

1873 12



- 4 MAR. 1949

32

MEMORIA DESCRIPTIVA
para solicitar
P A T E N T E D E I N V E N C I O N
en
E S P A Ñ A
por VEINTE años

a nombre de MERCK & CO., INC., entidad norteamericana,
establecida en 126 East Lincoln Avenue, Rahway, Nueva
Jersey, Estados Unidos de América, por:

"UN PROCEDIMIENTO PARA EL AISLAMIENTO Y PURIFICACION DE
PENICILINA G".

- 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 - 0 -

Este invento se refiere al aislamiento y
purificación de penicilina G de una mezcla de varios ti-
pos de penicilina. Mas particularmente se refiere a la
preparación de nuevos derivados de penicilina G que per-

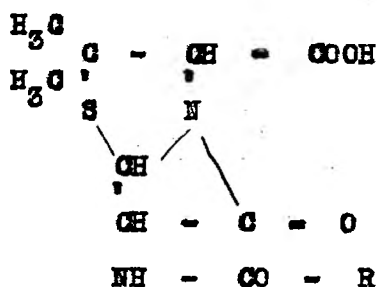


187312

miten la separación fácil.

Según el presente invento, una solución de ácido penicilínico en un disolvente orgánico se hace reaccionar con una solución en disolvente orgánico de una amina heterocíclica terciaria para formar una nueva sal amónica heterocíclica terciaria de penicilina G. Esta sal intermedia se trata luego con un formador de hidróxido álcali en un disolvente orgánico acuoso, y la correspondiente sal alcalina de penicilina G se recupera de la fase acuosa.

Se ha establecido con bastante certeza que la penicilina G, que a veces se llama penicilina bencílica tiene la fórmula estructural



donde R representa el grupo bencílico ($\text{CH}_2 - \text{C}_6\text{H}_5$). Otras formas de penicilina son de estructura similar, y sólo difieren en que el grupo bencílico es reemplazado por otros radicales orgánicos monovalentes, en general radicales de cinco o más átomos de carbono. Se han identificado penicilinas tales como la penicilina F, donde R es un Δ^2 -pentenil ($-\text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_3$); la dihidropenicilina F, en la cual R es n-amilo; la penicilina X, donde R es p-hidroxi-bencilo y la penicilina K, donde R es n-heptilo.

Aunque tanto los radicales hidrocarburoados saturados como los no saturados en R en la fórmula anterior dan productos que tienen actividad de penicilina, se ha comprobado



187312

que la penicilina G es más eficaz que algunas de las otras formas en terapéutica.

La penicilina se produce comercialmente como una mezcla de estos varios tipos que contienen pigmentos y material extraño. Como la penicilina G es una de las formas más activas, es deseable separarla de los tipos menos activos así como de impurezas extrañas.

Según un método de aislar penicilina G, descrito en un informe sobre la penicilina presentado por la Heyden Chemical Corporation al O.S.R.D. (O.S.R.D. nº H-II 5-22-44 y O.S.R.D. nº H-III 6-15-44) se añadió una solución etérea de dietilamina a una solución etérea de penicilina bruta y se efectuó una precipitación de impurezas. Al añadir más solución etérea de trietilamina a la solución de penicilina, se formó una mezcla de aceite y cristales. El éter se decantó de los cristales blancos de penicilina de trietilamina se lavaron con acetona. Se registró un procedimiento para convertir la penicilina de trietilamina en la sal sódica. Consistía en disolver la sal de trietilamina en agua, acidificar, extraer en éter y volver al agua por la adición en porciones de hidróxido sódico. Esta mezcla se congeló luego se secó al vacío y se recristalizó de butanol y agua. Pero el procedimiento anterior no da altos rendimientos de penicilina G y por tanto, no es de fabricación económica.

Un objeto de este invento es ofrecer un procedimiento para aislar y purificar penicilina G de una mezcla, procedimiento que puede realizarse fácilmente y no implica pérdidas importantes de penicilina.

Mirando en alguno de sus más amplios aspectos,



1873 12

el procedimiento del presente invento comprende tratar una solución de ácido penicilínico en disolvente orgánico con una solución en disolvente orgánico de una amina heterocíclica N-sustituída para formar la sal amínica terciaria de la penicilina G, recuperar
5 esta última combinación, disolver la sal en una mezcla orgánica acuosa, hacer reaccionar esta última mezcla hidróxido que forma álcali y recuperar la correspondiente sal alcalina de penicilina G de la fase acuosa.

