



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 282 448**

51 Int. Cl.:  
**C07C 319/28** (2006.01)  
**C07C 323/59** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02758720 .3**  
86 Fecha de presentación : **23.08.2002**  
87 Número de publicación de la solicitud: **1423360**  
87 Fecha de publicación de la solicitud: **02.06.2004**

54 Título: **Procedimiento para la preparación de cilastatina.**

30 Prioridad: **24.08.2001 IN DE08792001**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.10.2007**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.10.2007**

73 Titular/es: **RANBAXY LABORATORIES, Ltd.**  
**Plot nº 90, Sector - 32**  
**Gurgaon 122 001 HR, IN**

72 Inventor/es: **Kumar, Yatendra;**  
**Tyagi, Om, Dutt;**  
**Srivastava, Tushar, Kumar, c/o Narendra, Kumar y**  
**Pandey, Anand**

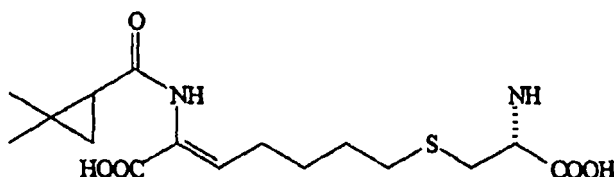
74 Agente: **Durán Moya, Luis Alfonso**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

### Procedimiento para la preparación de cilastatina.

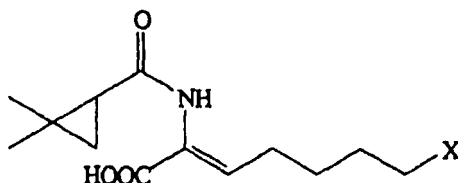
La presente invención se refiere a un proceso eficiente e industrialmente ventajoso para la preparación de cilastatina pura.

La cilastatina posee la capacidad de prevenir la nefrotoxicidad asociada con la utilización de antibióticos  $\beta$ -lactámicos, tales como el imipenem. Químicamente, la cilastatina es el ácido [R-{R\*,S-(Z)}]-7-[(2-amino-2-carboxietil) tio]-2-[[2,2-dimetilciclopropil)carbonil]amino-2-heptenoico y tiene la Fórmula estructural I.



Es un inhibidor de la deshidropeptidasa renal y se coadministra con el imipenem como sal sódica a efectos de prevenir su metabolismo renal. La combinación de imipenem/cilastatina se utiliza como potente agente antibacteriano de amplio espectro.

La cilastatina se dio a conocer por primera vez en la patente U.S.A. No. 5.147.868 y se obtuvo en una síntesis multietapa que implicaba la condensación del clorhidrato de cisteína con el ácido heptenoico de Fórmula II,



en la que X es cloro o bromo, en presencia de hidróxido sódico en medio acuoso. La cilastatina obtenida de este modo contiene el correspondiente isómero-E no deseado en cantidades que oscilan del 6 al 10%, aproximadamente, según se determina por HPLC. También se da a conocer un proceso para la isomerización del isómero-E a cilastatina, calentando la mezcla a pH 3. Sin embargo, los presentes inventores han observado que el proceso de isomerización da lugar a la formación de impurezas dentro del intervalo del 5-8%, debido a la degradación de la cilastatina, que hace al producto fabricado por este proceso inadecuado para el consumo humano.

La patente U.S.A. No. 5.147.868 describe también un método para aislar la cilastatina de la mezcla de reacción, que implica dos purificaciones, en concreto, cromatografía que utiliza una resina de intercambio catiónico, seguida de la purificación por disolventes utilizando etanol y el éter dietílico. La cromatografía de intercambio iónico extrae las sales inorgánicas, tales como el cloruro sódico, que de otra manera son difíciles de eliminar, ya que la propia cilastatina es también soluble en agua.

Sin embargo, las tentativas de los presentes inventores para aislar la cilastatina pura, siguiendo el proceso ejemplificado en dicha patente, fueron insatisfactorias. Se pudo obtener la cilastatina en la forma de su sal amónica a partir de la elución de la resina del intercambio catiónico con una solución de amoníaco, y no como el ácido libre. La obtención del ácido libre utilizando un ácido, tal como ácido clorhídrico, conllevó la formación de sales de amonio inorgánicas, tales como cloruro de amonio, invalidando de este modo el propósito mismo de utilizar una resina de intercambio catiónico.

Se da a conocer en J. Med. Chem. 1987; 30: 1083 un proceso para la preparación de la cilastatina que implica la condensación de cisteína con el ácido haloheptenoico de Fórmula II en sodio metálico/amoníaco líquido y la mezcla resultante se isomeriza para obtener cilastatina utilizando yoduro de metilo en metanol. La cilastatina se aísla utilizando una resina de intercambio catiónico seguido del tratamiento con una resina de intercambio aniónico para eliminar las sales inorgánicas.

