

220231



PATENTE DE INVENCION

---

CASE S-47837

---

220231

MEMORIA DESCRIPTIVA

sobre:

"PROCEDIMIENTO PARA LA RECUPERACION O EXTRACCION DE  
ANTIBIOTICOS DE TETRACICLINA".

---

Solicitantes: CHAS. PFIZER & CO. INC. entidad Norte-  
americana, domiciliada en: 11 Bartlett  
Street, BROOKLYN, Estado de Nueva York,  
Estados Unidos de América.

---

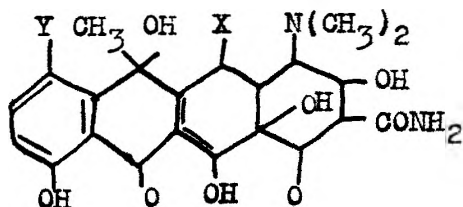
5. Este invento se refiere a la recuperación de  
ciertos compuestos de antibióticos y, en especial, con  
su recuperación de soluciones acuosas diluidas e impuras.  
Estos compuestos, que son altamente activos contra una  
variedad de microorganismos, se han denominado antibió-  
ticos de tetraciclina. Comprenden la oxitetraciclina  
(conocida también con el nombre registrado de Terramicina),  
la clorotetraciclina (conocida también con el nombre re-  
gistrado de Aureomicina), y la tetraciclina (nombre comer-  
cial, Tetracina). Estos compuestos están estrechamente

10.



relacionados en cuanto a su estructura y tienen además propiedades biológicas similares. Estos compuestos pueden representarse por la fórmula

15.



20.

Cuando X es hidroxilo e Y es hidrógeno, el compuesto es la oxitetraciclina. Cuando X es hidrógeno e Y es cloro, el compuesto es la clorotetraciclina. Cuando X e Y son hidrógeno, el compuesto es la tetraciclina.

25.

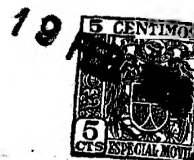
La tetraciclina puede prepararse por dos métodos distintos, por lo menos, En el primero, la clorotetraciclina se somete a reducción catalítica para eliminar cloro y obtener el antibiótico. En el segundo, la tetraciclina se forma directamente por el desarrollo de microorganismos seleccionados, en condiciones aerobias y en medios nutritivos adecuados. La oxitetraciclina y la corotetraciclina, se forman por fermentación. A menudo, es necesario recuperar o aislar el antibiótico de soluciones acuosas diluidas e impuras, especialmente cuando aquél se prepara por fermentación.

30.

35.

En una solicitud de Patente de Ensminger y otros, presentada el 1 de Junio de 1950, N° de serie 165.588, de la cual esta solicitud es parcialmente una continuación, se describe y reivindicó un procedimiento para precipitar el antibiótico oxitetraciclina en forma de complejos con combinaciones de determinados iones metálicos polivalentes. Luego se ha comprobado que este

40.



45. mismo procedimiento puede aplicarse a los antibióticos afines clorotetraciclina y tetraciclina, de el mismo modo. Además, por el procedimiento de este invento, pueden precipitarse mezclas de dos o más de los tres compuestos antibióticos.

50. La recuperación de estos antibióticos se realiza más fácilmente por precipitación del compuesto activo de soluciones acuosas, por medio de combinaciones de ciertos iones metálicos polivalentes. Estos antibióticos forman sales metálicas sencillas de solubilidad limitada con distintos iones metálicos bi- y tri-valentes.

55. Sin embargo, cuando en una solución acuosa de uno o más de los antibióticos de tetraciclina se halla presente más de uno de los iones metálicos polivalentes, se forman complejos metálicos que contienen dos o más metales, y que son de solubilidad especialmente baja en el agua. Así, puede recuperarse una elevada proporción del compuesto activo, de soluciones que contengan un tanto por ciento muy pequeño del antibiótico.

60. Los metales especialmente eficaces en la formación de los complejos metálicos, de acuerdo con este invento, son por lo menos dos metales de la clase constituida por bario, estroncio, calcio, magnesio, cina, berilo, cadmio y mercurio. Todos estos elementos se encuentran en el Grupo II de la Tabla Periódica.

65. La precipitación se efectúa desde la solución acuosa, más eficientemente con un pH comprendido entre alrededor de 7 y 10,5 aproximadamente. Los iones metálicos pueden añadirse a la solución en forma de sales solubles en agua.

