

74340

P.- 5040.-

OL. 41147 - Us. 606.024.-



-3 SEP. 1946

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se presenta para unir a la solicitud

de

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

PRESENTADA el 17 de Julio de 1946, bajo el Número 174.340,

en

E S P A Ñ A

por VEINTE años

a nombre de HOFFMANN-LA ROCHE INC., entidad norteamericana, establecida en Roche Park, Nutley, N.J., Estados Unidos de América, por:

"UN PROCEDIMIENTO DE PREPARAR SALES DE PENICILINA DE METALES ALCALINOS Y ALCALINO-TERREOS".

Este invento se refiere a la preparación de sales de penicilina de metales alcalinos y alcalino-térreos.

Uno de los objetos principales del invento es crear un método de preparar sales de penicilina, que es más directo, conveniente y económico que los empleados hasta ahora y que se adapta especialmente a la fabricación en masa de sales de penicilina.

En la actualidad, la penicilina se manufactura mediante un procedimiento que implica en esencia las etapas siguientes:



74340

(1) Fermentación, mediante la cual la penicilina es producida en un medio nutritivo adecuado por los mohos productores de la misma;

5 (2) Aislamiento de la penicilina desde el medio nutritivo, y purificación de la misma mediante métodos de adsorción o de extracción, que dan por resultado una solución relativamente concentrada de penicilina libre en un disolvente orgánico; y

10 (3) Conversión de la penicilina libre en sales preparadas para su empleo terapéutico, por extracción de la penicilina del disolvente orgánico por medio de una solución o suspensión acuosa de un reactivo alcalino, con lo cual se obtiene una solución acuosa de la correspondiente sal de penicilina, seguido por la congelación de esta solución y desecación al vacío en estado congelado, hasta obtener un polvo seco.

15 El proceso actualmente empleado, tal como ha quedado bosquejado, es satisfactorio para operaciones en gran escala, en cuanto concierne a las operaciones de fermentación y aislamiento de la penicilina desde el medio nutritivo.  
20 Sin embargo, el procedimiento está caracterizado por el inconveniente de que a partir del estado congelado, deben secarse volúmenes relativamente grandes de la solución acuosa final de la sal de penicilina, especialmente cuando ha de prepararse la sal de calcio. La operación de secar en estado congelado requiere una refrigeración intensa, costosa y complicada y un equipo de alto vacío. Además, la eliminación del agua desde el estado congelado precisa, incluso en  
25 las condiciones más ideales del vacío y de la construcción



74340

del equipo, un periodo de tiempo bastante prolongado para completarla.

5 Para vencer el inconveniente del método de desecación desde el estado congelado, se ha propuesto el empleo del calentamiento dieléctrico como proceso suplementario para reducir la carga en el equipo para la desecación final desde el estado congelado (British Medical Journal, 17 de Febrero de 1945, pág. 218). En esta operación, la concentración preliminar por medio del calentamiento dieléctrico va seguida de una desecación final de la solución concentrada de penicilina en estado congelado.

10 De acuerdo con el invento, las sales de penicilina de metales alcalinos y alcalino-térreos se preparan haciendo reaccionar penicilina disuelta en un disolvente orgánico virtualmente anhidro con un compuesto orgánico de metal alcalino o alcalino-térreo. Este nuevo método está caracterizado por:

- (a) rapidez en la producción.
- (b) reducción de los gastos de explotación.
- 20 (c) reducción de los gastos de conservación.
- (d) reducción del espacio necesario.
- (e) eliminación de aparatos voluminosos, complicados y costosos.
- (f) evitación del control de las bajas temperaturas y del alto vacío.
- 25 (g) uso de un equipo normal poco costoso y de fácil obtención.
- (h) facilidad de operación.
- (i) gran rendimiento total de sal de penicilina.



74340

(j) potencia y estabilidad adecuadas del producto.

Al practicar el invento, las sales metálicas alcalinas o alcalino-térreas de penicilina pueden ser producidas en forma de polvo seco convenientemente y con ahorro considerable de tiempo, labor y gastos, directamente desde soluciones de penicilina libre en disolventes orgánicos. En general, el procedimiento comprende la mezcla de una solución de penicilina libre en un disolvente orgánico con una solución o suspensión de un compuesto orgánico de un metal alcalino o alcalino-térreo en un disolvente orgánico anhidro o la adición del compuesto órgano-metálico en forma seca a la solución de penicilina.