Sin embargo, este proceso no es adecuado a una escala industrial, dado que implica la utilización de sodio metálico/amoníaco líquido que son muy peligrosos, y también utiliza yoduro de metilo para la isomerización, que es costoso y requiere de condiciones de almacenaje especiales. Además, la carga de la columna de intercambio iónico requiere la circulación repetida de la solución de cilastatina. Además, la columna de intercambio iónico funciona bajo el principio del enlace iónico/reacción de ácido base. Esta reacción, que es exotérmica, provoca una degradación considerable de la cilastatina. La utilización de la cromatografía de intercambio iónico de dos etapas es complicada, tediosa y no practicable a escala industrial.

A la luz de las desventajas anteriormente mencionadas en los procesos de la técnica anterior, existe una necesidad de desarrollo de un proceso simple, conveniente y eficiente para la preparación de cilastatina pura, que sea conveniente para operar a escala industrial.

### Características de la invención

La presente invención da a conocer un proceso para la purificación de la cilastatina utilizando una resina adsorbente no iónica. El proceso requiere una sola purificación, utilizando una técnica cromatográfica para obtener el producto puro. La carga de la resina adsorbente no iónica con cilastatina cruda se consigue pasando la solución a través de la resina solamente una vez. Puesto que no tiene lugar ninguna reacción de ácido con base, no se observa ninguna degradación del producto. De este modo, la presente invención satisface la necesidad de un proceso que es conveniente para operar a escala industrial.

Por consiguiente, la presente invención proporciona un proceso para la purificación de la cilastatina que comprende poner en contacto una solución de cilastatina cruda con una resina adsorbente no iónica y la recuperación de cilastatina pura a partir de una solución de la misma.

Para los propósitos de la presente invención, el término "cilastatina cruda" comprende la cilastatina que contiene impurezas, que pueden ser sales inorgánicas, tales como cloruro sódico, bromuro sódico y similares, o impurezas orgánicas que se pudieran haber formado debido a la degradación de la cilastatina, o los subproductos formados durante la síntesis, o intermediarios sin reaccionar de la síntesis multietapa para la preparación de la cilastatina.

La solución de cilastatina cruda se puede obtener disolviendo la cilastatina cruda en un disolvente adecuado o se puede obtener directamente de la mezcla de reacción para la preparación de cilastatina, que contiene cilastatina cruda ya disuelta. Según se utiliza en la presente invención, el término "disolventes convenientes" incluye el agua, disolventes orgánicos, y mezclas de los mismos. Entre los disolventes orgánicos se incluyen metanol, etanol, acetoni-trilo, acetona, y similares. La cilastatina cruda se puede preparar por cualquiera de los métodos descritos en la técnica anterior.

Se puede utilizar cualquiera de las resinas adsorbentes no iónicas que están disponibles comercialmente y en la superficie de las cuales se adsorbe la cilastatina. Particularmente, se pueden utilizar polímeros no iónicos macroporosos insolubles en agua, tales como poliacrilatos o los copolímeros de estireno y de polivinil benceno. La resina adsorbente preferente es un copolímero de estireno reticulado con divinilbenceno.

Para los propósitos de la presente invención, el término "cilastatina pura" se refiere a la cilastatina que tiene una pureza por HPLC del 98% o mayor.

Un proceso típico para la purificación de la cilastatina comprende cargar una solución de cilastatina cruda en una columna de resina adsorbente no iónica, lavándola con agua desionizada hasta que no se puede detectar ningún ión haluro. A continuación, la resina se eluye con el disolvente orgánico u orgánico acuoso y se aísla la cilastatina pura del eluido mediante los métodos comunes conocidos en la técnica, tales como concentración, precipitación y recristalización, si es necesaria. Sin embargo, se puede utilizar también un método alternativo de purificación, tal como la suspensión con la resina adsorbente.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, ésta proporciona un proceso para la isomerización del isómero-E a cilastatina. El proceso comprende el calentamiento de una solución de cilastatina, que contiene el correspondiente isómero-E no deseado, a un pH de 0,5 a 1,5, aproximadamente. Los presentes inventores han observado que la cilastatina obtenida utilizando este proceso reduce en gran medida la formación de productos de degradación.

Preferentemente, la solución de cilastatina que contiene el correspondiente isómero-E se obtiene directamente de la mezcla de reacción para la preparación de cilastatina. La cilastatina se puede preparar por cualquiera de los procesos multietapa descritos en la técnica anterior.

## ES 2 282 448 T3

Preferentemente, la isomerización se lleva a cabo a 85-95°C. El pH se ajusta de 0,5 a 1,5, más preferentemente de 0,5 a 1 y, más preferentemente, a 0,5, aproximadamente. Se puede utilizar cualquier ácido para ajustar el pH de la solución. Preferentemente, se utiliza el ácido clorhídrico.

- 5 En una realización preferente de la presente invención, se combinan los dos aspectos de la invención, es decir, el proceso de isomerización está seguido del proceso de purificación para obtener cilastatina pura.

### Descripción detallada de la invención

- 10 En la siguiente sección se describen las realizaciones preferentes, por medio de ejemplos, para ilustrar el proceso de la presente invención. Sin embargo, de ninguna manera se pretende que éstos constituyan limitación del alcance de la presente invención.

