

2 3204

F/He 19.562



## *Memoria Descriptiva*

*para*

una patente de Invención, por veinte años,

*a favor de*

Biochemie Gesellschaft m. b. H.,

- sociedad austriaca -

*residente en*

Innsbruck (Tirol) Austria

Ing. Etzelstrasse, 11

*por:*

" Procedimiento para la obtención de penicilinas estables, adecuadas especialmente para la terapia oral "

---

Inventores) ( Dr. Ernst Brandl (ambos austriacos)  
( Dr. Hans Margreiter



Ya se han realizado en gran número procedimientos para la obtención biosintética de penicilina que de las penicilina normales G, X, F y K empleadas y analizadas químicamente, se diferencian por la clase de la cadena lateral. La introducción de los radicales requeridos en la molécula de penicilina se efectúa, como por ejemplo se describe en la patente inglesa 643 514, por adición de combinaciones químicas (los llamados precursores) en la fermentación. La fórmula de las penicilinas así obtenidas se representa por la fórmula  $C_8H_{10}O_3NS-NHCO-R$ , en que R indica los diversos radicales introducidos.

Ahora bien se ha descubierto que las penicilinas que corresponden a la fórmula general  $C_8H_{10}O_3NS-NHCO-(R_1X)_n-R_2$ , en que  $R_1$  representa un radical bivalente alifático dado el caso sustituido, X oxígeno, azufre o el grupo NH, n = un número entero de 1 a 5 y  $R_2$  un radical alifático, aralifático y/o aromático, dado el caso sustituido, se diferencian en sus propiedades típicamente de las penicilinas normales G, X, F y K. En contraposición a las penicilinas normales, las penicilinas de esta fórmula presentan, como se ha comprobado, una estabilidad elevada y completamente inesperada en diversas condiciones y ante toda contra el influjo de ácidos. Ahora bien se ha descubierto que las penicilinas de la estructura antes indicada con un pH de 1 a 2 y a  $24^\circ C$  no presentan dentro de 48 horas ningún descenso en absoluto de su actividad, mientras que por ejemplo la penicilina pura G con un pH de 2,1 y a  $24^\circ C$  solo la conserva por término medio durante 18 minutos.

A base de estos nuevos conocimientos el procedimiento según el invento consiste esencialmente en que de las



5 disoluciones impuras obtenidas en la fermentación o de las di-  
soluciones acuosas obtenidas en la subsiguiente elaboración de  
las impuras y que contienen penicilinas de las fórmula general  
 $C_8H_{10}O_3NS-NHCO-(R_1X)_n-R_2$ , en que  $R_1$  representa un radical biva-  
lente alifático dado el caso sustituido, X oxígeno, azufre o  
un grupo NH, n es un número entero entre 1 y 5 y  $R_2$  un radical  
10 alifático, aralifático o aromático que dado el caso puede estar  
sustituido, se utilizan para separar estas penicilinas como  
ácidos libres, obteniéndolas por ejemplo de las disoluciones  
acuosas (disolución bruta o fases acuosas de extracción) por  
precipitación con ácidos o convirtiéndolas de estas disolucio-  
nes en presencia de ácidos en disolventes orgánicos y aislan-  
dolas por evaporación del disolvente. El aislamiento de las  
penicilinas arriba señaladas en forma de sus ácidos libres pue-  
15 de realizarse sin ulterior purificación con objeto de eliminar  
los ácidos precursores acompañantes, por ejemplo mediante lava-  
do con agua, reprecipitación, etc. Pero también pueden purifi-  
carse las disoluciones antes de aislar los ácidos libres de las  
penicilinas, eliminando las impurezas, especialmente las can-  
20 tidades residuales de ácidos precursores. Por el procedimiento  
del invento se logra por vez primera obtener penicilinas como  
ácidos libres en forma cristalina definida. Los ácidos aisla-  
dos presentan consiguientemente puntos de fusión precisos, son  
poco solubles en agua, pero se disuelven fácilmente en disolu-  
ciones tampón de por ejemplo un pH de 7,2, formando sales.