El compuesto órgano-metálico reacciona con la penicilina libre disuelta en el disolvente orgánico, para formar la correspondiente sal metálica de penicilina. Los mejores resultados se obtienen cuando para reaccionar con la penicilina libre se usan cantidades estequiométricamente equivalentes de compuestos órgano-metálicos.

La sal de penicilina resultante puede ser insoluble en la mezcla de reacción, en cuyo caso la sal se separa por filtración, se lava, y se libera de disolvente secando en una estufa de vacío. Sin embargo, si la sal de penicilina es soluble en la mezcla, entonces, para precipitar la sal, puede añadirse un segundo disolvente que tenga una baja solubilidad para ella. Alternativamente, la sal puede ser obtenida concentrando o secando la solución resultante de la sal de penicilina.

Se ha señalado que la solución inicial de penicilina en un disolvente orgánico debe ser anhidra, al menos subs-



174340

tancialmente. Si es preciso, la solución puede ser sometida a un tratamiento desecador adecuado para conseguir este propósito como, por ejemplo, mediante el uso de un agente secador tal como sulfato sódico anhidro, o por separación del agua por destilación azeotrópica.

Disolventes adecuados que pueden emplearse como tales o en mezclas para la solución inicial de penicilina son, por ejemplo: Esteres, tales como acetato etílico, acetato butílico, acetato isopropílico, acetato amílico, acetato ben-  
cílico, butirato etílico, benzoato etílico, malonato dietí-  
lico, ester etílico del ácido furoico; Quetonas, tales como acetona, ciclohexanona, ciclopentanona, etil-metil-quetona, metil-isobutil-quetona, dietilquetona, acetofenona; hidro-  
carburos halogenados, tales como cloroformo, tetracloruro  
de carbono, bicloruro etilénico, clorobenzol, bromuro etíli-  
co; Eteres, con inclusión de los éteres cíclicos, tales como éter dietílico, éter dibutílico, éter di-isopropílico, dioxano, tetrahidrofurano; Alcoholes, con inclusión de los alcoholes éteres, tales como alcohol isopropílico, alcohol amílico, alcohol butílico, ciclohexanol, ciclopentanol, alcohol tetrahidrofurfurílico; Nitrilos, tales como acetoni-  
trilo, benzonitrilo, propionitrilo; hidrocarburos, tal como benzol, toluol, xilol, ciclohexano; y queto-ésteres, tales como acetoacetato etílico, acetoacetato butílico, 2-carbeto-  
xi-ciclohexanona-1, 2-carbeto-  
xi-ciclopentanona-1, éster me-  
tílico del ácido levulínico, y éster etílico del ácido levu-  
línico.

Ejemplos de composiciones de compuestos órgano-me-  
tálicos para el tratamiento de la solución de penicilina son:



74340

butóxido sódico en alcohol butílico, butóxido sódico en ciclohexanol, isopropóxido potásico en alcohol isopropílico, malonato dietil cálcico en acetato butílico, malonato dietil-cálcico en acetato amílico, malonato dietil cálcico en metil-

5 isobutil-quetona, malonato dietil sódico en acetato butílico, malonato dietil sódico en acetato isopropílico, malonato dietil-sódico en metil-isobutil-quetona, malonato dietil sódico en ciclohexanol, malonato dietil potásico en acetato amílico, malonato dietil cálcico en ciclohexanol, malonato dietil mag-

10 nésico en acetato butílico, malonato dietil magnésico en metil-isobutilquetona, malonato dietil magnésico en ciclohexanol, malonato dietil magnésico en toluol, acetoacetato etil-sódico en acetoacetato etílico, acetoacetato etil-cálcico en acetoacetato etílico, acetoacetato etil-cálcico en acetato

15 butílico, acetoacetato etil-sódico en acetato butílico, acetoacetato etil-sódico en cloroformo, acetoacetato etil-cálcico en cloroformo, acetoacetato etil-cálcico en éter, acetoacetato etil-sódico en éter, acetoacetato etil-cálcico en benzol, acetoacetato etil-sódico en benzol, acetilacetona sódica en acetato butílico, acetilacetona sódica en cloroformo, acetil-

20 acetona sódica en acetilacetona, acetilacetona cálcica en acetato amílico, 2-carbetoxi-ciclohexanona-1 sódica en acetato butílico, fenolato sódico en acetato butílico, fenolato potásico en alcohol butílico, isopropilato sódico en acetato

25 butílico, 2-carbetoxi-ciclo-hexanona-1 potásica en acetato butílico, 2-carbetoxi-ciclopentanona-1 potásica en metil-isobutil quetona, acetoacetato etil-estróncico en acetoacetato etílico, acetoacetato etil-lítico en acetoacetato etílico, y malonato dietil-lítico en acetato butílico.



