

P.- 7339.-

Case 2.585.-

187377

187377

- 9 MAR. 1949

MALA REPRODUCCION  
POR DEFECTO DEL ORIGINAL

MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar

PATENTE DE INTRODUCCION

en

E S P A Ñ A

por DIEZ 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 DE PREPARAR SALES COMPLEJAS DE ESTREPTOMICINA

Este invento se refiere a la preparación de sales cristalizadas de estreptomicina, nuevas y terapéicamente útiles, particularmente sales complejas de estreptomicina que contienen sales inorgánicas, y más particularmente a la preparación de complejos cristalizados de estreptomicina que contienen haluros de metales alcalino-térreos.



187377

5 Por Schatz, Bugie, y Wakeman (Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 55, 66-69 (1944), ha sido demostrado que la estreptomocina se obtiene de productos de elaboración formados en el cultivo del micro-organismo S. griseus en un medio adecuado de cultivo, por adsorción sobre carbón activado seguida por elución con un disolvente ácido en una forma similar a la usada para obtener estreptotricina (Proc. Soc. of Exp. Biol. & Med. 49, 207-212 (1942). Los productos, tal como el hidrocloreuro de estreptomocina, que se obtienen de este modo están en forma de concentrados brutos con una potencia generalmente menor de 50U/mgr. (Una unidad de actividad es aquella cantidad de material que inhibirá el crecimiento de una raza normal de Escherichia coli en un ml. de un medio de cultivo adecuado).

15 Pueden prepararse concentrados de potencia muy incrementada por un procedimiento de adsorción y elución selectivas según se describe en la solicitud norteamericana N° 601.337 presentada el 23 de junio de 1945, y la preparación de una sal heliantínica cristalizada de estreptomocina puede hacerse según se describe en la solicitud norteamericana N° 601.335 presentada el 23-junio-1945. Los concentrados de hidrocloreuro de estreptomocina con una actividad del orden de 600 U o más por mgr. obtenidos por el procedimiento de adsorción y elución o reconvirtiendo la sal heliantínica en el hidrocloreuro, son de gran pureza y terapéuticamente  
20 útiles. Sin embargo, estos productos no son adecuados para su uso extensivo ya que no son compuestos químicamente puros, susceptibles de standardización por ensayos puramente químicos.  
25



187377

y deben estandarizarse tanda por tanda por ensayos en cuanto a su actividad fisiológica.

5 Se ha descubierto ahora, de acuerdo con el presente invento, que ciertas sales ácidas inorgánicas, particularmente los haluros de metales alcalino-térreos, se combinan químicamente con sales ácidas de estreptomina en un medio disolvente adecuado para formar sales complejas cristalizadas que contienen tanto la sal ácida de estreptomina como la sal ácida inorgánica. Estas sales complejas son de gran potencia y por recristalización pueden obtenerse en forma esencialmente pura. La sal ácida inorgánica combinada, por ser en sí misma esencialmente no tóxica, no menoscaba el valor terapéutico del producto. Así por vez primera, se dispone de la estreptomina en una forma que, no sólo tiene valiosas propiedades terapéuticas, sino que también puede producirse, distribuirse y administrarse en una forma practicable.

10 En una solicitud norteamericana de patente n.º 612.558 presentada el 24 de agosto de 1945 se ha descrito la preparación de sales complejas de la sustancia antibiótica muy afín, estreptotricina.

25 Considerados en ciertos de los aspectos más amplios los nuevos detalles incorporados en el presente invento comprenden sales dobles complejas de estreptomina consistentes en una sal ácida de estreptomina y un haluro de metal alcalino-térreo; y el procedimiento de preparar las mismas por reacción de una sal ácida de estreptomina con un haluro de metal alcalino en un medio disolvente y separando



187377

la sal compleja así formada disminuyendo en solubilidad en el medio disolvente y separando por cristalización la sal compleja de estreptomina virtualmente pura. La solubilidad de la sal compleja en el medio disolvente puede disminuirse, ya evaporando parte del disolvente, ya añadiendo un disolvente miscible en el cual el complejo sea ligeramente soluble.

