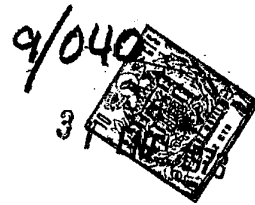


Δ1 411.153 760101 B 01 D



PATENTE DE INVENCION

Le A 14 157-Sp.

411153

411153

Int. Cl.:	A61K

*Memoria Descriptiva F.E. 17-3-75*

*sobre:*

PROCEDIMIENTO PARA LA CONCENTRACION DE SOLUCIONES  
CRUDAS DE MEDICAMENTOS TERMICAMENTE HABLES

-----

*Solicitante:* BAYER AKTIENGESELLSCHAFT, entidad alemana, residente  
en Leverkusen-Bayerwerk, República Federal Alemana.

-----

La presente invención se refiere a un procedimiento para la concentración, bajo condiciones benignas, de soluciones acuosas de sustancias lábiles al calor, especialmente medicamentos de alto y bajo peso molecular, así como sus productos previos e intermedios.

5.



5.

10.

15.

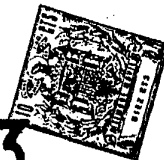
20.

25.

30.

Los evaporadores en vacío se usan preferentemente para la concentración industrial a gran escala de soluciones acuosas (Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie, Munich-Berlin, 1 (1951) 529). En la concentración térmica se ha de aplicar una capacidad de refrigeración correspondiente al calor de evaporación para retirar así el calor de condensación. Para los evaporadores que trabajan a bajas presiones y bajas temperaturas se necesitan grandes capacidades de refrigeración. Sin embargo, bajas temperaturas y bajas presiones son justamente imprescindibles en los productos biológicos térmicamente sensibles para mantener a un mínimo cualquier degradación de estas sustancias durante el proceso de concentración.

Han demostrado ser especialmente favorables, para la evaporación industrial de grandes cantidades de líquido, los evaporadores de capa delgada, sobre los cuales existe una extensa literatura ("Technische Mikrobiologie", Parey, Berlin-Hamburg, (1968) 196), así como los evaporadores de tubo largo. Los evaporadores de capa delgada se operan en la práctica con una temperatura del envolvente calefactor superior a 80°C. El contacto entre el producto a concentrar y la superficie de calentamiento es suficiente para acusar considerables pérdidas por descomposición térmica al evaporar sustancias naturales sensibles. Dificultades similares se encuentran en los evaporadores de tubo largo, que trabajan con tiempos de contacto muy cortos a temperaturas superiores a 100°C. En los procedimientos conocidos de concentración con los evaporadores, incluso las sustancias de origen natural y peso molecular bajo se descomponen parcialmente, con pérdidas hasta un 10 % del contenido de sustancia activa



y, además, a veces cambios en el color intrínseco de las sustancias a concentrar. Pérdidas considerablemente superiores se pueden presentar cuando se concentran soluciones acuosas de sustancias de alto peso molecular, tales como polipéptidos y proteínas.

5.

En la fabricación industrial a gran escala del ácido 6-amino-penicilánico (6-APA), por ejemplo, soluciones acuosas al 7 % se han de concentrar a un contenido de un 28 %. Aquí, por ejemplo, más de un 6 % del 6-APA se descompone trabajando bajo condiciones operacionales óptimas en el evaporador de capa delgada. En la fabricación industrial a gran escala de, por ejemplo, calicreina o el inhibidor de calicreína-tripsina (KTI), por procedimientos conocidos, las pérdidas alcanzan un 8 - 10 %.

10.

15.

La presente invención aporta un procedimiento para la concentración de una solución cruda de un medicamento térmicamente lábil (según se define a continuación) comprendiendo las etapas de:

20.

(i) enfriamiento de la solución cruda a una solución cruda congelada y una solución cruda enfriada previamente;

25.

(ii) mezclar la solución cruda congelada con la solución cruda previamente enfriada y hielo, para producir cristales de hielo puro y una primera solución concentrada;

30.

y  
(iii) separar los cristales de hielo puro de la primera solución concentrada.

