

204457

P - 10.214.-

nº 63.997 Case 12689.-

MALA REPRODUCCION
POR DEFECTO DEL ORIGINAL



0. 1952

20 ALC

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 AMERICAN CYANAMID COMPANY, entidad norteamericana, establecida en 30 Rockefeller Plaza, Nueva York, N.Y. Estados Unidos de América, por:

" UN METODO DE PURIFICAR MATERIAL QUE
CONTIENE AUREOMICINA ".-

Este invento se refiere a la purificación de material que contiene aureomicina.

La aureomicina es un importante y nuevo antibiótico, cuya producción y un método de aislamiento se describen en la Patente norteamericana No. 2.482.055 de fecha 13 de Septiembre de 1.949.

204457



5 Hemos creado un nuevo método por el cual la aureomicina puede separarse de una solución acuosa que la contenga, que puede tener asociada con ella ciertas impurezas, por su acción con mútua con un derivado aniónico orgánico de ácido sulfúrico de la fórmula de tipo general $R-O_n-SO_2OH$, donde n es un número entero no menor de cero ni mayor de 1, donde R es un radical orgánico hidrófobo, y donde el peso molecular de este material no es menor de aproximadamente 210; para formar un compuesto de tipo de sal, que
10 puede separarse luego, y recuperarse como tal o resolverse en una sal terapéuticamente deseada de aureomicina.

15 Nuestro derivado aniónico orgánico de ácido sulfúrico es del tipo polar no polar, lo que puede en parte explicar sus propiedades insólitas. Contiene el grupo polar hidrófilo derivado de ácido sulfúrico que incluye al menos un hidroxilo que tiene un hidrógeno ionizable, y una parte hidrófoba no polar tal como un grupo alcohol, aralcohol, alcarilo, arilo, haloarilo o azoarilo, que puede estar
20 unido por un enlace de carbono a azufre, formando un ácido sulfónico, o por un enlace de carbono a oxígeno a azufre formando un ester de ácido sulfúrico o sulfato. Solo uno de tales grupos puede estar unido ya que la entidad ácido sulfúrico debe retener un hidrógeno sustituible para combinar la molécula de aureomicina.

25 Para nuestros fines, estos derivados aniónicos orgánicos de ácido sulfúrico, deben utilizarse a un pH de menos de 3. La acidez puede resultar en parte del uso de los ácidos sulfónicos libres o mono-sulfatos y puede resul-

204457

20



5 tar en parte de la adición de otros ácidos enérgicos, tales como el sulfúrico o el clorhídrico. En el uso, las sales de los ácidos sulfúricos o sulfatos a que se hace referencia se emplean convenientemente en condiciones tales que la sal se convierta en el ácido libre. El uso de, por ejemplo, la sal sódica del ácido sulfónico o la sal sódica del mono-éster sulfato con ácido clorhídrico suficiente para rebajar el pH a menos de 3 en solución da efectivamente el ácido sulfónico libre o el sulfato libre y para los fines de esta solicitud ha de considerarse como equivalente, porque el ácido sulfónico o el éster sulfato es efectivamente el mismo en la solución ácida. Las sales sódicas de tales compuestos son la forma comercial común, pero puede disponerse a veces, y pueden utilizarse, otras sales alcalinas o alcalinotérreas.

10

15

20

25

Algunos de nuestros derivados aniónicos orgánicos de ácido sulfúrico son del tipo usado como agentes humectantes y otros son del tipo usado como colorantes. Preferimos emplear derivados aniónicos orgánicos de ácido sulfúrico no tóxicos, incoloros, de bajo precio, comercialmente obtenibles, por razones económicas. Pueden usarse colorantes coloreados, como pueden serlo ácidos sulfónicos o sulfatos tóxicos, con tal de que la aureomicina final esté sustancialmente libre de tales materiales para ser comercialmente aceptable. Algunos de estos se venden bajo marcas registradas y con más conveniencia se emplean estas para hacer referencia a los mismos. Las sales sódicas son las que pueden comercialmente procurarse del modo más conveniente. Los productos co-

204457



5 merciales son frecuentemente mezclas. Por ejemplo, los sulfatos alcohólicos comerciales tienen cadenas de longitudes diversas. Las mezclas de más de uno de estos derivados pueden emplearse convenientemente, aunque preferimos usar los materiales comercialmente obtenibles.

10 Entre otros materiales que hemos encontrado satisfactorios están el tetradecilsulfato sódico comercial conocido como "Tergitol-4"; la sal sódica de di-(2-etil-
exil)-sulfosuccinato, vendida comercialmente como "Aerosol-
OT"; el sulfato heptadecílico; el sulfonato de alcarilo vendido como "Santomerse-1"; el sulfato lauril sódico vendido como "Duponol-C"; la sal sódica de sulfato 2-etilheptílico, vendida como "Tergitol-8"; cualquiera de los sulfatos de alcohol que tengan de 10 a 20 átomos de carbono, o mezclas de ellos; los ácidos aril o aralcohol o alcoholaril sulfónicos que tengan desde 10 a 25 átomos de carbono; el ácido 2,5-diclorobencenosulfónico; el ácido para-xilenosulfónico; el ácido 4-hidroxiazobenceno-4'-sulfónico; el ácido 2,4-dinitronaftol-7-sulfónico; el ácido 5-sulfosalicílico; el ácido 2,4-diclorofenil-6-sulfónico; el ácido 2-clorotolueno-5-sulfónico; el ácido 4-nitroclorobenceno-2-sulfónico; el ácido 2-naftalinsulfónico; el ácido 2,4-dihidroxiazobenceno-4'-sulfónico, y las sales de estos ácidos; aceite de rojo turco, etc.