Las soluciones de penicilina G a tratar por
10 el procedimiento del presente invento pueden resultar de operaciones previas de aislamiento o pueden prepararse disolviendo en agua una sal de penicilina, acidificando y extrayendo en un disolvente orgánico inmisible.

Puede emplearse cualquier solución de disolvente orgánico, como el agente disolvente para la formación de
15 sal en la práctica del presente invento, siempre que la sal amínica heterocíclica N-sustituída de la penicilina G sea insoluble en ella. Nosotros preferimos el acetato amílico, el éter o una mezcla de acetato amílico y acetona como disolvente.

Ejemplos de aminas heterocíclicas N-sustituídas adecuadas para nuestro invento son: N-metilpiperidina, N-etilpiperidina, N-metilmorfolina y N-etilmorfolina.

Por los términos hidróxido formador de álcali según se usan aquí se entiende cualquier hidróxido de metal alcalino o alcalinotérreo.
25

Según una realización preferida del presente invento, penicilina sódica, que es una mezcla de varios tipos de penicilina junto con pigmentos y materias extrañas, se disuelve



1949

1873 12

en agua y la solución se diluye con acetato amílico. Esta mezcla se hace reaccionar con suficiente ácido fosfórico para regular el pH de la solución a unos 2.7. Para evitar la descomposición de la penicilina debe observarse que esta reacción y las sub-
5 siguientes se realizan a temperatura aproximada de 0°C. Así la penicilina sódica se convierte en ácido penicilínico libre y se extrae en el acetato amílico. Los líquidos inmiscibles se separan y la capa acuosa se ~~agrega~~ trata con más acetato amílico y ácido fosfórico para recuperar cualquier penicilina activa que pueda
10 quedar en la capa acuosa. Los extractos de acetato amílico se combinan, lavan y secan con sulfato sódico anhidro, y la solución se diluye con acetona. La mezcla de acetato amílico y acetona que contiene el ácido penicilínico se hace reaccionar con N-etilpiperidina disuelta en acetona. La mezcla se agita duran-
15 te cosa de una hora durante la cual se completa la cristalización de la sal N-etilpiperidínica de penicilina G. Se recuperan los cristales de amarillo pálido, se secan por absorción y finalmente se secan en el vacío a 25°C.

La N-etilpiperidina es un precipitante esencialmente
20 cuantitativo de la penicilina G. En general la N-etilpiperidina de penicilina G obtenida por el presente invento es esencialmente pura, pero contiene cantidades pequeñas pero variables de pigmentos, según la pureza del material de partida. Se han ideado varios procedimientos para la purificación defi-
25 nitiva de la sal N-etilpiperidínica de la penicilina. Según un método, sal N-etilpiperidínica bruta de penicilina G se cristaliza de una solución de cloroformo y acetona. Esto se hace disolviendo primero la sal en cloroformo. La solución así formada



949

187312

5 se trata luego con una solución acuosa saturada de cloruro sódico, con lo cual la mayoría de las impurezas de pigmentos se extraen junto con cantidades insignificantes de penicilina en la capa acuosa. Las capas se separan y la solución de cloroformo se concentra a pequeño volumen. La solución de cloroformo concentrada de la sal N-etilpiperidínica de penicilina se trata luego con acetona y la mezcla se deja en reposo una hora, después de lo cual precipita la sal N-etilpiperidínica de penicilina G.

10 Un método alternativo para la cristalización de la sal N-etilpiperidínica bruta de penicilina G implica tratar una solución de la sal en cloroformo con una solución de cloruro sódico. La solución en cloroformo y las soluciones acuosas se separan y la de cloroformo se trata con butanol. El cloroformo se separa por evaporación y la sal N-étlica precipitada del
15 butanol. También se puede realizar esta reacción suprimiendo el tratamiento previo con cloruro sódico.

En general el procedimiento anterior es suficiente. Pero si se quiere ulterior purificación, la sal N-etilpiperidínica de penicilina G puede recrystalizarse disolviéndola en
20 cloroformo, concentrando la solución a pequeño volumen y diluyendo con acetona.

