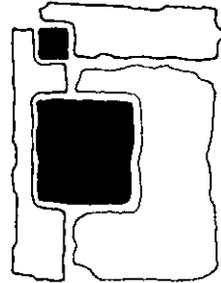


615.329
N458
1796
←



FONTEC

FONDO NACIONAL
DE DESARROLLO
TECNOLOGICO
Y PRODUCTIVO



19

PROYECTO FONTEC No 95-0679

**DISEÑO DE PROCESO DE FABRICACION DEL ADUCTO
COMPLEJO
NICOTINATO DE CIPROFLOXACINA**

BIBLIOTECA CORFO

INFORME FINAL

AGOSTO 1996

PRESENTACIÓN

En el último decenio, se constata que el país ha sabido enfrentar con éxito el desafío impuesto por la política de apertura en los mercados internacionales, alcanzando un crecimiento y desarrollo económico sustentable, con un sector empresarial dinámico, innovador y capaz de adaptarse rápidamente a las señales del mercado.

Sin embargo, nuestra estrategia de desarrollo, fundada en el mayor esfuerzo exportador y en un esquema que principalmente hace uso de las ventajas comparativas que dan los recursos naturales y la abundancia relativa de la mano de obra, tenderá a agotarse rápidamente como consecuencia del propio progreso nacional. Por consiguiente, resulta determinante afrontar una segunda fase exportadora que debe estar caracterizada por la incorporación de un mayor valor agregado de inteligencia, conocimientos y tecnologías a nuestros productos, a fin de hacerlos más competitivos.

Para abordar el proceso de modernización y reconversión de la estructura productiva del país, reviste vital importancia el papel que cumplen las innovaciones tecnológicas, toda vez que ellas confieren sustentación real a la competitividad de nuestra oferta exportable. Para ello, el Gobierno ofrece instrumentos financieros que promueven e incentivan la innovación y el desarrollo tecnológico de las empresas productoras de bienes y servicios.

El Fondo Nacional de Desarrollo Tecnológico y Productivo FONTEC, organismo creado por CORFO, cuenta con los recursos necesarios para financiar Proyectos de Innovación Tecnológica, formulados por las empresas del sector privado nacional para la introducción o adaptación y desarrollo de productos, procesos o de equipos.

Las Líneas de financiamiento de este Fondo incluyen, además, el apoyo a la ejecución de proyectos de Inversión en Infraestructura Tecnológica y de Centros de Transferencia Tecnológica a objeto que las empresas dispongan de sus propias instalaciones de control de calidad y de investigación y desarrollo de nuevos productos o procesos.

De este modo se tiende a la incorporación del concepto "Empresa - País", en la comunidad nacional, donde no es sólo una empresa aislada la que compete con productos de calidad, sino que es la "Marca - País" la que se hace presente en los mercados internacionales.

El Proyecto que se presenta, constituye un valioso aporte al cumplimiento de los objetivos y metas anteriormente comentados.

FONTEC - CORFO

INDICE

1.- Resumen Ejecutivo .

2.- Exposicion del Problema.

2.1.- Descripción General del Proyecto. Necesidad

2.2.- Conveniencia y Oportunidad

2.3.- Objetivos Técnicos

2.4.- Tipo de Innovacion. .

2.5.- Fundamentación Científica y Tecnológica.

3.-Metodología y Plan de Trabajo.

3.1.- Metodología

3.2.- Plan de Trabajo.Descripción de Actividades.

3.3.- Descripción de la Metodología Experimental y Logros Alcanzados.

3.3.1.- Introducción.

3.3.2.- Metodología Experimental y Logros Alcanzados.

3.4.- Grado de Cumplimiento del Programa.

3.5.- Actividades Desarrolladas.

3.6.- Recuperación de Materias Primas y su Conversión.

4.-Resultados.

4.1.- Estudio de Parámetros.

4.2.- Análisis U.V.-Visible ,I.R.,R.M.N. para protones y H.P.L,C.

4.3.- Conclusiones.

4.4.- Referencias Bibliográficas.

5.-Impactos del Proyecto.

6.-Anexos.

1.- RESUMEN.-

Proyecto: "Diseño de Proceso de Fabricación del Aducto Complejo Nicotinato de Ciprofloxacina " (Fontec No 95-0679)

Nescott Ltda., es una pequeña empresa innovadora, no tradicional creada en 1993 con el fin de generar productos químicos de alta tecnología, dirigidos a competir en el mercado mundial de materias primas requeridas por la industria farmacéutica y por aquellas empresas que utilizan productos de Química Fina.

Nescott Ltda., al abordar éste proyecto tenía claro la importancia de lograr el éxito, pues el producto en estudio presenta las características de un antibiótico de amplio espectro a usar en medicina veterinaria, tanto en Chile como en el exterior. El objetivo de este Proyecto fué lograr una tecnología adecuada para la síntesis de nicotinato de ciprofloxacina en partidas de 1.3 kilos cada una, de acuerdo a tres requisitos principales:

- i) Realizar la síntesis en una sola etapa, reduciendo los costos energéticos y las operaciones de filtración y secado del producto.
- ii) Obtener un producto homogéneo, estable y con la calidad necesaria para ocupar un espacio en el mercado, y
- iii) Lograr un alto rendimiento de conversión mediante el manejo adecuado de las variables del proceso.

Los tres requisitos del gran objetivo se lograron largamente. Se obtuvo en una etapa, un producto de alta calidad y pureza, con rendimiento de conversión de 99.75% (sobre base seca). El aducto obtenido fué caracterizado por espectroscopía U.V.-Vis.; I.R.; R.M.N. de protones; Microanálisis para carbono, hidrógeno y nitrógeno. Finalmente se desarrolló su evaluación por H.P.L.C. El aducto complejo resultó ser trihidratado de allí que se dé el rendimiento de conversión en términos de base seca.

Además ,es posible la recuperación de las materias primas desde producto defectuoso o residuos, la que se puede reciclar y bajar aún más los costos de producción.

Intentos de sondeo en el mercado, doméstico y extranjero, mostraron el alto interés de las empresas contactadas por usar éste producto.

2.- Especificación del Proyecto de Innovación Tecnológica

2.1.Antecedentes: Necesidad.

La ciprofloxacina es una fluoroquinolona sintética,químicamente es un análogo del ácido nalidíxico como también lo son la Norfloxacin,Enrofloxacin y otras quinolonas de reconocida actividad antibacteriana. Sin embargo,todas las quinolonas antes mencionadas son poco solubles en agua,ante lo cual,se hace necesario obtener derivados con mayor solubilidad en este medio.Ejemplo de lo anterior,es el Nicotinato de Norfloxacin,compuesto muy soluble desarrollado especialmente para uso veterinario. Este compuesto conserva la poderosa actividad antimicrobiana de la Norfloxacin. Su solubilidad permite la administración en el agua de bebida o por vía parenteral.

Administrada en forma oral en aves, terneros y lechones o por vía parenteral a otros animales alcanza altos niveles plasmáticos y, en los tejidos infectados, por encima de la concentración inhibitoria mínima para muchos microorganismos, siendo completamente excretada dentro de las 96 horas de tratamiento.

Atraviesa la barrera hematoencefálica alcanzando concentraciones en el cerebro y en todos los órganos internos.

En cuanto a la ciprofloxacina, su reconocida actividad queda de manifiesto, a través de sus indicaciones de uso más importante. Así, para el tratamiento en aves sus indicaciones son: profilaxis y tratamiento de enfermedades crónicas respiratorias, colibacilosis, colisepticemia, micoplasmosis, cólera aviar, salmonelosis, estafilococosis, serisipela, pasteurelisis. En bovinos ellas son: neumonía, bronconeumonía, metritis, mastitis y queratoconjuntivitis; en cerdos, ella está indicada para diarrea pre y post destete, rinitis atrófica, pleuroneumonía, bronconeumonía, neumonía enzootica, salmonelosis, síndrome de M.M.A. y estafilococosis.

Nescott Ltda ha desarrollado a escala de laboratorio la síntesis del aducto complejo entre el ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-7-(1-piperazinil)-3-quinolin carboxílico (Cpx=ciprofloxacina) y el ácido 3-piridincarboxílico (NA=ácido nicotínico), al que llamaremos Cipronic de aquí en adelante.

Nescott Ltda pretende desarrollar el escalamiento productivo de Nicotinato de Ciprofloxacina, nuestra producción estará dirigida tanto al mercado veterinario nacional como internacional, pues es un producto cuya categoría terapéutica es antibacteriano de amplio espectro.

Cipronic por el hecho de ser un aducto estable en solución acuosa (como lo muestra su espectro de resonancia magnética nuclear protónica) permite suponer que no se ioniza en el tracto gastrointestinal lo que permitiría una absorción rápida y completa con características farmacocinéticas y farmacodinámicas similares al aducto entre Norfloxacin(Nx) y Acido Nicotínico. Sin embargo, es menester señalar que la Ciprofloxacina(Cpx) tiene un espectro de actividad mucho mayor que la Norfloxacin y por lo tanto se requiere la mitad de la dosificación utilizada en el tratamiento con Nx. Así, la Nx se usa a razón de 20 mg/Kg de peso en cambio la Cpx a razón de 10mg/Kg de peso corporal.

Por los antecedentes arriba expuestos surgió la necesidad de desarrollar en nuestra empresa la síntesis del complejo Cipronic a escala productiva.

Cabe señalar que la eficacia y seguridad de la ciprofloxacina se encuentran plenamente establecidos y documentados. Hoy en día, la ciprofloxacina se encuentra comercializada en numerosos países. El ácido nicotínico, conocido también como niacina, es una vitamina que existe en todas las células vivas. Se usa asimismo como terapia vitamínica en humanos, animales y aves. En consecuencia el nicotinato de ciprofloxacina conservará el amplio espectro de acción y la poderosa actividad antimicrobiana de la ciprofloxacina, lo que la convertirá en producto adecuado para luchar contra cepas bacterianas poliresistentes bien conocidas en la patología de animales y aves (como por ej., E. Coli; Pasteurella; Salmonella y Haemophilus).

2.2. Conveniencia y Oportunidad.

De lo anterior, el Cipronic se destinará al uso médico en veterinaria para el tratamiento de infecciones en aves, rumiantes, lechones, peces y animales de compañía. Además, amerita destacar una vez más el hecho que la Cpx es más activa que la Nx, esto es muy importante pues el Cipronic al conservar la actividad de la Cpx base y ser muy soluble se usará en concentraciones terapéuticas menores.

Nescott está empeñado en desarrollar un proyecto de innovación que le permita aprovechar sus fortalezas y la oportunidad que ofrece actualmente el mercado. Tales oportunidades son las siguientes:

- a) Posibilidad de venta del producto (demandas) tanto al mercado nacional como externo.
- b) Alto valor agregado a la base ciprofloxacina en su conversión al aducto.
- c) Alto rendimiento de conversión en los ensayos batch (aprox. 96%)
- d) Base de transformación de productos importados en nuevos productos con desarrollo nacional y de mayor versatilidad en su uso.

2.3. Objetivos Técnicos.

El objetivo de este Proyecto es obtener una tecnología adecuada para la síntesis de nicotinato de ciprofloxacina en partidas de 1,2 kilos cada una, de acuerdo a tres requerimientos principales:

i) Realizar la síntesis en una sola etapa, con un orden de adición de los reactantes tal, que permita minimizar los costos energéticos y facilitar las operaciones de filtración y secado del producto.

ii) Obtener, bajo las condiciones antes indicadas, un producto homogéneo, estable y con la calidad necesaria para ocupar un espacio en el mercado y concordante con las condiciones de pureza.

Aspecto	:	Polvo fino cristalino color blanco crema
Solubilidad	:	Soluble en agua. Muy poco soluble en metanol
Identificación	:	*Espectro U.V., deberá ser similar al standard Nescott *Espectro I.R., deberá ser similar al standard Nescott *Resonancia Magnética Nuclear en D ₂ O, deberá presentar el mismo número de señales que el standard. *H.P.L.C., de acuerdo a standard.
Impurezas	:	Sustancias consideradas como posibles impurezas, son la ciprofloxacina base y el ácido nicotínico.

iii) Lograr un alto rendimiento de conversión mediante el manejo adecuado de las variables: Solvente, Temperatura, Agitación y Tiempo de reacción.

2.4. Tipo de Innovación

Nescott Ltda se ha planteado como objetivo único, la optimización a escala adecuada, de la síntesis del aducto complejo nicotinato de ciprofloxacina, mediante el estudio de algunas variables tecnológicas críticas que inciden en el rendimiento de ella, y en la calidad del producto final. La síntesis a escala de laboratorio ha sido desarrollada por Nescott Ltda, lográndose un producto de alta pureza, soluble en agua en las concentraciones de uso terapéutico. Esto último facilita enormemente su adecuado uso, en contraste con la ciprofloxacina base que es insoluble en agua y que debe usarse como aducto clorhidrato, con los consiguientes problemas de pH en el medio, que inducen procesos hidrolíticos y otras reacciones secundarias de descomposición indeseadas.

Las ventajas competitivas más importantes que genera el desarrollo de este producto con respecto a sus substitutos son :

- i) La presentación del aducto nicotinato, con desarrollo nacional (calidad, precio).
- ii) Producto soluble en agua que facilita su uso
- iii) Mantiene las características terapéuticas de la ciprofloxacina.
- iv) Producto muy estable a diferencia de los aductos clorhidrato y/o hidratos, y de las sales alcalinas que descomponen con facilidad.

2.5.Fundamentación Científica y Tecnológica.

El nicotinato de ciprofloxacina es un compuesto de coordinación del tipo dador aceptor entre la ciprofloxacina y el ácido nicotínico en la fase de transferencia del protón desde el ácido al nitrógeno-4 del grupo piperazinilo de la ciprofloxacina.

En consecuencia, esta aducción va a depender de las condiciones de solubilidad en el sistema; así como de la energía necesaria para producir la transferencia protónica mencionada.

Efectivamente, Nescott Ltda ha desarrollado la síntesis, a nivel de laboratorio, del aducto nicotinato de ciprofloxacina de acuerdo a la reacción siguiente.

Antecedentes sobre la Química de Desarrollo

Fórmula Molecular : C₂₃H₂₃N₄O₅

Peso Molecular : 456

La estructura de la sustancia activa fue establecida por medio de espectroscopia infrarroja y U.V., Resonancia Magnética Nuclear (¹H-r.m.n.) y por Cromatografía Líquida de Alta Presión. El espectro infrarrojo se obtuvo desde pastillas de KBr, las que fueron preparadas mezclando el producto con Bromuro de Potasio seco de calidad espectral.

El espectro mostró las siguientes líneas principales de absorción (cm⁻¹):

3528;3084.6;3030.5;3003.48;2922.4;2854.8;2692.4;2619.8;2462.8;1708(C=O);
1624.6(C=O);1493.7;1448.9;1383.8;1321.1;1303.1;1271.9;1183.5;1142.7;1107;
1026.4;829.7;804.8;748.7.

El análisis de las frecuencias de absorción da cuenta de las principales vibraciones en el compuesto.

En cuanto al espectro ultravioleta, se obtuvo disolviendo el cipronic en agua acidulada, registrando el espectro entre 235-380 nm, a una velocidad de barrido de 100nm/min.

La absorbancia máxima se lee a 279nm con A=2.556 usando celdas calibradas de 1cm.

El espectro tomado desde una solución acuosa dio resultados similares.