#### 15 Ejemplo 1

##### *Preparación de cilastatina*

- 20 Se disolvió en agua (1,2 l) clorhidrato de cisteína monohidrato (166,3 g). A esta solución, se añadieron hidróxido sodico acuoso (113,7 g en 400 ml de agua) y sal sódica del ácido 7-cloro-2-[[[(1S)-2,2-dimetilciclopropano]carboxamido]-2-heptenoico (200 g). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente. Se isomerizó el correspondiente isómero E (el 5% por HPLC) a cilastatina calentando la mezcla de reacción a 85-90°C durante 30 minutos, después de ajustar el pH a 0,5 con ácido clorhídrico concentrado.

##### 25 *Purificación de la cilastatina*

- Se cargó la mezcla de reacción obtenida anteriormente en una columna empaquetada con resina diaion HP-20 como adsorbente. Se lavó la columna con agua para eliminar el cloruro sodico y, a continuación, el producto se eluyó con metanol acuoso. Se agruparon las fracciones de la columna que contenían el producto puro y se concentraron para 30 obtener la cilastatina pura (160 g; Pureza por HPLC: 99%).

#### Ejemplo 2

- 35 Se calentaron a reflujo 7-cloro-2-oxo-heptanoato de etilo (25 g), (S)-2,2-dimetilciclopropano carboxamida (13,68 g) y ácido p-toluensulfónico (0,125 g) en tolueno utilizando un colector Dean-Stark para la extracción azeotrópica del agua de la mezcla de reacción. Después de que se completara la condensación, se lavó la mezcla de reacción con ácido clorhídrico diluido y bisulfito sodico acuoso para eliminar respectivamente la (S)-2,2-dimetilciclopropano carboxamida y el 7-cloro-2-oxo-heptanoato de etilo no reaccionados. A continuación, se concentró a presión reducida 40 la solución orgánica para recuperar el tolueno. El éster etílico del ácido 7-cloro-2-[[[(1S)-2,2-dimetilciclopropano]carboxamido]-2-heptenoico resultante, en forma de aceite, se hidrolizó con hidróxido sodico acuoso en presencia de alcohol desnaturalizado a temperatura ambiente. Después de la hidrólisis, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida a la mitad de su volumen y se lavó con tolueno. Se añadieron el clorhidrato de cisteína monohidrato (29,7 g) y solución acuosa de hidróxido sodico a la fase acuosa anterior. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente 45 hasta que se consiguió la conversión completa del ácido 7-cloro-2-[[[(1S)-2,2-dimetilciclopropano]carboxamido]-2-heptenoico al producto. El isómero E correspondiente se isomerizó a cilastatina calentando la mezcla de reacción a 85-90°C, después de ajustar el pH a 0,5 con el ácido clorhídrico concentrado.

##### *Purificación de la cilastatina*

- 50 Se cargó la mezcla de reacción obtenida anteriormente en una columna empaquetada con resina diaion HP-20 como adsorbente. Se lavó la columna con agua para eliminar el cloruro sodico y, a continuación, el producto se eluyó con acetonitrilo acuoso. Se reunieron las fracciones de la columna que contenían el producto puro y se concentraron para obtener la cilastatina pura (16,3 g; Pureza por HPLC: 99,2%).

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Proceso para la purificación de la cilastatina, que comprende poner en contacto una solución de cilastatina cruda con una resina adsorbente no iónica y la recuperación de cilastatina pura a partir de una solución de la misma.

2. Proceso, según la reivindicación 1, en el que la solución de cilastatina cruda se obtiene directamente de la mezcla de reacción.

3. Proceso, según la reivindicación 1, en el que la solución de cilastatina cruda se obtiene disolviendo cilastatina cruda en un disolvente adecuado.

4. Proceso, según la reivindicación 3 en el que el disolvente adecuado se selecciona de agua, de un disolvente orgánico, y de una mezcla o mezclas de los mismos.

5. Proceso, según la reivindicación 4, en el que el disolvente orgánico se selecciona del grupo que comprende metanol, etanol, acetonitrilo y acetona.

6. Proceso, según la reivindicación 1, en el que la resina adsorbente no iónica comprende un polímero macroporoso no iónico insoluble en agua.

7. Proceso, según la reivindicación 6, en el que el polímero se selecciona del grupo de los poliacrilatos o de los copolímeros que comprenden estireno y polivinil benceno.

8. Proceso, según la reivindicación 7, en el que el polímero es un copolímero de estireno reticulado con divinilbenceno.

9. Proceso para la preparación de la cilastatina que comprende calentar una solución de cilastatina que contiene el correspondiente isómero E a un pH de 0,5 a 1,5, aproximadamente.

10. Proceso, según la reivindicación 9, en el que la solución se calienta a 85-95°C.

11. Proceso, según la reivindicación 9, en el que la solución se calienta a 85-95°C a un pH de 0,5, aproximadamente.

12. Proceso para la preparación de cilastatina pura que comprende:

(i) calentar una solución de cilastatina que contiene el correspondiente isómero E a un pH de 0,5 a 1,5, aproximadamente, y

(ii) poner en contacto la solución obtenida con una resina no iónica adsorbente y recuperar la cilastatina pura a partir de una solución de la misma.