25 Ciertos ácidos sulfónicos y sulfatos se han empleado previamente en la refinación de antibióticos fuertemente básicos, tales como la estreptomina. Nótese por ejemplo, las Patentes nortamericanas Números 2.537.933 y 34. Sin embargo, estas patentes describen el uso de una sal de un

204457



ácido enérgico y una base y la formación de la sal puede tener lugar en condiciones cercanas a la neutralidad. Encontramos que, en dicho tratamiento, la aureomicina no da una sal satisfactoria.

5 En contraposición a tales antibióticos anteriores, la aureomicina es un antibiótico de espectro amplio, que inhibe el desarrollo de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, de ciertas rickettsia y de muchos otros organismos. Puede ser que sus notables características como anti-
10 biótico de espectro amplio están ligadas a su naturaleza esencialmente anfótera. Por el hecho de ser anfótera, no puede tratársela como antibiótico básico al refinarla. Hemos encontrado de modo sorprendente que en una solución fuertemente ácida, a un pH de menos de 3, la fase ácida de la naturaleza anfótera del antibiótico es inhibida, y sus características ácidas son enmascaradas por la naturaleza fuertemente ácida de su ambiente de modo que posee características
15 suficientemente básicas para formar un compuesto de tipo de sal con los derivados aniónicos orgánicos de ácido sulfúrico antes mencionados.
20

 En el pasado, la aureomicina se ha separado de sus medios de fermentación por procedimientos tales como la adsorción cromatográfica o la extracción con un disolvente. La adsorción cromatográfica es relativamente costosa, y la
25 extracción de la aureomicina o de su sal con un ácido mineral por medio de un disolvente tiende a originar dificultades a causa de la corrosión en el equipo de la instalación o de las grandes cantidades de disolventes que entran en juego,

204457



etc.

Hemos descubierto que la aureomicina puede recuperarse desde una solución ácida haciéndola actuar a un pH inferior a 3 con un derivado aniónico orgánico de ácido sulfúrico. Por el vocablo "aureomicina" nos referimos no solo a la aureomicina como su sal con un ácido, por ejemplo, el hidrocioruro de aureomicina, sino también a la aureomicina neutra, a la que a veces se hace referencia como base libre, y a la sal de aureomicina con una base tal como la sal sódica. Esto está de acuerdo con la práctica farmacéutica normal, porque las sales de aureomicina son terapéuticamente tan eficaces en cualquiera de estas tres formas.

La solución ácida puede formarse disolviendo aureomicina, como su sal con un ácido, en agua, o puede formarse disolviendo la base libre de aureomicina en agua en presencia de ácido suficiente para rebajar el pH a menos de 3 o puede formarse disolviendo una sal de aureomicina con una base en agua en presencia de ácido suficiente para rebajar el pH a menos de 3. Para los fines de este invento, no es necesario que toda la aureomicina esté disuelta. La sal ácida puede estar presente en la forma no disuelta como pastilla, pero ácida, para los fines de este invento, como una solución, y así se hará referencia a la misma.

Además, es particularmente conveniente formar la solución ácida por la acidificación de una masa de fermentación en la cual la aureomicina se produce y separa por filtración de los insolubles. La solución ácida puede formarse también extrayendo con agua acidificada una torta for-

204457



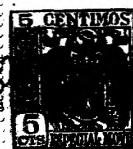
5 maña filtrando la pasta que contiene la aureomicina en condiciones tales que la aureomicina esté presente en una forma insoluble. La aureomicina ~~en~~ la solución ácida procedente de cualquiera de estas fuentes es efectivamente la misma, porque a un pH de menos de 3 en presencia de agua, actúa efectivamente como solución acuosa de su sal con el ácido. Cualquiera de las soluciones de aureomicina puede clarificarse por el uso de un carbón decolorante, u otros procedimientos bien conocidos. La necesidad de tal decoloración depende, por supuesto, en gran medida, de los materiales de partida
10 iniciales.

15 A esta solución ácida de aureomicina puede añadirse luego el derivado aniónico orgánico de ácido sulfúrico junto con ácido suficiente para asegurar que el pH permanece por debajo de 3, aproximadamente. El orden de la adición no es importante, ya que el compuesto de tipo de sal de aureomicina y el derivado aniónico orgánico de ácido sulfúrico se forma como el material menos soluble presente y tiende a separarse.

20 El compuesto de tipo de sal puede recuperarse de la solución ácida por filtración, centrifugación u otra forma de separación. Las sales de ácido sulfónico, según son recuperadas, pueden usarse, por supuesto, como tales, o pueden utilizarse como artículo comercial retardándose
25 la transformación final a la forma terapéutica hasta una ocasión económicamente propicia.