La resonancia magnética nuclear de protones se realizó por disolución de la muestra de cipronic en agua deuterada(D₂O) y T.M.S. como referencia interna. El espectro se obtuvo usando equipo digital, superconductor con Transformada de Fourier, Bruker Avance DRZ300. La interpretación de los resultados se da en la tabla 0.-

Los espectros de resonancia magnética nuclear dan cuenta de todos los protones no intercambiables existentes en el producto Cipronic. Además la limpieza y relaciones de integración muestran la presencia de un sólo compuesto. La fotodensimetría (HPTLC) muestra peaks propios del Cipronic con integración de áreas correspondientes.

Tabla 0.-

Modificación Química (ppm)	Ubicación de protón	Nº de Protones y Ctes de acoplamiento, J(Hz)
1.2	Grupo ciclopilo	Singlete ancho
1.45		Doblete ancho, J=6.46 4H
3.46-3.56	Protones del grupo piperazinilo más ciclopropano	Doblete ancho, J=2.98 Doblete ancho, J=3.21 Singlete ancho 9H

En cuanto a la síntesis del producto, ésta se realizó de la manera siguiente:

" Cantidades equivalentes de Cpx y Acido Nicotínico en alcohol metílico, a temperatura de reflujo y posterior destilación del solvente facilitan el término de la aducción."

El rendimiento de conversión es 96% a escala de laboratorio. Espectros I.R., U.V., R.M.N. se dan en anexos.

Cabe señalar que éste es un sistema heterogéneo; razón por la que, la elección de solvente, el tiempo de reacción, la agitación, el tipo de filtración y lavado del producto, así como el secado final de éste son variables importantes a estudiar. De nuestras investigaciones hemos visualizado todas las variables antes señaladas como críticas, conocemos el comportamiento de varias de ellas, razón por la que las restantes deben ser estudiadas en profundidad para lograr un proceso óptimo de producción en partidas de al menos 1,2 kilos de Nicotinato de Ciprofloxacina. En el diagrama de flujo se presentan las diferentes etapas del proceso.

3.- Metodología y Plan de Trabajo.

3.1. Metodología

i) El estudio de la reacción de aducción del ácido nicotínico a la ciprofloxacina se hará mediante proceso en batch. Para ello, se utilizará reactor de vidrio con entradas para condensador del solvente, termómetro de control, y toma de muestra. La agitación y calentamiento del sistema se hará usando un calefactor con agitación magnética controlada, al cual va inserto el termómetro de contacto que se introduce en el reactor.

En cuanto al tamaño de batch, éste será adecuado para generar aproximadamente 1,2 kilos de producto. En consecuencia, el reactor tendrá una capacidad de alrededor de 8 litros.

ii) Se harán 4 ciclos de experimentos que incluirán pruebas de efecto de solvente; pruebas de termoestabilidad y tiempo de reacción.

iii) El producto obtenido en cada prueba será sometido a los controles de pureza mediante análisis espectroscópicos y H.P.L.C.

iv) Se realizarán todas las experiencias necesarias y controles adicionales que la marcha de la investigación sugiera.

v) Tiempo de duración del trabajo : 6 meses.

3.2. Plan de Trabajo.

Descripción de Actividades.

- 1.- Adquisición de materias primas y materiales.
- 2.- Primer ciclo de experimentos: 5 pruebas de efecto solvente y agitación.
- 3.- Segundo ciclo de experimentos: 5 pruebas de termoestabilidad.
- 4.- Tercer ciclo de experimentos: 3 pruebas con parámetros optimizados.
- 5.- Cuarto ciclo de experimentos: 3 pruebas de termoestabilidad en el proceso de secado.
- 6.- Quinto experimento: Prueba optimizada. Cálculo de rendimiento.
- 7.- Sexto experimento: Control de calidad, envío de muestras a laboratorios externos.
- 8.- Pruebas de mercado.
- 9.- Evaluación y conclusiones.

En página siguiente se da cronograma de actividades(Carta Gantt).

3.3. Descripción de la Metodología Experimental y Logros Alcanzados.

3.3.1. Introducción

Como veíamos antes, el logro de los objetivos involucra resolver el problema por 2 vías: i) Mediante la prueba a escala productiva del método de síntesis desarrollado por Nescott Ltda, considerando parámetros críticos tales como: tipo de sistema de agitación, tipo de solvente y pH del sistema y, ii) Mediante el estudio de termoestabilidad del producto obtenido en las pruebas anteriores. Lo anterior nos permitirá realizar pruebas finales, ya con los parámetros críticos definidos, y sus productos dirigidos a las pruebas de mercado.

3.1.2. Metodología Experimental y Logros alcanzados.

Al pasar desde una síntesis de laboratorio a una de carácter productivo, implica el conocimiento previo de los procesos globales involucrados, para así poder plantear las modificaciones o mejoras que ese paso ameriten. En consecuencia, cada enmienda o mejora en la síntesis del cipronic es una meta fundamental, y por tanto constituye en sí misma un objetivo específico a resolver. Es entonces, éste conjunto de objetivos específicos lo que conforma nuestra metodología de trabajo. Así, nuestro diseño experimental contempla en su primer ciclo de experimentos:

i) Cinco ensayos de síntesis en los que se usarán cantidades estequiométricas de ciprofloxacina clorhidrato monoacu y ácido nicotínico y las variables serán :

Ensayo 1.- Solvente metanol, medio neutro, temperatura ambiente y agitación mediante barra magnética.

Ensayo 2.- Solvente metanol, medio neutro, temperatura ambiente y agitación mediante agitador de turbina.

Ensayo 3.- Solvente metanol, medio ácido, temperatura ambiente y agitación mediante agitador de turbina.

Ensayo 4.- Solvente mezcla metanol-agua(3.5:1.5), medio ácido, temperatura ambiente y agitación con agitador de turbina.

Ensayo 5.- Solvente mezcla metanol-agua(3.5:1.5), medio ácido, temperatura 50°C y agitación mediante turbina.

ii) El segundo ciclo de experimentos contempló de nuevo cinco ensayos de termoestabilidad:

Ensayo 6.- Se vuelve al medio metanólico - agua, pero sin ácido, seguido de la destilación del solvente sin agitación y secado a 100°C. Producto tostado.

Ensayo 7.- Se trabaja en metanol a temperatura ambiente, medio neutro, seguido de destilación sin agitación y luego secado a 100°C. Producto tostado.

Ensayo 8.- Se trabaja en metanol a temperatura ambiente, medio neutro, con agitación de turbina. La destilación del solvente también se realiza con agitación y secado final del producto se realiza a 100°C.
Producto tostado.

Ensayo 9.- Se trabaja en metanol a la temperatura de ebullición del solvente, en medio neutro y con agitación de turbina. Destilación del solvente y secado del producto se hizo como en ensayo anterior.

Ensayo 10.- Difiere del ensayo anterior en que el secado es a 60°C. Se obtiene producto muy claro.

iii) El tercer ciclo de experimentos consistió en dos ensayos con los parámetros optimizados:

Ensayo 11.- Se trabaja en metanol a la temperatura de ebullición del solvente, en medio neutro y agitación con turbina. La destilación se hace con agitación y el secado a 60°C. Producto color crema claro.

Ensayo 12.- Se trabaja en metanol a la temperatura de ebullición del solvente, en medio neutro y agitación con turbina. La destilación se hace con agitación y el secado con circulación de aire a 60°C.

iv)El cuarto ciclo de experimentos consistió no en tres sino en un sólo ensayo.

Ensayo 13, fué uno en que se conjugaron los mejores resultados de los ensayos anteriores,obteniéndose un producto óptimo. Solvente: metanol; temperatura: la de ebullición del solvente; agitación: con turbina; destilación del solvente con agitación constante. Secado del material: con circulación de aire a 60°C en estufa con sistema de vacío.

v)Finalmente,el quinto experimento consistió en repetir ,el optimizado anterior,a fin de evaluar su rendimiento.

vi)El sexto experimento consistió en una serie de operaciones de preparaciones de muestras, para su envío a análisis infrarrojo,microanálisis,resonancia magnética nuclear en los laboratorios del I.D.I.E.F.,Facultad de Química y Farmacia de la U.de Chile.-Los análisis de espectroscopía U.V. - Visible y H.P.L.C. se hicieron en Nescott Ltda con equipos propios.

vii) **Pruebas de Mercado.** Las pruebas de mercado se han realizado tanto a nivel nacional, como internacional,usando para ello muestras del producto con el fin de que se les use en sus distintas aplicaciones. La recepción de ellas,así como,sus aplicaciones han tenido la más amplia de las acogidas en el mercado,lo que queda demostrado por las intenciones de compra manifestadas por escrito.

3.4.- Grado de Cumplimiento del Programa.

El cronograma de actividades presentado en el proyecto establece actividades durante 6 meses, éstos rotulados desde n=1 hasta n=6. La razón de ello fué que no se sabía en que mes del año 1996 éste sería aprobado. Su presentación se realizó en Diciembre de 1995. Durante Enero y Marzo de 1996 se realizaron las reuniones técnicas con la evaluadora del Proyecto, Ingeniero de UNTEC, Srta Giselle Sayeh Z. La aprobación de los fondos solicitados se realizó en Marzo de 1996.

Considerando que las materias primas utilizadas, ciprofloxacina y ácido nicotínico, debían importarse o conseguirse el plaza, es que durante Marzo nos abocamos a la compra de éstos insumos básicos. Durante los meses siguientes se continuó con la compra de otros materiales y reactivos. Lo importante es que se cumplió con el tiempo proyectado para la ejecución del proyecto.

3.5.- Actividades Desarrolladas en el Período.

Las actividades realizadas entre el 08.04.96 y el 31.07.96 son las siguientes. (No se incluye la compra de reactivos como actividad específica pues se incluyó en el punto 3.2.)

Primer ciclo de Experimentos.- (08.04.96 al 30.04.96)

Actividades. Se realizaron cinco ensayos de síntesis del aducto cipronic, usando cantidades estequiométricas de reactivos, ciprofloxacina y ácido nicotínico.- En ellos, las variables a estudiar fueron: i) Solvente , ii) pH , iii) Temperatura y iv) Sistema de agitación. Fijación primaria de parámetros físicos, químicos y cinéticos.

Segundo ciclo de Experimentos.- (02.05.96 al 11.05.96)

Actividades. Se realizaron cinco ensayos de síntesis del aducto cipronic, usando cantidades estequiométricas de reactivos, pero ahora se enfatizó en la búsqueda de la temperatura de secado ideal. Se incursionó en los parámetros ya pre-estudiados para hacer el seguimiento térmico. Se logró fijar una temperatura de secado óptima.

Tercer ciclo de Experimentos.- (13.05.96 al 25.05.96)

Actividades. Este ciclo consistió en sintetizar cipronic mediante dos ensayos, en los cuales se conjugaron los mejores resultados de los experimentos anteriores, resultando productos de excelente pureza y atractivo color.

Cuarto ciclo de experimentos.- (03.06.96 al 08.06.96)

Actividades. Este ciclo se redujo a un sólo ensayo, que prácticamente fue una repetición más acabada del ensayo 12. Producto óptimo en pureza y aspecto físico.

Quinto experimento.- (17.06.96 al 20.06.96.)

Actividades. Este ensayo optimizado de síntesis de cipronic, se realizó con el único fin de determinar cuantitativamente el rendimiento de la reacción. La conversión es muy buena lo que se corrobora con la pureza del producto, dada por los análisis de U.V.-Visible y HPLC, además del microanálisis para carbono, hidrógeno y nitrógeno y espectrometría de Resonancia Nuclear Magnética. para protones.

Sexto experimento.- (24.06.96 al 31.07.96.)

- Actividades. i) Preparación de muestras para su envío a laboratorios de análisis, en Chile.
- ii) Desarrollo de la técnica de análisis por H.P.L.C. para el cipronic, en nuestra empresa Nescott Ltda.
 - iii) Optimización del método de análisis por U.V.-Visible en Nescott Ltda.

Otras actividades destacables.- (30.06.96 al 31.07.96.)

Actividades. i) Preparación de muestras para pruebas de mercado, tanto en Chile como en el exterior.

ii) Evaluación de resultados,

iii) Informe final y,

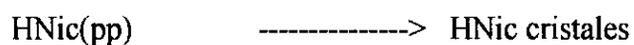
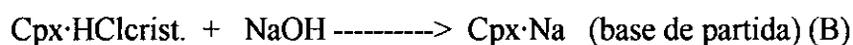
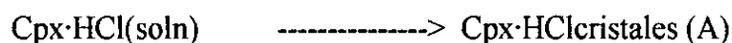
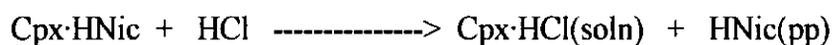
iv) Recuperación de materias primas (Ver punto 3.6.)

3.6.- Recuperación de Materias Primas y su Conversión.

i) Es importante destacar que por destilación se recupera casi la totalidad del solvente alcohol utilizado en los procesos de síntesis. Esta materia prima se reutiliza en otros batches.

ii) Los residuos sólidos resultantes del secado del producto y que por su coloración se descartan, pueden tratarse con ácido clorhídrico y provocar la hidrólisis ácida de ellos con posterior precipitación del ácido nicotínico. El clorhidrato se concentra y recupera por cristalización fraccionada. El precio de la materia prima ciprofloxacina justifica lo anterior.

Las ecuaciones que se indican ilustran esas recuperaciones:



La última reacción ilustra como a partir de la base o del aducto ácido se puede acceder al producto final. Sin embargo, lo más importante es el hecho de la recuperación en sí.

4.- Resultados.-

Los resultados alcanzados durante el desarrollo de este estudio se pueden clasificar en aquellos relativos a la síntesis misma ,y aquellos relativos a la evaluación del producto resultante de ella por medio de: Análisis espectrofotométricos U.V.- Visible; Infrarrojo;Espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear y Cromatografía Líquida de Alta Presión(H.P.L.C.).- De la evaluación de los resultados de síntesis y analíticos se obtuvieron las conclusiones finales con la bibliografía que lo avala.

4.1.- Estudio de Parámetros Físicos,Químicos y Cinéticos.

Los resultados alcanzados en las primeras cinco reacciones se pueden resumir como sigue:

Solvente más adecuado: Metanol

pH : Neutro

Agitación : Por turbina

Temperatura de Reac. : La de ebullición del solvente

Relación de los React. : La estequiométrica

Los mejores resultados de las cinco reacciones siguientes fueron:

Solvente : Metanol

pH : Neutro

Agitación : Por turbina

Temp. de la Reacción : La de ebullición del solvente

Temp. de secado : 60°C

Relación de los React. : La estequiométrica

Los experimentos 11 y 12 se hicieron bajo las mejores condiciones alcanzadas.El último tuvo como variante importante y decisiva la del secado con ventilación forzada.

La experiencia o ensayo 13 fué una suerte de confirmación del ensayo 12,lográndose un óptimo producto. Finalmente,el ensayo 14 se hizo a fin de determinar cuantitativamente el rendimiento de la reacción. Para ello se partió de 3 moles de Cpx (994,38 grs) y 3 moles de HNic. (369 grs) los que se hicieron reaccionar en 6 litros de metanol, en sistema provisto de turbina de agitación ,sistema de calefacción y de refrigerante para destilación del solvente. Después de mantener el sistema bajo ebullición,se procedió a la destilación del máximo de solvente y el restante se retiró a presión reducida. Rendimiento : 1522grs , lo que indica porcentaje de conversión de 111.63% sobre producto hidratado y,1360grs con 99.75% de conversión sobre base seca.