Al preparar sales complejas de estreptomina de acuerdo con el presente invento, se emplean con preferencia sales ácidas de estreptomina de potencia desde moderadamente alta a alta, es decir, sales ácidas con una actividad del orden de 300 U/mgr. o mayores. Las sales ácidas que tienen una actividad o potencia por debajo de unas 300 U/mgr. son generalmente tan impuras que es difícil o imposible recuperar un complejo cristalizado. Las sales ácidas impuras de esta clase pueden purificarse fácilmente para lograr un material con una actividad de más de 300 U/mgr. por uno o más tratamientos con alúmina, según se describe en la solicitud norteamericana no 601.337 a que antes se ha aludido.

La reacción entre la sal ácida de estreptomina y un haluro de metal alcalino-térreo se efectúa en presencia de un disolvente orgánico u orgánico-acuoso, o en una mezcla de disolventes orgánicos, en los cuales la sal ácida de estreptomina y el haluro de metal alcalino-térreo, así como el complejo resultante, sean libremente solubles (es decir, una parte de sustancia se disolverá en 1-10 partes de disolvente). Al mismo tiempo, el disolvente elegido no debe ser uno en el cual el complejo sea demasiado soluble, a causa de la dificultad en cristalizar el complejo desde tal disolvente.



1949

187377

5 Se ha comprobado que el mejor disolvente aislado a usar en la formación y recuperación del complejo cristalizado, es el metanol, y que los mejores disolventes mezclados son el metanol acuoso, y el metanol-etanol en las proporciones de aproximadamente 1:2 y 5:4, respectivamente. Otros disolventes orgánicos tales como el propanol, el isopropanol, y similares, pueden combinarse con agua o con metanol para dar disolventes mezclados con la solubilidad deseada para los materiales de partida y para el producto final, como antes se ha descrito.

10 La sal compleja formada en la reacción es separada del medio disolvente disminuyendo la solubilidad de la sal compleja en los medios disolventes y separando luego por cristalización la sal compleja. Esto puede conseguirse evaporando parte del disolvente con preferencia a presión reducida o añadiendo un disolvente miscible en el cual la sal compleja es sólo ligeramente soluble. A modo de ilustración, la solubilidad del complejo hidrocloreto de estreptomicina-cloruro de calcio en metanol es aproximadamente de una parte por cinco partes de metanol, al paso que la solubilidad en etanol es aproximadamente de una parte por 100 partes de etanol. Añadiendo una o más partes en volumen de etanol a una solución del complejo en metanol, con preferencia mientras se calienta la solución en metanol a aproximadamente 50 a 60°C, la solubilidad del complejo en la mezcla disolvente resultante se reduce considerablemente y la precipitación o cristalización del complejo tiene lugar sin evaporación de disolvente. La sal compleja obtenida por



187377

cualquiera de los procedimientos citados puede purificarse fácilmente disolviendo en un disolvente o mezcla disolvente, que no han de ser necesariamente los mismos que el originalmente empleado, y recristalizando el producto de los mismos.

5                    Como materiales de partida pueden emplearse varias sales ácidas de estreptomycin. Los hidroháluros, tales como el hidrocioruro, el hidrobromuro, y el hidroyoduro, son los más convenientes, aunque pueden usarse también otras sales ácidas y notablemente la sal heliéntica de estreptomycin. Estas pueden hacerse reaccionar con un haluro de metal alcalino-térreo tal como el cloruro de calcio, el bromuro de calcio, el cloruro de estroncio y similares, por  
10                    mezcla a la temperatura ambiente en un disolvente del tipo arriba descrito.