5 Se observará que en los compuestos órgano-metálicos y en los disolventes empleados para los mismos, así como en los disolventes usados para la penicilina existe una gran latitud y se señalan amplias modificaciones. Prácticamente puede emplearse todo disolvente orgánico que tenga suficiente solubilidad para la penicilina.

10 Para los fines de esta reacción, prácticamente puede emplearse todo compuesto órgano-metálico (de un metal alcalino o alcalino-térreo) más o menos soluble. Tales compuestos pueden ser, por ejemplo, sales metálicas de ácidos orgánicos, alcoholatos, tales como isopropilato sódico y n-butóxido sódico, bencilóxido sódico, bencilóxido potásico, y los correspondientes derivados de ciclohexanol, o fenolatos, tales como fenolato sódico, guayacolato sódico, naftóxido sódico, y compuestos de ésteres del ácido salicílico de metales alcalinos y alcalino-térreos.

20 Desde un punto de vista práctico, considerando el asunto de la solubilidad, disponibilidad y coste, se prefiere que los derivados de compuestos orgánicos de metales alcalinos o alcalino-térreos contengan al menos un átomo de hidrógeno activado unido a un átomo de carbono como, por ejemplo, derivados metálicos de compuestos orgánicos que tengan una estructura de éster malónico,  $\beta$ -queto-éster, 1,3-ciano-carbalcoxi, 1,3-ciano-carbonilo, o de 1,3-dicarbonilo. Por ejemplo, los compuestos preferidos incluyen 25 los derivados metálicos alcalinos y alcalino-térreos de ésteres metílico, dietílico, dibutílico o superiores del ácido malónico; los correspondientes ésteres de ácidos malónicos monosustituídos, tales como ácido metil-malónico o etil-



174340

malónico; ésteres de ácido acetoacético, ácido  $\alpha$ -metil-acetoacético, ácido gamma-metil-acetoacético, ácido  $\alpha$  -, gamma-dimetil-acetoacético, etc.; ésteres de ácido ciano-acético, ácido  $\alpha$ -ciano-propiónico, y ácido ciano-succínico; 2-ciano-ciclohexanona-1, 2-ciano-ciclopentanona-1,  $\alpha$ -ciano-acetofenona, y  $\alpha$ -ciano-acetona; ciclohexano-1,3-diona, acetil-acetona,  $\alpha$ -metil-acetil-acetona, gamma-metil-acetil-acetona y benzoil-acetona.

Del estudio de los disolventes y de los compuestos órgano-metálicos enunciados arriba y de los ejemplos que siguen, los profesionales comprenderán como se lleva a la práctica el invento. Se verá que pueden emplearse mezclas de disolventes adecuados y mezclas de materiales de tratamiento órgano-metálicos, así como disolventes o materiales de tratamiento aislados. Consiguientemente, a los profesionales, en vista de las enseñanzas aquí contenidas, les serán evidentes muchas variaciones y modificaciones en las realizaciones específicas del invento.

Habiendo bosquejado el proceso general y la finalidad del invento, se dan los ejemplos siguientes para ilustrar procesos específicos para obtener sales de penicilina mediante dicho proceso.

Ejemplo 1.

A 100 c.c. de solución de penicilina en acetato butílico obtenida, por ejemplo, acidificando una solución acuosa de penicilina a pH 3 y extrayendo con acetato butílico, y que tiene un contenido aparente de 1.300.000 unidades de penicilina, según se determinó por extracción con hidróxido sódico acuoso a pH 7.4 y ensayo biológico de la penicilina obtenida por



174340

secado liofílico de este extracto, se añadieron a 15° C, con  
agitación, 6.5 c.c. de una solución 2.5 N de malonato cálcico  
dietílico en malonato dietílico. Inmediatamente se formó un  
precipitado. La agitación se continuó durante 5 minutos y lue-  
5 go se centrifugó la mezcla. El residuo se lavó con dos porcio-  
nes de 10 c.c. de acetato butílico seco y finalmente con dos  
porciones de 10 c.c. de benzol seco. El residuo, después de  
secar a 20 mm. y 50° C durante 3 horas, era un polvo amarillo  
claro. Pesaba 2.72 gr. y su potencia era de 550 unidades por  
10 mgr. Por consiguiente se obtuvo un total de 1.500.000 unida-  
des, o 15% más que por extracción mediante álcali acuoso. Se  
comprobó que la penicilina cálcica retenía toda su actividad  
incluso después de 7 días de guardarla a 50° C.