70. Generalmente, los haluros (cloruros, bromuros) son bas-



75. tante útiles, así como los nitratos. A menudo, se prefiere añadir las sales con un pH ácido y luego elevar el pH de la mezcla para precipitar el antibiótico en forma de un complejo sólido. Aunque estos complejos varían algo en solubilidad con los iones metálicos especiales que se escogen, en general, son de un orden de solubilidad muy reducido en el agua, inferior a 100 microgramos aproximadamente por ml.

80. Al aplicar el procedimiento de este invento, una solución acuosa diluída del antibiótico, se trata con los compuestos metálicos polivalentes, solubles en agua, requeridos, por ejemplo, cloruro de calcio y cloruro de bario en una proporción que suministre por lo menos alrededor de un peso igual al del antibiótico en la solución. La solución se ajusta para un pH del orden antes indicado, ésto es, de alrededor de 7 a 10,5 aproximadamente, bien antes o con preferencia después de la adición de los compuestos metálicos. La mezcla de reacción, con preferencia, se bate o agita de otro modo durante la adición de los compuestos metálicos, y mientras se ajusta el pH, con objeto de asegurar la terminación de la reacción y de evitar el exceso de acidez o el exceso de alcalinidad en cualquier parte de la mezcla. Después de agitar durante otro corto período, se retira de la solución el precipitado. Esto puede hacerse por filtración o por centrifugación de la mezcla, o por otros métodos convencionales. A menudo resulta conveniente añadir una ayuda para la filtración, tal como un producto de tierra diatomeas, antes de llevar aquélla a cabo. El producto así obtenido puede secarse y resulta

85.

90.

95.

100.



- útil para ciertos fines, por ejemplo, si los iones metálicos polivalentes empleados son relativamente atóxicos, (por ejemplo, el cloruro de calcio), la preparación puede usarse directamente como agente terapéutico administrado por vía oral. Como variante, el producto puede emplearse por su efecto estimulante para el crecimiento de plantas o animales.
- 105.
- Debe observarse que al preparar caldos básicos de fermentación de los antibióticos de tetraciclina, puede precipitarse una cierta cantidad del antibiótico. Esto se debe principalmente a la presencia, en los medios de fermentación usados, de ciertos iones metálicos polivalentes, especialmente calcio y magnesio. La proporción de antibiótico precipitado, depende de la cantidad relativa de estos metales polivalentes que se encuentre presente en los medios de fermentación, y de la naturaleza de dichos metales. Algunos de los materiales brutos empleados como componentes en los medios de fermentación, contienen determinadas proporciones de metales, por ejemplo, calcio y magnesio. Sin embargo, estos iones metálicos polivalentes no se encuentran generalmente presentes en proporción suficiente para garantizar la precipitación de una gran parte del antibiótico al hacer alcalina la solución de éste. Un objeto de este invento es proporcionar un procedimiento por medio del cual se precipite una gran parte del antibiótico de dichas soluciones acuosas, impuras y diluídas, por la adición deliberada de cantidades suficientes de dos o más iones metálicos polivalentes y el ajuste del pH.
- 110.
- 115.
- 120.
- 125.
130. Aunque para el procedimiento de este invento

19 FEB



- pueden usarse proporciones equimoleculares de los dos iones metálicos polivalentes distintos, esta proporción de los metales no es necesariamente la óptima desde el punto de vista de la máxima precipitación del producto.
135. Resulta, sin embargo, relativamente fácil el averiguar cuál es la mejor combinación de metales y la mejor proporción de éstos para cualquier solución acuosa impura y determinada de oxitetraciclina, tetraciclina y cloro-tetraciclina. Desde luego, estos factores variarán con
140. la naturaleza de las impurezas presentes en la solución y con otras varias características. Algunas partes de la solución acuosa pueden tratarse con un volumen medido de soluciones normales de varios compuestos metálicos polivalentes, para determinar una combinación precipitante
145. adecuada para la solución dada de antibiótico. Como antes se indicó, algunos metales divalentes son especialmente útiles en el procedimiento de este invento. Todos ellos pertenecen al Grupo II de la Tabla Periódica. Los complejos metálicos son útiles como bactericidas industriales, como estimulantes del crecimiento de las plantas y cuando se usan metales de baja toxicidad, como agentes terapéuticos y estimulantes del crecimiento de los animales.
155. Para regenerar una sal sencilla de antibiótico de tetraciclina, o un antibiótico anfótero de tetraciclina, partiendo del producto sólido obtenido, de acuerdo con este invento, a menudo es conveniente disolver dicho producto sólido en ácido. Si se emplea un ácido que forme un compuesto insoluble en agua con los metales polivalentes especiales que se hallen presentes en el complejo
- 160.