15                    Cuando un hidroháluro de estreptomycin se emplea como la sal ácida, se añade junto con un haluro de metal alcalino-térreo al disolvente seleccionado con agitación para efectuar una disolución completa. La solución resultante es luego evaporada e concentrada hasta un volumen tal  
20                    que tiene lugar la cristalización de la sal compleja. La cristalización, generalmente, comenzará cuando la solución contiene del orden de 10-40 % de sólidos, dependiendo del disolvente particular que se use. La evaporación e concentración pueden efectuarse en un desecador parcialmente eva-  
25                    cuado (0.5-0.75 atm.) sobre cloruro de calcio o por evacuación continua a presión reducida. La mejor cristalización se obtiene por evaporación lenta a presiones entre 0.5-0.75 atmósferas, pero una concentración más rápida al vacío a pre-



siones de 30 mm. de mercurio o menos no **187377** andi-  
miento ni la calidad de la sal compleja recuperada.

Después de una concentración o evaporación adecuadas,  
la solución resultante de la sal compleja se deja reposar  
5 para permitir la máxima formación de cristales. Luego los  
cristales se separan por filtración, se lavan con disolven-  
tes adecuados, tales como metanol o una mezcla metanol-eta-  
nol, seguida por etanol y se secan, mientras las aguas madres  
pueden seguirse concentrando para dar cantidades adicionales  
10 de cristales. Los cristales pueden secarse por calen-  
tamiento a unos 25°C. en el vacío, y finalmente calentando  
hasta peso constante a 100°C. en el vacío.

Las sales complejas son muy higroscópicas y es di-  
fícil, por consiguiente, obtener puntos de fusión caracterís-  
15 ticos. Los puntos de fusión parecen ser del orden de 200°C.  
con descomposición. Las sales complejas son ópticamente  
activas, sin embargo, y la rotación óptica sirve como buena  
medida de la pureza de los productos. Así, el complejo  
puro hidrocioruro de estreptomina-cloruro de calcio, des-  
20 pués de recristalización desde metanol-etanol y secado a  
100°C. en el vacío tiene una rotación  $(\alpha)_D^{25} = + 77^\circ$   
(c. 0.882 % en agua) y una actividad de unas 750 U/mgr.

aun cuando no se conoce todavía la verdadera fórmula estruc-  
tural de la estreptomina o de la sal compleja hidrocioruro-  
25 cloruro de calcio, se cree que la fórmula empírica para el  
complejo es  $(C_{21}H_{39}N_7O_{12} \cdot 3HCl)_2 \cdot CaCl_2$ . Para esta fórmula,  
los valores calculados son C = 33.79 %; H = 5.67 %; N = 13.14 %  
Cl = 19 %; y Ca = 2.68 %. Por análisis C = 33.67 %; H =  
5.79 %; N = 13.3 %; Cl = 19.48 %; y Ca = 2.87 %.

187377



949

MALA REPRODUCCION  
POR DEFECTO DEL ORIGINAL

5 Cuando como material de partida se emplea la sal heliantínica de estreptomocina se usa una cantidad de cloruro de calcio o similar que sea suficiente para reaccionar primero con la sal de estreptomocina para formar heliantato de calcio insoluble e hidrocioruro de estreptomocina, y para formar luego el complejo de cloruro de calcio. El heliantato de calcio insoluble se separa por filtración y luego el filtrado se evapora a un volumen conveniente para separar por cristalización el complejo en la forma anteriormente descrita. La separación metatética de heliantina como la sal insoluble de calcio parece avanzar más suavemente cuando se añade una cantidad muy pequeña de ácido clorhídrico a la mezcla de reacción que lleve el pH a aproximadamente 4.

15 Cuando se ha indicado que la sal ácida de estreptomocina de partida debe tener una actividad de aproximadamente 300 U/mgr. o más, debe notarse que las variaciones en potencia por encima de 300 U/mgr. no afectan apreciablemente a la pureza del producto cristalizado obtenido.

20 Los ejemplos siguientes ilustran varios métodos de realizar el presente invento, pero ha de entenderse que estos ejemplos se dan a modo de ilustración, y no de limitación.

E J E M P L O 1.

