



10 E

P - 7874

191160

10 ENE 1950

191160

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 DE PRODUCIR SULFATO DE DIHIDROESTREPTOMICINA CRISTALIZADO".

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

Este invento se refiere a una forma clínica nueva y superior de estreptomina y a métodos para prepararla. Mas especialmente, el invento se refiere a sulfato de dihidroestreptomina cristalina y a procedimientos para prepararlo partiendo de sulfato de dihidroestreptomina amorfo y por metátesis de otras sales ácidas de dihidroestreptomina.



191160

Aunque el valor terapéutico del sulfato de hidrostreptomina se ha reconocido desde hace algún tiempo, se han experimentado dificultades para obtener un producto puro. Es evidente que el sulfato de hidrostreptomina cristalino sería manifiestamente ventajoso para obtener un producto de máxima pureza y mínima toxicidad, así como para facilitar la normalización del producto en la distribución y el uso. Pero hasta ahora ha sido imposible preparar sulfato de dihidrostreptomina en forma cristalina.

Ahora se ha descubierto que por la adecuada selección de disolventes y el control del procedimiento, puede inducirse la cristalización de soluciones acuosas formadas con sulfato de dihidrostreptomina amorfo. Aunque es difícil obtener los primeros cristales de dicho sulfato, se ha comprobado que con cristales de siembra disponibles, la cristalización ulterior puede realizarse con facilidad de mezclas disolventes adecuadas.

El producto cristalino puro así obtenido, es un producto superior para la inyección clínica y no produce ninguno de los efectos tóxicos manifestados en el dolor siguiente a la inyección, que normalmente se observan en los preparados disponibles de estreptomina y dihidrostreptomina.

En el experimento que dió el primer sulfato de dihidrostreptomina cristalino, una cantidad de este mismo sulfato amorfo altamente purificado se disolvió en agua y se ajustó a una concentración de 20 gr. por 100 cm<sup>3</sup>. de solución. Luego el pH se ajustó a 4.5 por adición de



191160

ácido sulfúrico diluido. Cantidades de la solución principal así preparadas se diluyeron luego con agua para producir soluciones que contenían 10, 5,2 y 1 gr. por 100 cm<sup>3</sup>. Una muestra de cada una de estas soluciones se diluyó en un tubo de ensayo con metanol hasta enturbiarla y se dejó a un lado. La segunda muestra se diluyó similarmente con acetona hasta la turbiedad. Después de unas ocho horas se rasparon todos los tubos. Veinticuatro horas más tarde, los tubos que contenían acetona no mostraron cambio, pero los tubos diluidos con metanol contenían cristales que se aislaron y resultaron ser sulfato de Dihidrostreptomina cristalino.

Luego se ha descubierto que es posible preparar cristales iniciales empleando etanol o isopropanol para inducir la cristalización, pero los resultados con metanol son con mucho los más favorables.

Después de preparar los primeros cristales, pueden prepararse según el presente invento, cantidades adicionales del sulfato de dihidrostreptomina cristalino, sembrando ciertas mezclas acuosas de disolventes orgánicos que contienen sulfato de dihidrostreptomina. Para los mejores resultados la solución debe tener un pH de unos 4.5, y si es preciso el pH puede regularse añadiendo ácido, tal como el sulfúrico diluido.

El disolvente orgánico mas adecuado para inducir la cristalización del sulfato de hidrostreptomina cuando se dispone de cristales de siembra es el metanol. Otros disolventes adecuados incluyen la acetona y disol-



191160

ventes miscibles con agua en los cuales la solubilidad del sulfato (y el hidrocioruro) de dihidrostreptomocina, sea por lo menos tan grande como en acetona, por ejemplo, etanol, isopropanol y glicol etilénico. (La solubilidad  
5 relativa del sulfato de dihidrostreptomocina en diferentes disolventes, corresponde en general a la solubilidad relativa del hidrocioruro en los mismos. Pero como el grado de solubilidad del hidrocioruro es considerablemente mayor que el del sulfato, es más fácil determinar solubilidades comparativas usando el hidrocioruro).  
10

La cantidad de disolvente orgánico a emplear varía con la concentración del sulfato de dihidrostreptomocina en la solución acuosa, pero en general puede mencionarse como la cantidad requerida para formar una  
15 solución ligeramente sobresaturada. Con algunos disolventes, en especial acetona y los alcoholes alquílicos más bajos, la aparición de una débil turbiedad en la solución, indica cuando se ha alcanzado el debido grado de sobresaturación. La adición de demasiado disolvente determinará  
20 precipitación de sulfato en forma amorfa, pero este precipitado puede fácilmente disolverse de nuevo añadiendo agua para compensar el disolvente presente en exceso. Como la nueva disolución del precipitado amorfo indeseado, consume tiempo, y por tanto merece objeciones en la  
25 producción en gran escala, es preferible ensayar una pequeña muestra de solución con el disolvente seleccionado para comprobar la cantidad máxima de disolvente que puede añadirse sin precipitar sulfato amorfo, y luego añadir



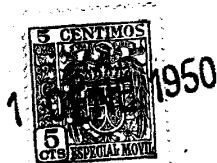
191160

a la tanda una cantidad de disolvente igual al 90% aproximadamente de la cantidad máxima así determinada.