Ejemplo 2.

15 A 100 c.c. de una solución de penicilina en aceta-  
to butílico, con un contenido aparente de 2.300.000 unidades  
de penicilina (determinado como en el Ejemplo 1) se añadieron  
a 15° C, con agitación, 11,5 c.c. de una solución 2.5 N de ma-  
lonato dietil-sódico en malonato dietílico. Inmediatamente se  
20 formó un precipitado. La agitación se continuó durante 5 mi-  
nutos y luego se centrifugó la mezcla. El residuo se lavó dos  
veces con 10 c.c. de acetato butílico seco, seguido por dos  
lavados con 10 c.c. de benzol seco. El residuo, después de se-  
car a 20 mm. y a 50° C durante 3 horas, consistía en un polvo  
25 amarillo claro que pesaba 4.94 grs. Era completamente soluble  
en agua, dando un pH de 6.5. La potencia era de 528 unidades  
por mgr. Así se obtuvo un total de 2.600.000 unidades, o 13%  
más que por extracción acuosa.

Ejemplo 3.



174340

Se obtuvo penicilina potásica seca en la misma forma que en el Ejemplo 2 usando malonato dietil-potásico en lugar del compuesto sódico.

Ejemplo 4.

5 A 70 c.c. de una solución de penicilina en acetato butílico, con un contenido aparente de 1.000.000 de unidades (determinado como en el ejemplo 1) se añadieron, a 25° C, lentamente y con agitación, 6.8 c.c. de una solución 1.5 N de malonato dietil magnésico en malonato dietílico. La agitación  
10 se continuó durante 5 minutos. Luego la mezcla se centrifugó y el residuo se lavó con acetato butílico seco y luego con benzol. Cuando el residuo quedó libertado del disolvente por secado a 50° C y 20 mm., durante 3 horas, consistía en un polvo amarillo claro, que pesaba 2.44 grs. y que dió en el ensayo  
15 535 unidades por mgr., correspondiendo a un total de 1.300000 unidades.

EJEMPLO 5.

200 c.c. de una solución de penicilina en acetato butílico con un contenido aparente de 800.000 unidades (determinado como en el ejemplo 1), se calentaron a 50° C (temperatura del baño) y vacío de 30 mm. hasta que se separaron por  
20 destilación 15 c.c. El residuo se enfrió a 25° C y, con agitación, se le añadieron lentamente 4.0 c.c. de una solución 1.3 N de acetoacetato etil-sódico en acetoacetato etílico. El  
25 precipitado finamente dividido que se formó se separó por filtración, se lavó con acetato butílico seco, luego con benzol, y finalmente se libertó de disolvente por desecación en alto vacío a la temperatura ambiente. Se obtuvo un polvo amarillo muy claro, finamente dividido, que pesaba 1.43 grs., que era



17434U

completamente soluble en agua y que dió en el ensayo 425 unidades por mgr. Así se obtuvo un total de 610.000 unidades, correspondiendo a un rendimiento de 76%. Se obtuvieron otras 220.000 unidades lavando con agua el filtrado del precipitado de penicilina sódica del acetato butílico.

EJEMPLO 6.

Una parte alicuota de 200 c.c. de la solución de acetato butílico usada para el experimento descrito en el Ejemplo 5, se concentró hasta un volumen de 40 c.c. por destilación a 50° C (temperatura del baño) y vacío de 20 mm. A los 40 c.c., con agitación, se añadieron lentamente a 25° C, 4.0 c.c. de una solución 1.3 N de acetoacetato etil-sódico en acetoacetato etílico. El precipitado se separó por filtración y se ~~lavó~~ exactamente como en el Ejemplo 5. El polvo amarillo claro pesaba 1.65 grs. y en el ensayo dió 515 unidades por mgr., correspondiendo a un rendimiento total de 850.000 unidades, o 6% más que las 800.000 unidades recuperadas por extracción con álcali acuoso. El filtrado del acetato butílico del precipitado de penicilina sódica, fué agitado con agua. Se comprobó que la fase acuosa tenía un pH de 6.8 y que contenía 20.000 unidades, o sea, otro 2.5%.

