

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA

Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

10 ES	11 NUMERO	470.337	10 A1
21	22 FECHA DE PRESENTACION	30 mayo 1.979	

Concedido al Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

PATENTE DE INVENCION

50 PRIORIDADES:	52 FECHA	53 PAIS
51 NUMERO		
802.710	2 junio 1.977	Estados Unidos

47 FECHA DE PUBLICIDAD	51 CLASIFICACION INTERNACIONAL	62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C 12D	

54 TITULO DE LA INVENCION
UN PROCEDIMIENTO PARA LA SEPARACION DE CEFAMICINA C DE LAS IMPUREZAS DEL CALDO DE FERMENTACION.

71 SOLICITANTE (S)
MERCK & CO., INC.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
126 East Lincoln Avenue - Rahway, New Jersey - Estados Unidos.

72 INVENTOR (ES)
Paul F. Schubert.

73 TITULAR (ES)
El mismo solicitante.

74 REPRESENTANTE
DON BERNARDO UNGRIA GOIBURU.

POOR QUALITY

1

RESUMEN DE LA INVENCION

5

La cefamicina G se concentra y purifica sometiendo un caldo de fermentación que contiene cefamicina G a la siguiente secuencia de etapas: filtración a pH ácido, paso a través de una resina cambiadora de ión catiónica de ácido metilensulfónico, lavado con una corriente acuosa con una baja concentración de cefamicina G y elución empleando la corriente acuosa anterior de la etapa previa, recirculada y mantenida a pH elevado.

10

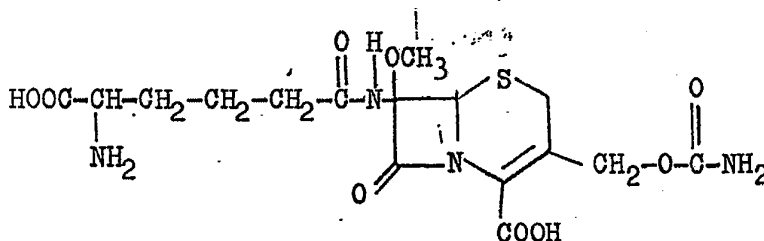
ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a la concentración y purificación de cefamicina G. Más especialmente, se refiere a la concentración y purificación de cefamicina G a partir de un caldo de fermentación que la contiene.

15

La cefamicina G es un antibiótico de cefalosporina de la siguiente fórmula estructural:

20



25

La preparación de este antibiótico mediante un proceso de fermentación ha sido descrita por Stapley y colaboradores, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Septiembre 1972, págs. 122-131. En este procedimiento, es necesario separar el producto deseado de grandes volúmenes de líquido que contienen grandes cantidades de materiales indeseables. Esta separación es laboriosa y cara.

30

Existen diversos procedimientos para la preparación de

1 cefamicina C purificada. La patente estadounidense 3.733.320  
se refiere a un procedimiento en múltiples etapas que impli-  
ca por lo menos dos columnas de resina, una catiónica y la  
5 segunda aniónica. La patente estadounidense 3.983.108 impli-  
ca la adsorción de cefamicina C en carbón activo, seguida de  
elución con un disolvente. Estos dos procedimientos producen  
rendimientos menores que el procedimiento de esta invención,  
debido en parte a la descomposición del producto. Un incon-  
veniente del procedimiento con carbón es el gran consumo de  
10 disolvente relativamente caro mientras que el proceso de pu-  
rificación secuencial en columnas de resina da lugar a una  
corriente diluída que requiere un tiempo de concentración  
adicional.

15 Por consiguiente, un objeto de esta invención es pro-  
porcionar un método mejorado para la obtención de cefamicina  
C a partir de un caldo de fermentación. Otro objeto es pro-  
porcionar un método de concentración y purificación de cefa-  
micina C a partir del caldo de fermentación en el que ha si-  
do preparada. Otro objeto es proporcionar un procedimiento  
20 sencillo y económico para concentrar y purificar la cefami-  
cina C a partir de un caldo de fermentación. Estos y otros  
objetos de esta invención resultarán evidentes en la siguien-  
te descripción.