4.2.- Análisis Espectrofotométrico U.V.-Visible,I.R.,R.M.N. de Protones ,Microanálisis y H.P.L.C.

a) Determinaciones por U.V. - Visible (Equipo SHIMADZU160A)

Los espectros se obtuvieron desde soluciones preparadas ,disolviendo 200mg de cipronic en HCl 0,1N,en aforado de 100ml. Luego,se tomó una alícuota de 0,5ml la que se aforó a 50ml con el mismo solvente. Tabla 2 resume los resultados alcanzados.-

Tabla 2.-

Muestra	Absorbancia Máxima	Longitud de Onda,en nm
CN-1	0.644	275.8
CN-2	0.852	277.2
CN-3	0.931	277.4
CN-4	0.956	277.2
CN-5	0.988	277.4
CN-6	1.090	277.2
CN-7	1.118	277.4
CN-8	1.181	277.4
CN-9	1.234	277.2
CN-10	1.243	277.6
CN-11	1.258	277.6
CN-12	1.557	277.0
CN-13	1.558	277.0
CN-14	1.576	277.0

Los resultados de la Tabla muestran claramente como fué aumentando el grado de conversión en las distintas síntesis.En consecuencia también el mayor grado de pureza del producto final. Los espectros se dan en Anexo 1.-

b) Determinaciones en el Infrarrojo.-

Las determinaciones en el infrarrojo se realizaron preparando pastillas de KBr y barriendo el espectro entre 3600 - 750 cm⁻¹. La Tabla 3. resume las principales vibraciones observadas. Así, sólo destacamos las frecuencias vibracionales correspondiente a grupos carbonilo C=O, alrededor de 1708 y 1625 cm⁻¹ respectivamente. Otras vibraciones analizadas exhaustivamente muestran claramente su concordancia con el standard Nescott.

Tabla 3.- Vibraciones de stretching C=O en cm⁻¹, en muestras de Cipronic.

Muestra	stret. C=O, cm ⁻¹	stret. C=O, cm ⁻¹
CN-1	1732,4	1627,4
CN-9	1706,9	1624,5
CN-11	1707,5	1625,2
CN-12	1707,5	1624,8
CN-14	1707,5	1624,9

El análisis infrarrojo sólo se usó como técnica complementaria de identificación cualitativa. Sin embargo, los datos presentados en la Tabla 3, permiten visualizar fácilmente la sensibilidad de la vibración a 1707,5 cm⁻¹ a las impurezas del método de preparación. Lo anterior es válido también para la otra vibración C=O, y combinaciones de ellas. Por lo anterior, sólo se analizó las muestras más representativas; la CN-1 por ser la primera en la serie y desde luego la más impura. Las siguientes por esperarse de ellas una pureza en orden creciente. Los espectros se dan en Anexo 2.-

c) Determinación de Pureza por H.P.L.C.

Las determinaciones se realizaron en equipo Merck-Hitachi Liquid Chromatograph con Chromato-Integrator modelo D-2500 ;detector U.V.-Vis.L-4200 y Bomba L-6000 de Nescott Ltda. El método de análisis fué desarrollado por profesionales de la empresa. En Tabla 4.,se resume los resultados obtenidos para muestras de todas las experiencias.

Tabla 4. Resultados de los análisis de muestras de cipronic por H.P.L.C.

Muestra	Area del peak principal	% de Pureza
CN-1	8726742.1	40.373
CN-2	11545317.0	53.413
CN-3	12654604.0	58.365
CN-4	12954604.0	59.933
CN-5	13388232.0	61.939
CN-6	14770417.0	68.333
CN-7	15149841.0	70.088
CN-8	16003544.0	74.038
CN-9	16721740.0	77.360
CN-10	16843696.0	77.925
CN-11	17046959.0	78.865
CN-12	21098661.0	97.609
CN-13	21112212.0	97.672
CN-14	21356129.0	98.801

Espectro de la muestra CN-14, con las condiciones de análisis se dá en Anexo 3.-

Nuevamente los resultados de la Tabla 3, muestran la estrecha correlación entre el porcentaje de pureza de la muestra y las condiciones de síntesis. Así, la muestra CN-14, la de más alta pureza fué sintetizada usando todos parámetros críticos optimizados.

d) Determinación del Cipronic por Resonancia Magnética Nuclear de Protones.

El uso de ésta técnica sólo fué aplicada a dos muestras de cipronic, las muestras CN-11 y CN-14 respectivamente. Los resultados expresados en los espectros muestran nuevamente la estrecha correlación entre pureza y método de síntesis. Los espectros se incluyen en Anexo 4. - Cabe señalar que en la muestra CN-14 la integración de los protones presentes en la molécula del aducto complejo, dá como resultado 24,18 protones. Además, se observa un fuerte intercambio de agua con el agua deuterada usada en la determinación, indicando que posiblemente se está frente a un aducto que posee a lo menos dos moléculas de agua coordinada. Con el objeto de dilucidar esta duda, se procedió a realizar un microanálisis para carbono, hidrógeno y nitrógeno sobre la muestra más pura, es decir la CN-14.

e) Microanálisis para C, H y N en muestra CN-14.-

El protocolo de análisis emitido por la U. de Chile, I.D.I.E.F., se adjunta en Anexo 5.- Los resultados fueron: C = 54.431% , H = 5.029% , N = 11.022%

Los valores teóricos para una especie de peso molecular 454.46gr/mol son:

$$C = 60.78 \% \quad , \quad H = 5.10 \% \quad , \quad N = 12.33 \%$$

La fórmula molecular con peso igual a 508.46gr/mol, correspondiente al aducto complejo trihidrato tendría un contenido en carbono de 54.33% y en nitrógeno de 11.02% muy cercano a los valores experimentales, con errores de 0.05% y 0.00% respectivamente. En consecuencia, la fórmula más probable para el aducto complejo nicotinato de ciprofloxacina es $Cpx \cdot HNic \cdot 3H_2O$.

4.3.- Conclusiones

Las conclusiones más relevantes que resultan del desarrollo del Proyecto se enumeran a continuación:

1.- Es absolutamente posible sintetizar el aducto complejo ciprofloxacina nicotinato, cipronic, a escala productiva. La síntesis es en fase heterogénea, pero en un sólo paso lo que le hace un proceso fácil, simple y con alto rendimiento de conversión.

2.- Cipronic es un antibiótico de costo elevado, por los valores elevados de sus materias primas, de allí la importancia de destacar el alto rendimiento de conversión del proceso. Fijados los parámetros críticos; físicos, químicos y cinéticos el rendimiento de conversión de la síntesis fué de 100%, razón por la que se está en posición de tener un buen "nicho" en el mercado por calidad, precio y costo aceptable de producción. Estamos entonces, frente a una ! Buena Oportunidad¡.

3.- La etapa final de secado del producto, es crítica en términos de control de temperatura. Cuando se sobrepasa los 60°C, el producto se tuesta superficialmente. Sin embargo, ese material es recuperable y reinsertado en el proceso, haciendo aún más rentable todo el diseño.

4.- La pureza del producto final se determinó por técnicas muy refinadas, como Cromatografía Líquida de Alta Presión (H.P.L.C.), Resonancia Magnética Nuclear para protones (N.M.R. 1H), Microanálisis, Ultravioleta e Infrarrojo. Sin embargo, de acuerdo a la experiencia ganada, creemos que para el control de materias primas y pureza del producto final es adecuado usar sólo, las técnicas de Ultravioleta y H.P.L.C.- Los métodos de análisis fueron desarrollados en Nescott Ltda.

5.- Finalmente queremos destacar que el desarrollo básico, tanto como, los anexos y aquel a nivel productivo son totalmente nacionales. Luego, una vez más queda de manifiesto que, con el apoyo adecuado a las ideas por parte de las instancias de desarrollo nacional, se logran resultados relevantes.

6.- El uso de técnicas complementarias de análisis permitió a los investigadores de Nescott Ltda, determinar la composición y fórmula del ciprolic, $C_{10}H_{15}N$. Este es un aporte importante a la Química de Desarrollo y a la Ciencia Básica.-

7.- Finalmente creemos que aumentar el volumen de los "batches" a niveles 10 o 20 veces mayor no implicará aumentar los problemas ya resueltos, además la calidad del producto seguirá siendo la misma.

4.4.- Referencias Bibliográficas

- 1.- C.M. Basseby et al.
S.Antimicrob. Chemother.,17,123(1986)
- 2.- W.Gau et al.
J.Liq.Chromatog.,8,485(1985)
- 3.- G.Hoffken et al.
Antimicrob. Ag. Chemother.,27,375(1985)
- 4.- H. Giamarellou et al.
Drugs Exp.Clin.Res.,11,351(1985)
- 5.- B. Watt, F.V.Brown
J. Antimicrob. Chemother.,17,605(1986)
- 6.- Symposium on antibacterial spectrum and clinical use
Am. J. Med. 82,Suppl.,4A,1-104(1987)
- 7.- J. I. Smith
The Pharmaceutical Journal,S,299-305(1984)
- 8.- Goodman & Gilman
The Pharmacological basis of therapeutics
- 9.- Martindale, Thirtieth Edition (1993)
- 10.-Merck Index, Eleven Edition (1989)
- 11.-P. M. Dowling; R.C. Wilson; J.V. Tyler; S.H. Duran
J.of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 7-12, 18(1), 1995

5.- Impacto del Proyecto

5.1.- El desarrollo de este proyecto ha permitido demostrar la factibilidad de producir un antibiótico, como ciprofloxacina nicotinato a escala productiva de la más alta calidad y pureza. Destacable es el hecho que ,tanto el desarrollo básico como el diseño tecnológico son el resultado de las investigaciones realizadas en Nescott Ltda. Por cierto éste es un logro nacional importante, que debe reemplazar en el mercado a otros productos análogos.

5.2.- El ahorro en equipos sofisticados y la recuperación de solvente y materias primas,es otro de los impactos interesantes alcanzados en el desarrollo del proyecto. En la ejecución del proyecto no fué necesaria la compra ni adaptación de equipos de alto costo, sino tan sólo el diseño y fabricación de los reactores de vidrio de capacidad adecuada . La columna de destilación requerida para la recuperación del solvente,también fué diseñada y fabricada en Chile. Respecto a esto último,tanto la recuperación del metanol como de las otras materias primas,permitió determinar cuantitativamente el rendimiento de la reacción.

5.3.- Impacto Ambiental

El desarrollo del proyecto involucró el observar la normativa ambiental sobre residuos sólidos, líquidos y gaseosos. En definitiva, no se generan residuos sólidos tóxicos en el proceso productivo. Tampoco se generan residuos líquidos ni gaseosos. Luego no hay contaminación de alcantarillas ni de la atmósfera. Lo anterior debido a que se diseñó un sistema de absorción de gases el que se adicionó a la campana de secado. Los gases que salían por la ductería de la campana pasaban por un absorbedor alcalino y posteriormente por agua quedando así retenidos los escasos gases residuales. Recordemos que el solvente se recupera casi 100% por destilación.

5.4.- Mecanismos de Implementación de los Resultados del Proyecto.-

a) Mercado Nacional.-

En Chile, no existen productores de fluoroquinolonas sintéticas tales como Norfloxacin, Enrofloxacin o Ciprofloxacina. En consecuencia, tampoco existen productores de sus aductos. Por tal motivo Nescott Ltda como única empresa productora en el medio nacional de su aducto cipronic, producto destinado al uso en medicina veterinaria, para el tratamiento de infecciones en aves, rumiantes, peces, lechones y animales de compañía. Por sus cualidades y facilidad de administración ha despertado el interés en los usuarios nacionales para incorporarlo en tratamientos tanto preventivos como curativos de sus plantales.

b) Mercado Internacional.-

En cuanto al mercado internacional las puertas están abiertas, ya que los requerimientos de fluoroquinolonas solubles en los países del resto de América y Este Lejano son mucho más grandes que en Chile, esto por mayor tamaño de mercado. Nescott Ltda tiene contacto directo con empresas en el extranjero interesadas en nuestro desarrollo. Para dicho fin han viajado ejecutivos de la empresa a Argentina, Paraguay, Bolivia, Méjico y Estados Unidos. Las empresas de las Américas que han mostrado el más alto interés en nuestro producto son :

- * Nucosa (Mexico)
- * Farivet (Costa Rica)
- * Biosur (Perú)
- * Vitamix (Ecuador)
- * Serveco (Bolivia)
- * Agroveterinaria total (Paraguay)
- * Agrovet S.R.L. (Uruguay)
- * Walco (RXV) (U.S.A.)

Cabe destacar que a través de L:S: Raw Materials de Inglaterra se pretende acceder al mercado europeo y; Walco abrirá las puertas al Sudeste Asiático. Centam de Neuhofen, Austria está interesada en incursionar con nuestro producto en Europa del Este.

El desafío ya comenzó y Nescott Ltda no escatimará esfuerzos para lograr mercados extra para sus productos.

ANEXOS

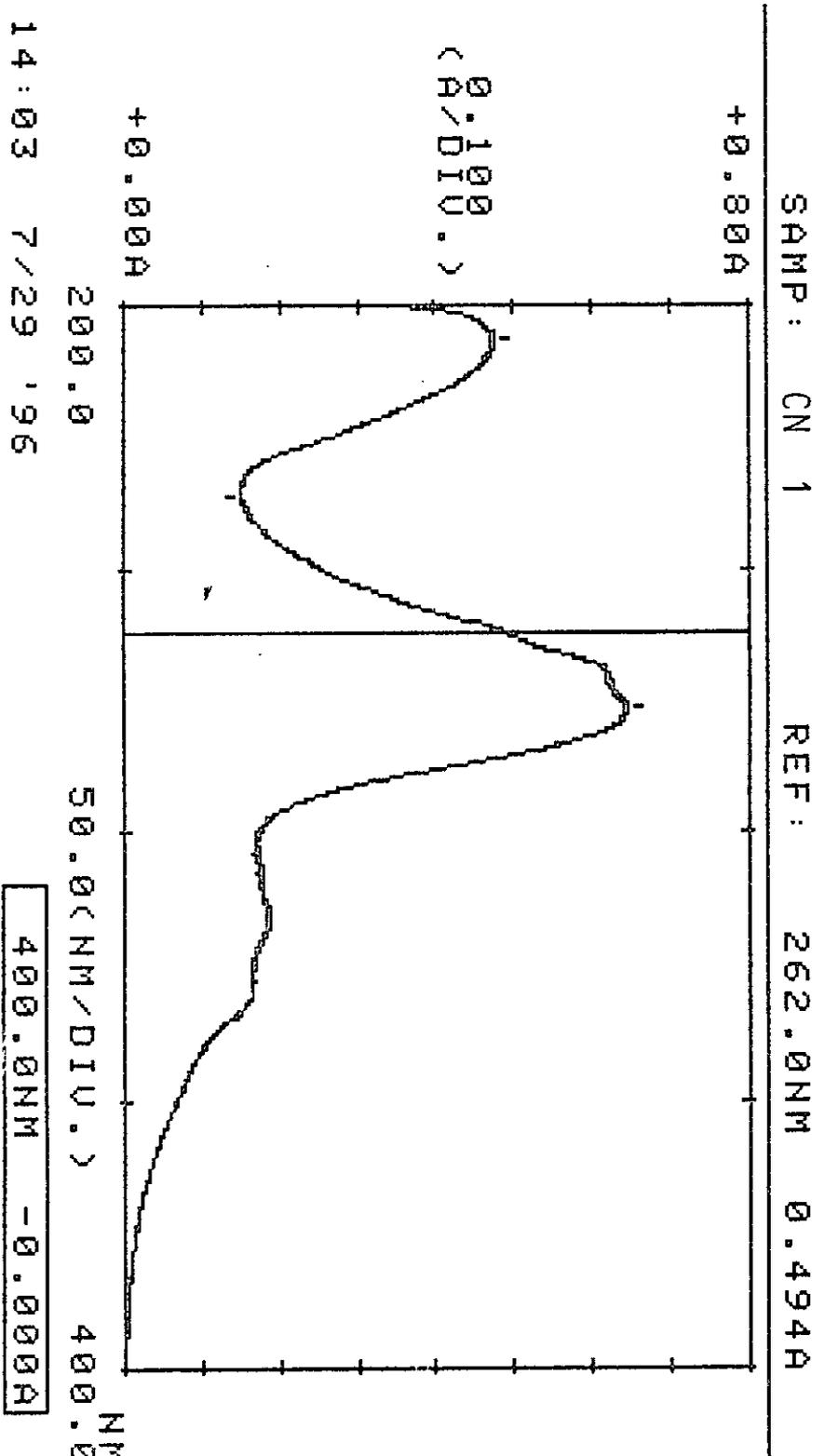
- 1. Espectroscopía U.V.- Visible**
- 2. Espectroscopía Infrarrojo**
- 3. Cromatografía Líquida de Alta Presión**
- 4. Resonancia Magnética Nuclear de protones**
- 5. Microanálisis Elemental**