25 A unos 2 gra. de hidrocioruro de estreptomocina con una actividad de unas 315 U/mgr. se le añaden aproximadamente 1.5 gra. de cloruro de calcio y como 10 cc. de metanol. La solución clara resultante se evapora lentamente



187377

sobre cloruro de calcio a presión ligeramente reducida (unas 2/3 atm.) después de sembrar con un diminuto cristal de complejo hidrocioruro de estreptomocina-cloruro de calcio.

5 Al reposar durante la noche la primera cosecha de cristales que se separa se aísla por métodos convencionales y se seca a 25°C. al vacío. La sal compleja así obtenida tiene una rotación  $(\alpha)_D^{25} = -69^\circ$  (c. 0.97 % en agua) y una actividad in vitro de aproximadamente 630 U/mgr.

E J E M P L O II.

10 a aproximadamente 1.31 grs. de hidrocioruro de estreptomocina con una actividad de aproximadamente 800 U/mgr. se le añaden como 4 cc. de metanol y unos 609 mgr. de cloruro de calcio. La solución resultante se filtra y se deja evaporar lentamente sobre cloruro de calcio a presión ligeramente reducida (aprox. 2/3 atm.). La primera cosecha de cristales formados al reposar durante la noche se aísla por procedimientos convencionales y una segunda cosecha de cristales se aísla después de ulterior evaporación de las aguas madres de la primera recogida. La sal compleja hidrocioruro de 15 20 estreptomocina-cloruro de calcio obtenida en las recogidas una y dos tiene las propiedades físicas que se indican a continuación

	$(\alpha)_D^{25}$	Actividad U/mgr.	N Por ciento	Ca Por ciento
Recogida I	-73° (c. 1.47 en agua)	747	12.56	3.78
Recogida II	-71° (c. 0.593 en agua)	730	12.52	3.92



187377

EJEMPLO III.

A unos 5 grs. de heparato de estreptomicina en unos 150 cc. de metanol se les añaden como 1.2 grs. de cloruro de calcio disueltos en unos 25 cc. de metanol. La solución se calienta y se filtra por carbón vegetal activado para eliminar el heparato cálcico formado en la reacción. El filtrado claro incoloro es concentrado a presión reducida (0.5-0.75 atm) a un volumen de aproximadamente 10.15 cc. durante cuyo tiempo se separa un depósito cristalino. Este producto cristalino es separado por filtración, lavado sucesivamente con pequeñas cantidades de metanol, mezcla de 1:1 de metanol-etanol y etanol y se seca al vacío sobre pentóxido fosforoso a la temperatura ambiente. El complejo hidrocloreto de estreptomicina-cloruro de calcio así obtenido tiene una rotación  $(\alpha)_D^{25} = -76^\circ$  (c. 1.0 % en agua) y una actividad in vitro de unos 750 U/mgr. La ulterior concentración de las aguas madres determina la separación de una segunda recogida de cristales que, cuando se aíslan como antes se ha descrito, tienen una rotación  $(\alpha)_D^{25} = -75^\circ$  (c. 1.0% en agua) y una actividad in vitro de unas 730 U/mgr. Se obtienen pequeñas cantidades adicionales de la sal compleja cristalizada concentrando las aguas madres de la segunda recogida de cristales.

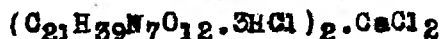
EJEMPLO IV.

El procedimiento del ejemplo III se repite y las cosechas primera y segunda de producto cristalizado combinadas se redisuelven en unos 25 cc. de metanol caliente (50-60°C), se filtran, se concentran a la mitad del volumen



187377

y se diluyen con 10 cc. de etanol. Después de sembrar se separan lentamente cristales de la sal compleja hidrocioruro de estreptomina-cloruro de calcio y la cristalización se deja continuar durante unos 3 días. El producto cristalizado así formado se separa por filtración, se lava con etanol y se seca en el vacío a 100°C. a peso constante. Esta sal compleja virtualmente pura tiene una rotación óptica  $(\alpha)_D^{25} = -70^\circ$  (c. 0.882 % en agua), una actividad de unas 750 U/mgr. y funde a unos 200°C. con descomposición (la determinación del punto de fusión es difícil, y los resultados no son bien definidos debido a la naturaleza muy higroscópica de la sal compleja). Por análisis se comprueba que contiene 33.67 % de C, 5.79 % de H, 13.13 % de N, 19.48 % de Cl y 2.87 % de Ca. lo que corresponde favorablemente a la fórmula empírica



con valores calculados de 33.79 % de C, 5.67 % de H, 13.14% de N, 19% de Cl y 2.68% de Ca.

