

1906 68

M E M O R I A   D E S C R I P T I V A

que se acompaña a la solicitud de registro de PATENTE DE  
INVENCION a favor de LABORATORIOS REUNIDOS S.A. de Madrid  
por "UN PROCEDIMIENTO DE FABRICACION DE ANTIBIOTICOS POR  
5           CULTIVO DE LOS MOHOS EN UN MEDIO QUIMICO SINTETICO".-----

-----  
Es conocido el hecho de que cuando se cultivan  
ciertos mohos, especialmente el P. Notattum, en un medio nutri-  
tivo adecuado y a la temperatura conveniente, se obtienen co-  
mo producto del metabolismo de aquellos, materias terapéutica-  
10           mente activas con propiedades antibióticas. Se ha admitido que  
en el caso del P. Notatum, estas materias estan constituidas  
por varios compuestos orgánicos con formulas de estructura muy  
semejante, diferenciandose entre si unicamente por la naturale-  
za de la cabeza lateral que se presenta en cada una.

15           El antibiótico producido por el P. Notatum, se pre-  
senta en variedades con cadena lateral distinta, y se preparó  
primeramente cultivando el moho en un medio sintético conte-  
niendo glucosa u otra sustancia carbohidratada, adinonado de  
diversas sales nutritivas, concluyendose que con tal medio,  
20           controlando cuidadosamente las demas condiciones de tempera-  
tura y de tiempo, se obtenian alrededor de 20 unidades Oxford  
del antibiobtico por cc.

Mas tarde se comprobó que la adicion al medio an-  
teriormente citado, de una determinada cantidad del liquido re-  
25           sultante de la maceracion del maiz, hasta un 10 % del volumen  
total del medio, daba como resultado la obtencion de 80 uni-



190668

dades Oxford por c.c.

30 La adición del líquido de maceración del maíz, presenta, no obstante ciertas desventajas e inconvenientes representados por su variable composición que naturalmente modifica su eficacia y por enturbiar el medio, dificultando así el proceso de elaboración del antibiótico.

35 Con el presente invento se logra perfeccionar el método de fabricación de los antibióticos, cultivando el moho en un medio totalmente sintético, que proporciona mayores rendimientos y hace más cómodo el proceso de elaboración. En efecto, hemos hallado que la adición al medio básico, de determinadas sustancias, permite prescindir del líquido de maceración del maíz, aumentándose al propio tiempo en un porcentaje considerable el número de unidades obtenidas del antibiótico, no  
40 solo en relación con las producidas por el medio básico solamente, sino incluso cuando a éste le ha sido agregado el líquido de maceración del maíz.

45 Hemos de advertir además, que el procedimiento que preconizamos puede utilizarse en cualquiera de las condiciones de cultivo del moho, es decir, en tina, frasco, columna o sumersión.

50 Se ha llegado a la conclusión de que cuando se cultivan los mohos productores de antibióticos en un medio sintético, al que se han agregado una o varias sustancias en cuya fórmula figura el radical R. integrado en la cadena lateral de las  $\beta$ -lactamas derivadas de la d-dimetilcisteína y del ácido penáldico, unido a un radical orgánico, que puede ser un ácido carboxílico, un aldehído, un grupo metil-amina o cualquier  
55 otro grupo que pueda convertirse fácilmente en uno de los citados, y carentes de toxicidad para el moho, se aumenta notablemente la producción del antibiótico. Igualmente hemos com-



190668

3.

60 probado que otras sustancias agregadas juntamente con las citadas y que se mencionan mas adelante, aumentan aún mas el rendimiento en antibiotico.

De acuerdo con este invento se describe un procedimiento para la obtención de antibióticos, en el que los mohos productores se cultivan en un medio sintético al que han sido agregadas una o mas sustancias de las antedichas.

65 Se revelan como convenientes para el proceso de fabricacion que preconizamos, entre otros, los compuestos siguientes:  $\beta$  - feniletilamina,  $\beta$  - p - hidroxifeniletilamina,  $\beta$  - fenil -  $\alpha$  -alanina, ácido fenilpiruvico, fenilacetoni-  
70 trilo, c-fenilacetamidina, fenilacetilglicina, ácido fenilacético, fenilacetamida y fenilacetaldehido, empleandose las sales correspondientes en el caso de tratarse de un ácido o una base.

La produccion de antibiótico se aumenta si a un medio de cultivo adicionado de las sustancias a que nos referimos  
75 en el párrafo anterior, se le agrega uno o mas productos de la hidrolisis de proteínas de origen animal o vegetal, tales como por ejemplo, la caseína o la zeína.