ANEXO 1

Espectroscopía U.V. - Visible

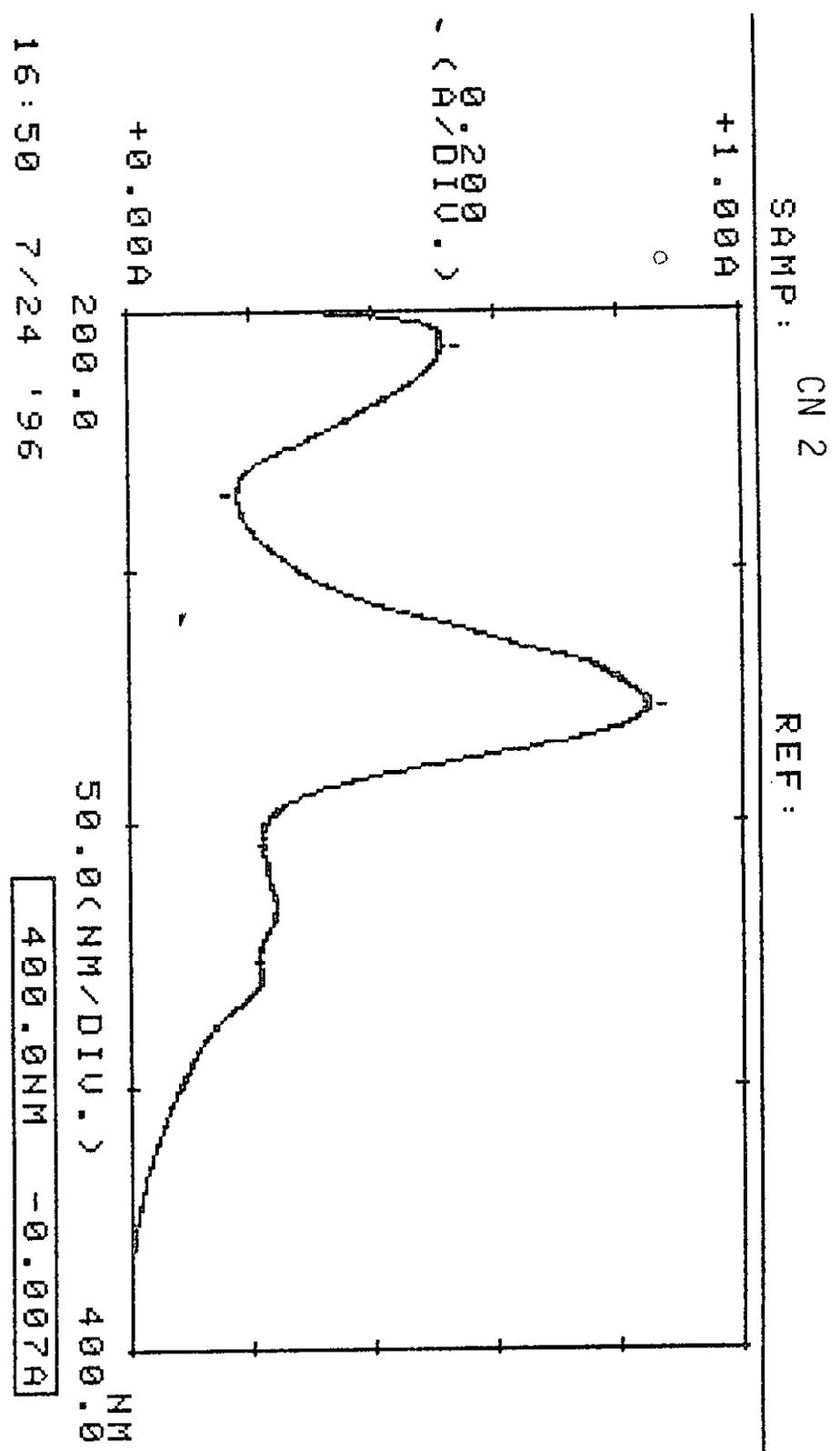
*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
275.8	0.644	236.2	0.151
206.2	0.476		

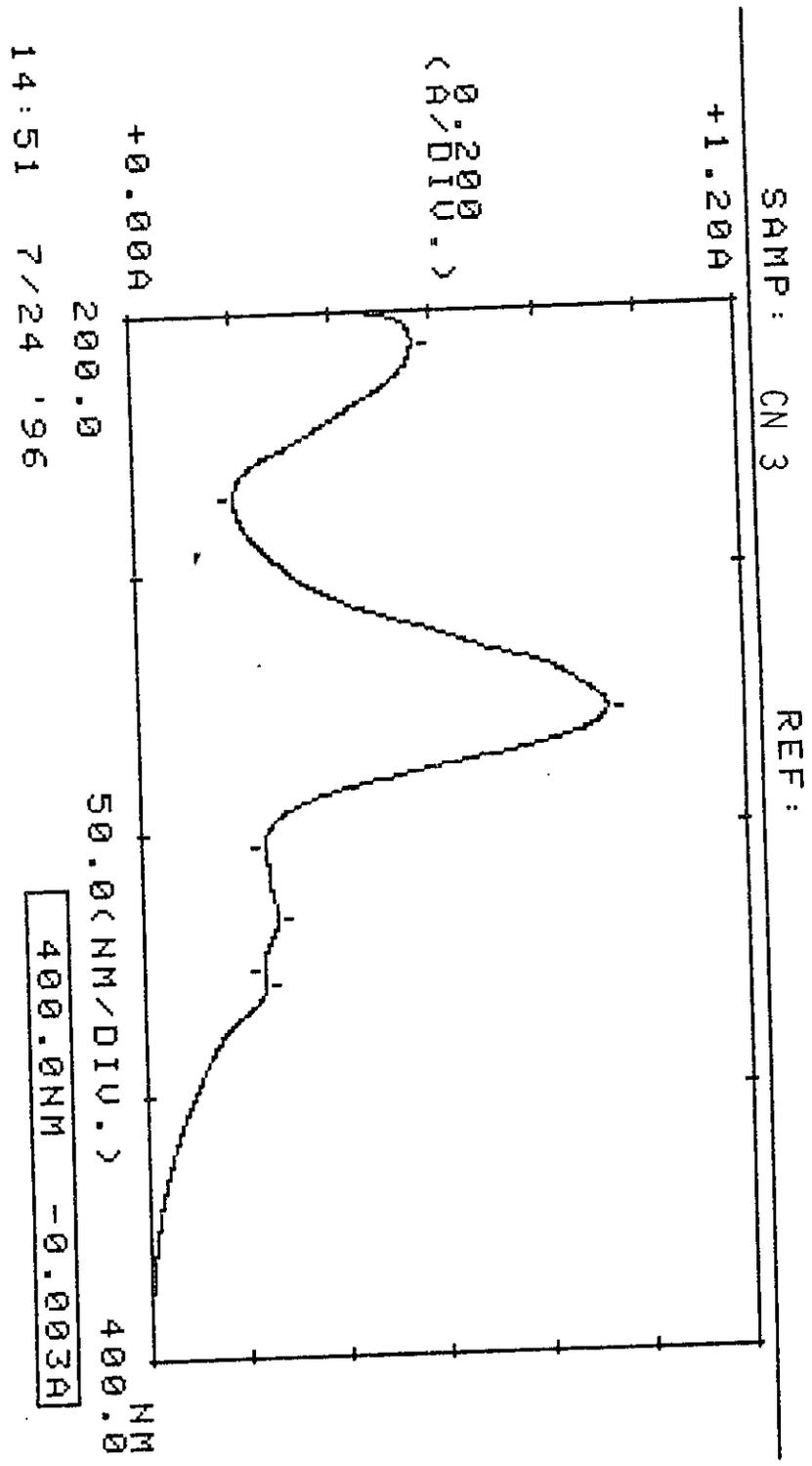


*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
277.2	0.852	235.2	0.178
206.8	0.518		

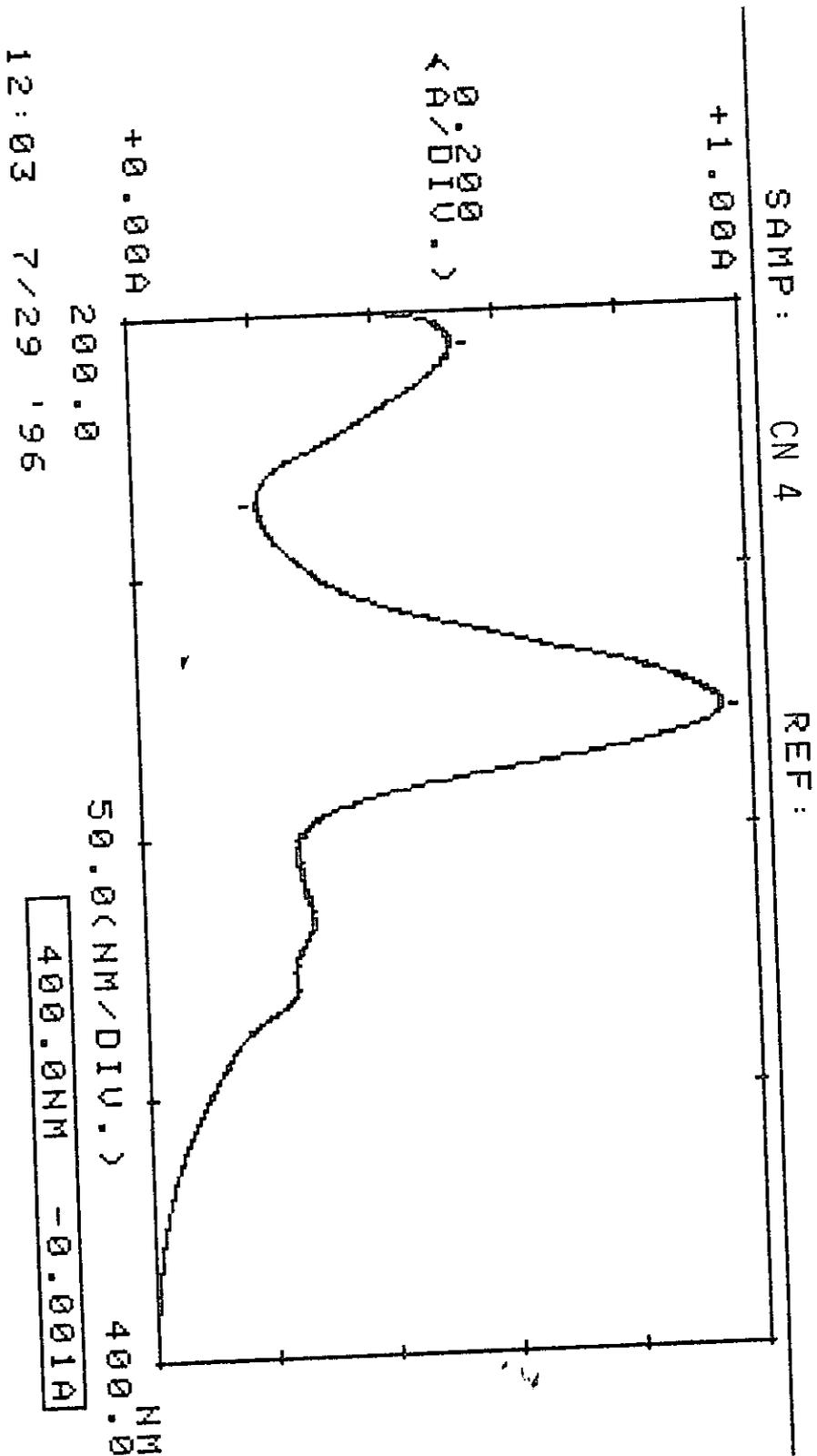


-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
329.2	0.240	326.0	0.237
316.2	0.270	302.2	0.246
277.4	0.931	235.4	0.200
206.0	0.560		



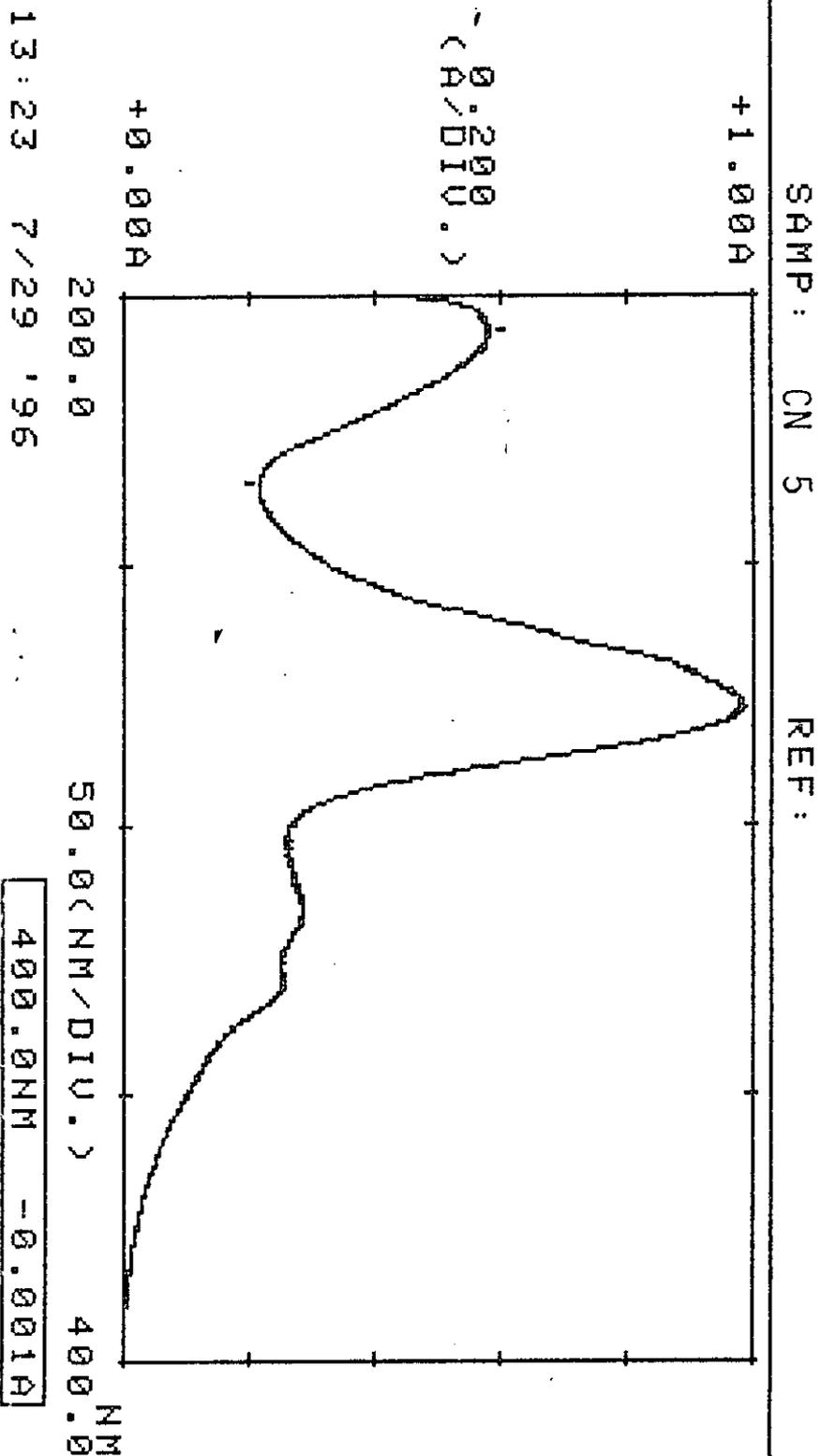
*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
277.2	0.956	236.0	0.202
206.2	0.532		