25 El procedimiento según el invento se ha comproba-  
do como excelente de modo especial para la obtención de fenoxi-  
metilpenicilina  $C_8H_{10}O_3NSNHCO CH_2OC_6H_5$ , que se forma empleando  
B -fenoxietanol o ácido fenoxiacético como precursor en la



5 fermentación, poseyendo el ácido libre aislado con el procedimiento del invento, un punto de fusión de 120 a 128° C. Igualmente con auxilio de p-oxi- $\beta$ -fenoxietanol o de ácido p-oxifenoxiacético como precursor puede obtenerse como ácido cristalizado la p-oxi-fenoximetilpenicilina.

10 Para la práctica del procedimiento según el invento las penicilinas obtenidas por ejemplo empleando precursores en la fermentación y de la estructura arriba señalada, se separan de las disoluciones acuosas impuras o de una fase acuosa de extracción por acidificación con ácidos minerales a un pH inferior a 2, por ejemplo entre pH 1,5 y pH 1,8 en forma insoluble cristalizada y se purifican en todo caso por lavado con agua, separándose al mismo tiempo los ácidos precursores acompañantes y sus sales. Esta precipitación ácida aplicada sobre  
15 penicilina G, conduciría a la completa descomposición y a la formación de productos de descomposición biológicamente inactivos.

20 En el aislamiento de los ácidos libres de las penicilinas citadas por extracción con disolventes orgánicos en presencia de ácidos (método que no puede aplicarse igualmente a disoluciones de penicilina G) se emplean como medios extractivos preferentemente aquellos disolventes orgánicos que fijan difícilmente los ácidos precursores, pero la penicilina la fijan facilísimamente, de suerte que después de evaporar  
25 el disolvente orgánico y del lavado incidental con agua se obtiene la penicilina en forma ácida y en estado puro. Por ejemplo cuando se emplease como precursor  $\beta$ -fenoxietanol que se oxida en ácido fenoxiacético durante la fermentación aerobia o el mismo ácido fenoxiacético, se podrá trabajar con cloro-



5  
10  
15  
20  
25

formo como medio extractor, para cuyo disolvente existen mayores diferencias en las relaciones de distribución del ácido fenoxiacético y de la fenoximetilpenicilina formada respecto a la fase acuosa. Así por ejemplo el ácido fenoxiacético con pH 2,1 y a 24° C posee un coeficiente de dispersión de 0,48 siempre que el cloroformo y la fase acuosa se empleen en la relación de 1 : 1. (Con relación 6 agua : 1 cloroformo, este coeficiente se eleva a 2,3). Por el contrario la fenoximetilpenicilina posee en conformidad con su insolubilidad en agua con pH 2,1 y su grandísima solubilidad en cloroformo, un coeficiente tan pequeño que en la extracción de las fases acuosas con cloroformo la fenoximetilpenicilina pasa al cloroformo mientras que el ácido fenoxiacético queda en su mayor parte en la fase acuosa. Pero si las penicilinas de la clase citada se llevan en presencia de ácidos a disolventes orgánicos que fijan los ácidos libres acompañantes, lo que ocurre por ejemplo al emplear butanol para la extracción de la fase acuosa, entonces por destilación azeótropa se expulsa primeramente la mezcla de agua y butanol y luego las mezclas butanólicas que se hacen cada vez más pobres en agua (por ejemplo al vacío), quedando las penicilinas activas como ácidos libres, aunque impurificadas con los ácidos precursores, pues estos ácidos, como por ejemplo el fenoxiacético (pK=3,25) presentan coeficientes pK análogos a los de las mismas penicilinas (pK = 3,12 en la fenoximetilpenicilina). Los ácidos penicilínicos obtenidos por precipitación o por evaporación del disolvente se purifican, por consiguiente, si se quiere por extracción repetida o lavado con agua o similares, de los ácidos precursores acompañantes que se fijan por el agua, mientras quedan prácti-



oamente sin disolver los ácidos de las penicilinas.

5 También las penicilinas de la clase especificada se las puede obtener del modo conocido, como penicilinas alcalinas partiendo de las disoluciones impuras y purificar las penicilinas alcalinas separadas impurificadas por las sales alcalinas de los ácidos precursores, de tal modo y obtenerlas en forma de ácidos libres de manera que las sales alcalinas se disuelven en agua y los ácidos penicilínicos se precipitan con ácidos, por ejemplo clorhídrico, quedando en disolución  
10 los ácidos precursores al emplear cantidades convenientes de agua.

