

188073

P.- 7432.-

1552 "Precursor II"



- 4 MAY. 1949

MALA REPRODUCCION
POR DEFECTO DEL ORIGINAL

188073

MEMORIA DESCRIPTIVA

para solicitar

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

e n

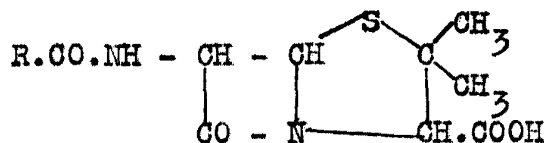
E S P A Ñ A

por VEINTE años

a nombre de LØVENS KEMISKE FABRIK VED A. KONGSTED, entidad danesa, establecida en 19 Brønshøjvej, Copenhague, Dinamarca, por:

"UN PROCEDIMIENTO DE PRODUCIR PENICILINA".

El presente invento se refiere a un procedimiento de producir penicilina. Es sabido que la molécula de ésta contiene un radical que varia en las diversas clases de penicilina. Este radical se expresa por R en la siguiente fórmula de penicilina:



Una de las clases de penicilina obtenida por fer-



mentación en recipientes cerrados (cultivo sumergido), es la penicilina G, donde R está representado por el grupo bencílico $C_6H_5CH_2-$. En cultivos superficiales, que hoy no se usan mucho para producir penicilina, una de las clases producidas es penicilina X. Aquí el grupo R está representado por un grupo p-oxibencílico: $-CH_2C_6H_4OH$. En otras penicilinas conocidas, R expresa otros grupos orgánicos, en general grupos alifáticos.

Sabido es que el rendimiento de penicilina puede aumentarse, especialmente por cultivos sumergidos, añadiendo sustancias auxiliares, los llamados precursores, que contienen el deseado radical R, con lo cual es posible en cierta medida aumentar el contenido relativo de la clase de penicilina deseada, especialmente penicilina G. Como precursor es conocido el uso de ácido fenilacético o sustancias que en las condiciones de crecimiento biológico existentes, se transforman fácilmente en dicha sustancia.

Se ha supuesto que las sustancias últimamente citadas, incluyen ácido fenacetúrico, $C_6H_5.CH_2.CO.NH.CH_2.COOH$. Se ha demostrado que el ácido fenacetúrico, es muy adecuado, aunque no se ha comprobado, y debe considerarse muy inverosímil, que dicho ácido se transforme en ácido fenilacético en las condiciones existentes para el crecimiento de los microorganismos. El ácido fenacetúrico tiene también el inconveniente de ser bastante soluble en los disolventes orgánicos usados para extraer penicilina, al paso que



es soluble con relativa facilidad en agua a los bajos valores de pH usados al extraer la penicilina. Por este procedimiento pues, el ácido fenacetúrico estará presente tanto en la fase acuosa como en el disolvente orgánico, usado para la extracción, y esto significa que pequeñas cantidades del mismo seguirán a la penicilina durante una parte mayor o menor de los procedimientos aplicados para extraer la penicilina.

Pero, en comparación con el ácido fenilacético, el ácido fenacetúrico, comprende un grupo mayor que puede formar parte de la molécula de la penicilina G porque también contiene el grupo amídico y la cadena lateral y dos de los enlaces del anillo de cuatro enlaces de la penicilina. Puede ser que esto sea importante para sus efectos como precursor. Por tanto, un objeto del presente invento es el uso de precursores que tiene esta calidad, y por medio de los cuales pueden obtenerse mayores rendimientos de penicilina G y evitar las desventajas de la clase mencionada. Los precursores usados según mi invento son ésteres del ácido fenacetúrico.

Es sorprendente que estos ésteres puedan promover la formación de penicilina G en mayor grado que los precursores hasta ahora conocidos, porque naturalmente cumplen la condición de transformarse fácilmente en ácido fenilacético en las condiciones biológicas para el crecimiento del microorganismo no más que el mismo ácido fenacetúrico.



Los ésteres de ácido fenacetúrico usados según el invento, pueden ser o bien ésteres con alcoholes alifáticos comunes, tal como el etanol o ésteres con alcoholes que contienen nitrógeno, especialmente amino-alcoholes terciarios.