*** PEAK-PICK ***

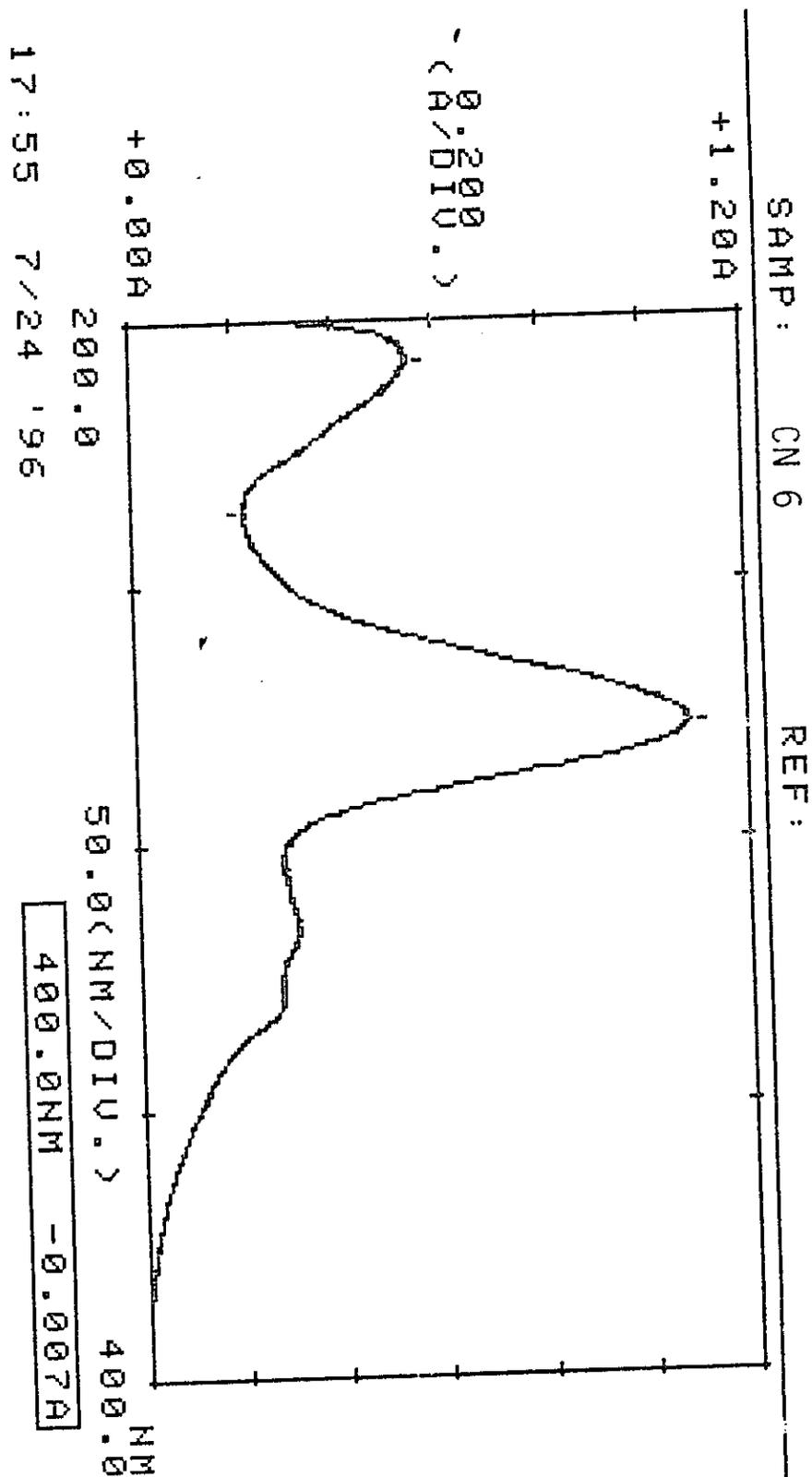
-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
277.4	0.988	235.0	0.215
206.6	0.586		



*** PEAK-PICK ***

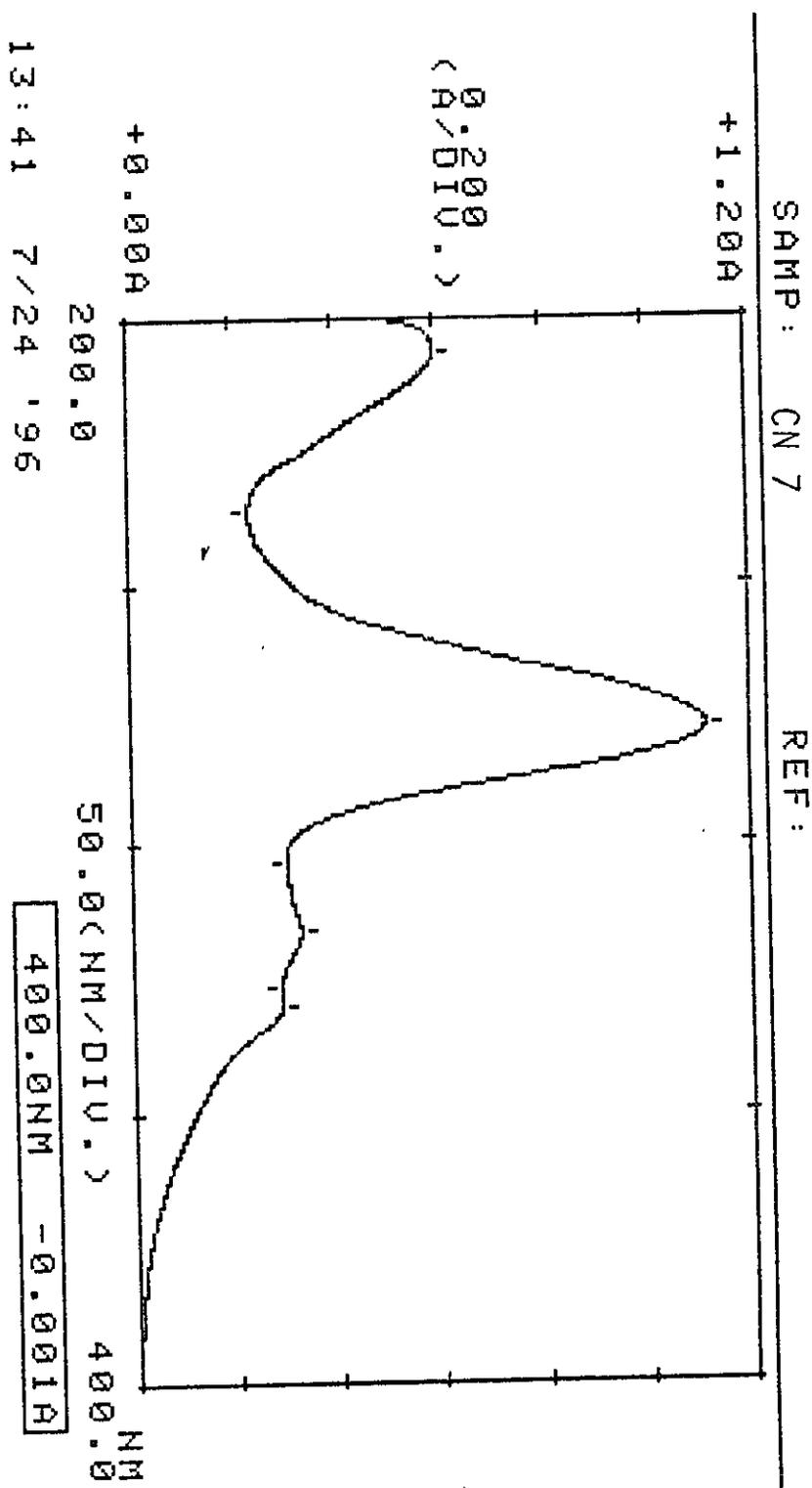
-- PEAK -- -- VALLEY --
 λ ABS λ ABS

277.2 1.090 236.4 0.219
 207.8 0.547



*** PEAK-PICK ***

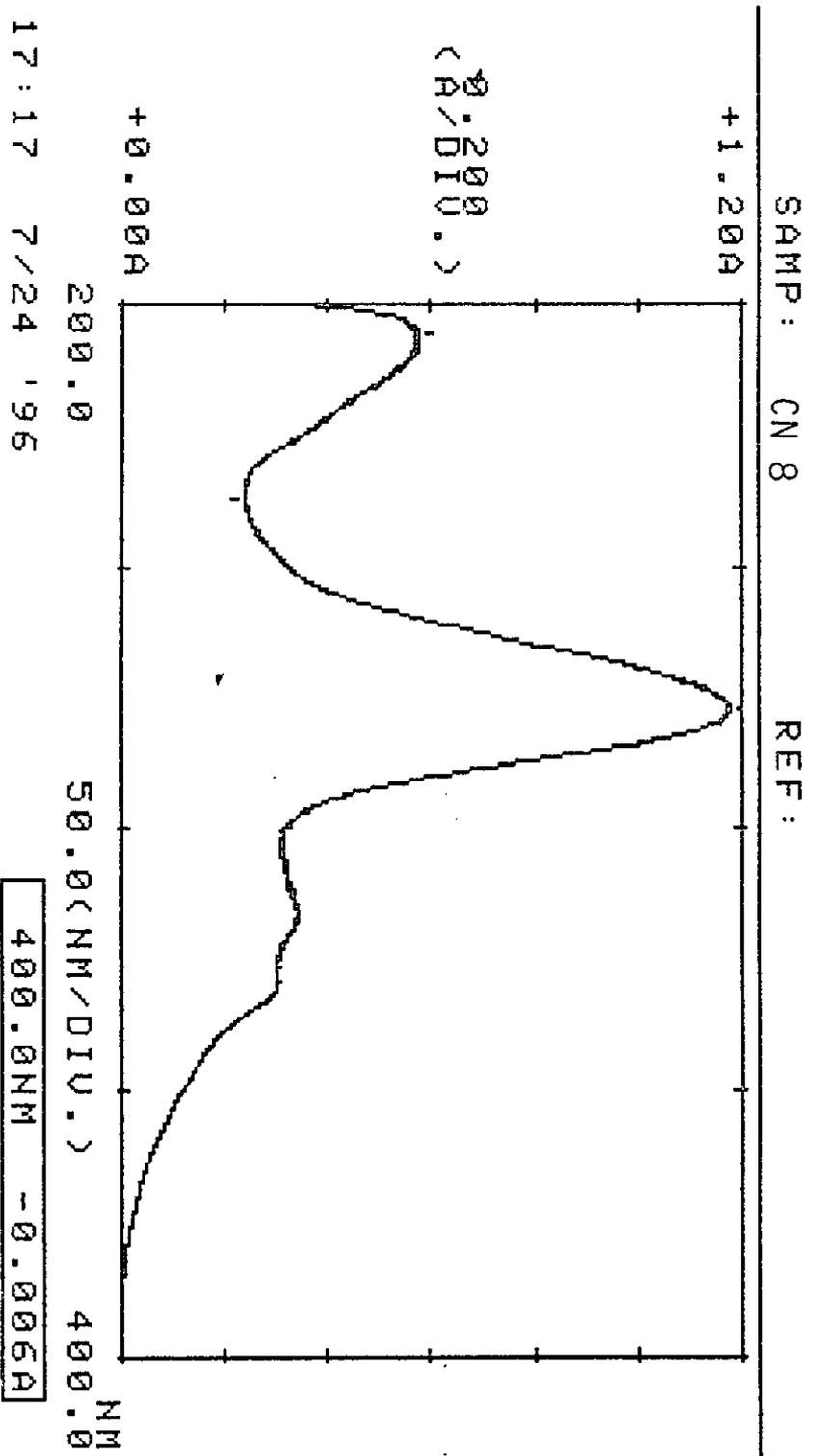
-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
329.4	0.291	326.2	0.288
315.8	0.327	302.8	0.299
277.4	1.118	236.0	0.235
206.6	0.598		