Este compuesto puede recristalizarse desde un disolvente orgánico y usarse terapéuticamente como tal.

204457



Usando un derivado aniónico orgánico de ácido sulfúrico inócuo, tal como algunos de los agentes humectantes de actividad superficial, que han demostrado ser inocuos en pequeñas cantidades, se obtiene un producto que puede administrarse directamente. Preferimos descomponer el compuesto de tipo de sal, por ejemplo, por metátesis, para dar una sal de aureomicina con un ácido administrado más comúnmente, tal como el clorhídrico, o metatetizarlo para formar el hidrocioruro y convertir luego el hidrocioruro en otras formas que puedan desearse para la administración, tal como, por ejemplo, la base libre o la sal con un metal alcalino o metal alcalino-térreo, tal como el calcio. Como algunas de las sales sulfónicas o sulfatos tienden a separarse en una forma amorfa o no cristalizada, encontramos particularmente conveniente extraerlas de la suspensión acuosa en la que se forma con un disolvente que tenga una alta relación de distribución en favor del disolvente. La extracción puede realizarse como extracción única, extracción múltiple, extracción en contra-corriente, o en algunas de las máquinas de extracción líquido-líquido, recientemente desarrolladas. En gracia a la conveniencia, preferimos usar una cantidad del ácido sulfónico o ester sulfato que dé una relación de aureomicina de ligeramente más de un grupo ácido por una molécula de aureomicina, y encontramos que una relación molar de hasta aproximadamente 3 o más por 1, de acuerdo con la ley de acción de masas, determina un desplazamiento del equilibrio hasta un punto que da una recuperación mejorada. El tipo de impurezas presentes y los gastos relativos de los diver-



Los materiales influyen en la relación exacta que económicamente es preferible en condiciones dadas.

5 Puede observarse que en tal extracción, es factible y a veces preferible variar el orden de la adición de los compuestos. Por ejemplo, el ácido sulfónico o sulfato puede añadirse con el disolvente, en el cual puede estar disuelto, o añadirse antes o después de la adición del disolvente, o antes o después de la acidificación de la solución. Solamente se precisa que la solución acuosa tenga un
10 pH de menos de 3 mientras está en contacto con el disolvente con la aureomicina y el ácido sulfónico o sulfato para obtener la extracción del compuesto del tipo de sal de aureomicina con el sulfato o el ácido sulfónico en la capa de disolvente.

15 Como disolvente, encontramos que cualquiera de los disolventes orgánicos comunes en el cual un residuo orgánico hidrófilo tienda a ser soluble, forma un buen disolvente. Entre ellos, pueden mencionarse los hidrocarburos halogenados, tales como el dicloruro de etileno, el tricloroetileno, el tricloroetano, el dicloruro de propileno, el cloroformo, los mono-ésteres inmiscibles con agua de glicoles
20 tales como "cellosolve" de fenilo, ésteres orgánicos tales como el ftalato de dimetilo, el ftalato de etilo hidrogenado, el acetato de isopropilo, el acetato de butilo, los éteres y éteres sustituidos tales como el éter dicloroisopropílico, las cetonas tales como la metilisobutil cetona u otra de las cetonas superiores, que en esencia sean inmiscibles con agua, o cetonas más solubles que se hagan inmis-

25



cibles con agua por la **adición** de una sal a la capa acuosa. Los alcoholes de 4 o más átomos de carbono tales como el **carbinol metilisobutilico**, los hexanoles, el butanol, el alcohol amílico, etc. son buenos disolventes.

5 La solución del compuesto de tipo de sal en el disolvente orgánico inmiscible con agua puede concentrarse por evaporación de al menos parte del disolvente a una temperatura que no exceda de unos 60° C. La totalidad del disolvente puede evaporarse y la sal así aislada puede **usar-**
10 se como tal, o metatetizarse o convertirse de otro modo en una forma terapéuticamente deseada, o que económicamente puede metatetizarse en la solución del disolvente orgánico. Encontramos que añadiendo una sal tal como el hidrocioruro de trietilamina o cloruro de amonio, u otro hidrocioruro de
15 base nitrogenada, o cloruro de calcio, etc., a la solución, se forma la sal de trietilamina o sal correspondiente del sulfato o del ácido sulfónico la cual queda disuelta y la aureomicina se separa como el hidrocioruro que puede retirarse de la solución.

20 Alternativamente, el disolvente puede tener un disolvente mutuo, miscible con agua, añadido al mismo, tal como un alcohol inferior como el metanol o el 2-etóxi-
25 etanol, y a este disolvente misto puede añadirse un ácido mineral tal como el clorhídrico. Este metatetiza el compuesto de aureomicina del tipo de sal, poniendo en libertad aureomicina como hidrocioruro que puede separarse como precipitado del disolvente mixto.

La aureomicina puede separarse añadiendo una

204457

20461



base para subir el pH de la solución, en cuyo caso la aureomicina resulta como aureomicina neutra o sal con la base, dependiendo de la cantidad añadida. La solubilidad disminuye rápidamente después de que la acidez disminuye a un pH por encima de 3 aproximadamente.