Se obtienen resultados similares disolviendo la sal compleja obtenida por el procedimiento del ejemplo III en metanol acuoso 1:9, etanol acuoso 1:4 u otra mezcla acuosa de un alcohol alifático inferior en la cual la sal compleja sea libremente soluble, y recristalizando la sal compleja como antes se ha descrito.

EJEMPLO V.

A unos 84 mgr. de hidrocioruro de estreptomina con una actividad de unas 750 U/mgr. se le añaden como 0.51 cc. de metanol y unos 33 mgr. de bromuro de calcio.

187377

5 La mezcla se agita hasta que la solución sea completa y luego se deja reposar en un desecador sobre cloruro de calcio a presión ligeramente reducida (unas 0.5-0.75 atm.) para efectuar una evaporación lenta del disolvente. Los finos cristales aciculares que se forman así se separan por filtración, se lavan con metanol y se secan en el vacío a 56°C. durante unas dos horas. La sal compleja cristalizada hidrocloreto de estreptomicina-bromuro de calcio así obtenida tiene una rotación  $(\alpha)_D^{25} = -72^\circ$  (c. 0.667 en agua) y una actividad in vitro de unas 690 U/mgr.

10 • J E M P L O VI.

15 A unos 82 mgr. de hidrocloreto de estreptomicina con una actividad de unas 750 U/mgr. se le añaden como 0.51 cc. de metanol. Cuando están completamente disueltos se disuelven en la solución, con agitación, unos 31 mgr. de cloruro de estroncio exahidrato. La solución se deja reposar luego en un desecador sobre cloruro de calcio bajo presión ligeramente reducida (como 0.5-0.75 atm.) para efectuar la lenta evaporación del disolvente. Una semilla diminuta de complejo hidrocloreto de estreptomicina-cloruro de estroncio se añade para iniciar la cristalización. A medida que continúa la evaporación, se separan de la solución rosetas de finos cristales de la sal compleja hidrocloreto de estreptomicina-cloruro de estroncio. Estos cristales, después de separación por filtración, lavado con metanol y etanol y secado en vacío a 56°C. durante unas dos horas, tienen una rotación  $(\alpha)_D^{25} = -73^\circ$  (c. 0.53 % en agua) y una actividad in vitro de unas 628 U/mgr.



187377

EJEMPLO VII.

Unos 30 gr. de heliantato de estreptomocina se disuelven en unos 900 cc. de metanol calentado a unos 50-60°C. A la solución caliente se le añade una solución de 7.2 grs. de cloruro de calcio en 50 cc. de metanol. Se añaden unas tres gotas de ácido clorhídrico concentrado para ajustar el pH a aproximadamente 4 y la mezcla se filtra a través de carbón activado. El filtrado es concentrado en un concentrador de vacío a una presión de unos 30 mm. de mercurio hasta un volumen de unos 75 cc. y se deja reposar a la temperatura ambiente. Comienzan a separarse cristales aciculares dentro de un corto tiempo. Después de reposar durante la noche, los cristales del complejo hidrocloreuro de estreptomocina-cloruro de calcio se aíslan por filtración y se secan: rendimiento 9.2 gr. El filtrado de la primera recogida de cristales se concentra todavía a un volumen de unos 30 cc.. Al reposar se obtiene una segunda recogida de cristales, 2.3 grs. Se obtiene un ulterior rendimiento de cristales de 1.1 gr. por concentración del segundo filtrado. A continuación se dan los datos de las dos primeras recogidas de cristales después de secado a 100°C. en el vacío.