13:41 7/24 '96

*** PEAK-PICK ***

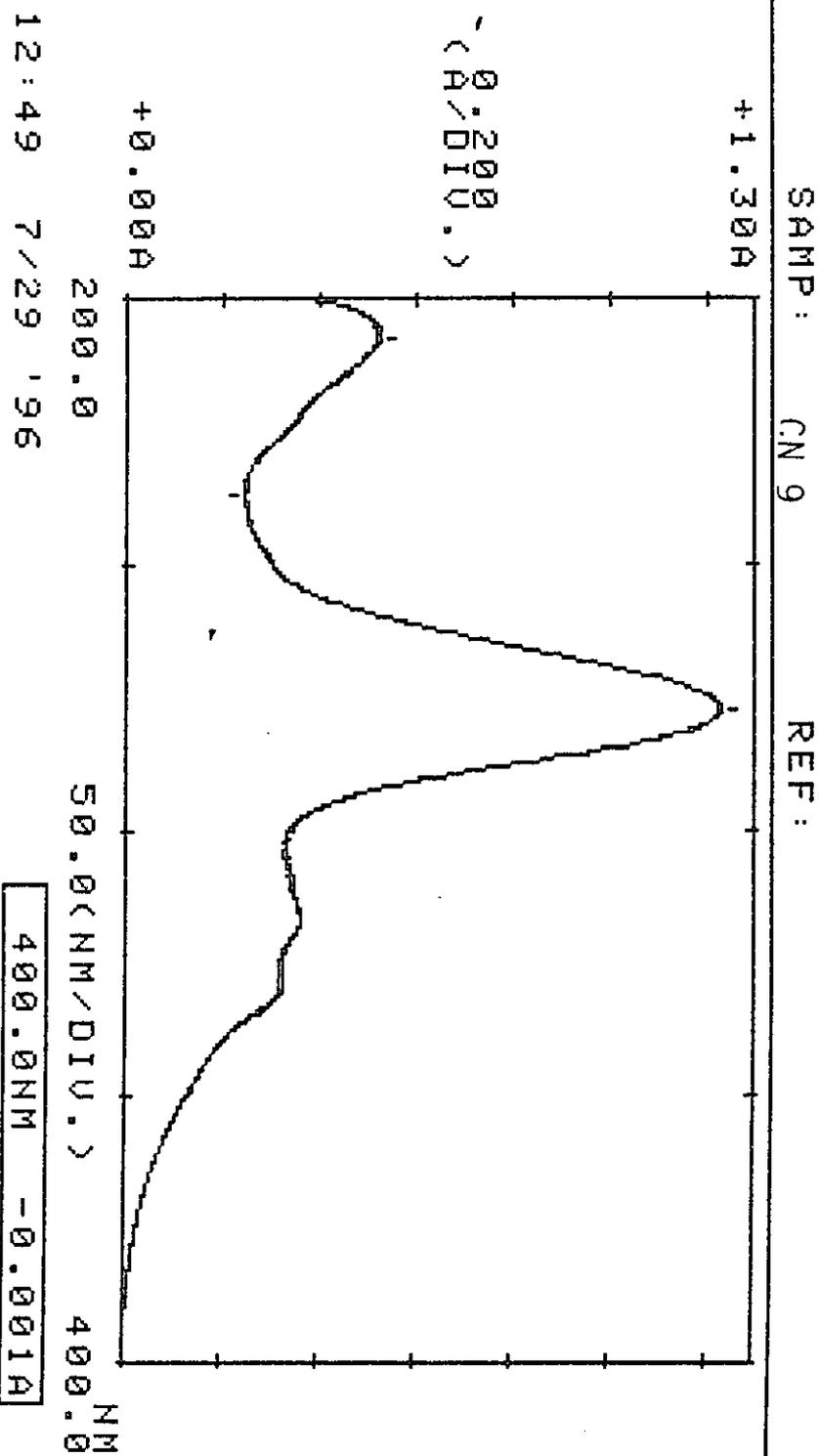
-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
277.4	1.181	236.8	0.238
205.8	0.577		



17:17 7/24 '96

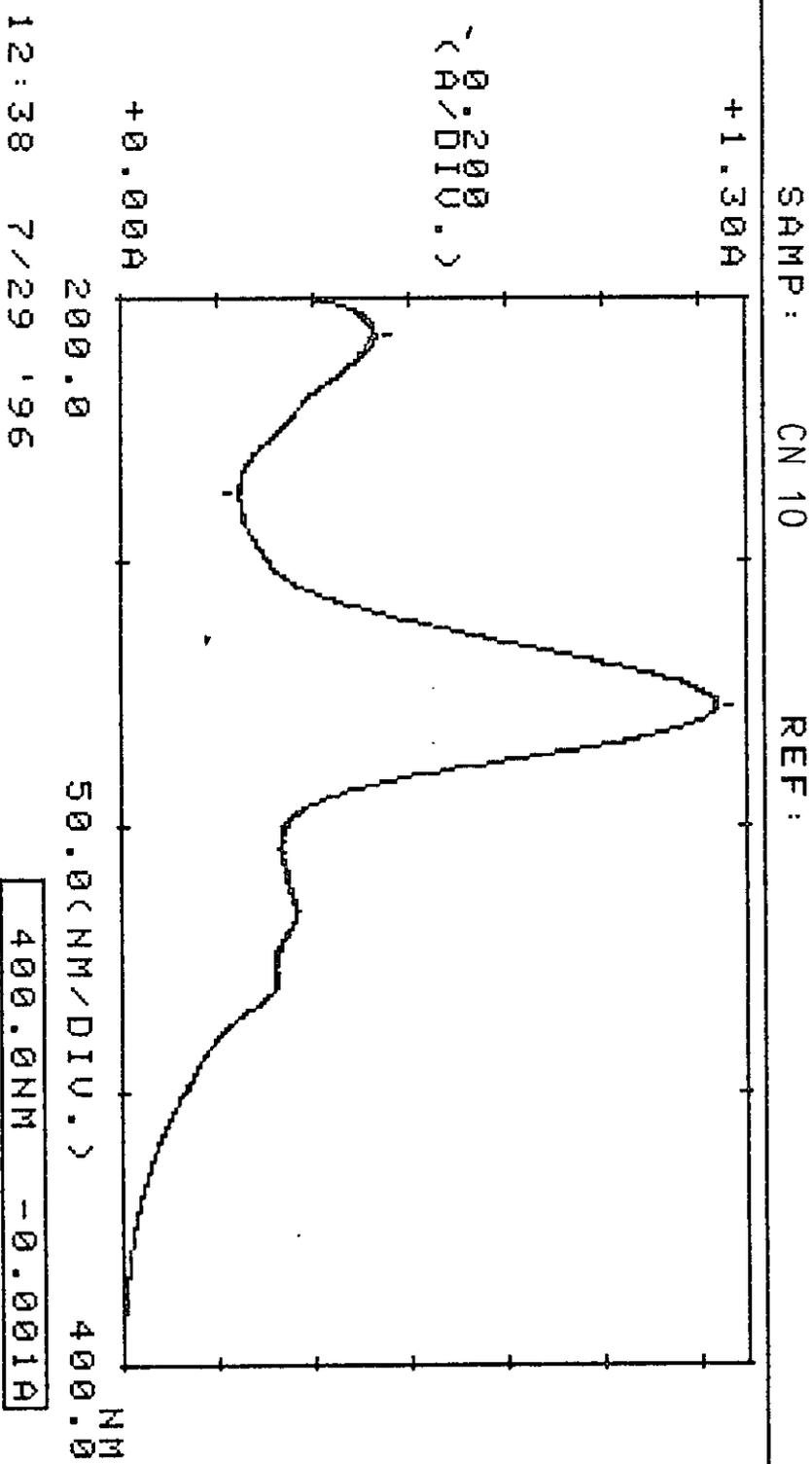
*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
277.6	1.234	236.8	0.245
207.4	0.529		



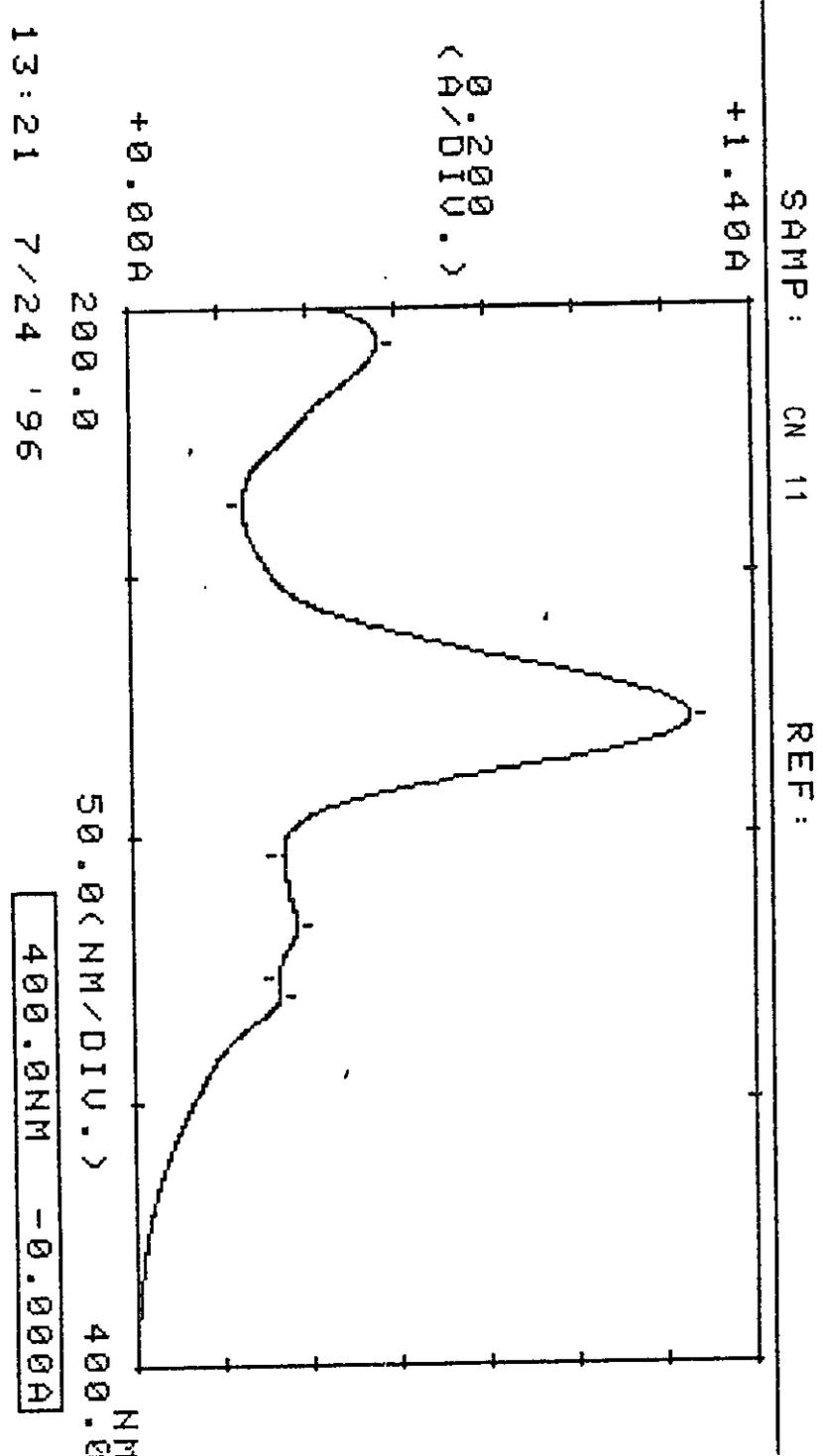
*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
277.2	1.243	237.0	0.246
207.0	0.531		



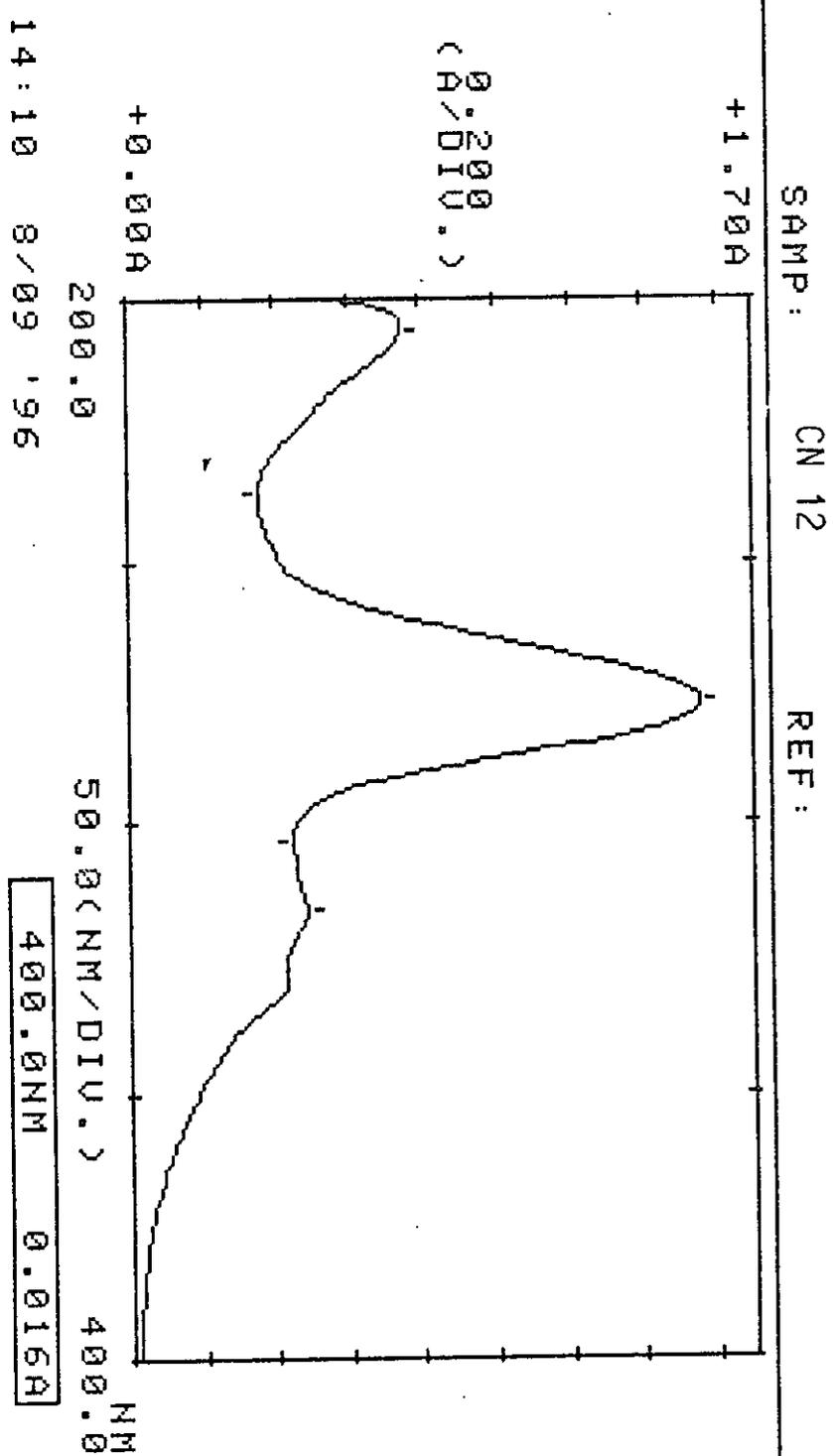
*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
329.4	0.330	326.2	0.327
316.2	0.371	302.8	0.340
277.6	1.258	237.2	0.255
207.0	0.561		