El procedimiento de la presente invención asimismo comprende preferentemente las etapas adicionales de: (iv) ulterior refrigeración de la primera solución concentrada -

411153



para formar hielo y una segunda solución concentrada; y (v) separar el hielo de la segunda solución concentrada. El hielo separado en la etapa (v) se recicla preferentemente a la etapa (ii).

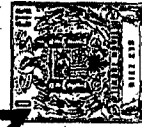
5. La palabra "medicamento", según se emplea en la presente especificación, significa cualquier sustancia empleada como producto farmacéutico, bien se trate de peso molecular alto o bajo, así como también los precursores y los productos intermedios empleados para la producción de tales sustancias. La presente invención es especialmente útil para la concentración de soluciones crudas de productos medicinales de origen biológico, tales como polipéptidos, proteínas y antibióticos.

10. La expresión "térmicamente lábil", según se emplea en esta especificación, indica una sustancia que se descompone en un grado sustancial cuando su solución se concentra - por los métodos conocidos de evaporación arriba mencionados; si bien no se tiene la intención de restringirse a unos límites particulares, una sustancia que se descomponga en un grado sustancial a 55°C en el plazo de una hora se puede - considerar generalmente como "térmicamente lábil" dentro del significado de esta especificación. En la solicitud de patente alemana P 2.204.597.2, de Krauss-Maffei A.G., Munich, se describe este procedimiento en general sin hacer referencia especial a los medicamentos. El uso del procedimiento para la concentración de sustancias distintas a los medicamentos no está dentro del alcance de la presente solicitud.

15. La figura 1 es un diagrama de flujo esquemático para una forma preferente de la invención en la cual una -

20. 25. 30.

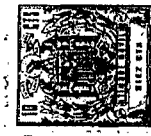




- 6 411153

- aquí descrito es posible concentrar soluciones acuosas de sustancias térmicamente lábiles, especialmente medicamentos de bajo o alto peso molecular y/o sus productos previos y productos intermedios. Ejemplos particulares de tales sustancias son las enzimas (tales como calicreina, hialuronidasa y asparaginasa) inhibidores de enzimas (tales como inhibidores de calicreina-tripsina, a continuación denominados como KTI) extractos del páncreas, ácido 6-aminopenicilánico (6-APA) y penicilinas semisintéticas obtenidas del anterior, así como otras medicinas antibióticamente activas.
5. Empleando el procedimiento de la invención aquí descrita se concentró una solución acuosa de 6-APA al 7 % hasta obtener sustancia activa al 28 %. La pérdida en 6-APA que se presentó en el hielo fue solo de un 1,2 % mientras que al concentrar la solución de 6-APA en un evaporador de capa delgada del tipo conocido, las pérdidas en sustancia activa ascendieron hasta un 6 %. Por consiguiente, mediante la concentración por congelación según la presente invención es posible aislar el 6-APA en mayores rendimientos que según los procedimientos conocidos.
- 10.
- 15.
- 20.

- La calicreina y KTI son, al igual que otras proteínas, muy lábiles al calor. Así pues a 55°C, mas de un 30 % de calicreina se inactiva en un plazo de una hora. Como resultado, se presentan pérdidas hasta un 10 % al -
25. concentrar calicreina en un evaporador en vacío, aún con tiempos de contacto muy cortos. Por el contrario, mediante el procedimiento de la presente invención, es posible concentrar por congelación soluciones acuosas de calicreina - con una pérdida de solamente un 0,8 - 1,4 % y soluciones -
30. acuosas de KTI con una pérdida de solamente un 1,0 %.



La aplicación según la presente invención. El procedimiento continuo aquí descrito, se puede extender también a un procedimiento discontinuo correspondiente si se suprime la segunda etapa de concentración en un refrigerador rasca-

5. dor (5). En este caso la solución cruda (10) se transforma, en un dispositivo congelador rotativo (2), en escamas de solución de crudo congelado y estas se mezclan en un mezclador-cristalizador (3) con solución cruda (10) que ha sido enfriada pero no congelada. Aquí se disuelven las escamas de

10. la solución cruda congelada y al mismo tiempo se forman cristales de hielo puro. La mezcla de cristales de hielo y primera solución concentrada se separa en un dispositivo separador (4). Si el hielo obtenido se lava ulteriormente con poca agua contendrá éste menos de un 1 % de la cantidad de inhibidor de calicreina-tripsina empleada. El líquido de lavado

15. preferentemente se vuelve a congelar en el cilindro congelador (2) y se recicla al cristalizador-mezclador (3). El concentrado formado en el mezclador-cristalizador (3) se puede concentrar en ulteriores etapas.