Los ésteres de la primera clase, son en su mayoría más fácilmente solubles en disolventes de extracción orgánica que el ácido fenacetúrico, y no son solubles o solo lo son ligeramente, en agua, y portanto siguen a la penicilina cuando se extrae del agente de cultivo. Por otra parte son prácticamente incapaces de entrar en la fase acuosa en la extracción subsiguiente con un neutralizador. Por tanto se separan fácilmente de la penicilina.

Pero esta separación puede realizarse aun más fácilmente por los ésteres del ácido fenacetúrico con alcoholes que contienen nitrógeno, especialmente aminoalcoholes terciarios, y entre ellos, aquellos en que el nitrógeno está enlazado en anillo. Estos ésteres son en efecto solubles en agua a pH menor de 7, pero no son solubles en disolventes de extracción orgánicos y pueden por tanto separarse de la penicilina cuando ya está se extrae del agente nutritivo que contiene agua por medio de un disolvente de extracción orgánico, por ejemplo, acetato amílico o similares.

Los efectos tóxicos de los ésteres empleados según el invento sobre los microorganismos usados para la producción de penicilina, son tan ligeros que toda la cantidad deseada de los ésteres puede añadirse al agente nutritivo



de una vez. Se usan, pues, mucho más ventajosamente que el ácido fenilacético, que en las cantidades necesarias es nocivo para el microorganismo, y tiene que añadirse por grados, lo cual supone mayor trabajo, mayor control y riesgo de infección.

A continuación el procedimiento del invento se ilustra por medio de un ejemplo que en modo alguno debe considerarse restrictivo.

Ejemplo

300 kg. de líquido de maceración del maíz, 80 kg., de lactosa, 40 kg. de carbonato cálcico y 4000 litros de agua, se introducen en un autoclave y se inoculan con un cultivo adecuado de *Penicillium notatum chrysogenum* y luego se fermentan en un recipiente cerrado, aireando vigorosamente. En este medio, al cabo de 60-70 horas, se producen unas 300 unidades de penicilina por ml., de las cuales como un 90% son penicilina K.

Añadiendo unos 900 gramos del éster del ácido fenacetúrico con dietilamino-etanol antes de la introducción en el autoclave y de la inoculación, se obtienen por fermentación de la misma manera, más de 900 unidades de penicilina por ml, de las cuales como un 90% son penicilina G. Usando ácido fenacetúrico en cantidad equivalente, sólo se obtendrían 600-700 unidades. La cantidad de éster añadido puede aumentarse sin provocar una acción perjudicial



sobre el microorganismo.

Esta solicitud, que corresponde a la presentada en Dinamarca, el 5 de Mayo de 1948, bajo el Número 1510/48, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto Ley sobre Propiedad Industrial.

5

---- 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:

10

1º. Un procedimiento de producir penicilina, que comprende el cultivo de microorganismos que la producen en un agente nutritivo que contiene un éster de ácido fenacetúrico.

15

2º. Un procedimiento de producir penicilina según se reivindica en el punto 1º., en el cual el cultivo de microorganismos productores de penicilina, tienen lugar en un agente nutritivo que contiene un éster de ácido fenacetúrico con un alcohol que contiene nitrógeno.

20

3º. Un procedimiento de producir penicilina según se reivindica en el punto 1º., en el cual el cultivo de

**MALA REPRODUCCION
POR DEFECTO DEL ORIGINAL**



188073

microorganismos que la producen, tienen lugar en un agente nutritivo que contiene un éster de ácido fenacetúrico con un alcohol que contiene nitrógeno enlazado terciariamente, por ejemplo, dietilamino-etanol.

5 4º. Un procedimiento de producir penicilina según se reivindica en el punto 2º., en el cual el cultivo de microorganismos que la producen tienen lugar en un agente nutritivo que contiene un éster de ácido fenacetúrico con un alcohol que contiene nitrógeno enlazado en anillo.

10 5º. Un procedimiento de producir penicilina según se reivindica en el punto 4º., en el cual el cultivo de microorganismo que la producen tienen lugar en un agente nutritivo que contiene un éster de ácido fenacetúrico con un alcohol que contiene un grupo de piperidina.

15 6º. Un procedimiento de producir penicilina virtualmente como se describe con referencia al ejemplo.

7º. Un procedimiento de producir penicilina.

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

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

Madrid a - 4 MAY. 1949

P. A.

Alberto de Elzaburu
Por Poder

M/L/L.