*** PEAK-PICK ***

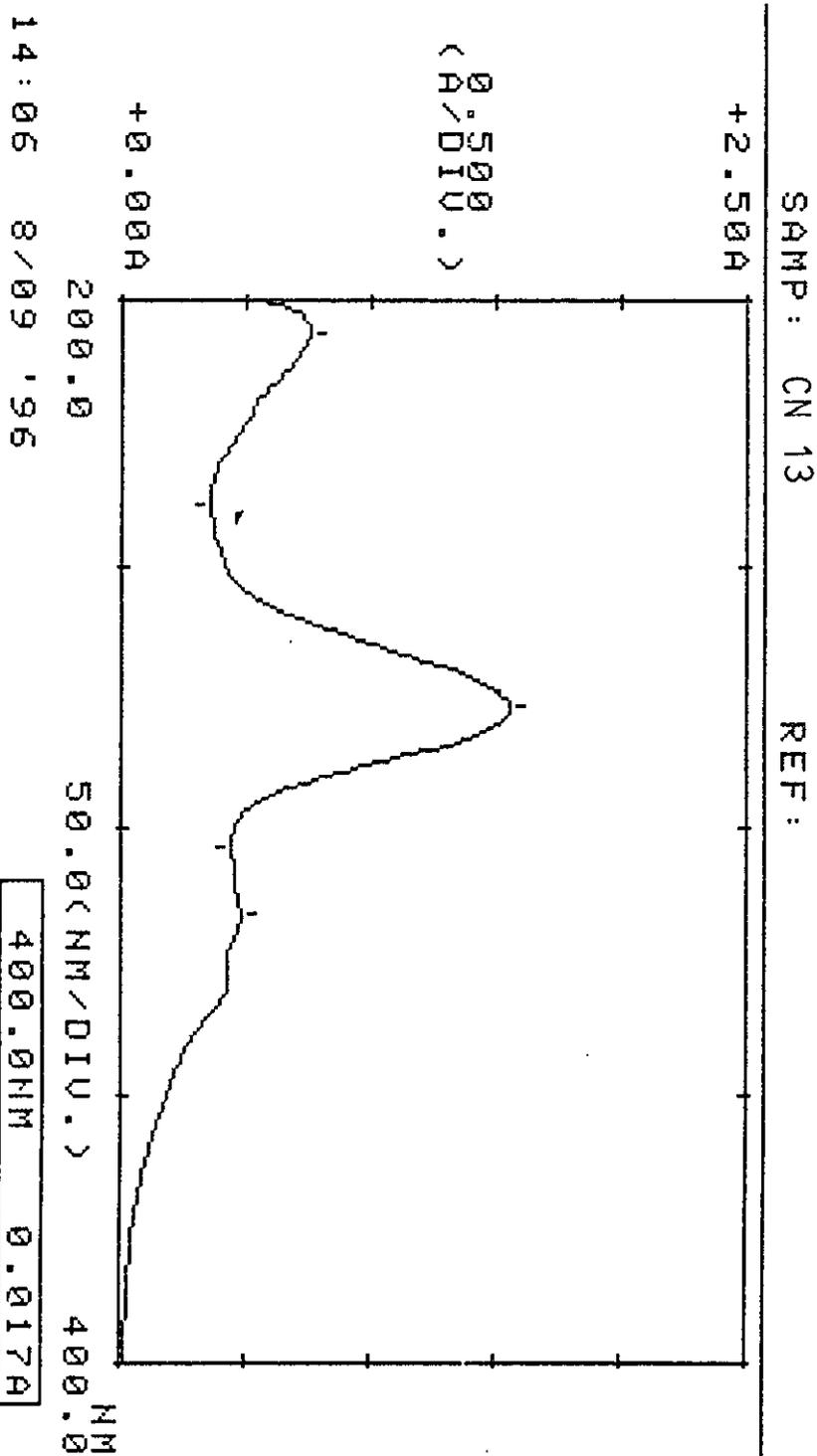
-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
316.0	0.483	303.0	0.447
277.0	1.557	237.0	0.358
206.0	0.751		



14:10 8/09 '96

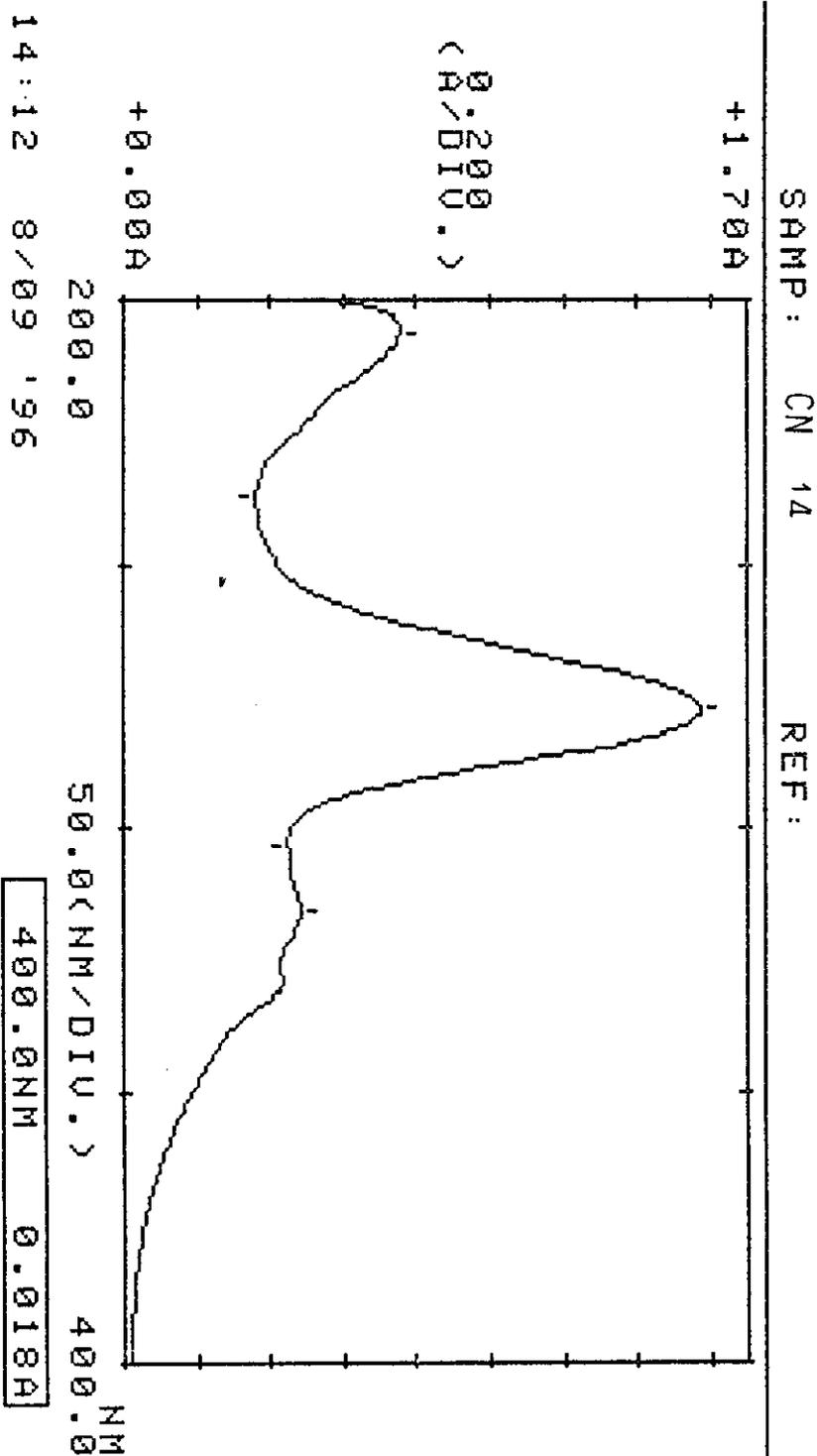
*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
316.0	0.482	303.0	0.446
277.0	1.558	238.0	0.360
206.0	0.753		



*** PEAK-PICK ***

-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
316.0	0.486	303.0	0.450
277.0	1.576	237.0	0.362
206.0	0.755		



ANEXO 2

Espectroscopía infrarrojo



Centro de Estudios Para el Desarrollo de la Química
CEPEDEQ

INFORME

Santiago, Julio 29 de 1996.

DATOS DEL SOLICITANTE

Apellido Nombre	Señor Ricardo Moreno
Institución/Empresa	Nescott Ltda.
Teléfono	689 74 99 FAX 689 35 40

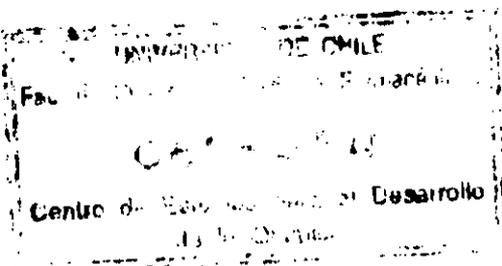
Estimado señor:

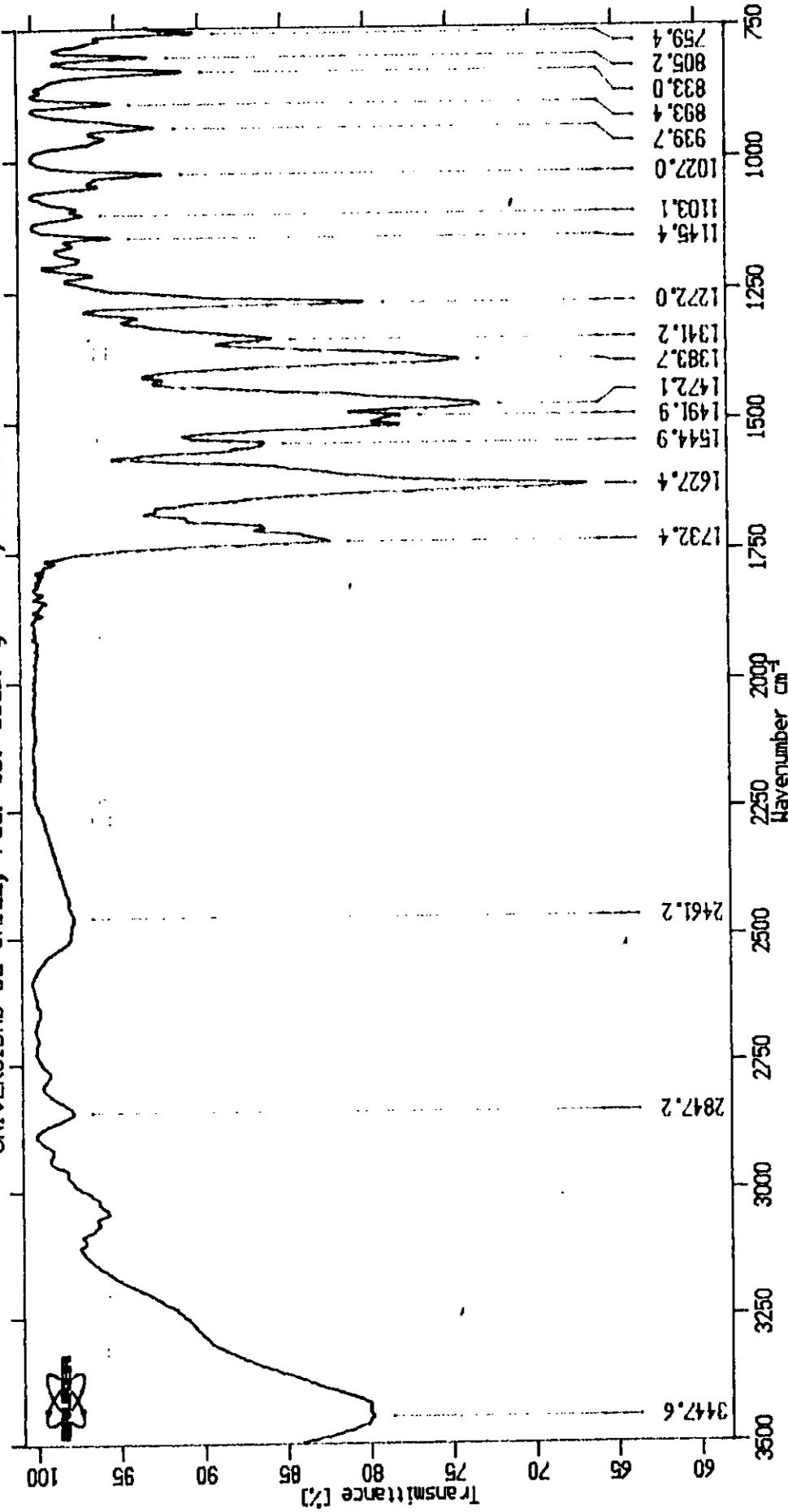
Adjunto encontrará resultados correspondiente a 2 muestras para $^1\text{H-NMR}$ y 5 muestras para Espectros Infrarrojos que usted hizo llegar al CEPEDEQ para su análisis.

La factura correspondiente al valor del servicio le será enviada oportunamente por la Dirección Económica y Administrativa de la Facultad (DIRECAD).

Saluda atentamente a usted,

Dra. Evgenia Spodine S.
Directora CEPEDEQ



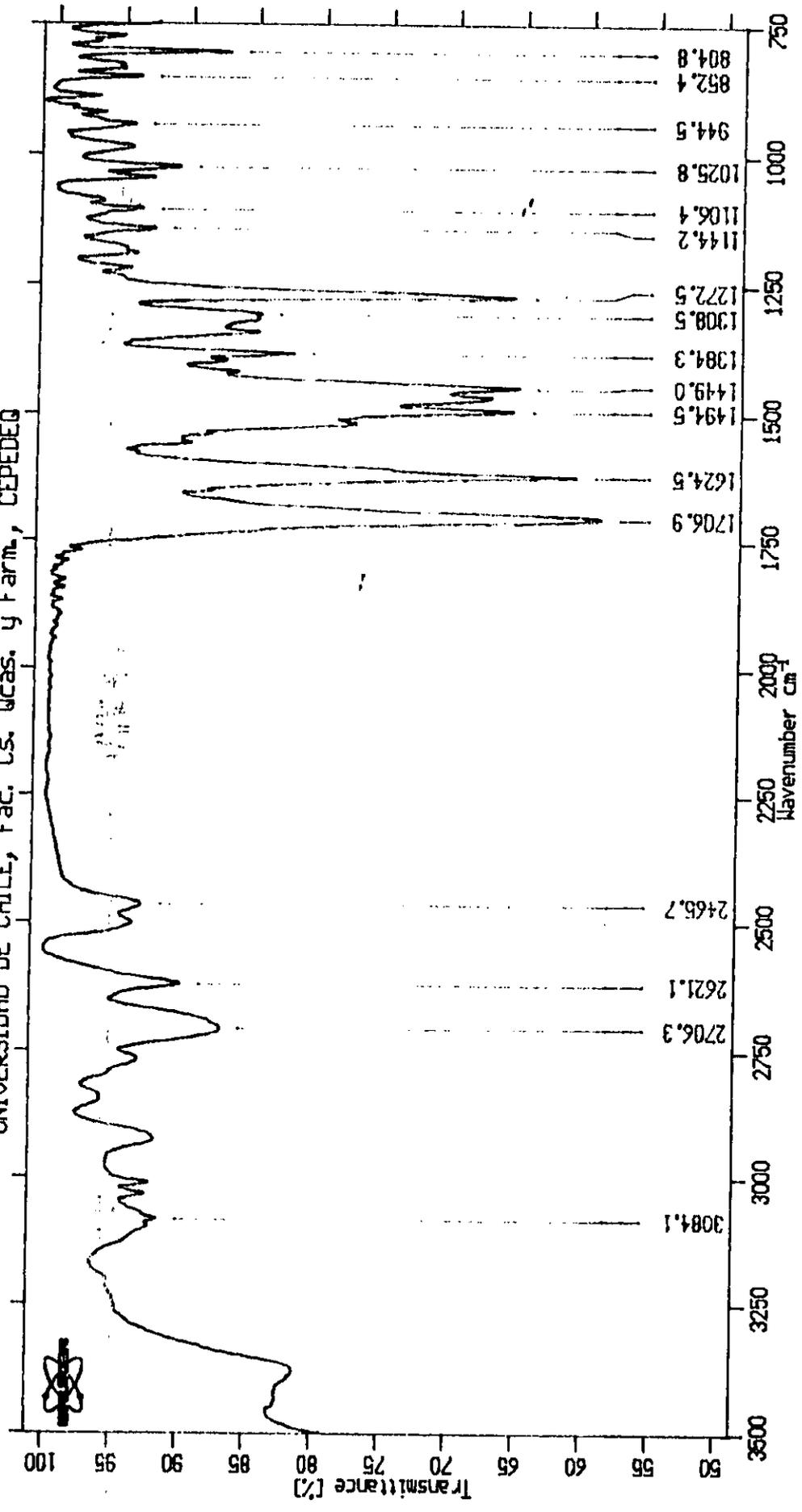


Instrumento : IFS55
 Técnica : Pastilla KBr
 Resolución : 4.0 cm^{-1}
 Fecha : 24/ 7/1986
 Archivo : WORK.5