5

Otros métodos de descomponer y separar el compuesto de aureomicina del tipo de sal se les sugerirán por sí mismos a los técnicos, como lo serán métodos de convertir el compuesto en la forma particular de aureomicina que pueda desearse por el médico para el tratamiento de un estado patológico dado.

10

A fin de que el invento pueda comprenderse plenamente, se describirá ahora a modo de ilustración, con referencia a los ejemplos anejos.

E J E M P L O I.

15

Se preparó una solución que contenía 3,5 grs. de aureomicina neutra bruta que daba en el ensayo 800 gammas por milígramo en 1.500 c.c. de agua. A esta solución se le añadieron 1,7 grs. de la sal sódica de ácido 2,4-diclorofenol-6-sulfónico. La mezcla se agitó y el pH se ajustó a 2 por la adición de ácido sulfúrico 25%. La mezcla se agitó y el pH se ajustó a 2 por la adición de ácido sulfúrico 25%. Después de que se estableció el equilibrio, la solución se extrajo con 375 c.c. de metil isobutil cetona. La fase acuosa recibió la adición de una parte adicional de un gr. de 2,4-diclorofenol-6-sulfonato sódico y se extrajo de nuevo

20

204457



5 con porciones de 150 c.c. de metil isobutil cetona. Se
realizaron tres extracciones de esta clase. El refinado
dió en el ensayo 51 gammas por c.c., indicando una extrac-
ción casi completa. Las fracciones de disolvente separadas
se combinaron para formar una fase de disolvente reunida de
774 c.c. que dió en el ensayo 3480 gammas por c.c. El ex-
tracto se concentró a presión reducida a una temperatura que
no excedía de 40° C. a un volumen de 31 c.c. Al concentra-
do se le añadieron 0,6 c.c. de ácido clorhídrico concentrado
10 dando como resultado la precipitación inmediata de hidroclo-
ruro de aureomicina en forma amorfa. El precipitado se se-
paró por filtración y se llevó a la forma de una papilla
con 5 c.c. de 2-etoxietanol (cellosolve). El producto amor-
fo se cristalizó luego, dando 2,15 grs. del hidrocloruro de
15 aureomicina purificado. El producto dió en el ensayo 994
gammas por mgr., indicando un hidrocloruro de aureomicina
casi puro y representando una recuperación de 69% de la aure-
micina original.

20 Puede observarse que el hidrocloruro de aureo-
micina puede resultar en la forma amorfa o en la cristaliza-
da, dependiendo de la presencia de cristales-semilla, etc.
El mismo procedimiento puede usarse con cualquiera de las
formas.

E J E M P L O 2.

Dos litros de un caldo de fermentación de
aureomicina, que contiene iones de calcio y que dió en el
ensayo 1100 gammas por c.c. se ajustaron a pH de 8,5 por

204457

20 AGO



la adición de solución al 25% de hidróxido sódico. La mezcla recibió la adición de 1% en peso de tierra de diatomáceas como auxiliar de filtración, y los sólidos se separaron por filtración. La torta de filtro se puso en suspensión en 1 litro de agua y se acidificó a pH de 1,5 por la adición de ácido sulfúrico 25%. La mezcla se calentó a 55° C. y se agitó durante 20 minutos, y los sólidos se separaron por filtración. Se hizo una segunda extracción de la torta del filtro con un litro más de agua acidificada al mismo pH. Los dos extractos se combinaron y dieron en el ensayo 960 gammas por c.c. Se añadieron 1,5 grs. de ácido 2,4-diclorofenol-6-sulfónico en forma de la sal sódica y la solución se extrajo con 500 c.c. de metil isobutil cetona. La fase disolvente se separó y la fase acuosa se trató con otros 1,5 grs. de 2,4-diclorofenol-6-sulfonato sódico y se extrajo con 200 c.c. de metil isobutil cetona, y luego se extrajo sucesivamente con dos porciones adicionales de 200 c.c. de metil isobutil cetona. El pH quedó por debajo de 3. El refinado final dió en el ensayo 29 gammas por c.c. indicando una extracción prácticamente completa. Los extractos en el disolvente se mezclaron y concentraron a presión reducida a una temperatura que no excedió de 55° C. a 27 c.c. Al concentrado se le añadieron 0,5 c.c. de ácido clorhídrico concentrado y la mezcla se enfrió bruscamente a 0° C. se formó hidrocioruro de aureomicina amorfo, que se separó por filtración y se llevó a la forma de papilla con 4 c.c. de 2-etoxi-etanol. El hidrocioruro amorfo formó cristales en el 2-etoxi-etanol, dando 1,27 grs. de hidrocioruro de aureomicina



que dió en el ensayo 860 gammas por mgr.

E J E M P L O 3.