Debe además observarse que conforme avanza la cristalización de la dihidrostreptomina es necesario, si se desea la recuperación máxima del producto cristalino, añadir más disolvente de tanto en tanto para mantener la solución en estado virtualmente saturado o ligeramente sobresaturado con respecto al sulfato de dihidrostreptomina.

La solución de partida del sulfato de dihidrostreptomina puede prepararse sin más que disolver en agua sulfato de dihidrostreptomina amorfo obtenido por hidrogenación de otras sales de estreptomina tales como el hidrocloreuro o por subsiguiente conversión en sulfato de la sal de dihidrostreptomina correspondiente. Si el sulfato de dihidrostreptomina se obtiene en el proceso como solución acuosa, la misma puede usarse directamente sin separación intermedia de producto amorfo sólido.

Alternativamente, la solución de sulfato de dihidrostreptomina puede formarse in situ por reacción metatética entre otra sal de dihidrostreptomina y una sal de ácido sulfúrico. Puede emplearse cualquier sal de hidrostreptomina que posea moderada solubilidad en la mezcla de disolventes acuosa usada para la cristalización, por ejemplo el acetato, el formiato, el nitrato, el hidrobromuro, el hidrocloreuro y el tartrato de dihidrostreptomina. El requisito primario con respecto a la sal de ácido sulfúrico empleada es que tanto la misma como el producto de reacción del catión de dicha sal con el anión de la sal



191160

ácida de dihidrostreptomina de partida, sean más solubles que el sulfato de dihidrostreptomina en la mezcla de disolventes empleada. Las sales de ácido sulfúrico adecuadas comprenden el sulfato amónico, los sulfatos alkil-amínicos tales como el sulfato dimetil-amónico y los sulfatos alkilol-amínicos tales como el sulfato de trietanolamina. Pero en la práctica, y a base de la facilidad de preparación y disponibilidad, la sal de hidrocloruro de dihidrostreptomina y el sulfato amónico son probablemente las combinaciones más útiles para emplearlas en esta reacción metatética.

En la metátesis arriba descrita, el pH debe ser de unos 4.5, y es necesario que la mezcla de reacción contenga cristales de siembra de sulfato de dihidrostreptomina para que la reacción tome el curso deseado. Esta fuerza impulsora inducida por la presencia de cristales de siembra en la mezcla de reacción, parece deberse a la solubilidad relativamente baja de los cristales de sulfato de dihidrostreptomina, que da por resultado la separación de este sulfato de la mezcla de reacción según se forma en la metátesis. Debe observarse a este respecto que el sulfato de dihidrostreptomina amorfo es de 50 a 100 veces más soluble en agua y mezclas acuosas de disolventes orgánicos que el producto cristalino.

Se comprenderá que tanto la metátesis como la cristalización del sulfato de dihidrostreptomina partiendo de soluciones acuosas preparadas del producto amorfo, pueden realizarse en condiciones estériles y en tal caso el producto cristalino puede recuperarse directamen-



191160

te en una forma adecuada para el uso clínico.

La ventaja farmacológica de la reducida toxicidad del sulfato de dihidrostreptomina cristalino resultante se debe probablemente en gran parte a la gran pureza del producto. En los procedimientos de cristalización, las impurezas tales como las sales sulfáticas de estreptomina, manisidostreptomina y dihidromanisidostreptomina, no cristalizan en las condiciones empleadas para la cristalización del sulfato de dihidrostreptomina. Además otras impurezas y productos de descomposición son solubles en la mezcla de disolventes y por consiguiente se separan del producto cristalino.

Además de ofrecer una forma clínica perfeccionada de dihidrostreptomina en el producto cristalino, los procedimientos de cristalización representan una importante mejora sobre los métodos existentes para recuperar producto amorfo especialmente al eliminar la necesidad de separar grandes cantidades de agua por costosos procedimientos de desecación helada o de evaporación a baja temperatura.

El tipo de difracción de rayos X de una muestra del sulfato de dihidrostreptomina cristalina, se consigna en el cuadro siguiente que indica los espaciamientos y las intensidades relativas medidas con un espectrómetro contador de Geiger "Norelco".



