

223974



223974

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se acompaña a la solicitud de una patente de invención por veinte años por "nuevo procedimiento de obtención de penicilinas por fermentación", a favor de "Antibióticos, S.A.", domiciliada en Madrid, España.

-----

Es conocido el hecho de que en la fabricación de penicilina, la adición de precursores a los caldos de fermentación permite dirigir ésta hacia la producción del tipo de penicilina deseado, habiéndose obtenido por este procedimiento, además de las penicilinas producidas por el hongo, gran número de derivados que se conocen con el nombre de penicilinas bio-sintéticas.

En todos los casos se han empleado como precursores los correspondientes compuestos puros, de los cuales los más usados han sido el ácido fenilacético, sus sales alcalinas, ésteres y amidas, así como sus sales con diversos aminoácidos.

Pero en sus trabajos de investigación el autor del presente invento ha comprobado que no son necesarios el aislamiento y la purificación de estos derivados (operación ésta que presenta grandes dificultades en el caso de los aminoácidos) para lograr la obtención de precursores capaces de orientar o dirigir, en el sentido que se desea, el proceso de fermentación.

Esta finalidad ha sido conseguida con muy buenos resultados y sin necesidad de tales aislamiento y purificación, mediante el procedimiento para el que se solicita la presente patente.

Según él, a la fuente de nitrógeno utilizada como alimento



por el hongo (por ejemplo, "corn steep", hidrolizados de caseína, hidrolizados de residuos de matadero, tales como bazo, pulmón, hígado, vacunos u ovinos; etc.), se le adiciona una pequeña cantidad de ese mismo hidrolizado que haya sido previamente tratado con el cloruro de ácido del precursor, que al combinarse con las proteínas y aminoácidos contenidos en el "corn steep" o en los mencionados hidrolizados, forma un complejo que no responde a una fórmula química definida y que es perfectamente aprovechado por el hongo para su síntesis de la penicilina de que se trate.

10 Ejemplo: A un tanque de acero de unos 2.000 litros de capacidad, cerrado y provisto de agitación, aireación y dispositivo de enfriamiento, se transvasan 1.400 litros de medio de cultivo de la siguiente composición:

- Corn steep liquor..... 5,6 %
- 15 Lactosa..... 2
- CO<sub>2</sub>Ca ..... 0,24
- Aceite antiespuma..... 0,33
- Agua U.S.P. .... 100 cc.
- 20 Buffer de fosfatos c.s. para ajustar el pH a 6 antes de la esterilización.

El medio se esteriliza con vapor a 120° C, temperatura que se mantiene durante una hora, enfriándolo después hasta los 24° C, a cuya temperatura se siembra con una suspensión de esporas de penicillium chrysogenum. Se agita el medio y manteniendo una temperatura de aireación intensa de unos 1.200 a 1.400 litros, minuto, se continúa el proceso durante 40-48 horas, al cabo de las cuales se siembra con el contenido de este tanque otro que previamente se habrá cargado con 18.000 litros del siguiente medio:

- 30 Corn steep liquor..... 6 %
- Lactosa..... 4,7
- CO<sub>2</sub>Ca..... 0,8
- Aceite antiespuma..... 0,2



Agua C.S.P. .... 100 cc.

A lo que después se adicionarán, previa esterilización por calefacción a 115° durante media hora y siguiendo para la adición una técnica aséptica, 180 litros de "corn steep" tratado con cloruro fenoxiacetilo en la siguiente forma:

En un tanque de acero inoxidable, provisto de agitación y refrigeración, se colocan 100 Kgs. de corn steep liquor, se disuelven en 175 Kgs. de agua, se enfría a 4-5° C y añaden sosa 5N hasta pH 8,5-9 y después 55 Kgs. de cloruro de fenoxiacetilo, seguidos de 225 litros de sosa 2,5N, añadida en varias fracciones en el espacio de dos horas, con fuerte agitación. Se continúa la agitación durante otras dos horas, al cabo de las cuales se añade ácido clorhídrico 5N hasta reacción ácida fuerte y agita cuatro veces con 20 litros de eter cada vez. Los estratos etéreos se evaporan a sequedad al vacío y el residuo se disuelve en 200 litros de acetato de etilo y precipita con 200 litros de eter de petróleo. El aceite separado se añade a la solución acuosa que queda en el tanque y se ajusta el pH a 6,5 con una disolución de sosa 5N.

En la misma forma que el "corn steep" mencionado en este ejemplo se tratarán en su caso los hidrolizados de caseína, hígado o residuos de matadero en el supuesto de ser ellos los empleados para la alimentación del hongo.

La fermentación se continúa durante 100 a 130 horas, alcanzándose un rendimiento en los caldos de 1.800-2.000 U/cc., de las cuales un 70% (o porcentajes superiores) son debidas a la fenoximetilpenicilina que contienen, como puede demostrarse por el análisis cromatográfico sobre papel siguiendo las técnicas conocidas.

El aislamiento de la fenoximetilpenicilina existente en el caldo puede hacerse siguiendo las técnicas normales de extracción de la Penicilina G con variantes de detalle, que en nada afectan a lo fundamental del proceso. Siguiendo este método pueden utili



zarse también otros cloruros de ácido para el tratamiento del  
corn steep o de los hidrolizados, por ejemplo, el cloruro p-hi-  
droxifenilacetilo, de fenilacetilo, etc., que al reaccionar con  
las proteínas o aminoácidos en la forma descrita, constituyen  
excelentes precursores para la formación de penicilina X o p-hi-  
droxifenilpenicilina y de la Penicilina G en el caso del cloru-  
ro del ácido fenilacético.

NOTA.

Expuesto lo anterior, interesa decir que, de todo lo des-  
crito, lo que constituye la esencialidad del invento para el que  
se pide esta patente y lo que ha de entenderse objeto de la mis-  
ma -cuyas variaciones, por consiguiente, en cuanto no alteren di-  
cha esencialidad, han de reputarse igualmente amparadas por esa  
patente- es lo que se concreta en las siguientes reivindicacio-  
nes:

1ª.- nuevo procedimiento de obtención de penicilinas por  
fermentación caracterizado por que al caldo de fermentación se  
añade como precursor, no el correspondiente producto puro, sino  
un producto complejo resultante de tratar con el cloruro de áci-  
do del precursor de que se trate uno o varios substratos nitro-  
genados.

2ª.- nuevo procedimiento de obtención de penicilinas por  
fermentación, según la reivindicación anterior, caracterizado  
además por que los productos complejos que, según dicha primera  
reivindicación, se emplean como precursores, se obtienen tratan-  
do el corn steep, los hidrolizados de caseína o los hidroliza-  
dos de residuos de matadero por los cloruros de los ácidos fe-  
nilacético, p-hidroxifenilacético o fenoxiacético, sin aislamien-  
to posterior de ningún derivado de los ácidos mencionados.

3ª.- nuevo procedimiento de obtención de penicilinas por



fermentación.

Todo según queda esencialmente descrito y reivindicado en la presente memoria que consta de cinco hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 14 de setiembre de 1.955.

*G. Ordoñez*