5 Tres litros de caldo de aureomicina directa-
mente desde los depósitos de fermentación, que dió en el
análisis 1.000 gammas por c.c. se acidificaron a pH de 2 con
ácido sulfúrico 25%. El caldo acidificado se agitó durante
30 minutos y se filtró. Al filtrado claro se le añadió 1
10 gr. de 2,4-diclorofenol-6-sulfonato sódico. La mezcla se
extrajo luego con 560 c.c. de metil isobutil cetona. La
capa acuosa se extrajo de nuevo después de la adición de
0,8 grs. de 2,4-diclorofenol-6-sulfonato sódico con cuatro
porciones sucesivas de 250 c.c. de metil isobutil cetona.
15 El pH quedó por debajo de 3. La capa acuosa agotada dió
en el ensayo 47 gammas por c.c., indicando una extracción
casi completa. Las capas de disolvente se mezclaron y tra-
taron con 0,07 grs. de carbón decolorante, usándose el pro-
ducto comercial Darco-G-60. Después el carbón se separó
20 por filtración, la solución clara se concentró a presión re-
ducida a una temperatura que no excedió de 50° C. a una
volumen de 22 c.c. Al concentrado se le añadieron entonces
0,35 c.c. de ácido clorhídrico concentrado. El precipitado
del hidrocloreuro de aureomicina amorfo se separó por filtra-
ción y se llevó a la forma de una papilla con 5 c.c. de
25 cellosolve de etilo lo que hizo que la aureomicina crista-
lizara como hidrocloreuro de aureomicina. Se obtuvieron 0,72
grs. de hidrocloreuro de aureomicina ligeramente amarillo que

204457

2040



dió en el ensayo 960 gammas por mgr.

Pueden usarse ácidos distintos del clorhídrico para esta operación, pero la profesión médica prefiere esta sal, y por consiguiente, se da cumplimiento a sus deseos.

5

E J E M P L O 4.

4-hidroxiazobenceno-4'-sulfonato de aureomicina.

Se preparó una solución de 3 grs. de la sal sódica de ácido 4-hidroxiazobenceno-4'-sulfónico en 300 mls. de agua a 60° C. A la misma se le añadieron en seco 5 grs. de un hidrocloreuro de aureomicina impuro. Se añadió ácido clorhídrico suficiente para rebajar el pH a 2. La mezcla se agitó a 60° C. durante 45 minutos durante cuyo tiempo se formó un precipitado de 4-hidroxiazobenceno-4'-sulfonato de aureomicina cristalizado. La mezcla se enfrió, se filtró, los cristales se lavaron con agua fría y se secaron. Se obtuvo un rendimiento de 6,77 grs. en forma de rosetas de color naranja cuyos cristales dieron en el ensayo 710 gammas por mgr. por análisis microbiológico. Los cristales tenían un punto de fusión no corregido de 235° C. con descomposición. Las aguas madres dieron en el ensayo 150 gammas por ml. Basada en una fórmula empírica supuesta de $C_{22}H_{26}N_2ClO_8.HCl$, para hidrocloreuro de aureomicina, la fórmula empírica del producto obtenido es $C_{34}H_{34}N_4O_{12}SCl$. Esto da un análisis calculado de:

15

20

25

204457



	Calculado.	Encontrado.
Carbono	53,8	52,4
Hidrógeno	4,6	5,1
Nitrogeno	7,4	7,2
Azufre	4,2	4,1
Cloro	4,7	4,5

E J E M P L O 5.

2,4-diclorofenol-6-sulfonato de aureomicina.

Se preparó una solución disolviendo 5 grs. de aureomicina como material libre en 100 c.c. de agua acidificada con 3 mls. de ácido sulfúrico 25%. A esto se añadió una solución, previamente preparada, de 2,92 grs. de 2,4-diclorofenol-6-sulfonato sódico en 50 mls. de agua, a gotas y con agitación, conduciéndose el experimento a temperatura ambiente. El pH quedó por debajo de 3. Se formó un precipitado de 2,4-diclorofenol-6-sulfonato de aureomicina, que se separó por filtración, se lavó con agua y se secó; dando 3,73 grs. de un producto cristalizado amarillo que dió en el análisis 730 gammas por mgr. Los cristales fundían a 159-161° C. con descomposición (no correg.). Basada sobre una fórmula empírica supuesta de $C_{22}H_{26}N_2ClO_8.HCl$, para hidrocloreto de aureomicina, la fórmula empírica del producto obtenido es $C_{28}H_{26}N_2O_{12}SCl_{13}$. Esto da un análisis calculado de:

204457



	<u>Calculado.</u>	<u>Encontrado.</u>
Carbono	46,6	46,6
Hidrógeno	4	3,9
Nitrógeno	3,8	4,1
5 Azufre	4,4	4,6
Cloro	14,7	13,8

E J E M P L O 6.2,4-di-nitronaftol-7-sulfonato de aureomicina.

5 grs. de aureomicina neutra se disolvieron en 100 mls. de agua acidificada por 2 mls. de ácido sulfúrico 25%. La solución se calentó a 40° C. y se trató a gotas a esta temperatura con una solución previamente preparada que contenía 3,3 grs. de ácido 2,4-dinitronaftol-7-sulfónico con agitación. El pH quedó por debajo de 3. Precipitó una sal de sulfonato cristalizado amarillo. La mezcla de reacción se enfrió bruscamente a 4° C., el precipitado se separó por filtración, se lavó con agua fría y se secó en vacío. Se obtuvo un rendimiento de 7,25 grs. de 2,4-dinitronaftol-7-sulfonato de aureomicina que dió en el ensayo 754 gammas por mgr. Los cristales fundían a 206-210° C., con descomposición (no corregido).

