

229358



P A T E N T E     D E     I N V E N C I O N

a favor de

MERCK & CO. INC. - de nacionalidad norteamericana - do-  
miciliada en RAHWAY (New Jersey, E.U.) 126 East Lincoln  
Avenue,

por:

" Procedimiento químico para convertir el complejo de  
cloruro cálcico de un antibiótico en la sal sulfatada  
correspondiente "

-----:oOo:-----

M e m o r i a     D e s c r i p t i v a

Este invento se refiere a la fabricación de an-



056

- 2 -

229358

tibióticos, y principalmente de la estreptomina. De modo más concreto, concierne a un método sencillo y económico para producir el sulfato del antibiótico a partir de otra de sus sales.

5 Con referencia a la fabricación de la estreptomina, el invento atañe a la preparación de sulfatos de estreptomina y de dihidroestreptomina a partir de cloruro de calcio y triclorhidrato estreptomina, conocido también por complejo de cloruro cálcico y estreptomina.

10 Para algunas aplicaciones de la estreptomina se prefiere emplear el sulfato de estreptomina mejor que la sal compleja de cloruro cálcico. Por consiguiente, interesaba descubrir un procedimiento sencillo y eficaz para convertir el cloruro de calcio y triclorhidrato de estreptomina en sulfato de estreptomina.

15 Se han empleado diversos métodos, pero los conocidos hasta ahora han sido laboriosos, exigen reactivos caros, y acarrearán pérdidas importantes. Por ejemplo, métodos anteriores de convertir complejo de cloruro cálcico y estreptomina en sulfato de estreptomina han comprendido la metátesis del complejo de cloruro cálcico con un sulfato de metal. Así se precipita sulfato cálcico, pero se introducen otros iones metálicos en la solución del sulfato de estreptomina. Después de separar de la solución el sulfato cálcico mediante filtración, el filtrado ha de someterse luego a complicadas extracciones y precipitaciones para eliminar de la solución los iones metálicos y los iones cloruro interpuestos; estas operaciones implican diversas medidas, y reactivos costosos. Además, el líquido inicial merma bastante, porque el ion cloruro aumenta la solubilidad del sulfato de estreptomina en metanol.

20

25

30



1956

El sulfato de dihidrostreptomina es una forma y una sal de estreptomina conveniente para algunas aplicaciones. Para obtenerlo, según un procedimiento ya conocido, el complejo de cloruro cálcico se hidrogena, a clorhidrato de dihidrostreptomina. El cloruro cálcico se retira de la solución añadiendo carbonato argéntico, que reacciona para formar sales insolubles, carbonato cálcico y cloruro de plata. Después de filtrar, se agrega al filtrado sulfato amónico, y así se forma sulfato de dihidrostreptomina y cloruro amónico en solución. Luego se añade metanol, a fin de precipitar el sulfato de dihidrostreptomina, como se hace con el sulfato de estreptomina. Y como el método del sulfato de estreptomina, el de la dihidrostreptomina comprende diversas fases y reactivos caros, y dá ocasión a importantes pérdidas de líquido inicial, porque el cloruro amónico aumenta la solubilidad del sulfato de dihidrostreptomina en metanol.

Hemos descubierto un procedimiento para convertir el complejo de cloruro de calcio y estreptomina en sulfato de estreptomina o sulfato de dihidrostreptomina, relativamente sencillo y económico, sin grandes pérdidas.

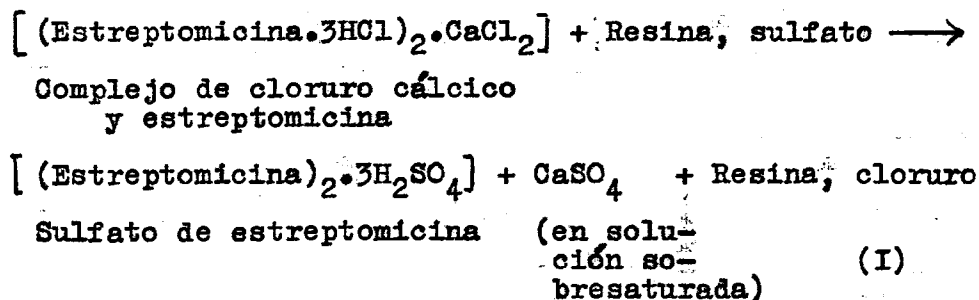
Este procedimiento comprende: 1º, poner una solución de material que contiene estreptomina en contacto con una columna de resina interaniónica en el ciclo de sulfato, en condiciones de circulación que producen poca o ninguna precipitación de sulfato de calcio dentro de la base de resina; y 2º, emplear parte del sulfato de estreptomina contenido en el efluente de la columna para mezclarlo con el complejo de cloruro de calcio y estreptomina en la siguiente tanda, a fin de precipitar del complejo de cloruro de calcio y estreptomina una porción mayor de calcio en forma de sulfato