E. 1950

191160

Difracción de rayos X

	<u>Espaciamiento <math>A^{\circ}</math></u>	<u>Intensidad relativa %</u>
5	8.74	50
	8.09	35
	7.64	40
	6.81	35
	6.32	25
10	5.62	40
	5.35	60
	4.78	85
	4.70	85
	4.32	60
15	4.13	50
	4.07	45
	3.81	30
	3.69	50
	3.62	75
20	3.42	100
	3.19	25
	3.14	40
	2.95	25

Las otras características cristalinas son como  
siguen:

	Indices de refracción $\alpha = 1.552 \pm .002$
25	$\beta = 1.558 \pm .004$
	$\gamma = 1.566 \pm .002$

Angulo de extinción  $18^{\circ}$ .

Los siguientes ejemplos muestran cómo pueden realizarse procedimientos de preparar sulfato de dihidro-  
30 treptomicina cristalino según el presente invento, pero  
debe entenderse que estos ejemplos se dan por vía de ilus-  
tración y no de limitación.

Ejemplo 1.

Una muestra de sulfato de dihidrostrepto-  
25 micina altamente purificado pero amorfo, se disolvió en



950

191160

agua y el pH de la solución se ajustó al pH 4.5 añadiendo una pequeña cantidad de ácido sulfúrico diluido. El volumen de la solución resultante se ajustó disolviendo 20 gr. del producto en 100 cm<sup>3</sup> de solución. Parte de la solución principal se diluyó luego para producir soluciones que contenían 10, 5, 2 y 1 gr. por 100 cm<sup>3</sup>. Una pequeña muestra de cada una de estas soluciones se diluyó en un tubo de ensayo con metanol hasta turbiedad y se dejó a un lado. se preparó una segunda muestra y se diluyó con acetona. Después de unas ocho horas se rasparon todos los tubos. Veinticuatro horas más tarde todos los tubos que contenían metanol contenían sulfato de dihidrostreptomina cristalina.

Análisis: calculado: C, 34.42; H, 6.05; N, 13.38; S, 6.56  
hallado : C, 34.26; H, 6.32; N, 13.27; S, 6.59

15

Ejemplo 2

Una solución de 60 gr. de sulfato de dihidrostreptomina amorfo, se ajustó al pH 4.5 con ácido sulfúrico diluido y el volumen se ajustó a 300 cm<sup>3</sup>. Se añadió metanol a la solución hasta que persistió una débil turbiedad (se necesitaron 175 cm<sup>3</sup>). Se añadió luego un gramo de sulfato de dihidrostreptomina cristalino y la mezcla se agitó cuatro horas, en las cuales se separó de la solución sulfato de dihidrostreptomina cristalino. A este tiempo se tomó una muestra del líquido que sobrenadaba y se añadió metanol hasta que apareció una débil turbiedad. Esto necesitó 34% de su volumen de metanol, indicando que podían añadirse 160 cm<sup>3</sup> de metanol sin precipitar sulfato de dihidrostreptomina amorfo. A la mezcla se añadieron 140 cm<sup>3</sup>



191160

de metanol (aproximadamente 90% de la tolerancia), y la agitación continuó durante dieciocho horas a la temperatura de la habitación. Al fin de este tiempo se tomó una muestra del líquido que sobrenada y se evaporó a sequedad. El peso obtenido, 1.7 mg. por cm<sup>3</sup>, indicaba que 0.95 gr. o 1.6% del sólido original permanecía en el líquido madre. La mezcla se filtró y el producto se lavó en el embudo con una porción de 100 cm<sup>3</sup> de metanol y agua a partes iguales y cinco porciones de 100 cm<sup>3</sup> de metanol, y se secó en el vacío. El peso del producto obtenido fué de 58 gr.

Las concentraciones citadas en el ejemplo anterior no son críticas. Se comprenderá que variando la concentración de sulfato de dihidroestreptomicina en agua y la proporción añadida de metanol, pueden obtenerse rendimientos del producto cristalino igualmente altos en un amplio campo de condiciones. El primer factor que debe tenerse en cuenta es que la cantidad de metanol no rebase la necesaria para producir una débil turbiedad. Esta cantidad variará, por supuesto en cada tanda, según la concentración efectiva de sulfato de dihidroestreptomicina en la solución de partida.

El procedimiento anterior se ha repetido usando como disolvente cada uno de los siguientes: isopropanol, etanol y acetona. Claro es que se necesitan distintas cantidades de estos disolventes para llevar la solución a sobresaturación (o turbiedad), pero en cada caso la siembra y el dejar la solución a un lado con agitación dieron por resultado buenos rendimientos del producto cristalino.