#### COMPENDIO DE LA INVENCION

25 La cefamicina C se concentra y purifica sometiendo un  
caldo de fermentación que contiene cefamicina C a la siguien-  
te secuencia de etapas: filtración a pH ácido, paso a través  
de una resina cambiadora de catión del tipo de ácido metilen-  
sulfónico, lavado con una corriente acuosa que contiene una  
30 pequeña cantidad de cefamicina C, desplazamiento parcial em-

1 pleando una solución al 10 % de NaCl y después elución em-  
pleando esta corriente recirculante, a pH ajustado, proceden-  
te de las dos etapas anteriores.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

5 La cefamicina C se prepara de acuerdo con el procedi-  
miento de fermentación descrito por Stapley y colaboradores,  
supra. Al terminar la fermentación, la cefamicina C se en-  
cuentra en un gran volumen de líquido que contiene cantida-  
des importantes de sustancias orgánicas e inorgánicas inde-  
10 seables. De acuerdo con esta invención, la cefamicina C pre-  
sente en este caldo de fermentación se concentra y purifica  
mediante una secuencia de operaciones consistentes en acidu-  
lar, filtrar, pasar por una columna cambiadora de ión, lavar  
con un caldo acuoso agotado que contiene una pequeña canti-  
15 dad de cefamicina C y después eluir el caldo acuoso agotado  
recirculante a pH elevado. Cada etapa será descrita ahora  
con detalle. Una condición importante mantenida a lo largo  
de todas las etapas es una temperatura de las sustancias  
reaccionantes comprendida entre 0 y 5°C para reducir al mí-  
20 nimo las pérdidas por descomposición.

A. El caldo de fermentación se acidula a pH 1,5 a 4,5  
aproximadamente, preferiblemente a pH de 1,8 a 2,5 aproxima-  
damente, mediante la adición de un ácido, preferiblemente un  
ácido mineral por razones de economía y todavía mejor H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.  
25 Después el caldo acidulado se filtra, preferiblemente des-  
pués de agregar un auxiliar de filtración como tierra de dia-  
tomeas por ejemplo.

B. El filtrado se hace descender por una resina cambia-  
dora de catión, preferiblemente una resina cambiadora de ca-  
30 tión de ácido metilensulfónico, con un tamaño de partícula

1 comprendido aproximadamente entre 30 y 60 mallas de las nor-  
mas estadounidenses de tamices. Una resina adecuada es la  
Duolite C-3, marca registrada de la Diamond Shamrock Corpora-  
tion. El filtrado se pasa a un caudal de unos 0,6 a 2 volú-  
8 menes de lecho por hora, de manera que el tiempo de pseudo-  
contacto está comprendido entre unos 20 y 100 minutos (tiem-  
po de permanencia del filtrado en la columna).

10 C. Después la columna se lava con agua o con una co-  
rriente acuosa que contiene una pequeña cantidad de cefami-  
cina C, obtenida de una fracción de colas de una operación  
previa, que generalmente contiene entre 5 y 6 % de la cefa-  
micina C de la carga original. Se utiliza un volumen sufi-  
ciente de agua de lavado para desplazar una vez el volumen  
de la columna.

15 D. Después la columna se desplaza por lo menos parcial-  
mente eluyendo con hasta un volumen de lecho de una solución  
acuosa de cloruro sódico al 5-15 % y preferiblemente alrede-  
dor del 10 %.

20 E. Las corrientes de las etapas C y D se combinan des-  
pués y se hacen circular de nuevo a través de la columna. Se  
agrega una cantidad suficiente de una base adecuada, como  
hidróxido sódico, para elevar el pH a 7-8 aproximadamente.  
Esta corriente se hace pasar después a través de la columna  
para eluir la cefamicina C. Se alcanza el punto final cuando  
25 el pH de la corriente de salida está comprendido entre 5 y  
6,5, preferiblemente 5,5. Generalmente esto supone una recir-  
culación de 3 a 5 horas o 10 a 15 veces.

30 La solución purificada concentrada puede utilizarse  
después para preparar la cefamicina C purificada sólida o  
tratarse después químicamente para formar derivados antibió-

1 tíicamente activos.

Los siguientes ejemplos ilustran esta invención.