cálcico, antes de introducir la solución en la columna de la resina interaniónica. La porción del efluente de la columna que contiene en abundancia sulfato de estreptomicina (denominada en lo sucesivo fracción rica) se sigue tratando para obtener sulfato de estreptomicina seco de pureza satisfactoria, o bien, tras una filtración preliminar, y sin extraer de ella el sulfato de estreptomicina, se hidrogena directamente para producir una solución de sulfato de dihidrostreptomicina, que se trata luego para obtener sulfato de dihidrostreptomicina seco de pureza satisfactoria.

En la tanda inicial, una solución acuosa de complejo de cloruro de calcio y estreptomicina se introduce en una columna cerrada por encima del lecho de resina. Empleamos como material resinoso una resina interaniónica (de permutación o intercambio de aniones) en el ciclo de sulfato. Con preferencia, esta resina es un permuta aniones orgánico nitrogenado, que debe su capacidad de intercambio esencialmente a grupos amónicos cuaternarios, y que generalmente se designa con el nombre de resina interaniónica muy básica. Preferimos emplear la resina interaniónica muy básica conocida por Amberlite IRA-400, que proporciona al mercado la Casa Rohm & Haas Company.

La metátesis efectuada en la columna de resina durante esta tanda inicial se representa por la siguiente ecuación:





12

5

10

Al abrirse paso la solución de carga que contiene estreptomicina, a través del lecho o fondo de resina, los iones cloruro son reemplazados por iones sulfato, y provocan un estado de sobresaturación respecto al sulfato cálcico dentro del lecho de resina. Si la velocidad de circulación no es adecuada para desalojar la solución sobresaturada de sulfato antes de producirse cristalización, ésta y la precipitación concomitante de sulfato cálcico reducirán el ritmo de circulación del efluente a un valor nada práctico, y al final "taponarán" la columna.

15

20

25

30

Hemos comprobado que la operación se hace práctica manteniendo constante la velocidad de circulación del material por la columna, a un nivel en el que la precipitación de sulfato cálcico es escasa o nula dentro del lecho de resina. El ritmo de circulación al nivel adecuado se puede mantener de muy diversos modos. En una instalación de proporciones industriales, la velocidad de circulación se mantiene en forma conveniente introduciendo aire comprimido por lo alto de la columna, de modo que el aire ejerza presión sobre el fluido por encima del nivel superior del lecho de resina, con la columna cerrada entonces para que pueda funcionar a presión. La velocidad de circulación del líquido a través del lecho de resina se mantiene al nivel conveniente ajustando una válvula para variar la presión del aire por encima del nivel de fluido sobre el lecho de resina. En general, la presión del aire en lo alto de la columna es pequeña al comienzo de la tanda, y aumenta a medida que ésta avanza. También se puede mantener el ritmo de avance del líquido a través del lecho de resina por medio de una bomba que inyecte la solución en la capa de resina; este es un método conveniente en instalaciones de pequeña escala.



12

- 6 -

229358

Un tercer modo de mantener la velocidad de circulación del líquido a través del lecho de resina consiste en retirar en vacío el efluente, regulando el grado de vacío utilizado.

5

Con el material resinoso preferido, Amberlite IRA-400, en el ciclo de sulfato, la velocidad de paso de la solución a través de la capa de resina es con predilección tal que el lapso de contacto superficial de la solución en la capa de resina viene a ser de 15 a 60 minutos, y mejor de 25 a 50 minutos. Estas cifras se obtienen dividiendo el volumen del lecho de resina por la velocidad de circulación del líquido efluente. Por tanto, para un lecho de resina dado, cuanto más lento sea el avance tanto más largo es el tiempo de contacto superficial.

10

15

Si la velocidad de paso de la solución que contiene estreptomocina a través del material resinoso preferido se reduce a un punto en que el lapso de contacto superficial excede substancialmente de 60 minutos, tiende a producirse una precipitación apreciable de sulfato cálcico dentro de la capa de resina, lo cual impide que siga circulando la solución a través de ella. Si se deja persistir esta situación sin rectificar, la circulación de material desciende a un valor insignificante.

20

25

Cuando el ritmo de circulación se mantiene de modo que no precipita sulfato cálcico dentro del lecho de resina, la precipitación suele producirse poco después de dejar el líquido efluente la columna. Pero esto no importa, porque entonces puede retirarse fácilmente el precipitado haciendo pasar la solución con las partículas de precipitado a través de un filtro apropiado.

