

Int. Cl. C 12D

439336

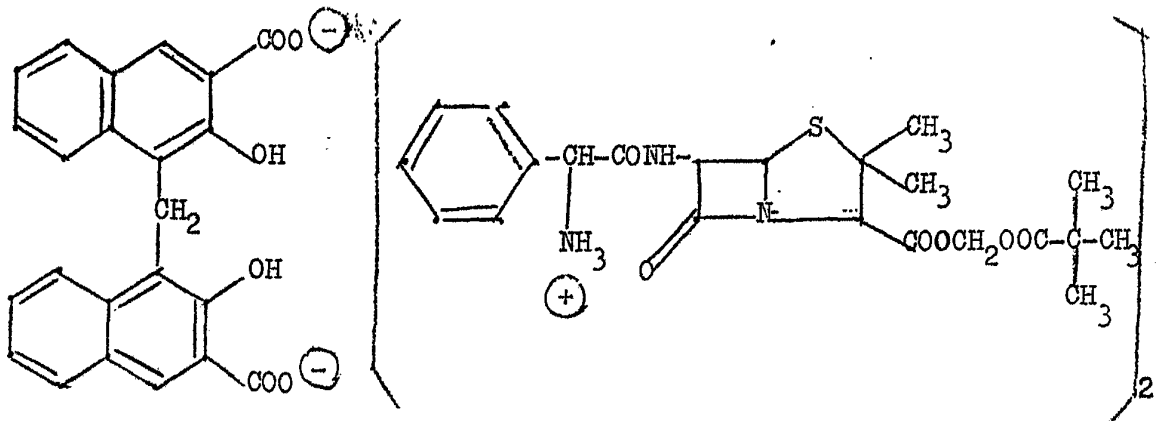
P A T E N T E
D E
I N V E N C I O N

por "PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE PAMOATO DE PIVAM
PICILINA", a favor de la firma española ANTONIO GALLARDO,
S.A., domiciliada en BARCELONA, calle Cardener, núms. 68-74.

= . =

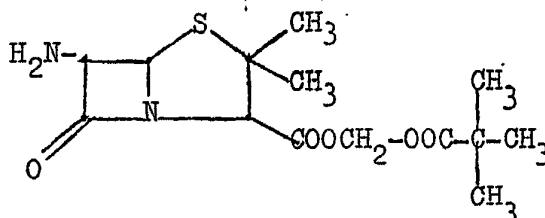
MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente patente de invención se refiere a un nuevo procedimiento para la preparación de una sal insoluble en agua denominada pamoato de pivampicilina, de fórmula:



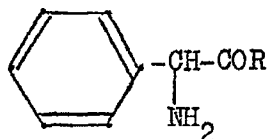
El procedimiento a que se refiere la presente invención utiliza como materia prima el éster pivaloil-oximetílico del ácido 6-amino-penicilánico de fórmula

5.



10. el cual se condensa a través de un proceso enzimático con un derivado del ácido D-alfa-amino-fenil-acético de estructura :

15.



20.

donde R es un grupo amino, metoxi ó etoxi. De esta forma se obtiene la pivampicilina la cual se salifica en forma de clorhidrato con pamoato disódico ó dipotásico dando el pamoato de pivampicilina.

25.

La reacción de acilación del ester pivaloil-oximetílico del ácido 6-amino-penicilánico se efectua en presencia de la bacteria *Flavobacterium* ATCC 21429 (American Type Culture Collection nº 21429) ó de sus preparaciones enzimáticas que son específicas para la formación del ester pivaloil-oximetílico del ácido 6-[D(-)-alfa-amino-fenilacetamido] penicilánico.

El cultivo de la bacteria *Flavobacterium* ATCC 21429 para la obtención del caldo de cultivo apropiado, se

efectúa en condiciones de agitación.

Para lograr resultados óptimos el caldo de cultivo ha de contener sustancias como extracto de carne, extracto de soja, peptona, licor de maceración de maíz, extracto de levadura, sales de amonio, azúcares e hidrolizados de proteína de soja. El pH del medio de cultivo debe estar entre los valores de 4,5 y 7,5 mientras que la temperatura de incubación varía entre 25 y 37° C.