Recogida	Peso gr.	Actividad U/mgr.	25 (d) en agua	Análisis		
				C	H	N
I	9.2	753	-76%	33.73	5.78	13.18
II	2.3	756	-76%	33.67	5.77	12.94

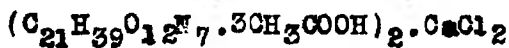


1949

187377

E J E M P L O VIII.

Unos 395 mgr. de acetato de estreptomicina  
 $(\alpha)_D^{25} = -42^\circ$  (c. 1.64 % en agua), actividad unas 600  
 U/mgr. y como 194 mgr. de cloruro de calcio se disolvieron  
 en unos 10 cc. de metanol, se filtraron y se evaporaron  
 lentamente hasta unos 3 cc. bajo presión ligeramente redu-  
 cida. Durante la evaporación se separaron agrupaciones de  
 cristales aciculares. Estos cristales se aislaron, se la-  
 varon con metanol y se secaron en el vacío a 25°C. El com-  
 plejo acetato de estreptomicina-cloruro de calcio, crista-  
 lizado (como unos 168 mgr., tiene una rotación  $(\alpha)_D^{25} = 43.7$   
 (c. 1.49 % en agua) y una actividad de unas 500 U/mgr.  
 El calcio está presente en los cristales y el ácido acético  
 presente se comprueba, por análisis, que es 19.7 % (ácido  
 acético calculado, 22 %, para



E J E M P L O IX.

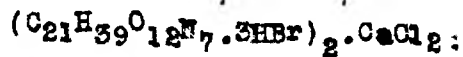
Unos 489 mgr. de hidrobromuro de estreptomicina  
 $(\alpha)_D^{25} = -70^\circ$  (c. 1.72 % en agua), actividad unas 600 U/mgr.,  
 y unos 243 mgr. de cloruro de calcio se disuelven en unos 10  
 cc. de metanol, se filtran y se evaporan lentamente hasta  
 unos 3 cc. bajo presión ligeramente reducida. Durante la  
 evaporación, se separan grupos de cristales aciculares.  
 Estos cristales se aíslan, se lavan con metanol seco, y se  
 secan al vacío a 25°C. El complejo cristalizado hidrobre-  
 muro de estreptomicina-cloruro de calcio (unos 128 mgr.)  
 tiene una rotación  $(\alpha)_D^{25} = -63.5^\circ$  (c. 1.47 % en agua) y una  
 actividad de unas 550 U/mgr. El calcio está presente en

9 MAR 1949



187377

los cristales, y el análisis elemental da los resultados siguientes: Encontrado: C = 28.94 %; H = 5.29 %. Calculado para



5 C = 28.6 %; H = 4.80 %.

El vocablo "complejo" se usa en toda la Memoria y en las reivindicaciones para denotar composiciones que tiene forma cristalina definida que pueden ser aisladas repetidamente con arreglo a procedimientos descritos; que  
10 tienen composición química constante; y de las cuales los componentes no pueden separarse por medio de procedimientos físicos tales como cristalización y similares.

Al llevar a la práctica el presente invento pueden hacerse modificaciones sin apartarse por ello del espíritu y del alcance del mismo y el invento sólo ha de quedar  
15 limitado por las reivindicaciones anejas.

- F O T A -

Los puntos de invención propia, no nueva, pero no establecida, practicada ni divulgada que se presentan  
20 para que sean objeto de esta Patente de Introducción en España, por DIEZ años, son los siguientes:



187377

12.- El procedimiento de preparar una sal doble compleja consistente en una sal ácida de estreptomina y un haluro de metal alcalino-térreo, que comprende hacer reaccionar una sal ácida de estreptomina con un haluro de metal alcalino-térreo en un medio disolvente en el cual estos reactivos y el complejo correspondiente sean libremente solubles, y separar la sal compleja así formada disminuyendo su solubilidad en el medio disolvente y separando por cristalización la sal compleja de estreptomina virtualmente pura

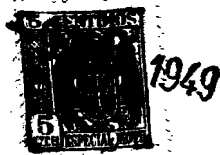
21.- Un procedimiento según se reivindica en el punto 12, en el cual la solubilidad de la sal compleja en el medio disolvente es disminuída evaporando al menos parte del disolvente.