30

El efluente de la columna de resina será de compo-



5 sición variable, según es sabido. La primera porción o fracción es de agua desalojada del lecho de resina, y se desecha. En la segunda fracción de efluente, a veces denominada "fracción previa", el sulfato de estreptomycin

5 en solución está relativamente diluido, y se recoge de momento en un recipiente adecuado.

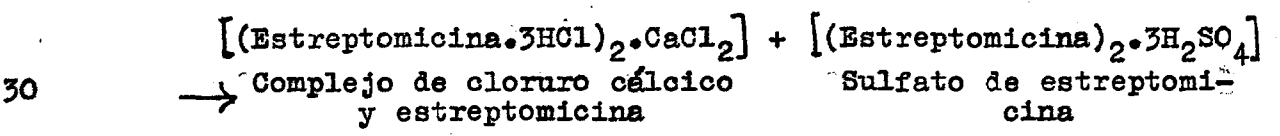
10 La fracción previa va seguida de una porción de efluente en la que el sulfato de estreptomycin se halla relativamente concentrado y también libre de ion cloruro; esta porción se conoce por "fracción rica" o "fracción convertida". Después de aparecer por primera vez ion cloruro en el efluente (primer indicio de que la carga ha "pasado" a la descarga), éste contiene una mezcla de los cloruros y sulfatos de estreptomycin y calcio, y se designa por "fracción mixta".

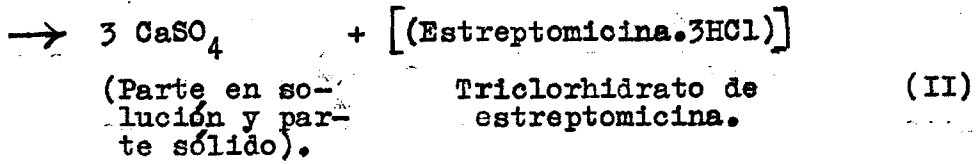
15

20 Según nuestro invento, las fracciones ricas se tratan hasta obtener sulfato de estreptomycin o sulfato de dihidrostreptomycin finales, o se aplican con provecho en otra forma, mientras que las fracciones previa y mixtas (o cualquiera de ellas, sola o en grupos) se utilizan como disolventes para más complejo de cloruro cálcico y estreptomycin en una vasija de preparación de cargas; el sulfato de estreptomycin contenido en las fracciones previa y mixtas reacciona con el complejo de cloruro cálcico y estreptomycin para precipitar sulfato cálcico.

25

La reacción que se desarrolla en la vasija de preparación de cargas en este tiempo puede representarse por la siguiente ecuación:





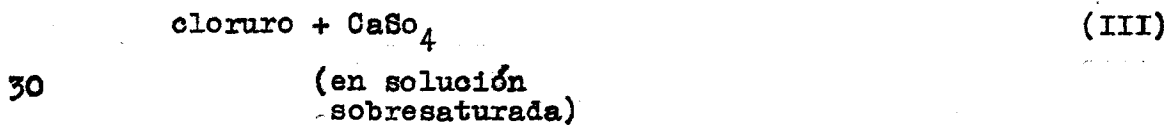
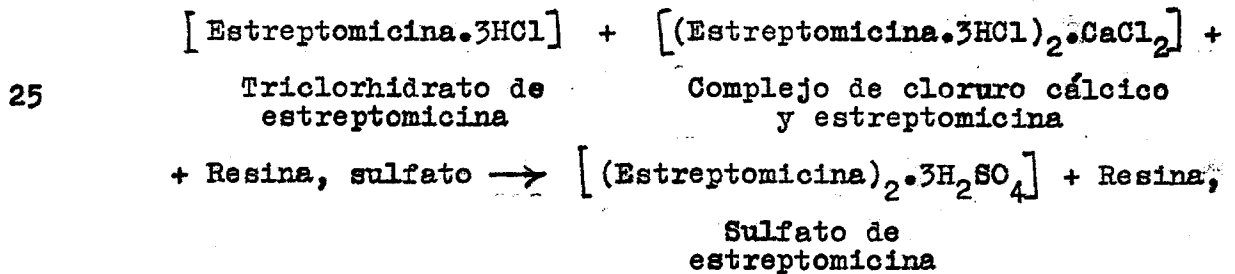
5 Como en el recipiente se introduce un exceso del complejo de cloruro de calcio y estreptomina, después de desarrollarse la anterior reacción (II) hay clorhidrato de estreptomina y cloruro cálcico disueltos.