El caldo de cultivo obtenido de esta forma ó sus preparaciones enzimáticas, se utilizan para efectuar la reacción entre el éster pivaloil-oxi-metílico del ácido 6-amino-penicilánico y un derivado del ácido alfa-amino-fenil-acético. La reacción se efectúa en disolución acuosa si bien se puede añadir un poco de alcohol para facilitar la disolución del éster pivaloil-oxi-metílico del ácido 6-amino-penicilánico con el consiguiente aumento de rendimiento. El pH del medio de reacción oscila entre los límites 4,5 y 7,5 y la temperatura se mantiene entre los límites de 10 y 45°C.

La concentración del ester pivaloil-oxi-metílico del ácido 6-aminopenicilánico varía entre 0,1 y 5% siendo conveniente su utilización en forma de sal con ácido p-toluen-sulfónico. El ácido D-alfa-amino-fenil-acético en forma libre no es conveniente usarlo ya que en este caso el rendimiento es bajo y por ello es preferible utilizar la amida, éster etílico o éster metílico. También se utiliza un exceso de 2 a 15 moles de este derivado del ácido D-alfa-amino-fenil-acético respecto al éster del ácido 6-amino-penicilánico para que el rendimiento sea óptimo.

Una vez completada la reacción enzimática se diluye la mezcla de reacción con tetrahidro-furano y se centrifuga para separar las células y proteínas insolubles.

5. La disolución obtenida se somete a una purificación a través de una resina de intercambio iónico de características ácida débil con lo que en principio quedan retenidos el producto final y los productos de partida, eliminándose las demás impurezas. Por elución posterior con ácido clorhídrico diluido y fraccionamiento, se obtiene una
10. disolución de clorhidrato de pivampicilina. Después de neutralizar el exceso de acidez se añade una disolución de pamoato disódico en número de moles mitad a los de pivampicilina con lo que precipita el pamoato de pivampicilina.

15. A continuación se describe un ejemplo ilustrativo :

EJEMPLO

20. 200 ml. de medio de cultivo conteniendo 5 % de extracto de aceite de soja 0,08 % de extracto de carne, 0,1 % de extracto de levadura, 0,5% de extracto de maceración de maíz, 2% de glucosa, 0,35 % de cloruro potásico, 0,45 % de sulfato amónico y 0,02 % de fosfato dipotásico, se inoculan con *Flavobacterium* ATCC-21429 y se pone a 27° con agitación durante 48 horas. El caldo de cultivo obtenido se centrifuga y se recogen las células, las cuales se
25. suspenden en 50 ml. de agua destilada. Esta suspensión se añade a una mezcla de 9,6 gr de clorhidrato de D-alfa-amino-fenil-acetato de metilo, 11,4 gr de p-toluen-sulfonato del éster pivaloil-oxi-metílico del ácido 6-amino penicilánico en 350 ml. de agua. Se ajusta el pH a 6,6 y se efec

tua la reacción enzimática a 37° C, durante 60 minutos al cabo de los cuales, se diluye con tetrahidrofurano y se centrifuga. La disolución obtenida se pasa a través de una columna con resina de intercambio iónico Amberlita IRC-50.