15 También las sales de las penicilinas, pueden desde la disolución impura hacerse pasar por varios grados de extracción al cloroformo, eliminar por lavado con agua los ácidos precursores acompañantes y luego con intermedio de una disolución acuosa tampón (pH 7,2) en presencia de ácidos a unos pH 1,8, llevarlas por ejemplo a acetato de butilo o acetato de amilo y obtener los ácidos libres por evaporación del disolvente. Además las disoluciones impuras y las fases acuosas  
20 de extracción pueden purificarse por adición de sales terreoalcalinas, por ejemplo sales de bario, pues las sales de bario de las penicilinas aquí tratadas son solubles en agua, pero las del ácido precursor son insolubles o muy poco solubles en agua (por ejemplo el fenoxiacetato de bario se disuelve en 1,4 g/100 cm<sup>3</sup> de agua a 20° C). Inmediatamente las penicilinas pueden llevarse a disolventes orgánicos, por ejemplo acetato de butilo, y precipitarse de esta disolución como sales alcalinas, por ejemplo como sales potásicas mediante  
25 disolución alcohólica anhidra de acetato potásico; de las di-



soluciones acuosas de las sales potásicas pueden luego precipitarse los ácidos libres de estas penicilinas con auxilio de ácidos minerales, por ejemplo clorhídrico. Este método aun sin previa precipitación de los ácidos acompañantes con sales terreoalcalinas, pueden en general emplearse para la purificación de las disoluciones de las sales penicilínicas o de los ácidos libres de las penicilinas en disolventes orgánicos.

Las penicilinas obtenidas como ácidos libres se pueden, si se quiere, convertir después en sales alcalinas o terreoalcalinas, por ejemplo por disolución en una cantidad equivalente de lejía y secado liofilo o precipitación de las penicilinas disueltas en el disolvente orgánico, por ejemplo acetato de butilo, mediante sales alcalinas de ácidos orgánicos, por ejemplo acetato potásico en presencia de un disolvente polar anhidro, por ejemplo etanol. Las sales alcalinas pueden también transformarse en aluminio-penicilinas, por ejemplo mediante sales de aluminio en disolución acuosa.

#### E j e m p l o s :

Para la fermentación se emplea una disolución alimenticia primitiva con la siguiente composición:

0, 01	% $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
0, 4	% $\text{H}_3\text{PO}_4$
0, 025	% $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
0, 01	% $\text{CaCl}_2$
3, 0	% Lactosa
1, 0	% Glucosa

Se trabaja en un matraz de 5 litros con ventilación,



el cual se cargó con 2 litros de disolución alimenticia o de cultivo. Esta se componía de la disolución alimenticia primitiva y de las fuentes de nitrógeno variantes en los distintos ejemplos, y también de los diversos precursores. La cantidad de aire fué aproximadamente de 1 litro por minuto y por litro de disolución alimenticia.

#### Disolución alimenticia 1

1.700 cm<sup>3</sup> de disolución alimenticia primitiva  
 300 cm<sup>3</sup> de autolizado de fermentos prensados (con 10 g de N/lit.)  
 0,075 % de  $\beta$ -fenoxietanol

Tiempo fermentación: 7 días  
 Temperatura fermentación: 24° C.  
 Contenido penicilina: 2.200 O.E./cm<sup>3</sup>, ensayado biológicamente  
 (por yodometría: 1.466 O.E./cm<sup>3</sup>)

#### Disolución alimenticia 2

1.850 cm<sup>3</sup> disolución alimenticia primitiva  
 150 cm<sup>3</sup> licor corn steep (con 40 g de nitrógeno/lit.)  
 0,05 % de p-oxi- $\beta$ -fenoxietanol  
 Tiempo fermentación: 7 días  
 Temperatura fermentación: 24° C  
 Contenido logrado en penicilina: 1.660 O.E.(cm<sup>3</sup>) ensayada biológicamente)

#### Disolución alimenticia 3

1.900 cm<sup>3</sup> de disolución alimenticia primitiva  
 200 cm<sup>3</sup> de autolizado de levadura de cerveza (con 20 g de nitrógeno/lit.)  
 0,2 % de ácido fenoxiacético  
 Tiempo fermentación: 7 días  
 Temperatura fermentación: 24° C  
 Contenido logrado en penicilina: 2.150 O.E./cm<sup>3</sup> (ensayado biológicamente)  
 (ensayado por yodometría:  
 1.432 O.E./cm<sup>3</sup>)

