

223480

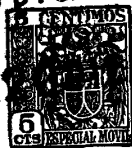
P.- 13.638

Nº. 30706

Case U.S.Nº 451.951 - Case 1102

223480

20 DIC 1955



1955

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 COMMERCIAL SOLVENTS CORPORATION., entidad norteamericana, establecida en 260 Madison Avenue, Nueva York, N.Y., Estados Unidos de América, por:

" UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UNA SAL DE METAL ALCALINO+TERREO DE CICLOSERINA "

=====

Este invento se refiere a cicloserina anti-biótica y, más particularmente, se refiere a sales de metal alcalino térreo de cicloserina y el método de producirlas.



223480

El presente invento crea un procedimiento para la preparación de una sal de metal alcalino térreo de cicloserina que comprende hacer una papilla con la sal de plata de cicloserina antibiótica en agua, añadir una sal acuosoluble de metal alcalino-térreo que contiene un anión capaz de formar una sal de plata insoluble en agua a la papilla, retirar la sal de plata insoluble en agua que se forma desde la solución resultante, secar la solución resultante para obtener la sal de metal alcalino-térreo de la cicloserina antibiótica.

La cicloserina antibiótica es un agente antibacteriano de amplio espectro, que posee actividad tanto para las bacterias gram-negativas como para las gram-positivas, con inclusión de micobacterias tales como Mycobacterium Ranae. El nuevo antibiótico se produce por una especie de micro-organismo que ha sido denominado Streptomyces orchidaceus. El antibiótico es una sustancia anfótera que posee grupos básicos débiles y grupos ácidos débiles, siendo el antibiótico muy soluble en agua, parcialmente soluble en glicoles, alcohol isopropílico, metanol, etanol, y acetona. El material es insoluble en hexano, benceno, cloroformo, éter, éter de petróleo, dioxano, 1-butanol, acetato de atilo y dicloruro de etileno. El antibiótico funde con descomposición a unos 152°C y se hidroliza a 140°C con ácido clorhídrico N.



223480

En la producción de la nueva cicloserina antibiótica, el microorganismo Streptomyces orchidaceus se cultiva en un medio nutritivo. Un medio que contenga una fuente adecuada de proteína y una fuente adecuada de carbohidrato es satisfactorio para la producción de cicloserina, siendo suministrado aire al medio que es incubado a una temperatura entre 20 y 30°C aproximadamente.

Se ha encontrado recientemente que la cicloserina en forma libre es relativamente inestable en solución acuosa, perdiéndose la mayor parte de la actividad de la cicloserina en solución acuosa a temperatura ambiente al cabo de solo uno o dos días. Tal situación hace inconveniente usar el antibiótico si solo puede guardarse con seguridad en solución acuosa la cantidad que ha de usarse inmediatamente.

Se han descubierto nuevas sales de la cicloserina antibiótica que se obtienen con facilidad y economía en buen rendimiento y cuyas nuevas sales son estables en solución acuosa durante largos períodos de tiempo.

Las nuevas composiciones de sal de cicloserina son las sales de metal alcalino-térreo de la cicloserina. Los metales alcalino-térreos que empleamos al formar sales de cicloserina incluyen calcio, magnesio, bario y estroncio. Nuestras nuevas sales pueden prepararse haciendo una papilla en agua con la sal de plata



1955

223480

de cicloserina, añadiendo una sal acuosa soluble de metal alcalino-térreo que tenga un anión capaz de formar una sal de plata insoluble, tal como cloruro de metal alcalino-térreo, a la papilla, retirar la sal de plata precipitada, tal como cloruro de plata, desde la solución de metal alcalino-térreo de cicloserina que se forma, y secar luego la solución de la sal por cualquier método conveniente, tal como el secado por pulverización o el secado por congelación bajo vacío para obtener la sal amorfa de metal alcalino-térreo de cicloserina. Podemos obtener también nuestras nuevas composiciones de sal de cicloserina añadiendo cicloserina en forma libre a un hidróxido de metal alcalino-térreo y secando luego la solución de la sal como hemos indicado para obtener la sal de metal alcalino-térreo de la cicloserina.