20. Los ejemplos que se detallan a continuación explican la invención. Los números entre paréntesis se refieren a la figura 1.

EJEMPLO 1

Se alimenta 16,7 kg/h de una solución cruda al 7

25. % de 6-APA al dispositivo congelador-concentrador arriba descrito. Después de enfriar previamente en el refrigerador previo (1) se separa la solución cruda. Se transforman 8,26 kg/h en el dispositivo congelador rotativo (2) a -30°C en escamas de solución congelada. Estas escamas se mezclan

30. con 8,44 kg/h de solución cruda previamente enfriada en el



mezclador-cristalizador (3). Al mismo tiempo se introducen cristales de hielo puro del dispositivo refrigerador-cristalizador (5) como cristales de inyección en el mezclador-cristalizador (3) a través del segundo dispositivo separador (6). Se separa la mezcla resultante después de la cristalización en el mezclador-cristalizador (3) en el primer dispositivo-separador (4) en la primera solución concentrada y en cristales de hielo. Se utilizan los cristales de hielo para enfriar, en el refrigerador previo (1) la solución cruda que se ha de concentrar y, subsiguientemente, se descartan. El hielo contiene aproximadamente un 1,2 % de la cantidad total de 6-APA empleada como solución cruda para la concentración por congelación. Se alimentan los 8,35 kg/h de la primera solución concentrada, que contiene un 14 % de 6-APA, al rascador-refrigerador (5) con una temperatura del envolvente de  $-15^{\circ}\text{C}$ . Se separa la mezcla obtenida en (5) en el segundo dispositivo separador (6) en sus componentes, esto es, cristales de hielo puro y segunda solución concentrada. Se recicla una parte de hielo obtenido, 4,18 kg/h, al mezclador-cristalizador (3). Se obtienen como concentrado final 4,18 kg/h de segunda solución concentrada conteniendo un 28 % de 6-APA. El análisis del concentrado final muestra un contenido en 6-APA de un 98 % con relación al 6-APA contenido en la solución cruda alimentada.

Se aísla el 6-APA del concentrado final mediante precipitación en el punto isoeléctrico. El rendimiento del producto cristalizado asciende a un 94 % en relación con el contenido de la solución cruda empleada. El líquido madre resultante contiene un residuo de un 4 % de 6-APA.

EJEMPLO 2



411153

- Se alimenta 21,5 kg/h de una solución cruda de KTI conteniendo un 0,2 % de sustancia activa al dispositivo de congelación-concentración arriba descrito. Después de enfriar previamente a 0°C en el refrigerador previo (1)
5. la solución cruda se divide. Se transforman 9,27 kg/h en el dispositivo congelador rotativo en escamas congeladas a una temperatura de -30°C. Estas escamas se mezclan con 12,27 kg/h de la solución cruda de KTI previamente enfriada en el mezclador-cristalizador (3). Se alimentan al mismo tiempo algunos de los cristales de hielo que se forman continuamente en el segundo dispositivo separador (6) al mezclador-cristalizador (3). Se separa la mezcla resultante, después de la recristalización en el primer dispositivo separador (4), en una primera solución concentrada y en cristales de hielo puro. Los cristales de hielo se emplean para enfriar la solución cruda del KTI en el refrigerador previo (1). El hielo puro contiene un 1,1 % de la cantidad total del inhibidor de calicreina-tripsina empleado. Se dividen los 10,75 kg/h de la primera solución concentrada, -
10. conteniendo un 0,4 % de KTI, Se congelan 4,65 kg/h a -30°C en un cilindro formador de escamas y 6,10 kg del concentrado previo se recristalizan en el mezclador-cristalizador (3) arriba descrito. Se separa la mezcla en un dispositivo separador. Se obtienen 5,38 kg de concentrado final conteniendo un 0,8 % de KTI y 5,37 kg de hielo.
15. 20. 25.