E J E M P L O 7.2-clorotolueno-5-sulfonato de aureomicina.

204457



102

5 Se preparó una solución que contenía 5 grs. de aureomicina libre en 100 mls. de agua acidificada con 2 mls. de ácido sulfúrico 25%. A esta solución se le añadieron a gotas con agitación una solución de 2,35 grs. de 2-clorotolueno-5-sulfonato sódico en 85 mls. de agua caliente con agitación, formando de este modo un precipitado cristalizado fino. La mezcla se enfrió a 4° C. y se dejó reposar durante la noche y el 2-clorotolueno-5-sulfonato de aureomicina resultante se separó por filtración, se lavó con agua y se secó en vacío. Se obtuvo un rendimiento de 5,82 grs. que dió en el ensayo 812 gammas por mgr.

E J E M P L O 8.

15 2,5-diclorobenceno-sulfonato de aureomicina.

Se repitió el experimento anterior, usando 2,59 grs. de 2,5-diclorobenceno-sulfonato de sodio que dió 5,45 grs. de 2,5-diclorobenceno sulfonato de aureomicina que dieron en el ensayo 830 gammas por mgr. de aureomicina.

E J E M P L O 9.

4-nitroclorobenceno-2-sulfonato de aureomicina.

5 grs. de aureomicina neutra se trataron con 130 mls. de ácido sulfúrico diluido para dar una solución que tenía un pH de 1,5. A esta solución se le añadió a gotas con

204457



5 agitación una solución caliente de 3 grs. de 4-nitroclorobenceno-2-sulfonato sódico en 120 mls. de agua. Se formó un precipitado pardo claro que, después de enfriamiento y reposo, se separó por filtración, dando 5,26 grs. de 4-nitroclorobenceno-2-sulfonato de aureomicina, que dió en el ensayo 740 gammas por mgr. El material tenía un punto de fusión no corregido de 169-173° C.

E J E M P L O 10.

15 Una muestra de 2 litros de extracto en agua ácida, obtenido extractando torta alcalina, se trató con 7,5 grs. de sulfato lauril sódico. La solución se extrajo con 500 mls. de acetato de n-propilo divididos en dos porciones. La solución original acuosa dió en el ensayo 1250 gammas por ml.; el refinado dió en el ensayo 240 gammas por ml. El extracto en disolvente se concentró al vacío a una temperatura de 35° C. a 10% de su volumen original. Durante la concentración se formó un precipitado de la sal de aureomicina de sulfato de laurilo. El concentrado se filtró y la sal amarga se disolvió en 10 c.c. de alcohol etílico. La solución se filtró y acidificó con 1 ml. de ácido clorhídrico 6/n. el hidrocloreuro de aureomicina cristalizó desde la solución y se separó por filtración después de reposar a 20 temperatura ambiente durante 12 horas. Se obtuvo un rendimiento de 4,25 grs. de hidrocloreuro de aureomicina cristalizado que dió en el ensayo 940 gammas por mgr. 25

204457



19

EJEMPLO 11.-

5 Una muestra de 2,5 litros de extracto en
agua ácida que daba en el ensayo 1500 gammas por ml. se tra-
tó con 20 c.c. de una solución al 25% de 2,9-dietiltrideca-
no-6-sulfato sódico (Tergiol 7). La solución se extrajo
con 600 mls. de metil isobutil cetona, divididos en 3 por-
ciones. El refinado dió en el ensayo 30 gammas por mls.
10 indicando una extracción casi completa. El extracto en di-
solvente se concentró al vacío a 10% de su volumen original
a una temperatura que se excedió de 35° C. El concentrado
era una papilla de 2,9-dietiltridecano-6-sulfato de aureo-
micina. A esta papilla se le añadieron 2 mls. de ácido
15 clorhídrico 6N. Después de agitación durante 5 horas, el
hidrocloruro de aureomicina amarga resultante se separó por
filtración. La sal amarga, cuando se llevó a la forma de
papilla con 6 mls. de cellosolve, se disolvió. Al continuar
agitando, cristalizó hidrocloruro de aureomicina desde la
20 solución. Se separó por filtración, se lavó con cellosolve
y alcohol y se secó. Se obtuvo un rendimiento de 2,6 grs.
de hidrocloruro de aureomicina con una potencia de 920 ga-
mmas por mgr.

EJEMPLO 12.

16 litros de una solución acuosa acidificada
de aureomicina que dió en el ensayo 1560 gammas por c.c. a
un pH de 1, recibieron la adición a temperatura ambiente de

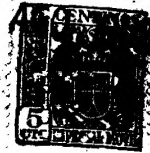
204457



400 mls. de dicloruro de etileno. La mezcla se agitó durante unos 2 minutos después de lo cual se añadieron a la misma 100 mls. de Aerosol OT 70%, usándose la papilla acuosa comercial. Después de agitación durante 35 minutos, la capa de disolvente se separó en una centrífuga. La capa acuosa residual dió en el análisis 60 gammas por mls. A 40 mls. del extracto se les añadieron 40 mls. de cellosolve, 2 mls. de agua y 4 grs. de hidrocloreuro de trietilamina. La mezcla se agitó y se añadió suficiente ácido clorhídrico concentrado para rebajar el pH a 0,75. La mezcla se agitó durante 6 horas y se dejó reposar durante 10 horas a temperatura ambiente. Los cristales formados se separaron por filtración y se lavaron con cellosolve, agua, y 3 lavaduras de alcohol. Se recuperaron 3,92 grs. de hidrocloreuro de aureomicina que dieron en el análisis 980 gammas por mgr.