Posteriormente hemos hallado que todavia puede aumentarse mas el rendimiento en unidades de antibiótico, si ademas de los compuestos mencionados en este invento, llevando  
80 o nó, uno o mas productos de la hidrolisis de proteínas, adicionamos al medio de cultivo un amino ácido sulfurado, cistina, o un producto de su reduccion, cisteína, o ambas conjuntamente, o bien uno o mas productos de la hidrolisis de  
85 proteínas, ricos en cistina, cisteína o en ambas sustancias a la vez.

Ha de tenerse en cuenta que las adiciones al medio de cultivo de que venimos haciendo mención, han de hacerse a



190668

90 base de sustancias tales que ni por su naturaleza ni por la  
concentración a que se apliquen, lleguen a tener efecto tóxi-  
co alguno sobre el moho que se cultiva; en todo caso las con-  
diciones óptimas seran fijadas por ensayos preliminares.

95 A continuacion damos varios ejemplos, solo a titulo de  
explicacion, en que describimos el modo de llevar a cabo el  
procedimiento, y se señalan los resultados obtenidos utilizan-  
do este metodo.

100 EJEMPLO PRIMERO.- Se preparó un medio básico compuesto  
de hidratos de carbono, sales nutritivas inórganicas, produc-  
tos de la hidrolisis de proteínas y ácido bórico, ajustado  
a un pH 5,5

105 Varios frascos con 50 cc. del medio antedicho se lleva-  
ron a la estufa regulada a 24° cent., previamente inoculados  
con una cepa experimentada de *P. notatum*. A los seis dias de  
incubación se habian producidos 26 unidades Oxford de penici-  
lina por cc. y a los 8 dias, 30 unidades por cc.

110 Este mismo medio, con la adiccion de 0,05 gramos de fe-  
nilacetamida por cada 100 cc, sembrado con la misma cepa de  
moho y en iguales condiciones de temperatura en la estufa,  
produjo a los siete dias de incubacion cincuenta unidades  
Oxford por cc. y a los ocho dias 80 unidades por cc.

En forma similar la adiccion al medio básico de 0,05  
gramos de bisulfito de fenilacetaldehido en solucion estéril  
por cada 100 cc. incrementó la produccion de antibiótico has-  
ta 83 unidades Oxford por cc.

115 Siempre operando con la misma cepa *P. notatum* y en  
iguales condiciones de temperatura, la adiccion de 0,25 gra-  
mos de fenilalanina por cada 100 cc. produjo a los ocho dias  
58 unidades Oxford por cc. La adición al medio base, de 0,05  
gramos de acido fenilpirúvico por cada 100 cc. produjo a los  
120 ocho dias, 62 unidades Oxford por cc.



190668

5.

**EJEMPLO SEGUNDO.**- Se preparó un medio básico compuesto de hidratos de carbono, sales inórganicas nutritivas y ácido bórico ajustado a un pH 5,5.-

125 Varios frascos conteniendo 200 cc. del medio, sembrados con una cepa conocida de *P. notatum*, se llevaron a la estufa regulada como en el ejemplo anterior a 24° cent. A los nueve días este medio había producido 18 unidades Oxford por cc. y a los 10 días 14 unidades por cc.

130 El mismo medio, en las mismas condiciones de siembra e incubación, al que se le añadió un gramo de fenilacetamida por litro, produjo a los nueve días 41 unidades Oxford por cc. y a los 10 días 48 unidades por cc.

135 El mismo medio adicionado de fenilacetamida en la proporción de 1 gramo por litro, y 0,5 gramos de cistina por litro, produjo a los nueve días de incubación 57 unidades Oxford por cc. y a los 10 días 50 unidades por cc.

**EJEMPLO TERCERO.**- Partimos de un medio básico de la composición indicada en el ejemplo primero.

140 Se llevan a la estufa a 24 grados centígrados varios matraces conteniendo solamente el medio básico, y otros varios adicionando a éste el producto  $\beta$ -cloruro ácido de feniletilamina, en la proporción de 0,05 %, unos y otros inoculados previamente con una estirpe conocida de *P. notatum*.

145 Se efectuaron observaciones a los seis, siete, ocho, nueve y once días de incubación, resultando que los frascos que contenían el medio básico solamente habían producido 31, 50, 63, 55 y 44 unidades Oxford por cc. respectivamente a los días señalados, en tanto que aquellos otros adicionados del  $\beta$ -cloruro ácido de feniletilamina, habían producido respectivamente  
150 80, 100, 123, 110 y 128 unidades Oxford por cc.

En resumen, reivindica la entidad recurrente, en virtud de la presente solicitud de registro de PATENTE DE INVENCION,



190668 6.-

155 el privilegio exclusivo de fabricacion, venta y explotación industrial, por el plazo de VEINTE AÑOS, que determina el vigente Estatuto de la Propiedad Industrial, en España y sus Colonias del objeto de la misma el cual queda esencialmente caracterizado por las siguientes

NOTAS - REIVINDICACIONES .