La conversión de la sal N-etilpiperidínica de penicilina G a penicilina sódica G o penicilina cálcica G se realiza disolviendo en agua la sal N-etilpiperidínica, y añadiendo acetato amílico. Se ~~añade~~ a la mezcla anterior suficiente hidróxido sódico o cálcico diluido para regular el pH de la solución
25 a unos 6.5. El álcali se añade en tal proporción que la temperatura de la reacción no rebase los 3°C. De esta manera la penicilina



187312

sódica o cálcica G se extrae en la capa acuosa y la N-etilpiperidina se extrae en el acetato amílico. Las dos capas se separan. La capa acuosa se lava con acetato amílico. Se recupera penicilina sódica amorfa de la solución acuosa congelando ésta y sacándola al vacío. Se obtiene un producto esencialmente puro. La N-etilpiperidina es soluble en acetato amílico y puede recuperarse de la capa de éste.

La penicilina sódica amorfa G así obtenida puede cristalizarse agitando el producto con butanol hasta que la solución se realiza. La cristalización empieza casi inmediatamente.

Si se usa como material de partida una penicilina de potencia muy baja del orden de 200 U/mg. a unas 400 U/mg. y de muy mal color, se ha comprobado que es preferido el tratamiento previo con piridina. Este procedimiento supone diluir una solución acuosa de penicilina de baja potencia con éter, regular el pH de la reacción a 2.5 y tratar la solución en éter con piridina. Las impurezas son expulsadas por la piridina y la capa aceitosa de impurezas se separa. La solución etérea purificada de penicilina se hace reaccionar luego con una solución etérea de amina heterocíclica N-sustituída para precipitar la sal amínica heterocíclica N-sustituída de la penicilina G.

Los siguientes ejemplos ilustran un procedimiento de realizar el presente invento, pero debe entenderse que se dan puramente como ilustrativos y no limitativos.

Ejemplo 1.

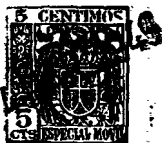
Una solución de 25.0 g. de penicilina sódica clínica (actividad 250 U/mg.) disuelta en 120 cm³ de agua desti-



1873 12

lada se enfrían a 0°C en un baño de hielo, con agitación y se diluye con 120 cm³ de acetato amílico frío. El pH de la solución agitada fría (0°C) se ajusta a 2.7 añadiendo una solución de 6.0 cm³ de ácido fosfórico al 85% en 44 cm³ de agua. La mezcla se
5 separa y la capa acuosa se trata con 25 cm³ de acetato amílico frío y suficiente solución de ácido fosfórico para regular el pH de la solución a 2.5. Es necesario mantener frías la solución de acetato amílico y la capa acuosa, en todo tiempo, para impedir la descomposición de penicilina. Las capas se separan y el
10 acetato amílico se combina con el extracto original. La extracción se repite con 25 cm³ más de acetato amílico. Los extractos combinados se lavan con 25 cm³ de agua destilada fría y se secan agitando con suficiente sulfato sódico anhidro (10-15g.) para dar una solución diáfana. El sulfato sódico se separa por filtra-
15 ción y se lava formando un lodo en el filtro con 10 cm³ de acetato amílico frío. El bio-ensayo de las soluciones acuosas obtenidas de la extracción y la operación de lavado no mostró importante actividad penicilínica.

140 cm³ de acetona fría se añaden a la solución de acetato amílico fría que contiene ácido penicilínico. A esta solución fría agitada se añade una solución fría de 8.0 g. de N-etilpiperidina en 40 cm³ de acetona, lo cual regula el pH de la solución a 7 con papel de acortinte. La mezcla se agita a 0°C durante una hora, en la cual se termina la cristalización
25 de la sal N-etilpiperidínica granular de penicilina G. Para facilitar la cristalización, se añaden semillas de la sal N-etilpiperidínica de penicilina G a la solución, después de añadir 20% de la solución de N-etilpiperidina. La solución se filtra



1873 12

y de los cristales se hace un lodo con 25cm³ de acetona, se filtra y se hace otro lodo con 25 cm³ de acetona. Luego el producto cristalino se absorbe durante una hora bajo un dique de goma y finalmente se seca a 25°C en el vacío. Así se obtuvieron 15.95 g. de un producto granular amarillo de una rotación óptica de $(\alpha)_{25}^D = 227^{\circ}$ medido en solución al 1/2% en agua, y con una actividad de 1.327 U/mg. que representa un 89.2% de recuperación de actividad. La N-etilpiperidina es un precipitante esencialmente cuantitativo para la penicilina G, para las hornadas clínicas altas en contenido G. La recuperación de actividad en este punto variará de hornada en hornada según el contenido de penicilina G. En este caso el contenido de penicilina G del material de partida se comprobó por otros métodos ser como de un 90%.