10 Entratanto, la resina interiónica de la columna se regenera por procedimientos corrientes para restituirla al ciclo de sulfato. Con preferencia, la resina se lava lo suficiente, una vez regenerada, para que el pH de la lavadura final se aproxime a 4.

15 La mezcla de carga contenida en la vasija de preparación, después de la reacción anterior (II), se filtra para separar el sulfato cálcico precipitado, y luego se hace pasar a través del lecho de resina.

20 La circulación de material a través del lecho de resina se mantiene relativamente constante, a un ritmo apropiado para que no precipite apenas sulfato cálcico en el fondo de resina.

Durante la tanda siguiente (o cualquiera de las sucesivas), la metátesis que se produce en la columna de resina se representa por la siguiente ecuación:



Como antes se ha indicado, es importante vigilar la



velocidad de circulación del efluente, y tomar medidas para mantenerla constante.

El líquido que sale de la base de la columna (efluente) se divide en fracciones, como en la tanda primera. Se desecha la fracción del agua desalojada. La fracción previa se retiene para emplearla más tarde como carga líquida para la columna, o como disolvente al preparar una solución de carga destinada a una tanda ulterior. La fracción rica se lleva a un recipiente apropiado, y la fracción mixta se transporta a otra vasija, con objeto de utilizarla más tarde en la preparación de una solución de carga para una tanda subsiguiente.

Es preferible proceder de manera que se consiga en la fracción rica la máxima concentración posible de sulfato de estreptomocina, y se alcance el rendimiento mayor que se pueda. La restitución al ciclo de la fracción previa y de las mixtas no sólo contribuye a mejorar el efecto útil, evitando la pérdida de la estreptomocina que contienen, sino que sirve también para eliminar del sistema, de un modo sencillo, una cantidad apreciable de material inorgánico indeseable (calcio) sin introducir ninguna sustancia inoportuna en el sistema, y sin exponerse a perder estreptomocina al extraer tal sustancia del mismo (por ejemplo, precipitando en una solución de metanol).

Para contribuir a lograr y mantener una concentración elevada de sulfato de estreptomocina, el lecho de resina se prefiere substancialmente de longitud mayor que su diámetro. Esto reduce las proporciones de la dilución producida por la mezcla de la solución de carga con el agua contenida al principio en el lecho de resina. En el modo preferido de realización del invento, el lecho de resina forma una



1 2 56

- 10 -

229358

columna de unos 10 piés de altura.

Esta metátesis interiónica de complejo de clorato de calcio y estreptomina o sulfato de estreptomina ha resultado ser practicable con soluciones acuosas concentradas del mencionado complejo, que contengan no menos de 390.000 unidades por mililitro de estreptomina base para la tanda inicial, y no menos de 420.000 unidades por mililitro de estreptomina base para tandas sucesivas.

Al preparar sulfato de estreptomina final de la fracción rica de la columna, el sulfato cálcico remanente (es decir, el disuelto aún en la solución acuosa) se precipita por adición de metanol a la solución, y luego se filtra ésta para retirar el precipitado. El filtrado se agrega después lentamente a metanol, y entonces precipita el sulfato de estreptomina. Esta solución se pasa por un filtro o una centrífuga, y la pasta retenida en el filtro, después de seca, es el sulfato de estreptomina final.

Cuando se prepara y aísla un sulfato de dihidroestreptomina de la fracción rica de la columna, esta fracción, una vez separado por filtración el sulfato cálcico que haya precipitado, se hidrogena convenientemente, empleando hidrógeno a unas 20 libras de presión manométrica y un catalizador adecuado, como óxido de platino. Después de filtrar para eliminar el catalizador, la solución se trata con metanol para precipitar el sulfato cálcico remanente, se filtra para separar el precipitado, y luego se añade metanol y unos cuantos cristales de cebo para precipitar el sulfato de dihidroestreptomina contenido en la solución. Esta solución se pasa seguidamente por un filtro o una centrífuga, y la torta del filtro, una vez desecada, es el sulfato de dihidroestreptomina final.



Se exponen a continuación varios ejemplos para ilustrar las formas específicas de realización del invento, pero debe entenderse que estos ejemplos no han de considerarse como limitativos del invento en modo alguno.

5

EJEMPLO A.-

Preparación de la columna.

Una columna de vidrio de 3 pulgadas de diámetro se cargó con 7 litros de la resina interaniónica Amberlite IRA-400 (fabricada por Rohm & Haas Company), en el ciclo de cloruro. La altura de la capa de resina era de 5 pies.