#### Disolución alimenticia 4

1.750 cm<sup>3</sup> de disolución alimenticia primitiva  
 280 cm<sup>3</sup> de autolizado de fermento prensado  
 0,08 % de  $\beta$ -fenoxietanol  
 Tiempo fermentación: 6 días  
 Temperatura fermentación: 24° C  
 Contenido logrado en penicilina: 2.800 O.E./cm<sup>3</sup> (ensayadas biológicamente)  
 (por yodometría: 1.854 O.E./cm<sup>3</sup>)

Disolución alimenticia 5

1.720 cm<sup>3</sup> de disolución alimenticia primitiva  
 300 cm<sup>3</sup> de autolizado de levadura de cerveza  
 0,076 % de  $\beta$ -fenoxietanol  
 Tiempo fermentación: 7 días  
 Temperatura fermentación: 24° C  
 Contenido logrado en penicilina: 2,500 O.E./cm<sup>3</sup> (ensayada bio-  
 lógicamente)  
 (por yodometría: 1.704 O.E./cm<sup>3</sup>)

Disolución alimenticia 6

1.800 cm<sup>3</sup> de disolución alimenticia primitiva  
 200 cm<sup>3</sup> de autolizado de levadura de cerveza  
 0,2 % de ácido fenoxiacético  
 Tiempo fermentación: 7 días  
 Temperatura fermentación: 24° C  
 Contenido logrado en penicilina: 2.150 O.E./cm<sup>3</sup> (ensayado bio-  
 lógicamente)  
 (por yodometría: 1.432 O.E./cm<sup>3</sup>)

Si se emplean las mismas disoluciones alimenticias  
 pero utilizando ácido fenilacético como precursor en iguales  
 condiciones de fermentación, entonces solo se obtienen conte-  
 nidos de penicilina de 400 a 500 O.E./cm<sup>3</sup>.

Ensayos en grande en fermentadores normales con-  
 dujeron a resultados análogos, siendo los tiempos de fermenta-  
 ción considerablemente más cortos y practicamente iguales a  
 los empleados en la producción normal en grande de penicilina  
 (3 a 4 días). De las disoluciones impuras obtenidas con el em-  
 pleo de las disoluciones alimenticias anteriores u otras aná-  
 logas con auxilio de precursores del tipo COOH-(R<sub>1</sub>X)<sub>n</sub>-R<sub>2</sub> ó  
 CH<sub>2</sub>OH-(R<sub>1</sub>X)<sub>n</sub>-R<sub>2</sub> (teniendo R<sub>1</sub>, X, R<sub>2</sub> y n el significado antes  
 definido) por ejemplo ácido fenoxiacético, ácido fenilmercap-  
 toacético (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>SCH<sub>2</sub>COOH), ácido p-oxifenoxiacético (OHC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OCH<sub>2</sub>  
 COOH), ácido p-nitrofenoxiacético (NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OCH<sub>2</sub>COOH), o feno-  
 xietanol etc., después de la fermentación de las disoluciones  
 impuras obtenidas, se puede según el invento obtener los áci-  
 dos libres como sigue:



I (Precipitación del ácido penicilínico libre de disolución acuosa con ácidos minerales)

600 cm<sup>3</sup> de la fase acuosa de penicilina a 47.000 O.E./cm<sup>3</sup> (ensayo yodométrico) con una relación ácida de 1 : 0,9, se acidificaron a un pH de 1,5. La penicilina libre precipitada se filtro, se lavo con agua y se seco. Rendimiento: 15,24 g de fenoximetilpenicilina a 1.673 O.E./mg ó 14,78 de p-oxifenoximetilpenicilina a 1.600 O.E./mg (ensayo yodométrico).

La ulterior elaboración en sales de penicilina puede realizarse por ejemplo como sigue:

a) 7,62 g del ácido penicilínico obtenido a 1.673 O.E./mg se disolvieron en 230 cm<sup>3</sup> de butanol y la penicilina se precipitó agregando 42 cm<sup>3</sup> de disolución 0,7 molar de acetato potásico.

Rendimiento: 0,08 g de potasio-fenoximetilpenicilina a 1.500 O.E./mg (ensayo yodométrico).

b) 7,62 g de ácido penicilínico a 1.673 O.E./mg se neutralizaron con lejía de potasa caústica  $\frac{n}{2}$ ; por adición de 30 cm<sup>3</sup> de disolución al 10 % de AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O se separa la aluminio-fenoximetilpenicilina.

