivinil) se hidrolizó entonces mediante adición lenta de 10 % HCl.  
20 Luego se extrajo la fase orgánica y se transformó la fase acuosa a un pH 4,8 con  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Se formó un precipitado de amoxicilina trihidratada que se mantuvo bajo agitación durante algunas horas a  $0^{\circ}\text{C}$ . Finalmente, el producto se recogió mediante filtrado, se lavó con  $\text{H}_2\text{O}$  y una pequeña  
25 cantidad de acetona y luego se secó bajo vacío a  $40^{\circ}\text{C}$ . Se obtuvieron 33 g de amoxicilina trihidratada.

Título espectrofotométrico sobre base anhidra 97,2 %



Agua (K.F.)

14,1 %

EJEMPLO 3

Con 37 g de penicilina potásica G se formó una suspensión en 400 ml de cloroformo a temperatura ambiente. Todavía a temperatura ambiente se añadieron 43 g de N,N-dimetilanilina y 20 g de dimetildiclorosilano y la solución se agitó durante una hora. La masa se enfrió a -35°C y se le añadieron 21,2 g de PCl<sub>5</sub>. Después de 3 horas de reacción, la temperatura se redujo a -45°C, añadiéndose luego 130 ml de n-BuOH y haciéndose reaccionar la mezcla durante 3 horas a -40°C. Entonces se añadió una mezcla de 40 ml de H<sub>2</sub>O y 100 ml de acetona. La temperatura se mantuvo a -20°C y el pH se elevó a 8,5 mediante la adición de trietilamina. La masa se hizo reaccionar durante 1 hora a un pH 8,5 y a -20°C, añadiéndose luego una mezcla preparada independientemente y constituida por:

Acetona	300 ml
D(-)N(1-metil-2-carbetoxivinil)-alfa-amino-alfa-(p-hidroxifenil)potasio acetato	37,4 g
Cloruro de pivaloilo	14,6 g

La masa se hizo reaccionar a -20°C durante 1 1/2 horas, y luego se efectuó la hidrólisis a un pH 2 constante con 10 % HCl. La fase orgánica se extrajo y la fase acuosa se transformó a un pH 4,8 con NaOH (1 : 1). Así se formó un precipitado de amoxicilina trihidratada. El producto se mantuvo bajo agitación durante 5-6 horas a 0°C, luego se filtró, se lavó intensamente con H<sub>2</sub>O y se secó bajo vacío



a 40°C. De esta manera se obtuvieron 31,3 g de amoxicilina trihidratada.

Título espectrofotométrico sobre base anhidra	98 %
Agua (K.F.)	13,5 %

5 EJEMPLO 4

Con 37 g de penicilina potásica G se formó una suspensión en 400 ml de  $\text{CHCl}_3$  a temperatura ambiente. Todavía a temperatura ambiente se añadieron 43 g de N,N-dimetil-anilina y 20 g de dimetildiclorosilano y la solución se  
10 agitó durante 1 hora. La masa se enfrió a -35°C y se le añadieron 21,2 g de  $\text{PCl}_5$ .

Después de 3 1/2 horas de reacción se enfrió la masa a -45°C y se le añadió una mezcla constituida por 50 ml de n-BuOH y 100 ml de acetona. Todavía a -45°C,  
15 la masa se agitó durante otras 2 horas más, y luego se le añadió una mezcla de 60 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  y 200 ml de acetona. La temperatura se elevó luego a -20°C y el pH a 8 mediante la adición de trietilamina. El producto se mantuvo a este pH y a esta temperatura durante 30 minutos, añadiéndosele  
20 luego una mezcla preparada independientemente y constituida por:

Acetona	300 ml
D(-)N(1-metil-2-carbetoxivinil)-alfa-amino-alfa(p-hidroxifenil)potasio acetato	37,4 g
25 Cloruro de pivaloilo	14,6 g

La masa se mantuvo bajo agitación durante toda la noche a -20°C con un pH variable entre 7,2 y 7,5. Luego se



efectuó la hidrólisis mediante lenta adición de 10 % HCl. La fase orgánica se extrajo y la fase acuosa se lavó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y se transformó a un pH 5 con NaOH (1 : 1). Se formó un precipitado de amoxicilina trihidratada, el cual, después de 5-6 horas de agitación a  $0^\circ\text{C}$ , se filtró, se lavó intensamente con  $\text{H}_2\text{O}$  y acetona y se secó bajo vacío a  $40^\circ\text{C}$ . Se obtuvieron 32,5 g de amoxicilina trihidratada.

Título espectrofotométrico sobre base anhidra 98,3 %

Agua (K.F.) 13,9 %

10 EJEMPLO 5

46,4 g de sal potásica de fenoximetil penicilina se hicieron reaccionar según el procedimiento descrito en el ejemplo 4 precedente, obteniéndose amoxicilina trihidratada con un rendimiento de 75 %.