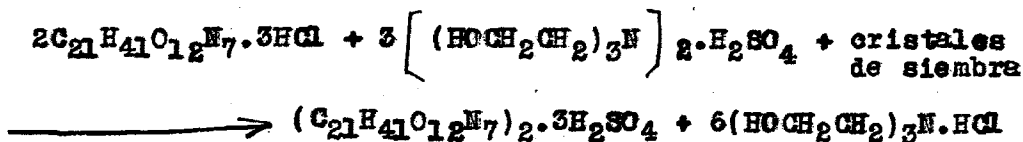
1950

191160

Ejemplo 3

A una solución de trietanolamina en metanol se añadió ácido sulfúrico hasta un pH de 4.5 aproximadamente. La solución resultante contenía como un 0.1 de equivalente de sulfato de trietanolamina por 100 cm<sup>3</sup>.

A una solución de 90.5 gr. de hidrocloreuro de dihidrostreptomocina en 460 cm<sup>3</sup> de agua, se añadieron 143 cm<sup>3</sup> de solución de sulfato de trietanolamina. La mezcla se sembró con sulfato de dihidrostreptomocina cristalino y se añadieron 200 ml. de metanol. La mezcla se agitó durante cuarenta y ocho horas y se añadieron 286 cm<sup>3</sup> más de sulfato de trietanolamina. La mezcla se agitó otras cuarenta y ocho horas y se filtró y lavó con metanol. El producto seco, sulfato de hidrostreptomocina cristalino, pesaba 80.5 gr.



Ejemplo 4

Se preparó una solución acuosa de hidrocloreuro de dihidrostreptomocina reduciendo sal doble de cloruro y calcio de estreptomocina en solución acuosa con hidrógeno en presencia de catalizador de Adam (óxido de platino) se filtró del catalizador, se trató la solución resultante con carbonato de plata para separar el cloruro cálcico y se filtró del cloruro de plata resultante la mezcla de carbonato cálcico. La solución obtenida se ajustó a un pH de 4.5 con ácido clorhídrico. Un ensayo de los sólidos totales indicó una concentración de 377 mg. de hidrocloreuro de dihidrostrep-



1950

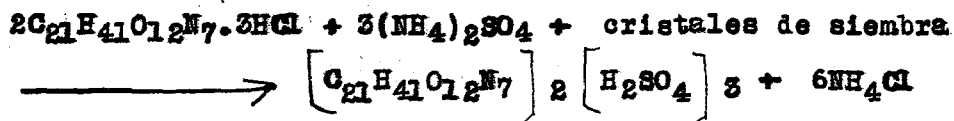
191160

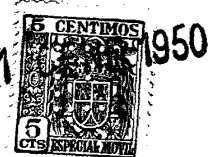
tomicina por  $\text{cm}^3$  de solución.

Una solución acuosa de sulfato de trietanola-  
mina se preparó añadiendo una solución en agua el 50% de  
ácido sulfúrico a una solución acuosa al 50% de trietanola-  
mina. La solución resultante contenía 2.2 equivalentes por  
litro.

A 300  $\text{cm}^3$  de la solución de dihidrostreptomi-  
cina que contenía 113 gr. (0.163 moles de hidrocloreuro de  
dihidrostreptomicina se añadieron 250  $\text{cm}^3$  de solución de  
sulfato de trietanolamina que contenía 0.55 equivalentes  
de trietanolamina (3.37 equivalentes por mol. de dihidrostrep-  
tomicina) y 540  $\text{cm}^3$  de metanol. La mezcla se sembró con sul-  
fato de dihidrostreptomicina cristalino y se dejó en agita-  
ción durante cuatro horas. Se tomó una muestra del líquido  
que sobrenadaba y se comprobó que toleraba 62% de su volu-  
men de metanol antes de enturbiarse. Se añadieron 600  $\text{cm}^3$  de  
metanol (89% del volumen tolerado) y se agitó continuamente  
durante doce horas más. Al final de este tiempo una rotación  
óptica del líquido que sobrenadaba indicó que la concentra-  
ción residual de dihidrostreptomicina era de 1.7 mg. por  
 $\text{cm}^3$ , o un rendimiento de cristalización de 97.5%. El produc-  
to se filtró, se lavó con partes iguales de metanol y agua,  
y luego con metanol y se secó. El peso del producto obteni-  
do era de 119.6 gr. o 380 mg. por  $\text{cm}^3$  de la solución de  
partida.