La cristalización de la sal N-etilpiperidínica bruta de penicilina G implica disolver 20.0 g. de la sal bruta en 85 cm³ de cloroformo. La solución coloreada amarilla se extrae con 1 x 9 cm³ seguidos de 1 x 5 cm³ de una solución saturada de cloruro sódico. Así la mayor parte del color se extrae en las capas acuosas. Los extractos acuosos combinados se lavan dos veces con porciones de 10 cm³ de cloroformo y los extractos de cloroformo casi incoloros se combinan con la solución de cloroformo principal. La solución de cloroformo se seca sobre 5-10 g. de sulfato sódico anhidro, se filtra y se concentra en el vacío a un volumen aproximado de 40 cm³. La mezcla se diluye con 100cm³ de acetona y se enfría a 0°C durante una hora, con lo cual precipita la sal N-piperidínica de penicilina G. Los cristales se separan de la solución por filtrado, se forman dos veces en lodo con un volumen mínimo de acetona y se secan a 25°C



1873 12

en el vacío. Los cristales así obtenidos tenían un punto de fusión de 156-157°C con descomposición y una rotación óptica de $(\alpha)_{25}^D = 239^\circ$ medidos en solución al 1/2% en agua. Se recuperaron 17.2 g. de sal esencialmente pura lo cual representaba una recuperación de 86%. Se obtiene una segunda cosecha concentrando a 3-4 cm³ de volumen y diluyendo con 30 cm³ de acetona. Se obtuvieron 0.43 g. de los deseados cristales con una rotación óptica de $(\alpha)_{25}^D = 239^\circ$, medidos en solución al 1/2%. Lo anterior representaba una recuperación total de 88.15%.

10 Un método alternativo de cristalizar sal N-etilpiperidínica bruta de penicilina G supone tratar la sal con cloroformo y butanol. 100 g. de sal N-etilpiperidínica bruta de penicilina G, obtenida como arriba se dice, se disuelven en 450 cm³ de cloroformo, se tratan con carbón vegetal activado y se diluyen con 500 cm³ de butanol. Luego la mezcla se concentra en el vacío hasta que se ha separado todo el cloroformo. La sal N-etilpiperidínica de penicilina G cristaliza en toda la concentración. La mezcla se enfría a 0°C durante 40 minutos, se filtra y lava tres veces con porciones de 100 cm³ de butanol frío, y luego dos veces más con porciones de 100 cm³ de acetona. El producto incoloro se seca a 25°C en el vacío.

25 Se obtiene una segunda cosecha concentrando en el vacío a unos 75 cm³, poniendo en salmuera, filtrando, lavando con acetona y secando en el vacío. Se obtuvieron 81.7 g. del producto deseado en la primera cosecha y 7.8 g. de la segunda. Esto representa una recuperación de 89.5%. Los cristales tenían una rotación óptica de $(\alpha)_{25}^D = 239^\circ$ medidos en solución al 1/2% en agua, y tenían un punto de fusión de 156-157°C con descomposición.



1949

187312

El tratamiento de una solución en cloroformo de la sal N-etilpiperidínica de penicilina G con salmuera, como arriba se describe, con subsiguiente dilución con butanol y concentración, da un producto incoloro en rendimiento de 83.6%. Estos cristales tenían una rotación óptica de $(\alpha)_{25}^D = 239^\circ$ medidos en solución al 1/2% en agua y un punto de fusión de 156-157°C con descomposición.

En general, la sal N-piperidínica de penicilina G es pura en este periodo y está esencialmente libre de pequeñas cantidades de pigmentos. Pero a veces, con materiales de partida más pobres, se necesita una segunda recristalización para separar los últimos vestigios de color. Esto se hace como sigue:

1 parte de la sal N-etilpiperidínica de penicilina G obtenida como arriba se dice se disuelve en unos 6 cm³ de cloroformo. La solución se concentra en el vacío a un volumen de unos 2 cm³ y se diluye con 18 cm³ de acetona. La mezcla se enfría en un baño de hielo a 0°C durante una hora para precipitar la sal N-etilpiperidínica de penicilina G. Luego la mezcla se filtra y de los cristales se hace dos veces todo con un volumen mínimo de acetona. El producto incoloro se seca a 25°C en el vacío. Se obtiene una recuperación como de 96%.