EJEMPLO 1

5 Una columna de 23 galones (87 litros), de 12 pulgadas (30 cm) de diámetro, se llena con la resina cambiadora de ión Duolite C-3 con un tamaño de partícula comprendido entre los tamices de 40 y 60 mallas de las normas estadounidenses. Un caldo de fermentación de cefamicina C se acidula a pH 3,5 por adición de ácido sulfúrico diluido (10 %), requiriéndose aproximadamente un 5 % de la solución de ácido en volumen. Se agrega tierra de diatomeas como auxiliar de filtración y se filtra el caldo de fermentación. El título de actividad del filtrado combinado con todas las aguas de lavado de la torta del filtro es de 0,7 g/litro. El pH se ajusta a 1,8 con ácido sulfúrico diluido. Este material se introduce a un caudal de 2-3 volúmenes de lecho por hora hasta que se han cargado un total de 6,9 volúmenes de lecho. La resina se lava después con un volumen de desplazamiento (aproximadamente 15 galones, 56,8 litros) de agua fría, al mismo caudal. Después se introduce en la columna una solución eluyente constituida por 2 kg de cloruro sódico disueltos en 10 galones (37,8 litros) de agua fría. La cefamicina C se eluye de la resina haciendo recircular esta solución a través de la columna; el pH de la solución recirculante se ajusta continuamente a 7,0-8,0 mediante la adición de hidróxido sódico diluido (5 %) a la corriente (se requieren alrededor de 3-4 galones (11,3-15,1 litros) de hidróxido sódico diluido). Se prosigue el procedimiento hasta que el pH del efluente es superior a 5,5. Después la columna se desplaza con 50 galones (189 litros) de agua enfriada y se divide en

10

15

20

25

30

1 dos partes, una fracción rica y una fracción de colas. La  
fracción rica contiene el 90 % de la cantidad original de  
cefamicina C y la fracción de cola es el 1 %. La pérdida de  
cefamicina C a través de la resina es del 5 %. La temperatu-  
5 ra de las sustancias reaccionantes se mantiene a 0-5°C duran-  
te toda la operación.

EJEMPLO 2

Se utiliza el mismo procedimiento de alimentación que  
en el Ejemplo 1. a excepción de que se emplea una columna de  
10 200 galones (757 litros). El título de actividad de la ali-  
mentación es de 1,01 g/litro. Se introducen en la columna  
4,7 volúmenes de lecho de alimentación a un caudal de 3,5 ga-  
lones/minuto (13,2 litros/minuto). Una fracción rica de  
15 400 galones (1514 litros), obtenida después de recircular al  
pH ajustado, contiene 94 % de la cefamicina C. La fracción  
de colas contiene un 4 % de cefamicina C.

En resumen, la Patente de Invención que se solicita de-  
berá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

20 1. Un procedimiento para la separación de cefamici-  
na C de las impurezas del caldo de fermentación que consiste  
en: a) filtrar un caldo de fermentación que contiene cefami-  
cina C a un pH de 1,8 a 2,5 aproximadamente; b) pasar el fil-  
trado a través de una resina cambiadora de catión, con un ta-  
25 ño de partícula comprendido entre los tamices de 30 a 60  
mallas de las normas estadounidenses; c) lavar la columna  
con 1 ó 2 volúmenes de lecho de agua o de una corriente acuo-  
sa diluída que contiene una pequeña cantidad de cefamici-  
30 na C; d) desplazar hasta un volumen de lecho con una solu-  
ción acuosa de cloruro sódico al 10 %; e) eluir con las co-

1 rrientes recirculantes combinadas procedentes de las dos  
etapas anteriores, habiendo ajustado el pH de estas corrien-  
tes recirculantes a un valor comprendido entre 7 y 8 apro-  
ximadamente y f) recuperar la solución de cefamicina C con-  
5 centrada purificada, siendo realizado todo el proceso a una  
temperatura comprendida entre 0 y 5°C aproximadamente.

2. Un procedimiento según la reivindicación 1,  
donde el pH de la etapa a) es 1,8 aproximadamente.

3. Un procedimiento según la reivindicación 1,  
10 donde la resina cambiadora de catión es una resina de ácido  
metilensulfónico.

4. Un procedimiento según la reivindicación 1,  
donde la solución de cefamicina C concentrada purificada  
presenta un pH del punto final comprendido entre 5 y 6,5.

15 5. Se reivindica por último como objeto sobre el  
que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita:  
UN PROCEDIMIENTO PARA LA SEPARACION DE CEFAMICINA C DE LAS  
IMPUREZAS DEL CALDO DE FERMENTACION.

20 Todo conforme queda descrito y reivindicado en la  
presente memoria descriptiva que consta de ocho páginas me-  
canografiadas.

Madrid, 30 mayo 1.978

BERNARDO UNGRIA

P.P.

25

30