La sal de plata de la cicloserina puede obtenerse por métodos diversos. De acuerdo con uno de estos métodos, el medio nutritivo filtrado se trata por carbón en el cual se produce la cicloserina antibiótica por cultivo del organismo Streptomyces orchidaceus y luego se añade nitrato de plata al medio nutritivo clarificado a un pH que oscila desde aproximadamente 5,5 a 9. Luego, la sal de plata precipitada de cicloserina se retira del líquido que sobrenada y se seca. La cicloserina en forma libre puede obtenerse de la sal de plata añadiendo ácido clorhídrico a una papilla acuosa de la sal de plata de cicloserina, retirando cloruro de



223480

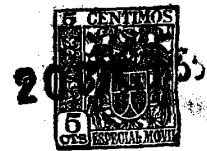
5 plata de la solución acuosa resultante de cicloserina y secando la solución por cualquier medio conveniente tal como secado por pulverización, secado por congelación bajo vacío, etc, para obtener cicloserina amorfa seca en forma libre.

10 Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar el invento pero no han de entenderse en sentido limitativo en cuanto a procesos, materiales, etc. específicos que se muestran, ya que en cambio se pretende incluir dentro del alcance de esta Memoria y de las reivindicaciones siguientes todos los equivalentes evidentes para los técnicos.

Ejemplo I.

15 Una porción de 10 grs, de la sal de plata de cicloserina que dió en el análisis 2,45 U/mgr. se puso en suspensión en 100 mls. de agua y a esta suspensión se añadieron 2,64 grs. de cloruro de calcio anhidro. A la mezcla resultante, se añadió 2% de carbón activo y se agitó y luego la mezcla se filtró. La solución
20 filtrada se secó por congelación bajo vacío para dar 4,6 grs. de la sal de calcio de cicloserina con un análisis de 2,3 U/mgr. y que contenía 17,31% de calcio y 15,9% de humedad.

25 Una porción de 500 mlg. de la sal de calcio de cicloserina se disolvió en 5 mls. de agua y la solución se guardó a temperatura ambiente durante un período de 456 horas, tomándose periódicamente muestras



223480

del material para el análisis de la actividad en ciclo-
serina. La Tabla siguiente da los resultados del ensa-
yo al almacenaje de la sal de calcio de cicloserina de
la solución acuosa a temperatura ambiente.

5

Tabla I.

Sal de calcio de cicloserina.

<u>Horas.</u>	<u>0</u>	<u>4</u>	<u>27</u>	<u>99</u>	<u>123</u>	<u>147</u>	<u>171</u>	<u>348</u>	<u>456.</u>
Análisis U/ml.	225	216	231	230	228	228	250	230	222.

10

Para fines comparativos, 40 mg. de ciclo-
serina amorfa libre se disolvieron en 1 ml. de agua y se
guardaron a temperatura ambiente durante un período de
216 horas. A intervalos periódicos durante todo el pe-
ríodo de almacenaje, se tomaron muestras para su análi-
sis y la Tabla siguiente muestra los resultados del ensa-
yo al almacenaje.

15

Tabla II.

Cicloserina amorfa libre.

<u>Horas.</u>	<u>0</u>	<u>24</u>	<u>48</u>	<u>72</u>	<u>144</u>	<u>168</u>	<u>216</u>
Análisis U/ml.	205	110	75	55	39	39	29

20

Análogamente, 120 mg. de cicloserina cris-
talizada libre se disolvieron en 1 ml. de agua y se guar-
daron durante 36 horas a temperatura ambiente. Se toma-
ron muestras a intervalos periódicos y la Tabla siguiente



223480

muestra los resultados del ensayo del almacenaje.

Tabla III.

Cicloserina cristalizada libre.

<u>Horas.</u>	<u>0</u>	<u>1,5</u>	<u>24</u>	<u>36.</u>
5 Análisis U/ml.	590	400	116	71.

Por lo que antecede se ha visto que la sal de calcio de cicloserina es estable durante un período de tiempo en el cual la forma amorfa de la cicloserina y la forma cristalizada de la cicloserina pierden prácticamente toda su actividad antibiótica.

Ejemplo II.

Una porción de 5 grs. de cicloserina en la forma libre se añadió a 50 ml. de agua que contenían 7,75 grs. de hidróxido de bario, $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$. La mezcla se agitó durante 20 minutos y luego se filtró. El filtrado se secó por congelación bajo vacío para dar 7,35 grs. de la sal de bario de cicloserina con un análisis de 2,9 unidades/mlg. y conteniendo 39,27% de bario.