La sal N-etilpiperidínica de penicilina G se convierte en penicilina sódica pura disolviendo 6.0 g. de la sal N-etilpiperidínica pura en 35.8 cm³ de agua fría (sin bióxido carbónico) y cubriendo la capa acuosa con 67 cm³ de acetato amílico frío. La mezcla se agita a 0°C y se trata con 13.5 cm³ de hidróxido sódico 0.9955 N (sin carbonato). El álcali se añade en tal medida que la temperatura no rebase de 3%. Las dos capas



1873 12

se separan y la acuosa se extrae dos veces con 35 cm³ de acetato am
amílico frío. La capa acuosa cuyo pH es de 7 se congela y seca
en el vacío para dar 4.78 g. de penicilina sódica incolora y
esencialmente pura. Esto representa el 100% de la teoría. El
5 producto tenía una rotación óptica de $(\alpha)_{25}^D = -292.5^{\circ}$ cuando 100
mg se midieron en 25 cm³ de agua.

El bioensayo mostró S. aureus 1.652 U/mg.

Si se usa hidróxido cálcico en vez del sódico,
se obtiene penicilina cálcica pura G.

10 Lo anterior representa una recuperación ge-
neral de 76% de actividad de la penicilina clínica como penicili-
na sódica G. Análisis calculado de $C_{16}H_{17}N_2SO_4Na$:

C, 53.93; H, 4.81; N, 7.86

encontrado: C, 54.08; H, 5.02; N, 7.74

15 La N-etilpiperidina se recupera de la capa
de acetato amílico añadiendo ácido clorhídrico 2.5 n. al acetato
amílico hasta una acidez para humedecer al Congo. . Las capas
se separan y la acuosa se hace alcalina con 30% de hidróxido
sódico. La N-etilpiperidina se separa, se seca sobre píldoras
20 de hidróxido potásico y se destila a la presión atmosférica.

La cristalización de la penicilina sódica G
así obtenida, se realiza agitando una mezcla de 5.0 g. del pro-
ducto y 15 cm³ de butanol hasta que la penicilina sódica G se
disuelve y luego cristaliza de la solución. La mezcla se enfría
25 a 0°C durante 5 horas, se filtra, se reduce a lodo dos veces
con un volumen mínimo de acetona y se seca en el vacío. Se
obtienen 4.66 g. (93.2% de recuperación de penicilina sódica
cristalina G).



4 MAR 1949

187312

Ejemplo 2

5 Dos litros de una solución acuosa que contiene penicilina de baja potencia (actividad del sólido seco unas 300 U/mg.) se enfrían a 0°C y se agitan con 1.200 ml. de éter congelado libre de alcohol. El pH de la solución se regula a 2.5
añadiendo a gotas 150 ml. de ácido fosfórico al 10%. La capa de
10 agua se separa y se añaden 500 ml. de éter helado. Luego se añaden 50 ml. de ácido fosfórico al 10% para regular a 2.2 el pH de la solución acuosa. Las capas se separan y el agua se extrae
de nuevo con 300 ml. de éter helado. Los extractos etéreos combinados se lavan dos veces con porciones de 200 ml. de agua helada, se secan sobre sulfato sódico anhidro y se filtran.

15 Se añaden 100 ml. de una solución al 10% de piridina en éter a la solución etérea obtenida como se dice, con agitación. Al cabo de una hora las capas de éter se han separado y la capa de éter se decanta.

20 La solución etérea se enfría a 0°C y se añaden en porciones, en un período de 4 horas, 300 ml. de una solución al 10% de N-etilpiperidina en éter. La solución se deja en reposo durante 14 horas, y luego el éter que se ha separado del material cristalino se decanta y se conserva la mezcla de aceite y cristales que queda se agita con 300 ml. de acetona y se añade
25 300 ml. de éter hasta que se observa ligera nube. Luego la mezcla se deja en reposo durante 12 horas y se filtra. De los cristales se hace un lodo con 200 ml. de acetona helada, se lavan a fondo en el filtro con acetona fría y se secan. Este material se recristaliza disolviéndolo en 100 ml. de cloroformo a 50°C, añadiendo 800 ml. de acetona, helando durante 12 horas, filtrando



187312

lavando y secando. Estos cristales que son la penicilina N-etilpiperidínica G, tienen puntos de fusión de 156-157°C, con descomposición, y una rotación óptica de $(\alpha)_{25}^D = +238^\circ$ cuando 7 mg. se miden en 2 ml. de agua.