10

Se pasó por la resina en corriente descendente una solución acuosa de ácido sulfúrico al 5%, hasta que el líquido efluente de la resina salió esencialmente libre de iones cloruro. Luego se lavó la columna con 40 litros de agua, de arriba abajo, seguidos de una solución acuosa de hidróxido sódico, de abajo arriba, hasta que el efluente de la columna salió esencialmente exento de iones sulfato. La resina se lavó con 40 litros de agua en corriente descendente, y luego con solución acuosa de ácido sulfúrico al 5%, en igual sentido, hasta que la resina estuvo esencialmente en la forma de sulfato. Cada una de estas corrientes se pasó a razón de 450/ml/minuto. Luego se lavó la resina con agua, de arriba abajo, hasta que el efluente dió un pH de 2,7 y reacción negativa de iones cloruro y sulfato; y volvió a lavarse la resina en sentido inverso, se dejó sedimentar, y el agua se dejó escurrir hasta el nivel del lecho.

15

20

25

Tanda inicial.

La solución de carga estaba constituida por 6,58 litros de complejo de cloruro cálcico y estreptomicina disuelto, con una concentración aproximada de 217.500 unidades de estreptomicina base por mililitro. Esta concentración se men-

30



12 956

- 12 -

229358

ciona a veces más adelante como u/ml.

La solución de carga se pasó de arriba abajo a través de la resina, a razón de unos 130 a 140 ml. por minuto, lo cual proporcionó un tiempo de contacto superficial de 50 a 54 minutos. Después se pasó agua a la misma velocidad, y prosiguió la operación hasta que el peso específico del efluente volvió a ser de 1,00. Se retiró una fracción de agua desalojada, y luego otras 17 fracciones numeradas, cada una de alrededor de 900 ml., seguidas de una fracción final de 7300 mililitros.

La fracción de agua desalojada y las fracciones 1 y 2 no contenían estreptomicina. Las fracciones 3 y 4 contenían estreptomicina relativamente diluida, y la concentración en la fracción 4 era de unas 105.000 u/ml. Las fracciones 5 a 9 eran ricas, substancialmente exentas de ion cloruro. Una de ellas tenía una concentración no menor de unos 215.000 u/ml. Reunidas, dieron una concentración aproximada de 197.000 u/ml. La penetración de ion cloruro se produjo en la fracción 10, de modo que las fracciones sucesivas 11 a 14 fueron las mixtas. La concentración en la fracción 14 era muy baja, de unas 3.600 u/ml. En las fracciones 15 a 18, la concentración de estreptomicina fué todavía menor.

No se encontraron dificultades hidráulicas en esta tanda, lo cual demuestra que no había precipitación apreciable de sulfato cálcico en el lecho de resina, en estas condiciones de circulación, que pudiese interrumpir el paso de líquido a través del lecho mientras en éste se desarrollaba la reacción (I) antes descrita. El sulfato cálcico precipitó en muestras de cada una de las fracciones 4 a 12, después de dejarlas en reposo por separado.

Las fracciones ricas 5 a 19 se trataron para obtener



sulfato de estreptomicina final del modo ya descrito, y dieron un producto anhidro con una potencia de 744 u/mg.

Segunda tanda.

5 La columna empleada para la tanda primera del ejemplo A se regeneró mediante lavado con una solución acuosa de sulfato sódico al 7% (grado de reactivo), de arriba abajo, a 460 ml. por minuto, hasta que el efluente dió reacción negativa de iones cloruro. A continuación se lavó con agua, de arriba abajo, a razón de 460 ml. por minuto, hasta que 10 el efluente dió reacción negativa de iones sulfato. Luego se lavó la resina en sentido inverso, se dejó sedimentar, y el agua se hizo escurrir hasta el nivel del lecho.

15 La solución de carga se preparó en un recipiente adecuado reuniendo las fracciones 3, 4, 10, 11, 12, 13 y 14 de la tanda inicial; las dos primeras contenían sulfato de estreptomicina a concentración relativamente baja, y las demás enumeradas eran las mixtas y contenían una mezcla de los cloruros y sulfatos de estreptomicina y calcio. A estas fracciones reunidas se añadieron 2,05 Kgs. de complejo 20 de calcio y estreptomicina, y agua suficiente para completar 7,0 litros. Precipitó entonces sulfato cálcico, según indica la reacción (II) antes descrita. Esta solución se filtró luego para retirar el precipitado. El filtrado tenía una concentración aproximada de 254.000 unidades de 25 estreptomicina base por mililitro. Se pasaron en corriente descendente 6,5 litros del filtrado a través del lecho de resina, del mismo modo y a velocidad igual que en la primera tanda. No hubo dificultades hidráulicas, lo cual indica que mientras se desarrollaba en el lecho de resina la reacción (III) antes descrita, no se produjo precipitación apreciable de sulfato cálcico en la resina, en estas condicio-

30



956

nes de circulación, que pudiese interrumpir el peso de líquido a través del lecho de resina.