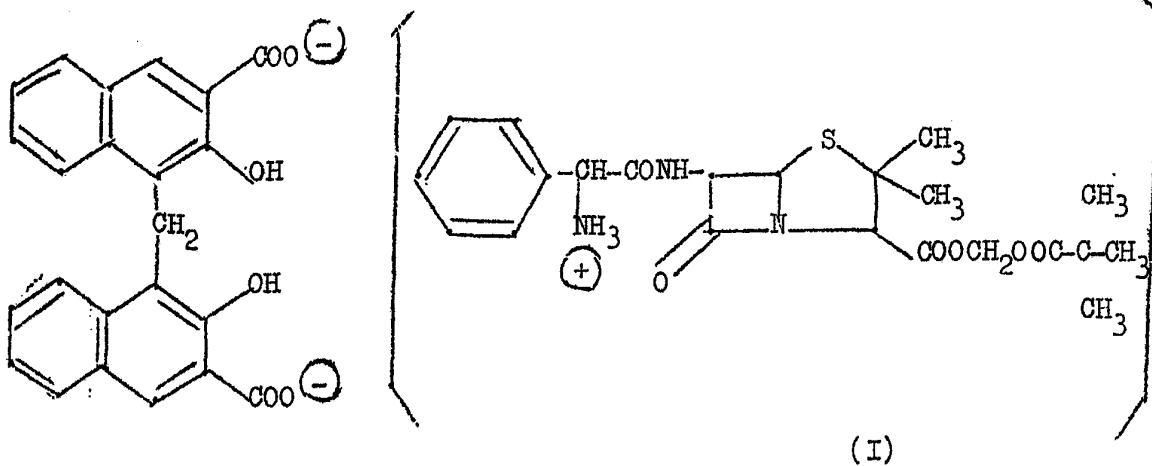
5. Después se eluye con ácido clorhídrico diluido y se obtiene una disolución ácida que contiene 5,5 gr. de Pivampicilina. Se neutraliza el exceso de ácido clorhídrico y se añade una disolución de 2,57 gr. de pamoato disódico en agua. Precipita el pamoato de pivampicilina que se recoge por filtración, se lava con agua y se seca obteniéndose: 7,5 gr. P. de fusión: 165-8° C (d).
- 10.

N O T A

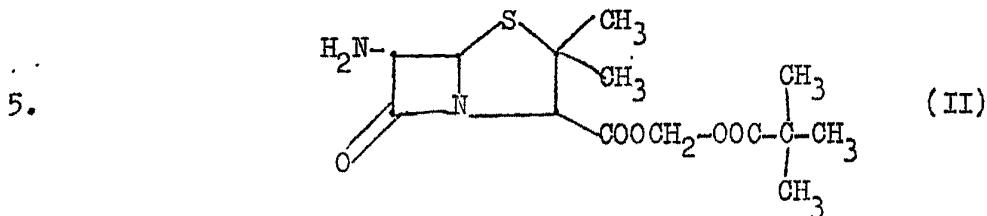
Descrito el objeto del presente invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones :

- 15.

1.- Procedimiento para la preparación de pamoato de pivampicilina de fórmula

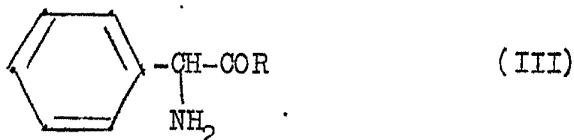


caracterizado porque se hace reaccionar el éster pivaloiloximetílico del ácido 6-amino-penicilánico de fórmula



con un derivado del ácido D-alfa-amino-fenil-acético de fórmula :

10.



15. siendo R un grupo amino, etoxi ó metoxi, cuya reacción se verifica en presencia de la bacteria *Flavobacterium* ATCC - 21429 ó de sus preparaciones enzimáticas dando lugar a la pivampicilina clorhidrato que por reacción con pamoato disódico proporciona el producto de fórmula I.

20. 2.- Procedimiento según la reivindicación 1 caracterizado porque en su realización el derivado del ácido D-alfa-amino-fenil-acético de fórmula III, y el éster de fórmula II se usan en forma de sales de adición, preferentemente, como clorhidrato, p-toluen-sulfonato, sulfato, fosfato.

25. 3.- Procedimiento según la reivindicación 1 y 2, caracterizado en su realización porque la reacción enzimática se efectúa a una temperatura comprendida entre 10 y 45° C y a un valor de pH de 4,5 a 7,5.

4.- Procedimiento según las reivindicaciones 1

a 3 caracterizado porque la reacción enzimática se completa con una purificación a través de una resina ácida débil y formándose la pivampicilina en forma de clorhidrato,

5. 5.- Procedimiento para la preparación de pamoato de pivampicilina.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 7 hojas foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

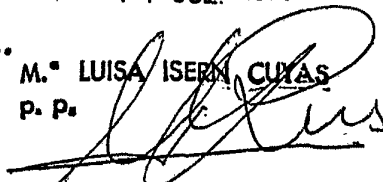
Madrid, a 11 JUL. 1975

10.

p.a.

M.ª LUISA ISERN CUIAS

P. P.



Firmado: JOSE L. MORA

MLA.