Rendimiento: 6,95 g a 1.660 O.E./mg (ensayo yodométrico).

II (Extracción del filtrado del cultivo con cloroformo, con lo que los acompañantes de la penicilina quedan en la fase acuosa; evaporación inmediata del cloroformo).

3 litros de filtrado de cultivo desalbuminado y filtrado, a 1.200 O.E./cm<sup>3</sup> (ensayo yodométrico), por acidificación a un pH de 2,1 se llevaron a 500 cm<sup>3</sup> de cloroformo. Luego se efectuó la extracción con tampón, luego nuevamente con cloroformo y así sucesivamente, obteniéndose por último 50 cm<sup>3</sup> de la fase clorofórmica con 63.400 O.E./cm<sup>3</sup>. El índice de acidez



fué de 1,21, lo que corresponde a una relación ácida de solo 1 : 0,15. De esta fase clorofórmica se obtuvo luego por evaporación del disolvente la penicilina, que se presentó en forma ácida. De este modo se obtuvieron 1,90 g de fenoximetilpenicilina como ácido a 1.500 O.E./mg. Una mayor purificación se logró suspendiendo en 100 cm<sup>3</sup> de agua y aspirando la penicilina así purificada.

Rendimiento: 1,75 g de penicilina ácida a 1.690 O.E./mg (ensayo yodométrico).

III (Extracción y fuerte purificación de la fenoximetilpenicilina por precipitación del ácido fenoxiacético como sal de bario)

La penicilina contenida en 1.400 litros de filtrado de cultivo desalbuminado (1.053 O.E./cm<sup>3</sup>, ensayo yodométrico), se hizo pasar por el método de contracorriente con reducción de volúmen, (primera fase 1 : 4, segunda fase 1 : 3, tercera fase 1 : 2) por acetato de butilo con pH 2,5, luego nuevamente con disolución tampón con pH 7,2 y después de nuevo a acetato de butilo con 2,1. Se obtuvieron 60 litros de la fase de acetato de butilo con 23,715 O.E./cm<sup>3</sup> (ensayo yodométrico); índice de acidez; 2,57 lo que corresponde a una relación ácida de 1 : 5,6. De la fase de acetato de butilo la penicilina mediante NaOH se llevó a la fase acuosa (pH 7,2); volúmen final 20 litros. Esta disolución acuosa se trató con 1,7 kg de BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, precipitando fenoxiacetato de bario. Después de un reposo de una hora, se separó por aspiración el precipitado y se lavó con 5 litros de agua. Los filtrados reunidos se trataron con 35 litros de acetato de butilo, con ácido sulfúrico se pusieron a un pH 2 y así la penicilina se llevó al disolvente orgánico. La fase de acetato de butilo se secó con sulfato só-



dico, se filtró y el sulfato sódico se lavó con un poco de acetato de butilo. Índice de acidez de la fase de acetato de butilo 1,00. Ensayo yodométrico, 37.700 C.E./cm<sup>3</sup>. Volumen final 37 litros. La relación ácida fué por consiguiente de 1 : 0,58. La reducción de la relación ácida de 1 : 5,6 a 1 : 0,58 significa una eliminación del ácido fenoxiacético tan energética que de la fase de acetato de butilo se pudo precipitar directamente la penicilina con disolución de acetato potásico. De este modo se obtuvieron 986 g de potasio-penicilina con 1.310 Unidades Oxford (O.E.) por mg. Este producto se disolvió en 25 litros de agua para purificarlo más y el ácido libre se separó acidificando a un pH de 1,5.

Rendimiento: 748 g de ácido penicilínico a 1.685 O.E./mg.

Las penicilinas de la clase especificada obtenidas por el método del presente invento por primera vez como ácidos de propiedades definidas, muy estables, cristalizados y libres, presentan una actividad aproximadamente teórica. Por ejemplo la fenoximetilpenicilina y la p-oxi-fenoxi-metilpenicilina, que por consiguiente en la cadena lateral presentan átomos con pares de electrones aislados o un grupo metilénico activado se comportan en forma de los ácidos libres en los ensayos in vitro biológicamente más activas que la penicilina G con 1,667 O.E./mg. Esto se comprueba por el hecho de que las actividades biológicamente determinadas fueron por regla general considerablemente más elevadas que los valores hallados por ensayos yodométricos. Así por ejemplo la fenoximetilpenicilina presenta contra el staphylococcus aureus una actividad aproximadamente 50 % mayor que su actividad yodométrica.