Se tomó una fracción de agua desalojada de 2.000 ml., seguida de seis fracciones de 1.500 ml. y de dos fracciones (7 y 8) de 2.000 ml. y 4.000 ml., respectivamente. Las fracciones 3, 4 y 5 eran las ricas, substancialmente exentas de ion cloruro, y contenían reunidas sulfato de estreptomicina a la concentración aproximada de 220.000 unidades de estreptomicina base por mililitro. La penetración de ion cloruro se produjo en la fracción 6, de modo que ésta y la 7 eran las mixtas.

Las fracciones ricas se trataron para obtener sulfato de estreptomicina final del modo ya descrito. Las fracciones mixtas se retuvieron para una tanda subsiguiente.

#### EJEMPLO B.-

##### Preparación de la columna.

Una columna de vidrio de 10 pies de altura y 1 pulgada de diámetro se cargó con 800 ml. de la resina iónica Amberlite IRA-410 (fabricada por Rohm & Haas Company). La resina se dispuso en el ciclo de sulfato lavándola con una solución acuosa de sulfato sódico al 7% (grado de reactivo), en corriente ascendente a razón de 52 ml. por minuto, hasta que el efluente no presentó indicio alguno de ion cloruro (por ensayo visual con nitrato argéntico). La resina se lavó después con agua, de abajo arriba, al ritmo de 52 ml. por minuto, hasta que el efluente no dió indicios de ion sulfato (por ensayo visual con cloruro bórico). Se dejó sedimentar la resina, y la columna se dejó escurrir hasta el nivel del lecho, que, una vez sedimentado, medía unos 5 pies de altura.



Tanda inicial.

La solución de carga consistió en 940 ml. de una solución acuosa de complejo de cloruro cálcico y estreptomina, con una concentración aproximada de 371.000 unidades de estreptomicina base por mililitro. Esta solución se pasó de abajo arriba sobre la resina a razón de 27 ml. por minuto, lo cual dió un tiempo de contacto superficial de 29,6 minutos.

La primera fracción, de 500 ml., era esencialmente de agua desalojada. La segunda, de 300 ml., era la rica, de sulfato de estreptomicina substancialmente libre de cloruro, con una potencia de 266.000 u/ml. Las fracciones tercera y cuarta, de 800 y 300 ml., respectivamente, eran las mixtas.

La fracción rica se trató para obtener sulfato de estreptomicina final del modo antes descrito.

Segunda tanda.

Una columna duplicada, preparada a semejanza de la columna empleada en la primera tanda de este ejemplo B, se cargó con una solución dividida en dos partes. La primera constaba de 750 ml. de la fracción 3 de la tanda inicial (con una concentración aproximada de 303.000 u/ml.), que se hizo pasar hacia abajo sobre la resina a la misma velocidad de la tanda inicial. Siguió luego la segunda parte, compuesta de 280 ml. de la fracción 4 de la tanda inicial, a la que se agregaron 195 g. de complejo de cloruro de calcio y estreptomicina, con una concentración resultante aproximada de 365.000 u/ml. Se añadió hidróxido cálcico para ajustar el pH de la solución a 5,0, y luego se filtró la solución para separar las sales cálcicas no solubles, en primer término sulfato cálcico. El filtrado se pasó en corrien-



1  
5  
te descendente sobre la resina al mismo ritmo que la tanda inicial. La primera fracción, de 450 ml. era esencialmente de agua desalojada; la segunda, de 400 ml., era la rica, de sulfato de estreptomycin substancialmente exenta de cloruros, con una potencia aproximada de 238.000 u/ml. La tercera, de 800 ml., era la mixta.

10  
No hubo dificultades hidráulicas con la tanda inicial ni con la segunda, lo que indica que no precipitó sulfato cálcico en cantidad apreciable dentro del lecho de resina.

EJEMPLO C.-

Preparación de la columna.

15  
20  
Una columna de vidrio de 1 pulgada de diámetro y unos 20 pies de longitud se cargó con 1.550 ml. de resina interaniónica AMBERLITE IRA-400 para disponer un lecho o capa de 10 pies de altura. La resina se regeneró con ácido sulfúrico normal, que se hizo circular de arriba abajo a razón de 100 ml/minuto, hasta reducir a una proporción insignificante el ion cloruro en el efluente. La resina se lavó después con agua, de arriba abajo, a razón de 140 ml/minuto, hasta hacer subir el pH del efluente a 3,1 poco más o menos. El lecho se fluidificó, se dejó sedimentar y se escurrió hasta el nivel del mismo.