#### Ejemplo 5





191160

El rico licor de hidrocloreuro de dihidro-  
treptomicina, después de la operación de tratamiento con  
carbonato de plata indicada en el ejemplo 4, se regula  
a un pH de 4.5-4.7 y se añaden a la solución 30.0 gr. de  
5 sulfato amónico por 100 gr. de hidrocloreuro de dihidros-  
treptomicina. Una vez que se ha disuelto el sulfato amó-  
nico, la solución se trata con carbón vegetal activado.  
Después de filtrar el volumen del filtrado se ajusta con  
agua a la concentración de 200 mg. de hidrocloreuro de di-  
10 hidrostreptomicina por cm<sup>3</sup> de solución. Se añade metanol  
gradualmente a la mezcla hasta que queda una débil turbie-  
dad, que usualmente requiere un volumen igual de disolven-  
te. Se añaden cristales de siembra de sulfato de dihi-  
drostreptomicina en cantidad de 2% del peso de la dihi-  
15 drostreptomicina cargada. La mezcla se agita de seis a  
ocho horas. Se añade metanol hasta que el volumen total  
del metanol añadido sea igual a vez y media el volumen  
de la solución al 20%. El sulfato de dihidrostreptomici-  
na cristalizado, se separa por centrifugación y se lava  
20 con solución de metanol y agua a partes iguales y luego  
con metanol. El producto se seca en vacío a 60°C.

#### Ejemplo 6

Como se describe en el ejemplo 4, se re-  
pitió el procedimiento empleando 5,370 cm<sup>3</sup> de la solu-  
25 ción de hidrocloreuro de dihidrostreptomicina y 4,120 cm<sup>3</sup>  
de una solución de sulfato de trietanolamina que conte-  
nía 10.5 equivalentes del sulfato de trietanolamina.  
(3.72 equivalentes por mol de dihidrostreptomicina). Se



191160

añadió un total de 19 litros de metanol en dos partes iguales. El producto se filtró en una centrífuga de cesta y se lavó con cuatro litros de metanol y agua a partes iguales y cuatro litros de metanol y se secó. El peso del producto,  
5 2,130 gr., corresponde a 376 mg. por cm<sup>3</sup> de la solución de partida primitiva. Corrigiendo para el 5% de componentes volátiles, el rendimiento es 93% a base del ensayo de sólidos totales originarios de la solución.

Este procedimiento se puede aplicar también  
10 a la preparación de sulfato de dihidroestreptomina cristalino esterilizado siempre que se tomen las debidas precauciones al manejar las soluciones y el producto. Así la preparación de sulfato de dihidroestreptomina cristalino de alta pureza es posible directamente partiendo de la sal doble de  
15 cloruro y calcio de estreptomina usando sólo tres operaciones, a saber: reducción, separación del cloruro cálcico y cristalización.

Se comprenderá también que la concentración de dihidroestreptomina en agua y metanol puede variarse  
20 dentro de amplios límites sin afectar seriamente al funcionamiento práctico del procedimiento.

#### Ejemplo 7

Se separó una solución de 20 gr. de hidroclo-  
ruro de dihidroestreptomina en 100 cm<sup>3</sup> de agua. A la solución  
25 se añadieron 8 gr. de dimetilamina, y la solución se neutralizó inmediatamente al pH 4.7 con ácido sulfúrico. La solución se diluyó con metanol hasta enturbiarla (se necesitaron 110 cm<sup>3</sup>), se sembró con sulfato de dihidroestreptomina cris-



191160

talino y se agitó. A las doce horas se añadieron 110 cm<sup>3</sup> más de metanol. Cuatro horas más tarde el líquido diáfano que sobrenadaba se ensayó indicando cristalización mayor de 90%. El producto se filtró, se lavó con 80% de metanol y 20% de agua, luego con metanol y se secó en el vacío. Peso 19-20 gr. (90-95% de rendimiento).

Se ha comprobado que después de un número de cristalizaciones de sulfato de dihidrostreptomina realizadas en un medio particular, la cristalización de otras cantidades de dicho sulfato puede a veces realizarse sin adición de cristales de siembra. Esto se debe probablemente a la presencia en el aparato o atmósfera de diminutos cristales de sulfato de dihidrostreptomina. Para conseguir el óptimo control de la cristalización y efectuarla en el tiempo más breve, es preferible, sin embargo, añadir cristales a la solución sobresaturada mejor que contar con la acción sembradora de diminutos cristales en el medio ambiente.

Diversos cambios y modificaciones de los procedimientos anteriores, se les ocurrirán a los profesionales y en la medida en que dichos cambios y modificaciones están comprendidos en las reivindicaciones anexas, debe entenderse que constituyen parte de mi invento.

Esta solicitud, que corresponde a la presentada en los Estados Unidos de América el 13 de Enero de 1949, bajo el núm. 70.807, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.