EJEMPLO 7.

A 100 c.c. de una solución de penicilina en acetoacetato etílico, con un contenido aparente de 835.000 unidades (determinado por extracción con un neutralizador acuoso y ensayando la solución) se añadieron lentamente 2.30 c.c. de una solución 1.25 N de acetoacetato etil sódico en acetoacetato etílico. Inmediatamente se formó un precipitado y después de 5 minutos de agitación a la temperatura ambiente, se separó por



filtración y se lavó con dos porciones de 20 c.c. de benzol seco. El residuo se secó bajo alto vacío a la temperatura ambiente. Se obtuvo un polvo amarillo claro, que pesaba 1.30 grs. y que dió en el análisis 600 unidades por mgr. Era completamente soluble en agua. El rendimiento fué de 780.000 unidades o sea del 93%. El filtrado de la penicilina sódica precipitada se extrajo con 10 c.c. de agua y ésta resultó contener 160.000 unidades, o sea, otro 19%.

EJEMPLO 8.

500 c.c. de un extracto al cloroformo de penicilina libre, con un contenido aparente de 2.600.000 unidades (determinado como en el ejemplo 1) se libertaron de agua congelando a -60° C y filtrando. El filtrado seco se concentró bajo vacío de 50 mm. a 35° C hasta un volumen de 100 c.c. A este se le añadieron, con agitación, 10 c.c. de una solución 2,5 N de malonato dietil cálcico en malonato dietílico. El precipitado se separó por filtración, se lavó con cloroformo anhidro y se secó a 50° C y vacío de 20 mm. durante 3 horas. El polvo amarillo claro así obtenido pesaba 4.68 grs. y dió en el ensayo 640 unidades por mgr., correspondiendo a un total de 3.000.000 unidades. Esto representa un 15% más de lo que resultó por extracción acuosa.

EJEMPLO 9.

250 c.c. de una solución de penicilina en éter, con un contenido aparente de 790.000 unidades (determinado como en el ejemplo 1), se enfriaron a -60° C y el hielo se separó por filtración. El filtrado anhidro se concentró luego a 500 c.c. a 100 mm. y 25° C. Al concentrado se le añadieron 1.75 c.c. de una solución 2,5 N de malonato dietil cálcico



174340

en malonato dietílico. La mezcla se sacudió vigorosamente durante 5 minutos a la temperatura ambiente y luego se centrifugó. El residuo se lavó con 3 porciones de 10 c.c. de éter seco, y finalmente se secó a 50° C y vacío de 20 mm. durante una hora. El polvo resultante dió en el ensayo 620 unidades por mgr., correspondiendo a un total de 860.000 unidades, o sea 9% más que el hallado por extracción acuosa.

EJEMPLO 10.

400 c.c. de una solución de penicilina en acetato butílico con un contenido aparente de 2.500.000 unidades (determinado como en el ejemplo 1), se concentraron hasta un volumen de 80 c.c. a un vacío de 20 mm. y a 50° C (temperatura del baño de María). A la solución agitada se le añadieron lentamente a 10° C, 8.7 c.c. de una solución 1.3 N de acetona acetil sódica en acetona dietílica. La precipitación fué inmediata. Después de 5 minutos de agitación, la mezcla se centrifugó. El residuo, después de lavado con acetato butílico seco y benzol seco, se libertó de disolvente secando al vacío (20 mm.) a 50° C. El polvo amarillo claro resultante pesaba 3.58 gr., era completamente soluble en agua (pH 7.0) y dió en el ensayo 880 unidades por mgr. Por tanto, contenía un total de 3.000.000 de unidades, o sea, 20% más del hallado en la extracción acuosa de control.

EJEMPLO 11.