5

Análisis calculado para $C_{23}H_{32}N_3O_4S$

C, 61.71; H, 7.43; N, 9.39

encontrado: C, 61.70; H, 7.36; N, 9.33

Se obtiene una segunda cosecha de cristales concentrando los líquidos madres a 20 ml. en el vacío a 25°C y añadiendo 10 ml. de cloroformo y 120 cm³ de acetona. Luego la mezcla se hiela durante 12 horas, se filtra, se lava y se seca. Estos cristales tienen un punto de fusión de 156-157°C.

10

Análisis calculado para $C_{23}H_{32}N_3O_4S$

C, 61.71; H, 7.43; N, 9.39

encontrado: C, 61.44; H, 7.53; N, 9.47

15

30 g. de la sal N-etilpiperidínica de penicilina G se disuelven en 100 ml. de agua helada y se agitan con 250 ml. de solución etérea. A esta solución se añaden en porciones 50 ml. de una solución fría de ácido fosfórico al 10%, con agitación para regular a 2.5 el pH de la solución. Las capas se separan y la acuosa se extrae con 100 ml. de éter y se añaden 3 ml. de ácido fosfórico al 10% para regular el pH de la solución a 2.2. Los extractos etéreos se combinan y lavan con dos porciones de 50 ml. de agua helada, que se combinan, neutralizan y dejan aparte. La solución etérea se extrae en 100 ml. de agua helada añadiendo a porciones 26 ml. de solución de hidróxido sodico 2.5 n fría para dar un pH de 6.0. Las capas se separan y el éter se extrae de nuevo con 50 ml. de agua helada a la que se

20

25



187312

añaden 4 ml. de álcali para ajustar el pH a 6.5. Se hace otro extracto de 25 ml. a pH 7.2. Los extractos se combinan y el pH de la solución se regula a 6.2 con unas cuantas gotas más de álcali. Luego la solución se hiela y seca en el vacío para producir penicilina sódica amorfa G.

Si se usa hidróxido cálcico en vez de hidróxido sódico se obtiene penicilina cálcica pura G.

El producto amorfo así obtenido se disuelve en 90 ml. de mezcla de acetona y agua al 85%, se filtra y se añaden 900 ml. de acetona. De la solución cristaliza penicilina sódica G. La reacción continúa 12 horas. Luego la solución se filtra, y los cristales se lavan bien con acetona y se secan. Este material cristaliza disolviéndole en 95 ml. de butanol saturado con agua. Esta solución se filtra, se añaden 50 cm³ de butanol al filtrado y la solución se deja en reposo toda la noche. Luego se filtra, se lava con acetona y se seca. La penicilina sódica obtenida tenía una rotación óptica de $(\alpha)_D^{25} = + 2982$ medida en agua.

Análisis calculado para $C_{16}H_{17}N_2O_4SNa$

C, 53.93; H, 4.81; N, 7.86

encontrado: C, 53.74; H, 4.95; N, 7.93

Las diversas fracciones obtenidas pueden convertirse en penicilina sódica clínica. La recuperación de estas fracciones se realiza en la forma usual.

Ejemplo 3

Según un procedimiento similar al descrito en el ejemplo 2, penicilina sódica se convierte en la sal N-metilpiperidinaca de penicilina G. La penicilina sódica (actividad unas 1000



1873 12

U/mg) se disuelve en agua para hacer la solución rica en agua, se acidifica y se extrae en éter. La solución etérea se enfría, se trata con piridina y las impurezas se separan con la capa de piridina. Se añade una solución etérea de N-metilpiperidina a la capa de éter así obtenida y se recupera la sal N-metilpiperidinica de penicilina G. El producto se purifica como arriba se describe. La N-metilpiperidina así obtenida tiene un punto de fusión de 135-136°C y una rotación óptica de $(\alpha)_D^{25} = + 244^\circ$ cuando 100 mg. se miden en 2 ml. de agua.