E J E M P L O 13.

3 litros de extracto en agua ácida, con una potencia de 810 gammas por c.c. se ajustaron a pH 2,4 con álcali diluido y se extrajeron con 600 c.c. de acetato de n-propilo después de la adición de 28 c.c. de una solución acuosa 25% de la sal sódica de sulfato de tetradecilo. La extracción se repitió con otros 600 c.c. de acetato de n-propilo. Los extractos combinados en acetato de n-propilo con un volumen de 1100 c.c. se filtraron y el pH se elevó a 4,75 por la adición de 1,5 c.c. de trietilamina. Después de concentrarse bajo vacío a 101 c.c. y diluirse con 20 c.c. de



alcohol y 15 c.c. de cellosolve, el pH se ajustó a 5,2 con 0,4 c.c. de trietilamina. La solución se ajustó inmediatamente a pH 1 añadiendo 1,5 c.c. de ácido clorhídrico concentrado. La solución se agitó durante 3 horas y luego se dejó reposar durante unas 16 horas a temperatura ambiente. Los cristales que se formaron se filtraron, se lavaron sucesivamente con cellosolve, agua, alcohol y se secaron. Se obtuvo en rendimiento de 1,61 grs. de hidrocloreuro de aureomicina que dió en el análisis 868 gammas por mgr.

E J E M P L O 14.

Dos y medio litros de extracto en agua ácida a pH 1,5 que daban en el análisis 975 gammas por c.c. se extrajeron sucesivamente a pH 1,5 con 20%, 15% y 10% en volumen de n-butanol después de añadir 3 equivalentes de la sal sódica de sulfato de tetradecilo (Tergitol 4). Los extractos combinados (1032 c.c.) se filtraron y concentraron a aproximadamente 5% de su volumen combinado original. El concentrado que contenía sulfato de tetradecilo y aureomicina se trató con 2 c.c. de ácido clorhídrico concentrado para ajustar al pH a 0,8. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas, y se dejó reposar 16 horas a temperatura ambiente. El hidrocloreuro de aureomicina bruto se filtró, se lavó con 4 c.c. de butanol normal y se secó. Se obtuvo un rendimiento de 3,4 grs. de hidrocloreuro de aureomicina, que dió en el análisis 730 gammas por mgr.

204457



E J E M P L O 15.

5 17 litros de extracto en agua ácida a pH 1,35
y que daban en el análisis 775 gammas por c.c. se trataron
con 60 grs. de una pasta acuosa 50% de Tergitol 4 y se ex-
trajerón con 1.700 c.c. de dicloruro de etileno. La extrac-
ción se repitió usando 1.700 c.c. más de dicloruro de etile-
no y 30 grs. de la pasta al 50% de Tergitol 4. El extracto
combinado (3.200 c.c.) se filtró y concentró en el vacío
10 a 20-25° C. hasta que sustancialmente todo el dicloruro de
etileno se separó por destilación. No fué necesario más
ácido. Se añadieron al concentrado 85 c.c. de cellosolve.
Después de filtrar, el filtrado se dividió en dos porciones
iguales de 72 c.c. A la primera, se le añadieron 2,2 c.c.
15 de agua y 2,5 grs. de hidrocioruro de trietilamina. La mez-
cla se agitó y el pH de la misma se ajustó a 1,24 con 0,8
c.c. de ácido clorhídrico concentrado. Después de agitar
durante 3 horas, precipitó hidrocioruro de aureomicina. Des-
pués de reposar 16 horas a la temperatura ambiente, el hidro-
20 cloruro de aureomicina bruto se filtró, se lavó sucesivamen-
te con cellosolve, agua y alcohol 2B y se secó. Se obtuvo
un rendimiento de 5,58 grs. de hidrocioruro de aureomicina
amarillo claro, que daba en el análisis 1030 gammas por
mgr.

E J E M P L O 16.

Dos y medio litros de extracto en agua ácida



5 a pH de 1,5 y que daba en el ensayo 975 gammas por c.c. se
extrajeron con 500 c.c. de metil isobutil cetona después
de la adición de 28 c.c. de una solución acuosa 25% de Ter-
gitol 7. La capa acuosa se extrajo de nuevo con 375 c.c.
10 de la cetona y luego con otros 250 c.c. El extracto cetóni-
co combinado se concentró en vacío a unos 90 c.c. Los só-
lidos se separaron por filtración. Dos c.c. de ácido clor-
hídrico 6N etanolico se añadieron al filtrado para llevar
el pH a 0,75. El precipitado amorfo se filtró, y se cris-
talizó por suspensión en 2,5 c.c. de cellosolve. Los cris-
tales se filtraron, se lavaron con cellosolve y se secaron.
Se obtuvo un rendimiento de 1,41 grs. de hidrocloreuro de
aureomicina bruto que daba en el análisis 900 gammas por
mgr.