1959 17 19 1959 60

- 0 - N O T A - 0 -

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

5

1º. - Un procedimiento de producir sulfato de dihidrostreptomina cristalino que comprende: preparar una solución acuosa de sulfato de dihidrostreptomina, regular el pH de la solución a unos 4.5, añadir a la solución acuosa una cantidad de un alcohol alcohólico inferior justamente suficiente para producir una débil turbiedad en la solución, y dejar a un lado la solución para la cristalización del sulfato de dihidrostreptomina de la misma.

10

2º. - Un procedimiento de producir sulfato de dihidrostreptomina cristalino que comprende: preparar una solución acuosa de sulfato de dihidrostreptomina, regular el pH de la solución a unos 4.5, añadir a la solución acuosa una cantidad de metanol justamente suficiente para producir una débil turbiedad en la solución, y dejar a un lado la solución para la cristalización del sulfato de dihidrostreptomina de la misma.

15

20

3º. - Un procedimiento de producir sulfato de dihidrostreptomina cristalino que comprende: preparar una solución acuosa que contiene sulfato de dihidrostreptomina y tiene un pH de unos 4.5, añadir a la solución un disolvente orgánico miscible con agua en el cual el sulfato de dihidrostreptomina sea por lo menos tan soluble como

25



191160

5 en acetona y en cantidad suficiente para formar una solución sobresaturada, exponer la solución sobresaturada a cristales de siembra de sulfato de dihidrostreptomina, y dejar a un lado la solución para la cristalización de sulfato de dihidrostreptomina de la misma.

10 4<sup>a</sup>. - Un procedimiento de producir sulfato de dihidrostreptomina cristalino que comprende: preparar una solución acuosa que contiene sulfato de dihidrostreptomina y tiene un pH de unos 4.5, añadir a la solución un disolvente orgánico miscible con agua en el cual el sulfato de dihidrostreptomina sea por lo menos tan soluble como en acetona y en cantidad suficiente para formar una solución sobresaturada, exponer la solución sobresaturada a cristales de siembra de sulfato de dihidrostreptomina, y 15 dejar a un lado la solución con agitación para la cristalización de sulfato de dihidrostreptomina de la misma.

20 5<sup>a</sup>. - Un procedimiento de producir sulfato de dihidrostreptomina cristalino que comprende: preparar una solución acuosa que contiene sulfato de dihidrostreptomina y tiene un pH de unos 4.5, añadir a la solución un disolvente orgánico miscible con agua en el cual el sulfato de dihidrostreptomina sea por lo menos tan soluble como en acetona y en cantidad suficiente para formar una solución sobresaturada, exponer la solución sobresaturada a cristales de siembra de sulfato de dihidrostreptomina, 25 dejar a un lado la solución con agitación para la cristalización de dihidrostreptomina de la misma, y añadir más disolvente orgánico durante la cristalización para



1950

191160

mantener un estado sobresaturado, llevando así virtualmente hasta su término la cristalización.

5 6a. - Un procedimiento para producir sulfato de dihidrostreptomina cristalino que comprende: preparar una solución acuosa que contiene sulfato de dihidrostreptomina y tiene un pH de unos 4.5, añadir a la solución un disolvente orgánico miscible con agua en el cual el sulfato de dihidrostreptomina sea por lo menos tan soluble como en acetona y en cantidad suficiente para formar una solución sobresaturada, exponer la solución sobresaturada a cristales de siembra de sulfato de dihidrostreptomina, dejar a un lado la solución para la cristalización del sulfato de dihidrostreptomina de la misma, y realizar la cristalización en condiciones de esterilidad para obtener así sulfato de dihidrostreptomina cristalino directamente en forma adecuada para el uso terapéutico.

10 7a. - Un procedimiento de producir sulfato de dihidrostreptomina cristalino que comprende: preparar una solución acuosa que contiene sulfato de dihidrostreptomina y tiene un pH de unos 4.5, añadir a la solución una cantidad de un alcohol alcohólico más bajo justamente suficiente para producir una débil turbiedad en la solución, exponer la solución turbia a cristales de siembra de sulfato de dihidrostreptomina, y dejar a un lado la solución para la cristalización del sulfato de dihidrostreptomina de la misma.

20 8a. - Un procedimiento de producir sulfato de dihidrostreptomina cristalino que comprende: preparar



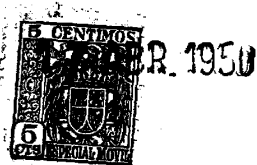
1950

191160

una solución acuosa que contiene sulfato de dihidroestreptomina y tiene un pH de unos 4.5, añadir a la solución una cantidad de metanol justamente suficiente para producir una débil turbiedad en la solución, exponer la solución turbia a cristales de siembra de sulfato de dihidroestreptomina, y dejar a un lado la solución para la cristalización del sulfato de dihidroestreptomina de la misma.