100 c.c. de una solución de penicilina en acetato butílico con un contenido aparente de 200.000 unidades (determinado como en el ejemplo 1), se concentraron bajo un vacío de 20 mm. y a una temperatura del baño de 50° C hasta un volumen de 20 c.c. Al concentrado se le añadieron, con agitación,



174340

4.92 c.c. de una solución 0.8N de 2-carbetoxi-ciclohexanona-1  
sódica en acetato butílico. Inmediatamente se formó un pre-  
cipitado. Este se separó por filtración y se lavó con dos  
porciones de 10 c.c. de benzol seco y luego se secó a la tem-  
peratura ambiente bajo un alto vacío. El polvo amarillo cla-  
ro resultante pesó 1.1 grs. y dió en el ensayo 183 unidades  
por mgr, correspondiendo a un total de 200.000 unidades. Era  
completamente soluble en agua.

EJEMPLO 12.

A 200 c.c. de una solución de penicilina en aceta-  
to butílico, con un contenido aparente de 100.000 unidades  
(determinado como en el ejemplo 1), se le añadieron, en con-  
diciones anhidras y con agitación, 80 c.c. de una solución  
al 0.5% de fenolato sódico en acetona seca. La agitación se  
continuó durante 1 hora a la temperatura ambiente. El preci-  
pitado se filtró, el residuo se lavó con benzol anhidro, y se  
secó a la temperatura ambiente bajo alto vacío durante 1 ho-  
ra. Se obtuvo un polvo de color canela claro que pesaba 2.2  
grs. y que dió en el ensayo 440 unidades por mgr.

EJEMPLO 13.

A 300 c.c. de una solución de penicilina en acetato  
butílico con un contenido aparente de 360.000 unidades (deter-  
minado como en el ejemplo 1) se añadieron, con agitación, 11 c.c.  
de una solución 0.4 N de isopropilato sódico en isopropanol.  
La cantidad de reactivo a usar fué determinada titulando una  
parte alicuota de la misma solución de acetato butílico a pH  
7 con hidróxido de sodio acuoso 0.5 N. La adición de isopro-  
pilato sódico dió precipitación inmediata. La agitación se  
continuó a 42 C durante 1 hora. El precipitado se filtro, el



174340

residuo se lavó con benzol anhidro y luego se secó bajo alto vacío a 35° C durante 1 hora. La penicilina sódica así obtenida pesaba 1.4 grs. y dió en el ensayo 250 unidades por mgr.

EJEMPLO 14.

5                   A 250 c.c. de una solución de penicilina en éter anhidro con un contenido aparente de 215.000 unidades (determinado como en el ejemplo 1), se añadieron 125 c.c. de n-butanol anhidro y la solución se concentró bajo vacío a 25° C hasta un volumen de 125 c.c. A este concentrado se añadieron, con agitación, 31.4 c.c. de una solución 0.1 N de n-butoxido  
10                   sódico en n-butanol. No tuvo lugar precipitación, permaneciendo la solución brillante y clara. La solución se llevó luego a sequedad a un vacío de 20 mm. y 45° C (temperatura del baño) y los últimos vestigios de disolvente se eliminaron bajo  
15                   un vacío de 1 mm. El residuo, una película de color pardo oscuro, quebradiza, parecía a laca, se molió hasta obtener un polvo amarillo, pesando 0.49 grs. Era completamente soluble en agua, y su solución acuosa tenía un pH de 6.7. La potencia era de 500 unidades por mgr., correspondiendo a un total  
20                   de 245.000 unidades, o sea, 30.000 unidades más que al obtenerlo por extracción acuosa de la solución original en éter.

EJEMPLO 15.

25                   Una solución idéntica de penicilina en n-butanol, neutralizada con 31.4 c.c. de n-butoxido sódico 0.1 N, como se describe en el ejemplo 14, se trató con éter de petróleo (30-60° C) hasta que no hubo más precipitación, lo cual precisó de 400 cc. de éter de petróleo. El precipitado se separó por filtración y se libertó de disolvente por desecación a 50° C y vacío de 20 mm. durante 1 hora. El polvo amarillo



114340

finamente dividido resultante, pesaba 0.44 grs., era completamente soluble en agua, y su solución acuosa tenía un pH de 6.9. En el ensayo dió 510 unidades por mgr., correspondiendo a un total de 224.000 unidades. Esto puede compararse favorablemente con las 215.000 unidades obtenidas por extracción acuosa del extracto etéreo original.

EJEMPLO 16.