15 EJEMPLO 6

El producto de partida era un caldo de fermentación empleando como microorganismo una mutación de *Penicillium Chrysogenum*. El lecho de fermentación comprendía básicamente melazas, solución de maíz macerado, ácido fenil acético que se fue añadiendo durante el curso de la fermentación, sales minerales y agente antiespumante. La fermentación duró aproximadamente 140 horas a  $25^\circ\text{C}$ . La capacidad de cosecha era de aproximadamente 15 mg/ml. El caldo se filtró sobre celite y después de acidificación del mismo se sometió primeramente a una extracción con clorofomo y luego, para la separación de impurezas adicionales, a otra extracción con agua tamponada a aproximadamente un pH 7 y finalmente otra vez con cloroformo después de su acidificación.



De esta manera se obtuvo una solución clorofórmica con una concentración de bencil penicilina de aproximadamente 100 g/litro. La solución se anhidrificó con sulfato sódico y el procedimiento se realizó igual que en el ejemplo 1.

5 El rendimiento total de la conversión de bencil penicilina del caldo de fermentación a amoxicilina fue de aproximadamente 70 %.

#### N O T A

Descrita suficientemente la naturaleza del invento,  
10 así como la manera de ponerlo en práctica, se hace constatar que todo cuanto no altere, cambie o modifique su principio fundamental, puede quedar sometido a variaciones de detalle. También se hace constar que esta invención corresponde a la descrita en la Solicitud de Patente Nº 22877 A/74,  
15 depositada en Italia en 17 de Mayo de 1974, cuya prioridad se reivindica de acuerdo con los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo esencial y por lo que se solicita Patente de Invención, por veinte años, lo que queda resumido en las siguientes reivindicaciones:

20 1<sup>a</sup>.- Método para la preparación de antibióticos hidroxilados, y particularmente para la preparación directa de D(-)-alfa-amino-p-hidroxibencil penicilina a partir de penicilinas naturales, preferentemente bencil penicilina y fenoximetil penicilina, o de caldos de fermentación de  
25 las mismas, en el que la penicilina natural se esterifica con un alquil clorosilano en presencia de un disolvente clorado y una base terciaria, y se convierte en el iminocloruro correspondiente mediante adición de un agente clo-





rante y luego en el iminoéter mediante tratamiento con un alcohol primario que contenga 1 a 4 átomos de carbono, caracterizado porque el citado iminoéter se hace reaccionar a una temperatura comprendida entre  $-30^{\circ}\text{C}$  y  $0^{\circ}\text{C}$  con una

5 cantidad equimolar de agua para proporcionar un imidato, el cual se hace reaccionar inmediatamente con un anhídrido mezclado de ácido D(-)-N-(1-metil-2-carbetoxivinil)-alfa-amino-alfa-(p-hidroxifenil)acético y ácido piválico, preparado independientemente en acetona, a un pH comprendido

10 entre aproximadamente 6,5 y aproximadamente 9, proporcionando un compuesto inestable altamente reactivo que se convierte instantáneamente en amoxicilina con su grupo amino protegido, hidrolizándose luego la amoxicilina con ácidos minerales diluidos a un pH de 1-3 y a una temperatura comprendida entre aproximadamente  $-5^{\circ}\text{C}$  y  $+5^{\circ}\text{C}$  y precipitándose finalmente convirtiendo el pH en aproximadamente 4,5 a 5,5.

2<sup>a</sup>.- Método según la reivindicación 1<sup>a</sup>, caracterizado porque dicho disolvente clorado se selecciona de cloroformo y cloruro de metileno.

20 3<sup>a</sup>.- Método según la reivindicación 2<sup>a</sup>, caracterizado porque el agente clorante es  $\text{PCl}_5$ .

4<sup>a</sup>.- Método según la reivindicación 3<sup>a</sup>, caracterizado porque la base terciaria se selecciona de N,N-dimetilanilina y quinolina.

25 5<sup>a</sup>.- Método según la reivindicación 4<sup>a</sup>, caracterizado porque el alcohol utilizado es un alcohol primario con 1-4 átomos de carbono.

6<sup>a</sup>.- METODO PARA LA PREPARACION DE ANTIBIOTICOS





HIDROXILADOS,

tal y como queda descrito y reivindicado en la presente memoria que consta de catorce hojas mecanografiadas por una sola cara.

BARCELONA, 12 de Noviembre de 1974.

ARCHIFAR Industrie Chimiche  
del Trentino S.p.A.  
P.P.

J. GOMEZ ACEBO Y MODEJ  
p. p. Fac. E. Ferruciole Galón