165. sólido de tetraciclina, los iones metálicos se separan luego en forma de sus sales insolubles, de la solución ácida del antibiótico. Así, cuando el complejo bario-calcio de uno de los antibióticos de tetraciclina se trata con ácido sulfúrico diluido, el antibiótico se disuelve y queda un residuo sólido de sulfato cálcico y sulfato bórico. El sólido puede eliminarse, por ejemplo, por filtración. A menudo es conveniente usar un segundo tratamiento del material sólido con ácido, para asegurar la disolución de todo el antibiótico. La solución combinada en agua y ácido del antibiótico, puede ajustarse luego para un pH de 6 - 9 aproximadamente y, con preferencia de alrededor de 7, para precipitar el antibiótico anfótero. Teniendo cuidado de conservar
170. mínimo el volumen de ácido, se consiguen concentraciones muy elevadas del antibiótico. En el antibiótico precipitado, pueden encontrarse todavía presentes pequeñas cantidades de sales metálicas. Para eliminarlas, puede repetirse el procedimiento. Si el antibiótico anfótero se precipita con un pH de 5 aproximadamente, permanecerán menos impurezas metálicas que en el caso de un pH más elevado. El antibiótico purificado así obtenido, puede utilizarse para la terapia de animales o individuos humanos, o para el estímulo del crecimiento de
175. plantas o animales. Como variante, puede purificarse en mayor grado y obtenerse en forma cristalina. Puede conseguirse, esto, disolviendo el producto purificado en metanol que contenga ácido clorhídrico y añadiendo luego una cantidad ulterior de ácido clorhídrico para dar lugar
180. a la precipitación del cloruro cristalino.
- 185.
- 190.



Al aplicar el procedimiento de este invento, se ha comprobado que la cantidad de iones metálicos necesaria para precipitar el antibiótico, varía algo con el tratamiento anterior del caldo de fermentación.

195. Generalmente se utilizan ácidos para la clarificación del caldo durante la filtración del micelio. Se ha comprobado que si para este objeto se emplea el ácido sulfúrico, pueden usarse cantidades apreciables de iones metálicos que formen sulfatos insolubles en agua,

200. para eliminar el exceso de ácido sulfúrico antes de que los metales empiecen a precipitar el antibiótico. Se ha comprobado que el ácido clorhídrico resulta especialmente útil para la acidificación del caldo de fermentación, antes de la filtración del micelio. Dado que

205. muchos de los metales antes citados forman cloruros relativamente solubles en agua, no se precisan excesos de iones metálicos.

Una de las combinaciones preferidas de iones metálicos para la precipitación de los antibióticos de tetraciclina, es el empleo de una sal de bario soluble en agua y de una sal de magnesio soluble en agua. El empleo de una proporción de la sal de magnesio por dos proporciones de la sal de bario, resulta bastante eficiente para precipitar el antibiótico. La relación entre

210. los iones metálicos y el antibiótico en el precipitado, no es fija, y varía de acuerdo con la proporción de los iones metálicos empleados así como con el contenido de iones metálicos de la solución original de antibiótico, con el pH a que se realiza la precipitación y con otros

215. factores. Debe observarse que los complejos se preparan

220.



- por precipitación con dos iones metálicos específicos, por ejemplo, bario y magnesio y, además de éstos metales, algunos otros metales polivalentes, primitivamente presentes en el caldo de fermentación. Se ha comprobado que el precipitado obtenido tratando la solución acuosa pura de uno de los antibióticos (oxitetraciclina) con una mezcla de sales solubles de bario y de magnesio, en la cantidad mínima precisa para llevar a cabo la precipitación práctica del antibiótico, contiene la siguiente relación de componentes. 4 de oxitetraciclina, 2 de magnesio y 1 de bario cuando el pH de precipitación fué de 9,0 aproximadamente. Esto solo se aplica a soluciones puras, especialmente sometidas a estas condiciones exactas. Cuando se usan soluciones impuras u otras concentraciones, la precipitación máxima del antibiótico precisa una relación distinta de los metales y una proporción diferente, y la variación de otras condiciones.
- Debe observarse que los compuestos complejos de los antibióticos de tetraciclina, de este invento, no se convierten en productos que contengan solamente dos iones metálicos polivalentes, en la formación de tales precipitados, pueden intervenir, por ejemplo, tres o más iones metálicos polivalentes. Además, los compuestos metálicos complejos de los antibióticos de tetraciclina pueden variarse de composición poniendo el precipitado sólido en contacto con una solución de iones metálicos polivalentes distintos a los que intervienen en la precipitación. Así, un precipitado obtenido de oxitetraciclina con calcio y magnesio, puede cambiarse para contener una cantidad considerable de bario, tratando el precipitado con una
- 225.
- 230.
- 235.
- 240.
- 245.
- 250.