9º. - Un procedimiento que comprende: preparar una solución acuosa que contiene sulfato de dihidroestreptomina y un disolvente orgánico miscible con agua en el cual el sulfato de dihidroestreptomina sea por lo menos tan soluble como en acetona y que tenga un pH de unos 4.5, regular la concentración de dicho disolvente orgánico a una cantidad suficiente para producir una solución sobresaturada, sembrar la solución sobresaturada con cristales de sulfato de dihidroestreptomina y dejar a un lado la solución para la cristalización del sulfato de dihidroestreptomina de la misma.

10º. - Un procedimiento que comprende: preparar una solución acuosa que contiene sulfato de dihidroestreptomina y un disolvente orgánico miscible con agua en el cual el sulfato de dihidroestreptomina sea por lo menos tan soluble como en acetona que contiene un pH de unos 4.5; regular la concentración de dicho disolvente orgánico a una cantidad suficiente para producir una solución sobresaturada, sembrar la solución sobresaturada con cristales de sulfato de dihidroestreptomina, dejar a un lado la solución para la cristalización del sulfato de dihidroestreptomina de



191160

la misma, y añadir disolvente orgánico durante la cristalización para mantener en la solución un estado sobresaturado.

11<sup>a</sup>. - Un procedimiento que comprende: preparar una solución acuosa que contiene sulfato de dihidrostreptomocina y metanol y tiene un pH de unos 4.5, regular la concentración de metanol a una cantidad justamente suficiente para producir una débil turbiedad en la solución, sembrar la solución con cristales de sulfato de dihidrostreptomocina y dejar a un lado la solución para la cristalización del sulfato de dihidrostreptomocina de la misma.

12<sup>a</sup>. - Un procedimiento que comprende: preparar una solución acuosa que contiene sulfato de dihidrostreptomocina y un disolvente orgánico miscible con agua en el cual la solubilidad del sulfato de dihidrostreptomocina es por lo menos tan grande como en acetona y que tiene un pH de unos 4.5, formándose el sulfato de dihidrostreptomocina in situ por reacción entre otra sal ácida de dihidrostreptomocina y una sal ácida sulfúrica seleccionada de la clase compuesta por el sulfato amónico y las sales de ácido sulfúrico de alquil- y alquilol-aminas, regular la concentración del disolvente orgánico a una cantidad suficiente para producir una solución sobresaturada, sembrar la solución con cristales de sulfato de dihidrostreptomocina y dejar a un lado la solución para la cristalización del sulfato de dihidrostreptomocina de la misma.

13<sup>a</sup>. - Un procedimiento que comprende: preparar una solución acuosa que contiene sulfato de dihidrostreptomocina y un disolvente orgánico miscible con agua en

17 FEB 1950



191160

en el cual la solubilidad del sulfato de dihidrostreptomocina sea por lo menos tan grande como en acetona y que tiene un pH de unos 4.5, formándose el sulfato de dihidrostreptomocina in situ por reacción entre otra sal ácida de dihidrostreptomocina y una sal ácida sulfúrica seleccionada de la clase compuesta por el sulfato amónico y las sales de ácido sulfúrico de alquil- y alquilol-aminas, regular la concentración del disolvente para producir una solución sobresaturada, sembrar la solución con cristales de sulfato de dihidrostreptomocina, dejar a un lado la solución para la cristalización del sulfato de dihidrostreptomocina de la misma, y añadir más disolvente orgánico durante la cristalización para mantener dicha solución en estado sobresaturado.

142. - Un procedimiento que comprende: preparar una solución acuosa que contiene sulfato de dihidrostreptomocina y metanol y que tiene un pH de unos 4.5, formándose el sulfato de dihidrostreptomocina in situ por reacción entre otra sal ácida de dihidrostreptomocina y una sal de ácido sulfúrico seleccionada de la clase compuesta por el sulfato amónico y las sales de ácido sulfúrico de alquil- y alquilol-aminas, regular la concentración del metanol a una cantidad suficiente para producir una débil turbiedad en la solución, sembrar la solución con cristales de sulfato de dihidrostreptomocina y dejar a un lado la solución para la cristalización del sulfato de dihidrostreptomocina de la misma.

152. - Un procedimiento que comprende: preparar una solución acuosa que contiene sulfato de dihidrostreptomocina y metanol que tiene un pH de 4.5, formándose



ABR. 1950.

191160

el sulfato de dihidrostreptomina in situ por reacción entre el hidrocioruro de dihidrostreptomina y el sulfato de tris-tanolamina, regular la concentración del metanol a una cantidad meramente suficiente para producir una débil turbiedad en la solución, sembrar la solución con cristales de sulfato de dihidrostreptomina y dejar a un lado la solución para la cristalización del sulfato de dihidrostreptomina de la misma.