160 PRIMERA.- Un procedimiento de fabricacion de antibióticos por el cultivo de los mohos en un medio químico sintético, que comprende la inoculacion, incubación y cultivo de los mohos productores de antibióticos, a la temperatura y concentracion de hidrogeniones adecuadas, y caracterizado esencialmente por la utilizacion de un medio químico sintético constituido por las sustancias que son objeto de las siguientes reivindicaciones.

165 SEGUNDA.- Un procedimiento de fabricacion de antibióticos por el cultivo de los mohos en un medio químico sintético, tal y conforme se describe en la anterior reivindicacion y asimismo esencialmente caracterizado por que comprende el cultivo del  
170 moho, especialmente el *P. notatum*, en un medio básico sintético, sin liquido resultante de la maceracion del maiz, conteniendo en cambio una o mas sustancias en cuya fórmula figura el radical R integrado en la cadena lateral de las  $\beta$  - lactamas de la d-dimetilcisteína y del ácido penáldico, unido a un radical orgánico que puede ser un ácido carboxilico o su amida, un  
175 aldehido, un grupo metilamina, o un grupo que pueda convertirse fácilmente en uno de los citados, sin ser tóxico para el moho que se cultiva.

180 TERCERA.- Un procedimiento de fabricacion de antibióticos por el cultivo de los mohos en un medio químico sintético, tal y conforme se describe en las dos anteriores reivindicaciones y caracterizado asimismo por la circunstancia de que al medio bá-



190668

7.-

185 sico se adiciona una o varias sustancias de la formula antedicha, entre las que figuran la  $\beta$  -feniletilamina, la  $\beta$  fenil-alanina, la  $\beta$  -hidroxifeniletilamina, fenilacetonitrilo, fenil-acetilglicina y fenilacetamida.

190 CUARTA.- Un procedimiento de fabricacion de antibióticos por cultivo de los mohos en un medio quimico sintético, tal y conforme se describe en la primera y segunda reivindicacion, y asimismo esencialmente caracterizado por la circunstancia de que se agregan al medio las sustancias citadas en forma de sales.-

195 QUINTA.- Un procedimiento de fabricacion de antibióticos por cultivo de los mohos en un medio quimico sintético, tal y conforme se describe en las dos primeras reivindicaciones, y asimismo esencialmente caracterizado por la circunstancia de que se agrega al medio de cultivo, un producto o varios de la hidrolisis de proteinas de origen animal o vegetal, como la caseína y la zeína.

200 SEXTA.- Un procedimiento de fabricacion de antibióticos por cultivo de los mohos en un medio quimico sintético, tal y conforme es objeto de las dos primeras reivindicaciones, y asimismo esencialmente caracterizado por la circunstancia de que se agrega al medio de cultivo un aminoácido sulfurado, como por ejemplo la cistina.

205 SEPTIMA.- Un procedimiento de fabricacion de antibióticos por cultivo de los mohos en un medio quimico sintético, tal y conforme es objeto de las dos primeras reivindicaciones y asimismo caracterizado por la circunstancia de que se agrega al medio de cultivo, un producto de reduccion de un amino-ácido sulfurado, como la cisteína.

210 OCTAVA.- Un procedimiento de fabricacion de antibióticos por cultivo de los mohos en un medio quimico sintético, tal y con-



190668 8.-

forme se describe en la dos primera reivindicaciones y asimismo esencialmente caracterizado por la circunstancia de que se agregan al medio de cultivo, conjuntamente, un aminoácido sulfurado y un producto de su reduccion, por ejemplo la cistina y la cisteína.

NOVENA.- Un procedimiento de fabricacion de antibióticos por cultivo de los mohos en un medio químico sintético, tal y conforme se especifica en las dos primeras reivindicaciones, y asimismo esencialmente caracterizado por la circunstancia de que se agregar al medio de cultivo, productos de la hidrolisis de las proteínas ricos en aminoácidos sulfurados.

DECIMA.- Un procedimiento de fabricacion de antibióticos por cultivo de mohos en un medio químico sintético, tal y conforme se especifica en las anteriores reivindicaciones y asimismo esencialmente caracterizado por la circunstancia del cultivo del *P. notatum*, o cualquier otro hongo productor de penicilina, en un medio sintético, que proporciona un alto rendimiento, eliminando la necesidad de emplear líquidos resultantes de la maceración del maíz u otras gramíneas cereales o leguminosas.

UNDECIMA.- UN PROCEDIMIENTO DE FABRICACION DE ANTIBIOTICOS POR CULTIVO DE LOS MOHOS EN UN MEDIO QUIMICO SINTETICO.-

Todo tal y conforme se describe en la anterior Memoria que consta de ocho páginas mecanografiadas por una sola cara.-

Madrid 3 de diciembre de 1949.-

P. A.-