solución de una sal soluble de bario. En la serie de complejos de oxitetraciclina, el compuesto bario-magnesio parece ser el menos soluble. La solución bario-cinc es del mismo orden de solubilidad, y la sal calcio-magnesio es algo más soluble. La adición de más de dos sales solubles en agua de los iones metálicos polivalentes deseados, puede dar por resultado la precipitación de una proporción apreciable del complejo del antibiótico con los dos metales que forman el complejo menos soluble; sin embargo, generalmente, con el antibiótico se precipitarán proporciones de los demás metales, aunque estos figuren en pequeña cantidad.

En algunos casos se encuentran mezclas de dos o más de los antibióticos, por ejemplo, el crecimiento o desarrollo de ciertos microorganismos produce mezclas de clorotetraciclina y de tetraciclina. Estas mezclas pueden precipitarse por el método en esta Memoria descrito. Los antibióticos no pueden precipitarse exactamente en la misma proporción en que se encuentran en la solución, dado que las solubilidades relativas de los complejos de los distintos antibióticos, no son las mismas. Los precipitados mezclados pueden convertirse en los antibióticos anfóteros mezclados de sales de antibióticos en mezcla. Las mezclas pueden usarse para los mismos fines antes descritos con respecto a los antibióticos individuales, o bien pueden separarse las mezclas.

Como antes se indicó de los precipitados obtenidos, de acuerdo con el procedimiento de este invento, puede regenerarse un antibiótico de tetraciclina o una solución ácida de antibiótico de tetraciclina, por trata-



285. miento con ácidos o por otros medios. Se observó también que a través de este procedimiento pueden arrastrarse pequeñas cantidades de metales y permanecer en el antibiótico. Dado que éstos dan lugar a la decoloración del producto y a otros efectos molestos, puede estar indicada su eliminación. El tratamiento de las soluciones ácidas del antibiótico regenerado de tetraciclina con un ferrocianuro soluble, facilitará la eliminación de la pequeña cantidad de metales polivalentes que todavía se encuentre en el producto. El precipitado puede filtrarse o eliminarse de otro modo, y el filtrado claro puede tratarse con un álcali soluble para precipitar antibiótico amorfo de tetraciclina de una elevada pureza y color claro. Esto ayuda a obtener un elevado rendimiento de antibiótico cristalino.

290.

295.

Los Ejemplos siguientes se facilitan solamente por vía de ilustración y no deben considerarse como limitaciones del alcance de este invento, que sólo se limita por lo indicado en las reivindicaciones adjuntas.

300. EJEMPLO I -

Se preparó un caldo de fermentación de tetraciclina, del modo siguiente:

- |      |   |           |
|------|---|-----------|
|      | Harina de soja . . . . .  | 500 g.    |
|      | Cerelesa . . . . .  | 500 g.    |
| 305. | Destiladores solubles (extracto soluble en agua de "templa" agotada de alcohol de fermentación) . . . . . | 25 g.     |
|      | Cloruro sódico. . . . .   | 250 g.    |
|      | Agua destilada. . . . . para obtener .  | 50 litros |

310. El pH de la mezcla se ajustó a 7,0 por adición de hidróxido sódico, y luego se añadieron 50 g. de carbonato



cálcico.

315. El caldo anterior se esterilizó a 121°C., se enfrió y se inoculó con Streptomyces rimosus y se cultivó durante 4 días a 28°C., con agitación continua. El caldo cultivado se llevó a un pH de 2,5 por adición de ácido sulfúrico diluido, luego se filtró para proporcionar una cantidad de caldo clarificado. En el caldo clarificado que contenía 44,9 millones de mcgs, del antibiótico, se disolvieron, con agitación, 120 g. de dihidrato de cloruro de bario, y 48 g. de hexahidrato de cloruro de magnesio.
320. La solución resultante se ajustó luego para un pH de 9,0 con solución de hidróxido sódico. Después de reposar 10 minutos, se filtró el precipitado formado, empleando una pequeña cantidad de una ayuda de filtración adecuada (tierra de diatomeas). El caldo agotado y el lavado se comprobó que tenían una proporción total de oxitetraciclina de 1,92 millones de mcgs.
- 325.