EJEMPLO 3

- Se enfrían previamente 9,0 kg de solución cruda de inhibidor de calicreina-tripsina (KTI) conteniendo 6700 UKI/cc a 0°C en el refrigerador previo (1). Se transforman
30. en 3,89 kg de esta solución cruda el dispositivo congelador

411153



- rotativo (2) en escamas de solución congelada a una temperatura de  $-30^{\circ}\text{C}$ . Se mezclan las escamas con 6,11 kg de solución cruda previamente enfriada en el mezclador-cristalizador (3) bajo adición simultánea de unos 0,7 kg de escamas de hielo puro. Después de 40 minutos se separa la mezcla de solución concentrada y cristales de hielo en sus componentes en el dispositivo separador (4). Se obtiene un primer concentrado conteniendo 13400 UKI/cc. Se recicla el primer concentrado así obtenido al proceso de congelación-concentración. Se desecha el hielo producido, que contiene menos de un 1 % de la cantidad de KTI empleada y se transforma el líquido de lavado en escamas de hielo en el dispositivo congelador rotativo (2), y se recicla al procedimiento. En la segunda etapa de concentración se mezclan 1,94 kg de escamas de hielo en el mezclador-cristalizador con 2,56 kg del primer concentrado y 0,35 kg de escamas de hielo obtenidas de la solución de lavado. Se separa la mezcla en sus componentes sólidos y líquidos después de 40 minutos. Se obtiene un concentrado final con un contenido en sustancia activa de 26800 UKI/cc.
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.

EJEMPLO 4

- Se alimentan 14,3 kg/h de un eluado de precipitado de sal metálica, obtenido según la patente alemana número - 910580 y con un contenido en sustancia activa de 95 UK (unidades de calicreina)/cc al dispositivo congelador-concentrador. Se enfría esta solución cruda previamente a  $0^{\circ}\text{C}$  -  $1^{\circ}\text{C}$  en el refrigerador previo (1) y después se divide. Se transforman 6,17 kg/h a  $-30^{\circ}\text{C}$  en el dispositivo congelador rotativo (2). Estas escamas se mezclan en el mezclador-cristalizador (3) con los restantes 8,13 kg/h de solución cruda -
- 25.
- 30.



5. previamente enfriada. Al mismo tiempo se alimentan al mezclador-cristalizador (3) 1,0 kg/h de cristales de hielo que se han obtenido en el segundo dispositivo separador (6). Se separa la mezcla resultante después de la recristalización en el primer dispositivo separador en una primera solución concentrada y cristales de hielo. Los cristales de hielo contienen un 1,4 % de las unidades de calicreína empleadas en total; se emplea para enfriar la solución cruda a concentrar en el refrigerador previo (1) y después se desecha. Se obtiene la primera solución concentrada en una cantidad de 7,15 kg/h y contiene 190 UK/cc. Se cristaliza la primera solución concentrada en el rascador-refrigerador (5) a una temperatura del envolvente de  $-15^{\circ}\text{C}$ . Se separa la mezcla de ulterior solución concentrada y cristales de hielo, así obtenida, en el segundo dispositivo separador (6) en sus componentes, esto es en la segunda solución concentrada y cristales de hielo puro. Se alimenta el hielo producido, 3,57 kg/h, al mezclador-cristalizador (3). Se obtienen como concentrado 3,57 kg/h de segunda solución concentrada conteniendo 380 UK/cc. Esto corresponde a un rendimiento de un 97,5 % con relación a la solución cruda.
- 10.
- 15.
- 20.

EJEMPLO 5

25. Se alimentan 18,4 kg/h de un eluado de la precipitación de sal metálica obtenidas según la patente alemana nº 910580 y dializada contra agua, teniendo un contenido en sustancia activa de 63 UK (unidades de calicreína)/cc, al dispositivo congelador-concentrador. Se enfría esta solución cruda previamente a  $0^{\circ}\text{C}$  en el refrigerador previo (1). Se congelan 7,88 kg/h de la solución cruda previamente enfriada a escamas a  $-30^{\circ}\text{C}$  en el dispositivo congelador rotativo y se mez-
- 30.