Tanda inicial.

25  
30  
La solución de carga se preparó disolviendo 500 g. de complejo de cloruro cálcico y estreptomycin en agua suficiente para obtener 1300 ml. de solución. Se ajustó el pH a 4,5 con hidróxido cálcico, y la solución se filtró para eliminar sales insolubles, como carbonato cálcico, introducido en concepto de impureza con el hidróxido cálcico. Del filtrado, con una concentración aproximada de 369.500



1956

- 17 -

229358

u/ml., se pasaron en corriente descendente 1.200 ml. sobre la resina, empleando una microbomba en funcionamiento continuo para mantener la circulación al ritmo de 45 ml/minuto. Esto proporcionó un tiempo de contacto superficial de 34,5 minutos. Agotada la solución de carga, se hizo pasar agua a través de la columna.

La primera fracción, de 750 ml., era esencialmente agua desalojada. La segunda, de 250 ml., contenía sulfato de estreptomicina en cantidad relativamente diluida (unas 166.000 u/ml). La tercera, de 750 ml., era la fracción rica de sulfato de estreptomicina substancialmente exenta de cloruros, con una potencia aproximada de 339.000 u/ml. Las fracciones cuarta y quinta, de 500 y 250 ml., respectivamente, eran las mixtas, y contenían aproximadamente 270.000 u/ml. y 68.600 u/ml.

#### Segunda tanda.

Se regeneró la misma columna empleada para la tanda inicial de este ejemplo C, como se hizo para la tanda inicial.

La solución de carga se preparó en un recipiente adecuado, reuniendo las fracciones 2, 4 y 5 de la tanda inicial del ejemplo C y añadiendo 500 g. de complejo de cloruro cálcico y estreptomicina, ajustando el pH a 5,5 con hidróxido cálcico y filtrando, y añadiendo agua suficiente para que el filtrado diera 1.350 ml. de solución de carga, que tenía una concentración aproximada de 338.000 u/ml. Se pasaron 1300 ml. de esta solución, de arriba abajo, sobre la resina, empleando la bomba como en la tanda inicial, y manteniendo el mismo ritmo de circulación que en la primera tanda. Agotados los 1300 ml. de solución de carga, se suministró agua a la columna.



La primera fracción, de 750 ml., era esencialmente agua desalojada. La segunda, de 250 ml., contenía sulfato de estreptomina en cantidad relativamente diluída (unas 170.400 u/ml.). La tercera, de 850 ml., era la fracción rica de sulfato de estreptomina substancialmente exenta de cloruros, con una potencia aproximada de 295.500 u/ml. Las fracciones cuarta y quinta, de 500 y 250 ml., respectivamente, eran las mixtas, que contenían alrededor de 238.000 y de 46.500 u/ml., respectivamente.

Tercera tanda.

La columna utilizada para las tandas primera y segunda del ejemplo C se regeneró análogamente a lo descrito para la tanda inicial, pero empleando un lavado acuoso más prolongado para ajustar el pH del efluente a 3,15 poco más o menos. Después de dejar en reposo durante la noche, el pH del líquido efluente del lecho de resina había disminuído, de modo que el lecho se volvió a lavar para elevar el pH del mencionado efluente a 3,0.

La solución de carga se preparó en un recipiente adecuado, reuniendo las fracciones 2, 4 y 5 de la segunda tanda del ejemplo C y añadiendo 570 g. de complejo de cloruro cálcico y estreptomina, ajustando el pH a 5,5 con hidróxido de calcio, y filtrando. La torta del filtro se lavó con agua, y el filtrado y los líquidos de loción se reunieron para elevar el volumen de la solución final a 1300 ml., con una concentración aproximada de 450.000 u/ml. La torta seca pesó 34,1 gramos.

La columna se trató como en las tandas anteriores de este ejemplo C, empleando 1.200 ml. de la solución como carga, y luego agua.

La primera fracción, de 750 ml., era esencialmente



12 t  
5  
agua desalojada. La segunda, de 250 ml., contenía sulfato de estreptomina a concentración apreciable (alrededor de 215.000 u/ml.). La tercera, de 750 ml., era la fracción rica de sulfato de estreptomina substancialmente exenta de cloruros, con una potencia aproximada de 385.000 u/ml. Las fracciones cuarta y quinta, de 500 y 250 ml., respectivamente, eran las mixtas, y contenían alrededor de 272.000 y de 56.300 u/ml., respectivamente.