Una solución de 100 mlg/ml. de la sal de bario de cicloserina se guardó a temperatura ambiente durante un período de 288 horas, tomándose muestras del material periódicamente para el análisis de la actividad en cicloserina. La Tabla siguiente da los resultados del ensayo al almacenaje.



223480

Tabla IV.

Sal de bario de cicloserina.

<u>Horas.</u>	<u>0</u>	<u>24</u>	<u>144</u>	<u>192</u>	<u>288</u>
Análisis U/ml.	300	310	300	280	292.

5

Ejemplo III.

Una porción de 5 grs. de cicloserina en estado libre se añadió a 50 mls. de agua que contenía 6,47 grs. de hidróxido de estroncio, $Sr(OH)_2O$. La mezcla se agitó durante 20 minutos y luego se filtró. El filtrado se secó por congelación bajo vacío para dar 6,5 grs. de la sal de estroncio de cicloserina con un análisis de 3,4 unidades /mgr. y conteniendo 31,91% de estroncio.

10

15

Una solución de 100./ml. de la sal de estroncio de cicloserina se guardó a temperatura ambiente durante un período de 288 horas, tomándose muestras del material periódicamente para el análisis de la actividad en cicloserina. La Tabla siguiente da los resultados del ensayo al amacenaje.

20

Tabla V.

Sal de estroncio de la cicloserina.

<u>Horas.</u>	<u>0</u>	<u>24</u>	<u>144</u>	<u>192</u>	<u>288</u>
Análisis U/ml.	345	350	336	336	322.



223480

Ejemplo IV.

Una porción de 10 grs. de la sal de plata de cicloserina se llevó a la forma de papilla en 50 mls. de agua y a la papilla se le añadieron 4,84 grs. de cloruro de magnesio, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$. A la mezcla resultante, se le añadió 2% de carbón activo y se agitó y la mezcla se filtró luego. La solución filtrada se secó luego por congelación bajo vacío para obtener 4,65 grs. de la sal de magnesio de cicloserina con un análisis de 3,8 unidades/mgr. y conteniendo 9,43% de magnesio.

Una solución de 100 mg./ml. de la sal de magnesio de cicloserina se guardó a temperatura ambiente durante un período de 168 horas, tomándose muestras del material periódicamente para el análisis de la actividad en cicloserina. La Tabla siguiente da los resultados del ensayo al almacenaje.

Tabla VI.

Sal de magnesio de la cicloserina.

<u>Horas.</u>	<u>0</u>	<u>24</u>	<u>48</u>	<u>120</u>	<u>144</u>	<u>168</u>
Análisis U/ml.	380	310	262	246	260	262

Los ejemplos anteriores indican que las sales de metal alcalino térreo de la cicloserina son estables durante un período de tiempo en el cual la forma libre de la cicloserina pierde en esencia toda su



223480

actividad antibiótica.

La presente solicitud, que corresponde a la presentada en Estados Unidos de América con fecha 24 de Agosto de 1954, bajo el número 451.951, se acoge a los beneficios establecidos por el 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:

12.- Un procedimiento para la preparación de una sal de metal alcalino-térreo de cicloserina que comprende hacer una papilla con la sal de plata de cicloserina antibiótica en agua, añadir una sal acuosoluble de metal alcalino-térreo que tiene un anión capaz de formar una sal de plata acuoin soluble a la papilla, retirar la sal de plata acuoin soluble que se forma de la solución resultante, secar la solución remanente para obtener la sal sólida de metal alcalino-térreo



223480

de cicloserina antibiótica.

5 2a.- Un procedimiento según se reivindica en el punto 1, que comprende añadir cloruro de calcio, magnesio, bario o estroncio a la papilla, retirar cloruro de plata sólido de la solución resultante, secar por congelación la solución remanente al vacío para obtener la sal sólida de calcio, estroncio, magnesio o bario de cicloserina antibiótica.

10 3a.- Un procedimiento para la preparación de una sal de metal alcalino-térreo de cicloserina.

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

15 La presente Memoria consta de once hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

10 DIC 1955

P. A.
Alberto de Elzabur
Por Poder

C/rg.