200 c.c. de una solución de penicilina en metil-isobutil-quetona, con un contenido aparente de 2.680.000 unidades (determinado como en el ejemplo 1), se concentraron a un vacío de 30 mm. y una temperatura de baño de 50° C hasta un volumen de 100 c.c. A este concentrado se añadieron, con agitación, 5.25 c.c. de una solución 2.9 N de malonato dietil cálcico en malonato dietílico. La precipitación fué inmediata. Después de 5 minutos de agitación, la mezcla se filtró sobre un embudo de Buchner. El precipitado se lavó con dos porciones de 20 c.c. de benzol, y luego se secó en una estufa de vacío a 20 mm. y 50° C, durante 3 horas. El polvo amarillo claro resultante pesaba 4.31 grs. y dió en el ensayo 620 unidades por mgr. o sea un total de 2.670.000 unidades. Al filtrado claro se añadieron 400 c.c. de éter de petróleo (30-60° C). Se formó un ligero precipitado que se separó por filtración, se lavó con 20 c.c. de éter de petróleo y se secó en una estufa de vacío a 50° C. El polvo amarillo claro así obtenido pesaba 0.05 grs. y contenía 20.000 unidades.

EJEMPLO 17.

940 c.c. de una solución de penicilina en acetato butílico, con un contenido aparente de 1.910.000 unidades (determinado como en el ejemplo 1), se concentraron hasta un vo-



174340

lumen de 180 c.c. bajo un vacío de 20 mm. y una temperatura de baño de 50° C. El concentrado se filtró por un tampón estéril de Seitz en un tubo estéril de 250 c.c. de centrífuga. A este filtrado estéril se añadieron asépticamente 7.6 c.c. de una solución 1.8 N de malonato dietil sódico en malonato dietílico, que también había sido esterilizada por filtración de Seitz. Se formó un precipitado inmediatamente. Se depositó por centrifugación; la parte que sobrenadaba se separó asépticamente, y el precipitado se lavó asépticamente con 20 c.c. de acetato butílico (100%) que había sido esterilizado por ebullición. La suspensión se centrifugó, el acetato butílico se separó asépticamente, y el precipitado se lavó de nuevo con 40 c.c. de benzol estéril, que había sido esterilizado por ebullición. El benzol se separó asépticamente, y el precipitado se secó colocándolo el tubo de la centrífuga con su contenido en una estufa de vacío a 50° C y vacío de 20 mm. durante 3 horas. El polvo amarillo claro de penicilina sódica así obtenido pesaba 4.0 grs. y dió en el ensayo 543 unidades por mgr., o sea, un total de 2.172.000 unidades. Este polvo, cuando se ensayó por la conocida técnica bacteriológica, se comprobó que era estéril.

EJEMPLO 18.

A 500 c.c. de una solución de penicilina en éter seco, con un contenido aparente de 1.600.000 unidades (determinado como en el ejemplo 1) se añadió, con agitación, una solución de 2.6 gr. de oleato cálcico en éter. La agitación se continuó durante 30 minutos, luego la mayor parte del éter se separó por destilación al vacío y el precipitado se centrifugó. El producto se lavó varias veces con éter seco y luego



174340

se secó al vacío. El polvo amarillo claro resultante pesaba 2.7 grs. y dió en el ensayo 620 unidades por mgr. o sea, un total de 1.674.000 unidades.

EJEMPLO 19.

5                   A 100 c.c. de una solución de penicilina en acetato  
butílico con un contenido aparente de 2.300.000 unidades de  
penicilina (determinado como en el ejemplo 1) se añadieron,  
con agitación, 5.23 grs. de malonato dietil-sódico pulveri-  
zado seco. La agitación se continuó durante 20 minutos, lue-  
10 go el precipitado formado se separó por filtración y se lavó  
dos veces sobre el filtro con 10 c.c. de acetato butílico se-  
co y dos veces con 10 c.c. de benzol seco. Después de secar  
al vacío a 50° C, durante 4 horas, se obtuvo un polvo amari-  
llo claro, que pesaba 4.92 grs. Era completamente soluble en  
15 agua, y dió en el ensayo 530 unidades por mgr., correspondien-  
do a un total de 2.600.000 unidades.

EJEMPLO 20.

20                   A 500 c.c. de una solución de penicilina en éter se-  
co, con un contenido aparente de 1.600.000 unidades (determi-  
nado como en el ejemplo 1), se añadieron lentamente, con agi-  
tación, 3 gr. de linoleato de bario en éter. La agitación se  
continuó durante 1 hora, luego la mayor parte del éter se se-  
paró por destilación al vacío y el precipitado se centrifugó.  
El producto se lavó varias veces con éter seco y luego se se-  
25 có al vacío. El polvo amarillo claro resultante pesaba 3 grs.  
y dió en el ensayo 535 unidades por mgr.