22.- Un procedimiento según se reivindica en el punto 2, en el cual al menos parte del disolvente es evaporado a presión reducida.

41.- Un procedimiento según se reivindica en el punto 1, en el cual la solubilidad de la sal compleja en el disolvente es disminuída añadiendo a la solución de reacción, después de terminada la reacción, un disolvente miscible en el cual el complejo sea sólo ligeramente soluble.

51.- Un procedimiento según se reivindica en cualquiera de los puntos 1 a 4, en el cual la sal compleja se recristaliza desde un disolvente, y el producto cristalizado así obtenido se seca hasta peso constante en el vacío a unos 100°C.

61.- Un procedimiento según se reivindica en cual



187377

quiera de los puntos 1 a 5, en el cual la reacción se lleva a cabo en metanol como disolvente.

5 7º.- Un procedimiento según se reivindica en cualquiera de los puntos 1-5, en el cual la reacción se lleva a cabo en una mezcla acuosa de alcohol alifático inferior, tal como etanol acuoso, como disolvente.

10 8º.- Un procedimiento según se reivindica en cualquiera de los puntos 1 a 5, en el cual la reacción se lleva a cabo en una mezcla de alcoholes alifáticos inferiores, tales como mezcla metanol-etanol, como disolvente.

9º.- Un procedimiento según se reivindica en cualquiera de los puntos 1 a 8, en el cual una sal ácida inorgánica de estreptomina se hace reaccionar con un haluro de metal alcalino-térreo.

15 10º.- Un procedimiento según se reivindica en el punto 9, en el cual un hidrohuluro de estreptomina se hace reaccionar con un haluro de metal alcalino-térreo.

20 11º.- Un procedimiento según se reivindica en el punto 10, en el cual hidrocloreuro de estreptomina se hace reaccionar con un haluro de metal alcalino-térreo.

12º.- Un procedimiento según se reivindica en cualquiera de los puntos 1-8, en el cual una sal ácida orgánica de estreptomina se hace reaccionar con un haluro de metal alcalino-térreo.

25 13º.- Un procedimiento según se reivindica en el punto 12, en el cual acetato de estreptomina se hace reaccionar con un haluro de metal alcalino-térreo.

14º.- Un procedimiento según se reivindica en el



187377

5 punto 12, en el cual heliantato de estreptomicina se hace reaccionar con un exceso de haluro de metal alcalino-térreo y al heliantato de metal alcalino-térreo insoluble se separa por filtración antes de la separación de la solución de la sal compleja formada que consiste en un hidrohalaro de estreptomicina y un haluro de metal alcalino-térreo.

10 15<sup>a</sup> - Un procedimiento según se reivindica en cualquiera de los puntos 1<sup>a</sup> a 4<sup>a</sup>., en el cual una sal ácida de estreptomicina se hace reaccionar con un haluro de calcio.

15 16<sup>a</sup> - Un procedimiento según se reivindica en el punto 15<sup>a</sup>., en el cual una sal ácida de estreptomicina se hace reaccionar con cloruro de calcio.

15 17<sup>a</sup> - Un procedimiento según se reivindica en el punto 15<sup>a</sup>., en el cual una sal ácida de estreptomicina se hace reaccionar con bromuro de calcio.

20 18<sup>a</sup> - Un procedimiento para preparar sales dobles complejas que consisten en una sal ácida de estreptomicina y un haluro de metal alcalino-térreo, en esencia como se ha descrito en esta Memoria.

19<sup>a</sup> - Un procedimiento de preparar sales complejas de estreptomicina.

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

25 Esta Memoria consta de diez y hojas escritas por una sola cara.

Madrid,

P. A.

Alberto de Elizaburu

Por Poder

Ch/.