E J E M P L O 17.

20 Seis litros de una solución de hidrocloreuro
de aureomicina a un pH de 1,5 que daba en el análisis 1130
gammas por c.c. se extrajeron con 500 c.c. de dicloruro de
etileno en presencia de 20 c.c. de una solución acuosa 70%
de la sal sódica de di-2-etilhexil sulfosuccinato (Aerosol
OT). La capa acuosa se extrajo de nuevo con 500 c.c. de di-
cloruro de etileno usando 10 c.c. más de Aerosol OT 70%.
25 El extracto combinado en dicloruro de etileno se agitó con
5.9 grs. de carbón vegetal durante 30 minutos. El extracto
se filtró luego y se concentró en vacío a 20-25° C. hasta
unos 110 c.c.

204457



Después de dilución con 42 c.c. de cellosolve, el concentrado se trató luego con 1% (peso/vol.) de carbón vegetal y se filtró. Al filtrado, se le añadió trietilamina hasta que el pH fué de 5,6. La mezcla se ajustó luego con ácido clorhídrico concentrado a pH 1,72. Comenzaron a sedimentar cristales. Después de agitación durante 3 horas a temperatura ambiente, se filtró el hidrocloreto de aureomicina, se lavó sucesivamente con cellosolve, agua y alcohol 2B y se secó. Se obtuvo un rendimiento de 4,68 grs. de hidrocloreto de aureomicina que daba en el análisis gammas 900 por mgr.

E J E M P L O 18.

Una muestra de 100 litros de extracto en agua ácida que daba en el análisis 1.000 gammas por c.c. se extrajo con dos porciones de 500 c.c. de acetato de isopropilo, después de añadir 30 c.c. de Aerosol OF 70%. Las capas de disolvente se combinaron. Después de concentración en vacío a 50 c.c. el concentrado se diluyó con 50 c.c. de cellosolve y se filtró. Al filtrado se le añadieron 4 c.c. de agua y 4 grs. de cloruro de trietilamonio sólido. Cuando se acidificó con ácido clorhídrico concentrado a pH 1,28 y se agitó durante la noche, se obtuvieron 3,61 grs. de hidrocloreto de aureomicina amarillo pálido que dió en el ensayo 930 gammas por mgr.

En algunos de los ejemplos arriba enumerados, se encontró que la solución era suficientemente ácida en las

204457



4

5

circunstancias expuestas de modo que no se requirió más ácido para mantener un pH de menos de 3. Preferimos que la extracción se haga entre aproximadamente pH 1 y pH 2, o que la precipitación ocurra también dentro de esta gamma si se separa la sal.

10

La presente solicitud, que corresponde a la presentada en los Estados Unidos de América, con fecha 11 de Julio de 1.951, bajo el número 236.268, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto-Ley sobre Propiedad Industrial.

- N O T A -

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

15

19.- Un método de purificar material que contiene aureomicina, caracterizado por hacerlo reaccionar en agua a un pH que no excede de 3 aproximadamente, con un derivado orgánico aniónico de ácido sulfúrico de la fórmula $R-O_n-SO_2OH$, en la cual n es un número entero que no es menor

20

de 0 ni mayor de 1 y R es un radical orgánico esencialmente de naturaleza hidrófoba en el cual el enlace de la valencia



de unión está unido a un átomo de carbono, no siendo menor de 210 el peso molecular, recuperar el compuesto de aureomicina resultante del tipo salino de dicho derivado de ácido sulfúrico y, si se desea, convertirlo en otra forma de aureomicina

5

22.- Un método según se reivindica en el punto 12, caracterizado porque el derivado orgánico aniónico de ácido sulfúrico es un dialcohol sulfosuccinato.

10

32.- Un método según se reivindica en el punto 12, caracterizado porque el derivado orgánico aniónico de ácido sulfúrico es un di-2-etilhexilsulfosuccinato.

15

42.- Un método según se reivindica en el punto 12, caracterizado porque el derivado orgánico aniónico de ácido sulfúrico es un ácido alcaril sulfónico, cuyo grupo alcarilo tiene desde 10 hasta 25 átomos de carbono.

20

52.- Un método según se reivindica en cualquiera de los puntos anteriores, caracterizado porque la reacción se lleva a cabo en presencia de un disolvente inmiscible con agua para dicho compuesto de aureomicina del tipo de sal de dicho derivado de ácido sulfúrico.

25

62.- Un método según se reivindica en el punto 52, caracterizado porque el disolvente inmiscible con agua es dicloruro de etileno.

72.- Un método según se reivindica en el punto 52, caracterizado porque el disolvente inmiscible con agua es metilisobutil cetona.

82.- Un método de purificar material que contiene aureomicina.

204457

20 A



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

La presente Memoria consta de veintiocho hojas escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, 20 AGO. 1952
P. A.

Alberto de Elzabura
Por Poder.