La estabilidad ácida y sobre todo la mayor estabilidad en diversas condiciones, a la que también pertenece su larga inalterabilidad prácticamente ilimitada a la temperatura del local en estado sólido, hace que los ácidos penicilínicos libres obtenidos según el invento se deban considerar como muy adecuados para la terapia oral y para la terapia por depósito de penicilina.

Son atóxicos y presentan una actividad antibacterial elevada. Mientras que las penicilinas normales se destruyen en el estómago en su mayor parte y solamente agregando grandes cantidades también se las facultan para que sin pérdida considerable de su actividad pasen por el estómago, los ácidos penicilínicos libres, sin ninguna adición de medios estabilizados, atraviesan el estómago y llegan a las partes reabsorbentes del intestino con su actividad prácticamente inalterada. Numerosos ensayos en animales y personas han demostrado lo bien que se prestan estas penicilinas para aplicarse de modo especial por la boca.

---



N O T A

La presente patente de Invención, consta de las siguientes reivindicaciones:

5 1ª. - Procedimiento para la obtención de penicilinas estables, adecuadas especialmente para la terapia oral, caracterizado porque de las disoluciones impuras obtenidas en la fermentación o de las disoluciones acuosas obtenidas en la subsiguiente elaboración de las disoluciones impuras y que contienen penicilinas de la fórmula general  $C_8H_{10}O_3NS-NHCO-(R_1X)_n-R_2$ , en que  $R_1$  representa un radical bivalente alifático dado el caso sustituido X oxígeno, azufre o un grupo NH, n un número entero desde 1 a 5 y  $R_2$  un radical alifático, aralifático o aromático y dado el caso puede estar sustituido, se separan estas penicilinas como ácidos libres, obteniéndolas por ejemplo de las disoluciones acuosas (disolución impura o fases acuosas de extracción) por precipitación con ácidos o llevándolas de estas disoluciones en presencia de ácidos a disolventes orgánicos y aislandolas por evaporación del disolvente.

20 2ª. - Procedimiento según lo reivindicado en el punto 1ª, caracterizado porque de las disoluciones impuras o de las fases acuosas de extracción se separan las penicilinas por acidificación a valores bajos de pH, preferentemente inferiores a 2, en forma sólida como ácidos pudiéndose añadir una ulterior purificación de las penicilinas separadas por lavado con agua.

25 3ª. - Procedimiento según lo reivindicado en el punto



12, caracterizado porque las penicilinas se llevan de las disoluciones impuras o de las fases acuosas de extracción en presencia de ácidos a disolventes orgánicos que, como el cloroformo fijan difícilmente los ácidos precursores acompañantes, pero fijan fácilmente las penicilinas como ácidos libres y ob-  
5 teniéndose las penicilinas como tales ácidos libres por evaporación del disolvente.

4a. - Procedimiento según lo reivindicado en el punto 12, caracterizado porque después de una extracción realizada del modo usual empleando disolventes orgánicos, por ejemplo acetato de butilo y disoluciones acuosas tampón, se eliminan de una fase de extracción los ácidos precursores acompañantes, por ejemplo por precipitación con sales terrecalcalinas de ácidos minerales inorgánicos, preferentemente cloruro bórico, las penicilinas en forma de sus ácidos se llevan a un disolvente orgánico, por ejemplo acetato de butilo, del disolvente orgánico se precipitan en estado anhidro como sales alcalinas, por ejemplo con disolución alcohólica de acetato potásico, y las sales alcalinas convertidas en disolución acuosa se descomponen mediante ácidos minerales con un pH inferior a 2, separándose en estado sólido purificado los ácidos libres de las penicilinas.  
15  
20

5a. - Procedimiento según lo reivindicado en los puntos 12 a 4a, caracterizado porque las penicilinas obtenidas en forma ácida se convierten del modo conocido en sus sales, especialmente sales alcalinas.  
25

6a. - Procedimiento para la obtención de penicilinas estables, adecuadas especialmente para la terapia oral -.

Según se describe y reivindica en esta memoria des-

203204

- 15 -



criptiva.

La cual consta de quince hojas, foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, a 12 de Marzo de 1953.

A handwritten signature in cursive script, appearing to be 'C. L. M. G.', written in dark ink.

Bat<sup>a</sup>.