10  
Cada una de las fracciones que contenían estreptomina en las distintas tandas de este ejemplo C se ajustó a un pH de 4,5 con hidróxido de calcio.

15  
Ninguna de estas tandas del ejemplo C dió precipitación apreciable de sulfato cálcico dentro del lecho de resina, y la bomba sirvió eficazmente para mantener la velocidad de circulación del líquido a través del lecho de resina al nivel deseado, venciendo cualquier tendencia a descender a medida que avanzaba la tanda.

EJEMPLO D.-

Sulfato de dihidrostreptomina.

20  
Partes de fracciones ricas de las columnas tratadas conforme se describe en los precedentes ejemplos A, B y C se hidrogenaron para producir sulfato de dihidrostreptomina. El procedimiento empleado para su preparación y aislamiento fueron los ya descritos en esta memoria.

25  
30  
La valoración con maltol del producto final o refinado, obtenido de fracciones ricas de diversas tandas, dió 1,9 a 2,5 u/mg., lo cual indica que en el producto no quedaba prácticamente sulfato de estreptomina no hidrogenado. Los cloruros eran menos de 0,1%, y la ceniza sulfatada osciló entre 0,00% y 0,16%. Soluciones del producto equivalentes a 200.000 unidades de estreptomina base por mililitro eran



056

claras en todos los casos menos en uno, en que se observó un ligero enturbiamiento. La escasez de cenizas y la claridad de la solución son indicios de ausencia de cualquier cantidad apreciable de sulfato cálcico en el producto.

5

CONCLUSIÓN.

10

15

Según resulta evidente de lo expuesto, nuestro procedimiento es sencillo y económico y sirve para convertir directamente complejo de cloruro cálcico y estreptomycinina en sulfato de estreptomycinina. Se utilizan en él concentraciones elevadas del complejo, y se obtienen concentraciones elevadas del sulfato, sin dificultad; no hay apreciable desperdicio o pérdida de estreptomycinina, por lo que la eficacia del procedimiento es grande. El subsiguiente aislamiento del sulfato de estreptomycinina, o la hidrogenación directa de la solución de esta sal y el aislamiento del sulfato de dihidrostreptomycinina se facilitan por no introducirse productos que compliquen las separaciones ni den ocasión a pérdidas apreciables.

20

-----: N O T A :-----  
-----

25

30

Se reivindica como objeto de esta patente:

1.º Procedimiento químico para convertir el complejo de cloruro cálcico de un antibiótico en la sal sulfatada correspondiente, que comprende el contacto de una solución acuosa del complejo de cloruro cálcico con una resina interaniónica en el ciclo de sulfato.

2.º Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el antibiótico empleado es complejo de cloruro cálcico y estreptomycinina.

3.º Procedimiento según la reivindicación 1, en el



que el tiempo de contacto es insuficiente para que precipite sulfato cálcico dentro del lecho de resina.

4.- Procedimiento según la reivindicación 3, en el que el tiempo de contacto está comprendido entre 15 y 60 minutos.

5.- Procedimiento según la reivindicación 1, que comprende precipitar el sulfato cálcico del efluente después de salir éste del lecho de resina; filtrar la solución para eliminar el sulfato cálcico precipitado, y recuperar el filtrado para aprovecharlo como provisión de sal sulfatada del antibiótico.

6.- Procedimiento según la reivindicación 5, en el que el sulfato cálcico se precipita añadiendo metanol al líquido efluente.

7.- Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la resina interaniónica es una resina permuta aniones fuertemente básica en el ciclo de sulfato.

8.- Procedimiento según la reivindicación 2, que comprende recuperar el líquido efluente en fracciones separadas, obteniendo una fracción rica de sulfato de estreptomina en solución acuosa substancialmente exenta de iones cloruro, y una fracción mixta que contiene una mezcla de los cloruros y sulfatos de estreptomina y calcio; mezclar la fracción mixta con más complejo de cloruro y estreptomina, a fin de preparar una nueva solución de carga para la resina; filtrar la solución de carga adicional para eliminar el sulfato cálcico precipitado, y poner en contacto el filtrado resultante con el lecho de resina en una tanda siguiente.

9.- Procedimiento según la reivindicación 2, en el que la solución acuosa de cloruro cálcico y estreptomina



tiene una concentración aproximada de 100.000 a 500.000 unidades de estreptomina base por mililitro.

5

10.- Procedimiento químico para convertir el complejo de cloruro cálcico de un antibiótico en la sal sulfatada correspondiente.

Esta memoria consta de veintidós páginas, escritas por una sola cara.

BARCELONA, 2 JUN 1956

P.A.

JOSE M. BOGARD  
P.P.