330. El precipitado se trató nuevamente, suspendiéndolo primero en dos litros de agua, y ajustando el pH a 1,2 con ácido sulfúrico. La solución, que contenía 36,8 millones mcgs., de oxitetraciclina, se separo, por filtración, del material insoluble. Ajustando la solución a un pH de 7.0 con hidróxido sódico, se precipitó oxitetraciclina, que se filtró y se comprobó que contenía 34 millones mcgs. de antibiótico. Este material es de pureza muy superior a la oxitetraciclina contenida en el caldo de fermentación, pero todavía contiene pequeñas cantidades de metales, calcio y magnesio por ejemplo. El filtrado de este producto precipitado, contenía 2,3 millones de mcgs.
- 335.
340. de oxitetraciclina.

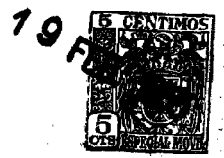


EJEMPLO II -

345. El caldo de oxitetraciclina preparado como antes y con un contenido de 20 millones de megs. del antibiótico, pero clarificado con ácido clorhídrico con un pH de 2,5, se ajustó con hidróxido sódico para un pH de 9,0. Luego se añadieron 50 g. de dihidrato de cloruro de bario y 20 g. de hexahidrato de cloruro de magnesio disueltos en 200 ml. de agua caliente. La mezcla se agitó durante media hora, se añadieron 80 g. de Super-cel (tierra de diatomeas) y se filtró el sólido. El filtrado contenía 0,8 millón de megs. de antibiótico. La torta de filtro se lavó con un litro de agua y el líquido de lavado se comprobó que contenía 0,5 millón de megs. de oxitetraciclina.
350. La torta se trituró tres veces con 600 ml. de agua, ajustando cada vez el pH a 1,5 con ácido sulfúrico y filtrando el sólido. Los filtrados combinados contenían 12,000 megs/ml. de antibiótico. A los filtrados combinados se les añadió gradualmente solución de hidróxido sólido hasta que el pH llegó a 7,0. Se precipitó oxitetraciclina bruta, que se filtró y lavó con 200 ml. de agua. El filtrado del líquido de lavado contenía alrededor de 2,3 millones de megs. de antibiótico. La torta se secó a 50°C. durante la noche sometida al vacío. Pesó 25,0 g. y se comprobó que tenía 650 megs/mg.
- 365.

EJEMPLO III -

370. Se preparó de modo análogo un caldo similar al del Ejemplo I, pero que contenía un peso igual de digesto enzimático de caseína en lugar de los destiladores solubles, y se clarificó con ácido clorhídrico para un pH de



- 2,5. El caldo clarificado se ajustó con hidróxido sódico para un pH de 9,0 y luego se apuró varias veces con porciones al 10% en volumen de butanol normal. Se comprobó que el antibiótico se extrajo por lo menos parcialmente en forma de sales con metales, tales como el calcio y el magnesio. Es también posible extraer compuestos metálicos complejos de oxitetraciclina con otras combinaciones metálicas, tales como bario-magnesio y bario-cinc. El extracto butanólico, se apuró a su vez con la mitad de su volumen de ácido clorhídrico normal en agua. Este concentrado acuoso contenía 4600 mcg/ml. del antibiótico. Se ajustaron 40 ml. de esta solución para un pH de 9,5 con hidróxido sódico diluido, y el precipitado que se formó se centrifugó y separó del líquido claro superior.
375. Este líquido residual se comprobó que contenía alrededor de 500 mcg/ml. de oxitetraciclina indicando que se había precipitado alrededor del 90% del antibiótico. El precipitado se lavó con agua y se secó. Se comprobó que tenía alrededor de 675 mcg/mg. Una muestra se observó que contenía alrededor de 35% de cenizas (sulfatadas), constituidas aproximadamente por cantidades iguales de calcio y de magnesio. Como antes se indicó, el calcio y el magnesio se extraen del caldo de oxitetraciclina en el butanol, como sales metálicas complejas, predominando en este caso el compuesto complejo calcio-magnesio.
- 380.
- 385.
- 390.
- 395.