411153

- clan en el mezclador-cristalizador (3) con las restantes 10,52 kg/h de la solución cruda previamente enfriada, Al mismo tiempo se alimentan al mezclador-cristalizador (3) 2,5 kg/h de cristales de hielo obtenido en el segundo dispositivo separador (6). Después de haber efectuado la recristalización se separa la mezcla en una primera solución concentrada y cristales de hielo en el primer dispositivo separador. Los cristales de hielo contienen un 0,8 % de unidades de la calicreína introducida y se emplea para enfriar la solución cruda en el refrigerador previo (1) y después se desecha. Se cristalizan los 9,2 kg/h de primera solución concentrada, conteniendo 126 UK/cc, en el rascador-refrigerador a una temperatura del envolvente de  $-15^{\circ}\text{C}$ . Se separa la mezcla de concentrado/cristales de hielo así obtenida en sus componentes, esto es, en la segunda solución concentrada y cristales de hielo puro, en el segundo dispositivo separador (6). Se alimentan los cristales de hielo puro al mezclador-cristalizador (3) en una cantidad de 2,5 kg/h. Se obtiene la segunda solución concentrada en una cantidad de 4,6 kg/h y contiene 252 UK/cc.
5. El rendimiento en términos de unidades con relación a la solución cruda de un 99 %.
- 10.
- 15.
- 20.

N O T A

- Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a una solicitud de patente presentada en Alemania con fecha 1 de febrero de 1972, bajo el número P 22 04 598.3, acogiéndose por lo tanto a los bene
- 25.
- 30.

A ✓



5. ficios que conceden los Convenios Internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento, y por lo que se solicita Patente de Invención por 20 años en España, sobre "PROCEDIMIENTO PARA LA CONCENTRACION DE SOLUCIONES CRUDAS DE MEDICAMENTOS TERMICAMENTE LABILES"; caracterizándose por lo siguiente:

1ª.- Procedimiento para la concentración de soluciones crudas de medicamentos térmicamente lábiles, caracterizado porque comprende:

10. (i) enfriar la solución cruda para obtener solución cruda congelada y solución cruda pre-enfriada;

(ii) mezclar la solución cruda congelada con la solución cruda previamente enfriada y hielo para producir cristales de hielo puro y una primera solución concentrada; y

15. (iii) separar los cristales de hielo puro de la primera solución concentrada.

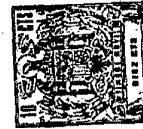
2ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª, caracterizado porque la etapa (i) se efectúa en un dispositivo refrigerador rotativo, a unos -40°C.

20. 3ª.- Procedimiento según la reivindicación 1ª o 2ª, caracterizado porque los cristales de hielo puro separados en la etapa (iii) se enjuagan con agua y se reciclan para unirse a la solución cruda congelada.

25. 4ª.- Procedimiento según la reivindicación 2ª o 3ª, caracterizado porque la primera solución concentrada se recicla a través de las etapas (i) a (iii).

5ª.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque comprende las etapas adicionales de:

30. (iv) refrigerar la primera solución concentrada ulteriormente para formar hielo y una segunda solución concentrada;



y (v) separar el hielo de la segunda solución concentrada.

6ª.- Procedimiento según la reivindicación 5ª, caracterizado porque se recicla el hielo separado de la etapa (v) a la etapa (ii).

5. 7ª.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado, porque el medicamento es una proteína o un polipéptido.

10. 8ª.- Procedimiento según la reivindicación 7ª, caracterizado porque el medicamento es una enzima o un inhibidor de enzima.

9ª.- Procedimiento según la reivindicación 8ª; caracterizado porque el medicamento es calicreina o un adsorbato de calicreina o una sal metálica hidrosoluble.

15. 10ª.- Procedimiento según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el medicamento es KTI.

11ª.- Procedimiento según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el medicamento es hialuronidasa.

12ª.- Procedimiento según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el medicamento es asparaginasa.

20. 13ª.- Procedimiento según la reivindicación 8ª, caracterizado porque el medicamento es extracto pancreático.

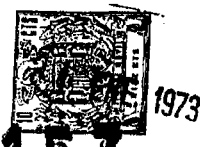
25. 14ª.- Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 6ª, caracterizado porque el medicamento es un antibiótico o un producto previo del mismo.

15ª.- Procedimiento según la reivindicación 14ª, caracterizado porque el medicamento es 6-APA.

16ª.- Procedimiento según la reivindicación 14ª, caracterizado porque el medicamento es una penicilina.