5  
10  
15  
16a. - Un procedimiento que comprende: preparar una solución acuosa que contiene sulfato de dihidrostreptomina y metanol y que tiene un pH de unos 4.5, formándose el sulfato de dihidrostreptomina in situ por reacción entre el hidrocioruro de dihidrostreptomina y el sulfato de dimetilamina, regular la concentración del metanol a una cantidad meramente suficiente para producir una débil turbiedad en la solución, sembrar la solución con cristales de sulfato de dihidrostreptomina y dejar a un lado la solución para la cristalización del sulfato de dihidrostreptomina de la misma.

20  
25  
17a. - Un procedimiento que comprende: preparar una solución acuosa que contiene sulfato de dihidrostreptomina y metanol y que tiene un pH de unos 4.5, formándose el sulfato de dihidrostreptomina in situ por reacción entre el hidrocioruro de dihidrostreptomina y el sulfato amónico, regular la concentración del metanol a una cantidad meramente suficiente para producir una débil turbiedad en la solución, sembrar la solución con cristales de sulfato de dihidrostreptomina y dejar a un lado la solución para la cristalización del sulfato de dihidrostreptomina de la misma.



1950

191160

18°. - Un procedimiento de producir sulfato de dihidrostreptomina cristalino que comprende: preparar una solución acuosa que contiene otra sal ácida de dihidrostreptomina, una sal ácida sulfúrica seleccionada de la  
5 clase compuesta por el sulfato amónico y sales de ácido sulfúrico de alquil- y alquilol-aminas y un disolvente orgánico miscible con agua en el cual la solubilidad del sulfato de dihidrostreptomina sea por lo menos tan grande como en acetona, solución que tiene un pH de unos 4,5, regular la  
10 concentración del disolvente orgánico a una cantidad suficiente para producir una solución sobresaturada, sembrar la solución sobresaturada con cristales de sulfato de dihidrostreptomina y dejar a un lado la solución para la cristalización del sulfato de dihidrostreptomina de la misma.

15 19°. - Un procedimiento de producir sulfato de dihidrostreptomina cristalizado que comprende: preparar una solución acuosa que contiene hidrocioruro de dihidrostreptomina, sulfato de trietanolamina y metanol, y que tiene un pH de unos 4.5, regular la concentración del metanol en  
20 dicha solución a una cantidad meramente suficiente para producir una débil turbiedad en la solución, sembrar la solución turbia con cristales de sulfato de dihidrostreptomina, y dejar a un lado la solución para la cristalización de sulfato de dihidrostreptomina de la misma.

25 20°. - Un procedimiento de producir sulfato de dihidrostreptomina cristalino que comprende: preparar una solución acuosa que contiene hidrocioruro de dihidrostreptomina, sulfato de dimetilamina y metanol, y que tiene



1950

191160

un pH de unos 4.5, regular la concentración de metanol en dicha solución a una cantidad meramente suficiente para producir una débil turbiedad en la solución, sembrar la solución turbia con cristales de sulfato de dihidroestreptomocina, y dejar a un lado la solución para la cristalización de sulfato de dihidroestreptomocina de la misma.

21<sup>a</sup>. - Un procedimiento de producir sulfato de dihidroestreptomocina cristalino que comprende: preparar una solución acuosa que contiene hidrocioruro de dihidroestreptomocina, sulfato amónico y metanol, y que tiene un pH de unos 4.5, regular la concentración de metanol en dicha solución a una cantidad meramente suficiente para producir una débil turbiedad en la solución, sembrar la solución turbia con cristales de sulfato de dihidroestreptomocina, y dejar a un lado la solución para la cristalización de sulfato de dihidroestreptomocina de la misma.

22<sup>a</sup>. - Un procedimiento de producir sulfato de dihidroestreptomocina cristalino que comprende: preparar una solución acuosa que contiene hidrocioruro de dihidroestreptomocina, sulfato amónico y metanol, y que tiene un pH de unos 4.5, regular la concentración de metanol en dicha solución a una cantidad meramente suficiente para producir una débil turbiedad en la solución, sembrar la solución turbia con cristales de sulfato de dihidroestreptomocina, dejar a un lado la solución para la cristalización de sulfato de dihidroestreptomocina de la misma, y emplear condiciones estériles en todo el procedimiento, para obtener así sulfato de dihidroestreptomocina cristalino directamente en



BR. 1950

191160

forma adecuada para el uso terapéutico.

232. - Un procedimiento de producir sulfato de dihidrostreptomina cristalizado.

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

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

Madrid, 7 ABR. 1950

P. A.  
Alberto de Eizaburu  
Por Poder

Ezile