EJEMPLO IV -

Se preparó un caldo de fermentación de tetraciclina por crecimiento en un medio nutritivo, en condiciones aerobias de sumersión de un Streptomyces que produce una gran proporción de tetraciclina. Después de terminar la

400.



- fermentación, el caldo se acidificó para un pH de 2,5, con ácido clorhídrico y se filtró. Se trató un litro del caldo filtrado con 42,4 ml. de una solución preparada disolviendo 342 g. de dihidrato de cloruro de bario y 45,6 g. de hexahidrato de cloruro de magnesio en 950 g. de agua. La mezcla se agitó y se ajustó para un pH de 8,5, con solución diluida de hidróxido sódico. La agitación se continuó durante media hora aproximadamente y luego se retiró el precipitado por filtración, empleando una pequeña cantidad de tierra de diatomeas para favorecer la filtración. El ensayo del filtrado acusó la eliminación del 90% aproximadamente de la actividad antibiótica. La torta de filtro húmeda se suspendió en el volumen mínimo de agua y se ajustó para un pH de 1,5 con ácido sulfúrico al 50%. La mezcla se agitó durante un corto período y luego se filtró. La torta de filtro húmeda, se suspendió nuevamente en el volumen mínimo de agua, se ajustó para un pH de 1,5, con ácido sulfúrico al 50% y se filtró de nuevo. Se combinaron los dos filtrados y se ajustaron para un pH de 7,0. De la solución se separó tetraciclina anfótera purificada, en forma de un sólido de color claro, finamente dividido, que se filtró mediante un pequeño volumen de ayuda para la filtración, y pudo comprobarse que era muy activo biológicamente. Se obtuvieron cristales disolviendo el antibiótico anfótero en una solución concentrada de cloruro cálcico, filtrando y añadiendo ácido clorhídrico concentrado. Se separó el hidrocioruro de tetraciclina, cristalino.

EJEMPLO V -

430. Se preparó una solución de clorotetraciclina



435. cultivando, en un medio nutritivo y en condiciones aerobias de sumersión, una variedad productora de clorotetraciclina de Streptomyces aureofaciens. Se filtró el micelio de la mezcla de fermentación acidificada, y se recuperó el antibiótico previsamente, tal como se describe en el Ejemplo IV anterior. El producto se identificó como clorotetraciclina, por sus propiedades físicas características.

- NOTA -

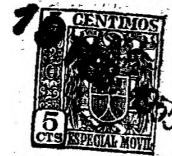
440. Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que los procedimientos anteriormente indicados son susceptibles de modificaciones de detalle, en cuanto no alteren su principio fundamental. También

445. se hace constar que el invento corresponde a una Patente presentada en Norteamérica con fecha 25 de Febrero de 1954, N° 412,634 acogándose, por lo tanto, a los beneficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, y siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo que se solicita Patente de Inven-

450. ción, por 20 años en España: "PROCEDIMIENTO PARA LA RECUPERACION O EXTRACCION DE ANTIBIOTICOS DE TETRACICLINA"; caracterizándose por lo siguiente:

455. 1º - Procedimiento para la recuperación o extracción de antibióticos de tetraciclina, caracterizado por comprender el tratar una solución acuosa impura de dicho antibiótico de tetraciclina con sales solubles en agua de más de un metal del Grupo II de la Tabla periódica a un pH comprendido entre alrededor de 7 y 10,5

460. aproximadamente.



465. 2º - Procedimiento para la recuperación o extracción de antibióticos de tetraciclina, caracterizado por comprender el añadir a la solución o caldo de fermentación las sales solubles en aguas de por lo menos 2 metales del Grupo constituido por bario, estroncio, calcio, magnesio, cinc, berilio, cadmio y mercurio, el ajustar el pH de la solución a un valor de alrededor de 7 a 10,5 aproximadamente y el separar de la solución residual el antibiótico precipitado.

470. 3º - Procedimiento, según lo especificado en la reivindicación 2, caracterizado porque se emplean sales de bario y de magnesio para precipitar el antibiótico de tetraciclina con un pH de alrededor de 8 a 9 aproximadamente.

475. 4º - Procedimiento para la recuperación o extracción de antibióticos de tetraciclina; tal y como queda substancialmente descrito en la presente Memoria, que consta de diez y siete hojas, escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, 19 de Febrero 1955

CHAS. PFIZER & CO. INC.,

J. GÓMEZ ACEBO Y MODET  
P. F.