30. 17ª.- Procedimiento para la concentración de solu-

411153



ciones crudas de medicamentos térmicamente lábiles, así y co  
mo queda sustancialmente descrito en la presente Memoria, e  
ilustrado en el dibujo adjunto.

Esta Memoria consta de quince hojas, escritas a -  
máquina por una sola cara.

31 ENE. 1973

Madrid,

BAYER AKTIENGESELLSCHAFT.

J. GOMEZ ACEBO Y MUÑOZ  
P. P. Firmado en la Gaceta Efectuada

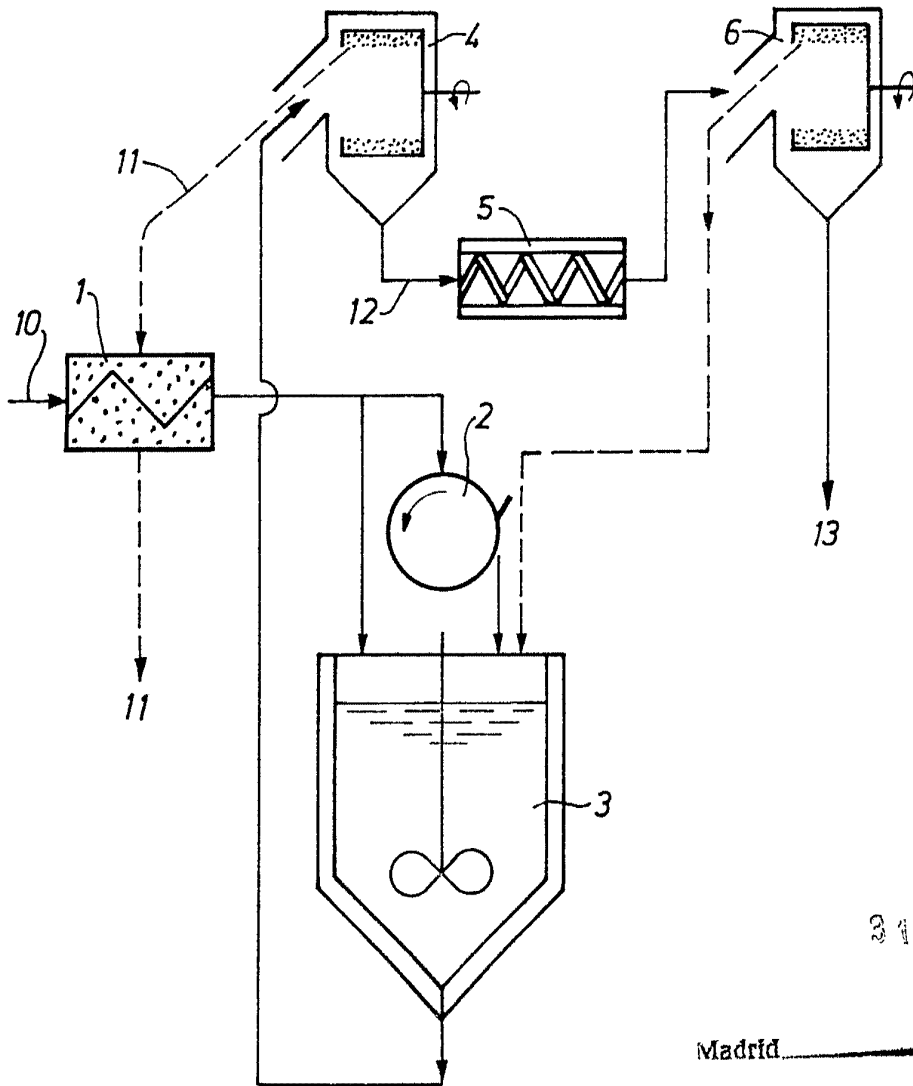
A handwritten signature in dark ink, written over the typed name and title. The signature is cursive and appears to read 'J. Gomez Acebo y Muñoz'.

A handwritten mark or signature in the bottom left corner of the page, consisting of a few simple, connected strokes.

411153



ESCALA  
VARIABLE



31 ENE. 1973

Madrid

AGENCIA ACEBO Y MADRUGAL  
Sociedad L. Garcia Fernandez  
*[Handwritten signature]*