En aquellos casos en que la sal de penicilina es so-  
luble en la mezcla de reacción, puede hacerse uso de la con-  
centración o evaporación a sequedad para obtener la sal.



174340

El ejemplo 14 ilustra un caso en que la sal de penicilina que se formó es soluble en la mezcla de reacción y es recuperada por desecación bajo vacío.

5 El ejemplo 15 ilustra un caso en que la sal de penicilina que se formó es soluble en la mezcla de reacción y se obtuvo por precipitación con un precipitante orgánico añadido.

10 El proceso del invento puede emplearse para preparar sales de penicilina de metales alcalinos y alcalino-térreos, con inclusión de las sales de sodio, potasio, magnesio, litio, estroncio, bario y calcio.

15 El nuevo método puede utilizarse para preparar sales de penicilina estériles o no. Si se requieren sales estériles como, por ejemplo, para administración parenteral, el proceso debe llevarse a cabo en condiciones asépticas y con reactivos estériles. Sin embargo, si las sales no precisan ser estériles, como en el caso de la penicilina para administración por vía bucal, tales precauciones rígidas pueden omitirse. El ejemplo 17 ilustra un procedimiento para preparar una sal estéril de penicilina.

20 Como quiera que, sin apartarse de la finalidad del invento, pueden introducirse ciertos cambios al llevar a la práctica el procedimiento mencionado, se pretende que toda la materia contenida en la anterior descripción detallada debe interpretarse como puramente ilustrativa y no en sentido limitativo.

25 Esta solicitud, que corresponde a la presentada en los Estados Unidos de América, el 19 de Julio de 1945, bajo el Número 606.024, se acoge a los beneficios del artículo 51 del Estatuto vigente sobre Propiedad Industrial.



74340

-----  
---- N O T A ----  
-----

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta Patente de Invención en España, son los siguientes:

- 5                    1º. Un procedimiento de preparar sales de penicilina de metales alcalinos y alcalino-térreos, caracterizado por hacer reaccionar penicilina disuelta en un disolvente orgánico esencialmente anhidro con un compuesto orgánico de un metal alcalino o alcalino-térreo.
- 10                    2º. Un procedimiento según se reivindica en el punto 1º., caracterizado por el hecho de que la reacción se efectúa en un medio o disolvente orgánicos esencialmente anhidros.
- 3º. Un procedimiento según se reivindica en los puntos 1º. o 2º., caracterizado por el hecho de que la reacción  
15 se efectúa en condiciones asépticas.
- 4º. Un procedimiento según se reivindica en los puntos 1º., 2º. o 3º., caracterizado por el hecho de que la reacción se efectúa con una cantidad estequiométrica del segundo reactivo.
- 20                    5º. Un procedimiento según se reivindica en cualquiera de los puntos 1º. a 4º., caracterizado por el hecho de que el segundo reactivo es un alcoholato de metal alcalino o alcalino-térreo.
- 6º. Un procedimiento según se reivindica en cualquiera de los puntos 1º. a 4º., caracterizado por el hecho de  
25 que el segundo reactivo es un fenolato de metal alcalino o al-



174340

calino-térreo.

7º. Un procedimiento según se reivindica en cualquiera de los puntos 1º. a 4º., caracterizado por el hecho de que el segundo reactivo es un derivado metálico alcalino o alcalino-térreo de un compuesto orgánico que tiene al menos un átomo de hidrógeno activado unido a un átomo de carbono.

8º. Un procedimiento según se reivindica en cualquiera de los puntos 1º. a 4º., caracterizado por el hecho de que el segundo reactivo es un derivado metálico alcalino o alcalino-térreo de malonato dietílico.

9º. Un procedimiento según se reivindica en cualquiera de los puntos 1º. a 4º., caracterizado por el hecho de que el segundo reactivo es un derivado metálico alcalino o alcalino-térreo de aceto-acetato etílico.

10º. Un procedimiento de preparar sales de penicilina de metales alcalinos y alcalino-térreos.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, y para los fines que se han especificado.

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

Madrid a

3 SEP. 1946

P. A.

Alberto de Eizaburu

Por Poder

M/L/L.