10

Ejemplo 4

Según un procedimiento similar al descrito en el ejemplo 2, la penicilina sódica se convierte en la sal N-etilmorfolínica de penicilina G. Una solución rica en penicilina (62.000 U/ml.) se acidifica y se extrae en éter. La solución etérea se enfría, se trata con piridina y las impurezas se separan con la capa de piridina. Se añade una solución etérea de N-etilmorfolina a la capa de éter así obtenida y se recupera la sal N-etilmorfolínica de penicilina G. El producto se purifica de la manera arriba descrita. Estos cristales tienen un punto de fusión de 140-141°C y una rotación óptica $(\alpha)_D^{25} = 258^\circ$ cuando 10 mg. se miden en 2 ml. de agua.

15

20

Análisis calculado para $C_{22}H_{21}N_3O_5S$

C, 58.77; H, 6.95; N, 9.34

encontrado: C, 58.78; H, 7.39; N, 9.30

25

- O - N O T A - O -

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta Patente de Invención en



1873 12

España, por VEINTE años, son los siguientes:

1.^a - Un procedimiento que comprende hacer reaccionar una solución en disolvente orgánico de ácido penicilínico con una solución en disolvente orgánico de una amina heterocíclica terciaria para formar la sal amínica heterocíclica terciaria de penicilina G.

2.^a - Un procedimiento según se reivindica en el punto 1.^a, en el cual la amina heterocíclica terciaria es N-etilpiperidina.

3.^a - Un procedimiento según se reivindica en el punto 1.^a, en el cual la amina heterocíclica terciaria es N-metilpiperidina.

4.^a - Un procedimiento según se reivindica en el punto 1.^a, en el cual la amina heterocíclica terciaria es N-etilmorfolina.

5.^a - Un procedimiento que comprende hacer reaccionar una solución en disolvente orgánico de ácido penicilínico con piridina, separar éste y hacer reaccionar la solución restante con una solución en disolvente orgánico de una amina heterocíclica N-sustituída para formar la correspondiente sal amínica terciaria de penicilina G.

6.^a - Un procedimiento según se reivindica en el punto 3.^a, en el cual la sal amínica heterocíclica terciaria de penicilina G formada se trata con un hidróxido formador de álcali en presencia de una solución acuosa en disolvente orgánico, y se recupera la correspondiente sal alcalina de penicilina G de la fase acuosa.

7.^a - Un procedimiento según se reivindica



1873 12

en el punto 6^a, en el cual la sal amínica heterocíclica terciaria de penicilina G es la sal N-etilpiperidínica.

5 8^a. - Un procedimiento según se reivindica en el punto 6^a, en el cual la sal amínica heterocíclica terciaria de penicilina G es la sal N-metilpiperidínica.

9^a. - Un procedimiento según se reivindica en el punto 6^a, en el cual la sal amínica heterocíclica de penicilina G es la sal N-etilmorfolínica.

10 10^a. - Un procedimiento según se reivindica en el punto 6^a en el cual el hidróxido formador de álcali es hidróxido sódico.

11^a. - Un procedimiento según se reivindica en el punto 6^a, en el cual el hidróxido formador de álcali es hidróxido cálcico.

15 12^a. - Un procedimiento que comprende hacer reaccionar acetato amínico y una mezcla de acetona de ácido penicilínico con una solución en acetona de una N-metilpiperidina amínica heterocíclica terciaria para formar la correspondiente sal de penicilina G, purificar esta última combinación, disolver
20 la combinación purificada en agua y acetato amínico, tratar esta última mezcla con un hidróxido formador de álcali y recuperar la correspondiente sal alcalina de penicilina G de la fase acuosa.

25 13^a. - Un procedimiento según se reivindica en el punto 12^a, en el cual el hidróxido formador de álcali es hidróxido sódico.

14^a. - Un procedimiento según se reivindica en el punto 12^a, en el cual el hidróxido formador de álcali es hidróxido cálcico.



31 MAY 1949

187312

15^a. - Un procedimiento para preparar una sal amónica de penicilina G, virtualmente como se describe.

16^a. - Un procedimiento para preparar una sal alcalina de penicilina G virtualmente como aquí se describe.

5

17^a. - Un procedimiento para el aislamiento y purificación de penicilina G.

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

10

Esta Memoria consta de diecinueve hojas escritas por una sola cara.

31 MAY 1949

Madrid,

P. A.

Alberto de Elzaburu
Por Poder

DG/.