Solicitante : Nescott

Muestra : MUESTRA CN-1

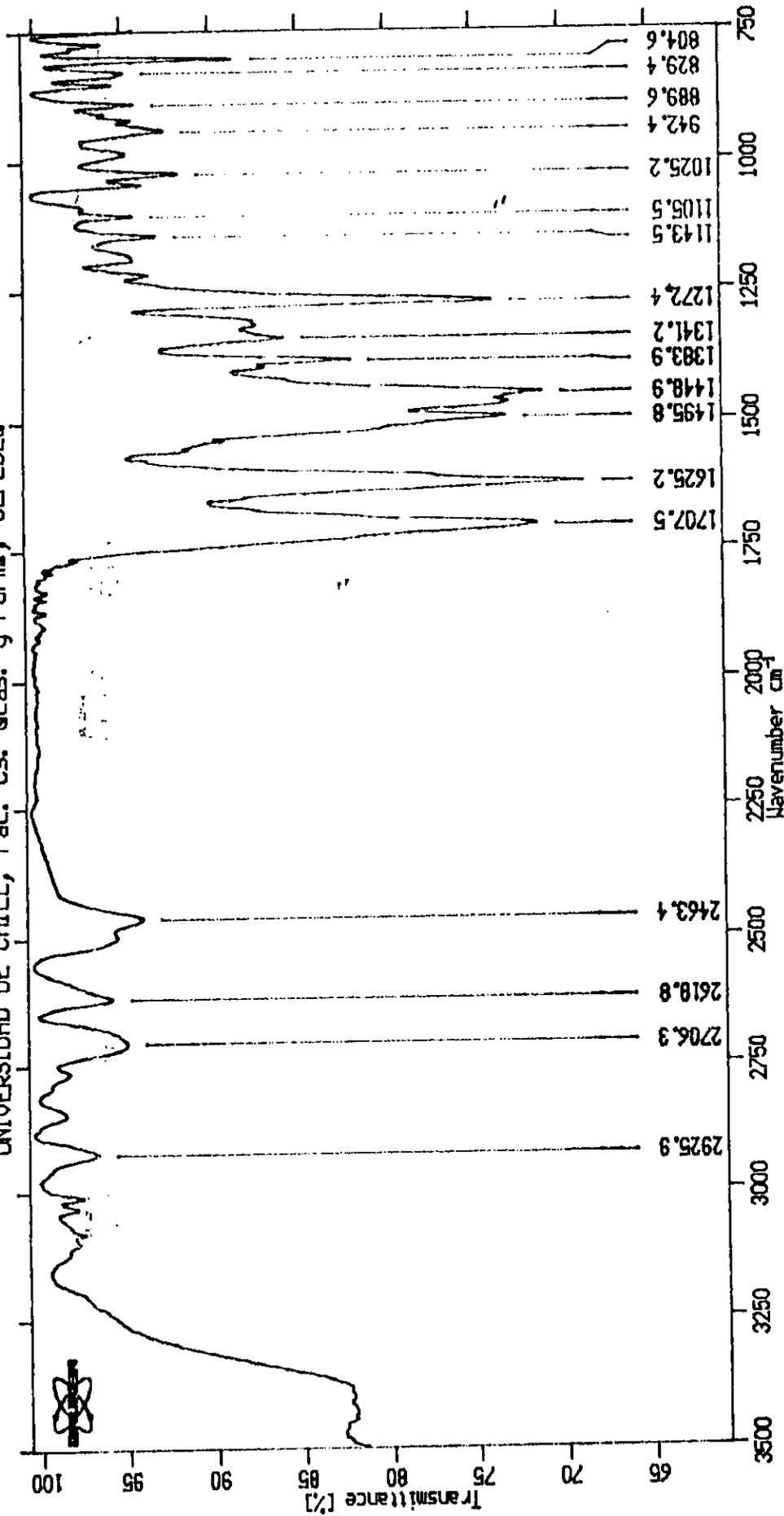
Operador : Lucía



Instrumento : IFS95
 Técnica : Pastilla KBr
 Resolución : 4.0 cm⁻¹
 Fecha : 24/ 7/1986
 Archivo : WORK.3

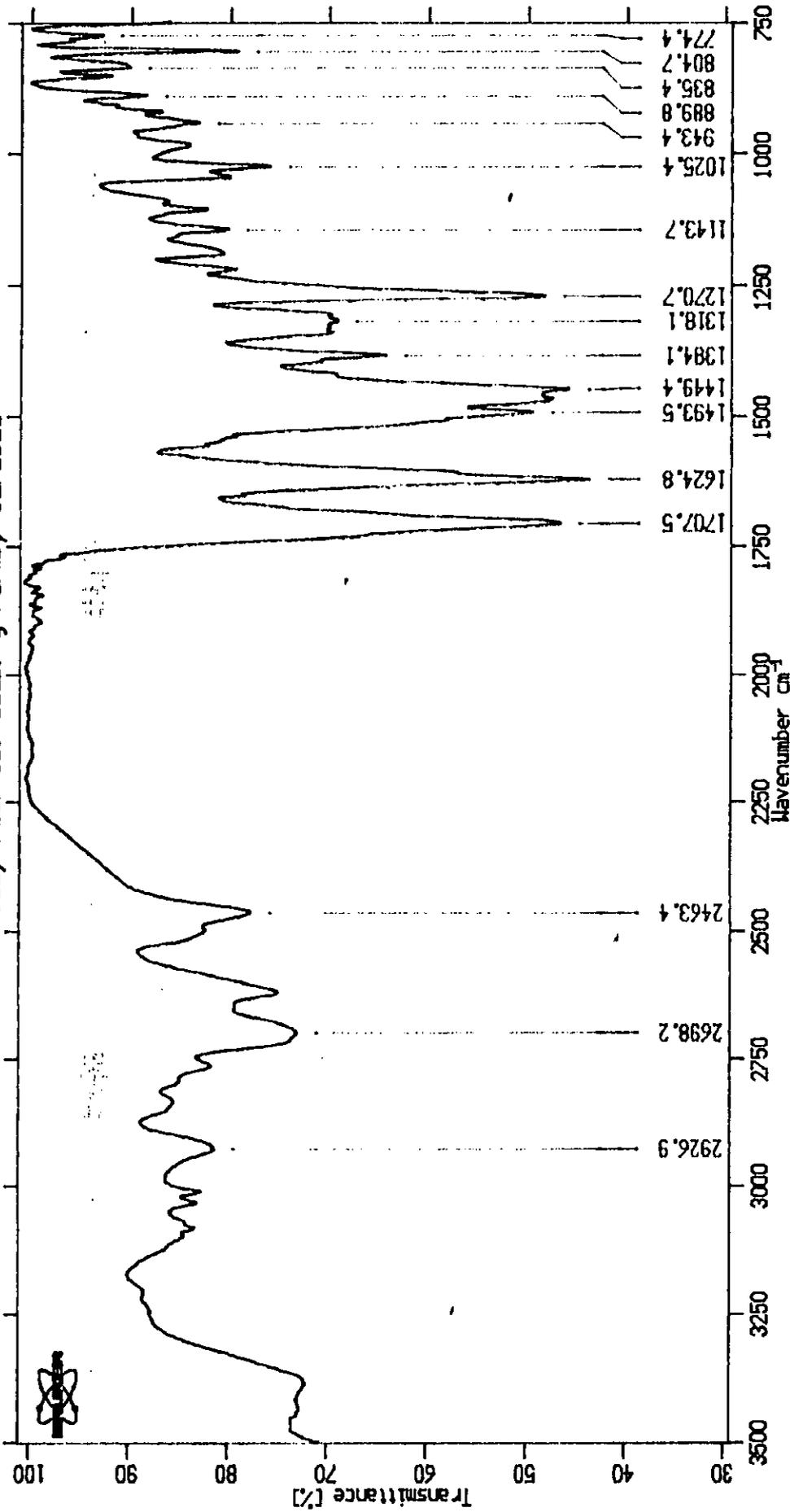
Solicitante : Nescott
 Muestra : MUESTRA CN-9
 Operador : Lucia

Handwritten signature



Instrumento : IFS55
 Técnica : Pastilla KBr
 Resolución : 4.0 cm⁻¹
 Fecha : 24/ 7/1986
 Archivo : WORK.6

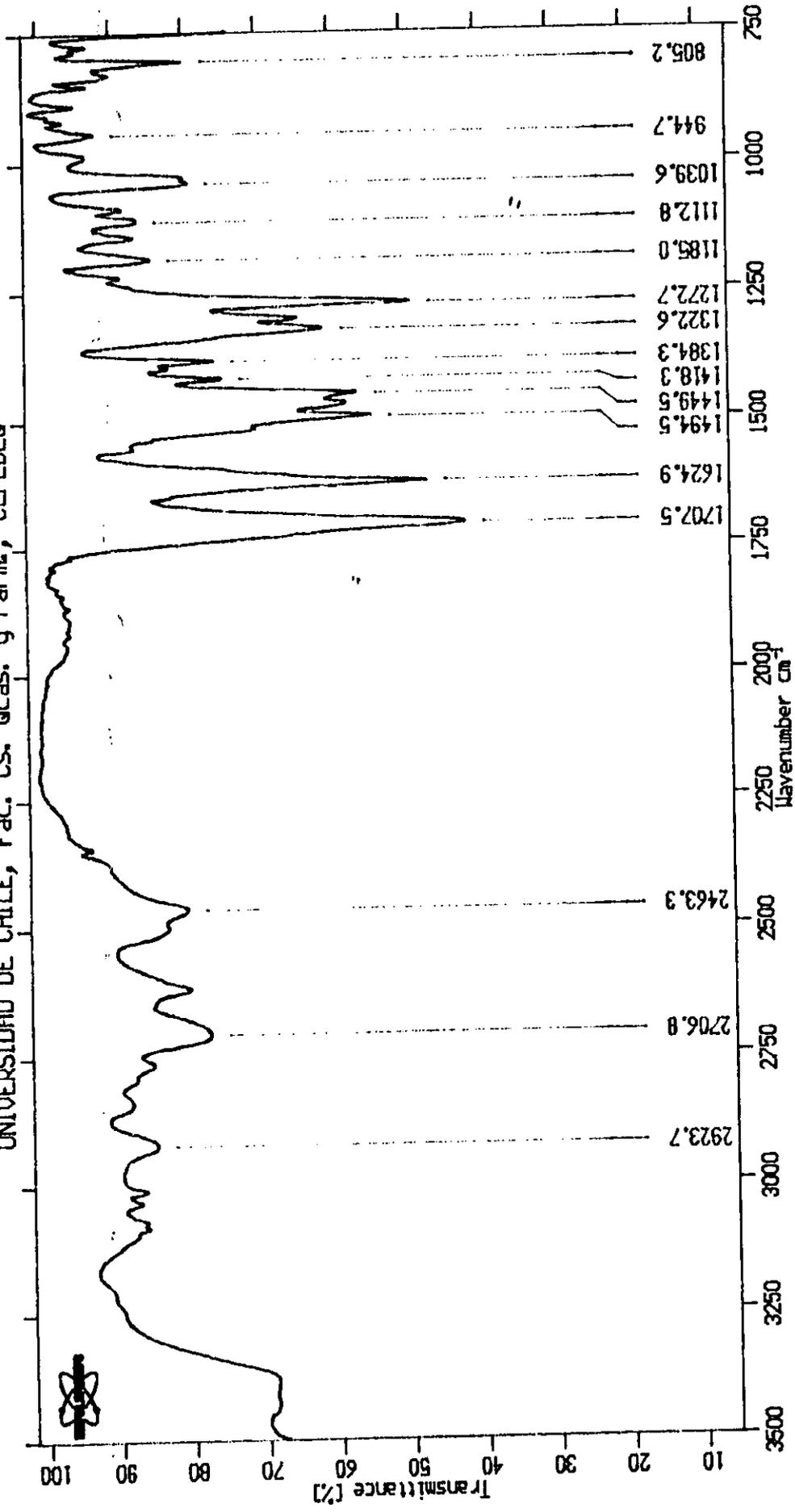
Solicitante : Nescott
 Muestra : MUESTRA CN-11
 Operador : Lucia



Instrumento : IFS85
 Técnica : Pastilla KBr
 Resolución : 4.0 cm⁻¹
 Fecha : 24/ 7/1986
 Archivo : MORK.4

Solicitante : Nescott
 Muestra : MUESTRA CN-12
 Operador : Lucía

[Handwritten signature]



Instrumento : IFS55
Tecnica : Pastilla KBr
Resolucion : 4.0 cm⁻¹
Fecha : 24/ 7/1986
Archivo : WORK.2

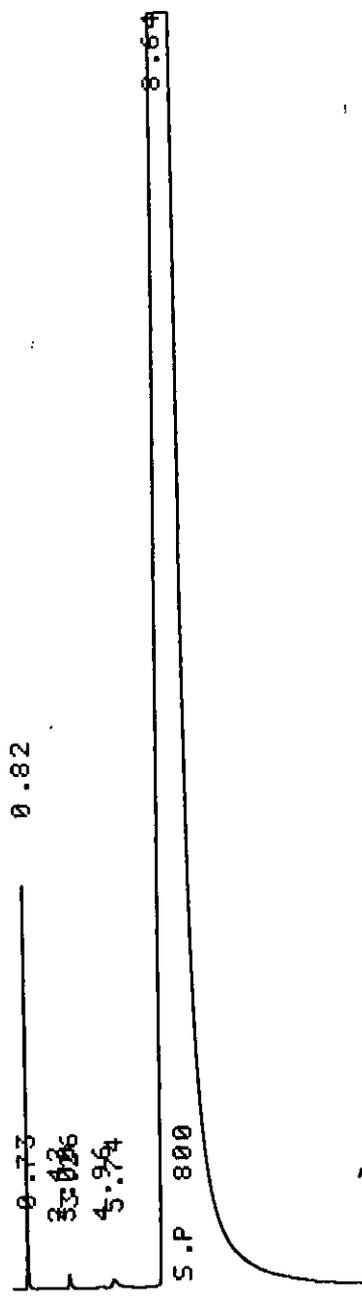
Solicitante : Nescott
Muestra : MUESTRA CN-14
Operador : Lucia

ANEXO 3

Cromatografía Líquida de Alta Presión

H.P.L.C.

CH. 1 C.S 2.50 ATT 7 OFFS 0 00/00/00 01:34



D-2500 MUESTRA DE CIPRONIC CN-14 00/00/00 01:34

METHOD: CIPROFLOXACI TAG: 6 CH: 1

FILE: 1 CALC-METHOD: AREA% TABLE: 0 CONC: AREA

NO.	RT	AREA	CONC	BC
1	0.73	4552	0.021	BV
2	0.82	208946	0.967	UB
3	2.42	163	0.001	BB
4	3.00	786	0.004	BV
5	3.26	16854	0.078	UB
6	4.96	4133	0.019	BV
7	5.74	23795	0.110	UB
8	8.64	21356129	98.801	BB

TOTAL 21615358 100.000

PEAK REJ : 0

ANEXO 4

Resonancia Magnética Nuclear de Protones

MUESTRA CN-11

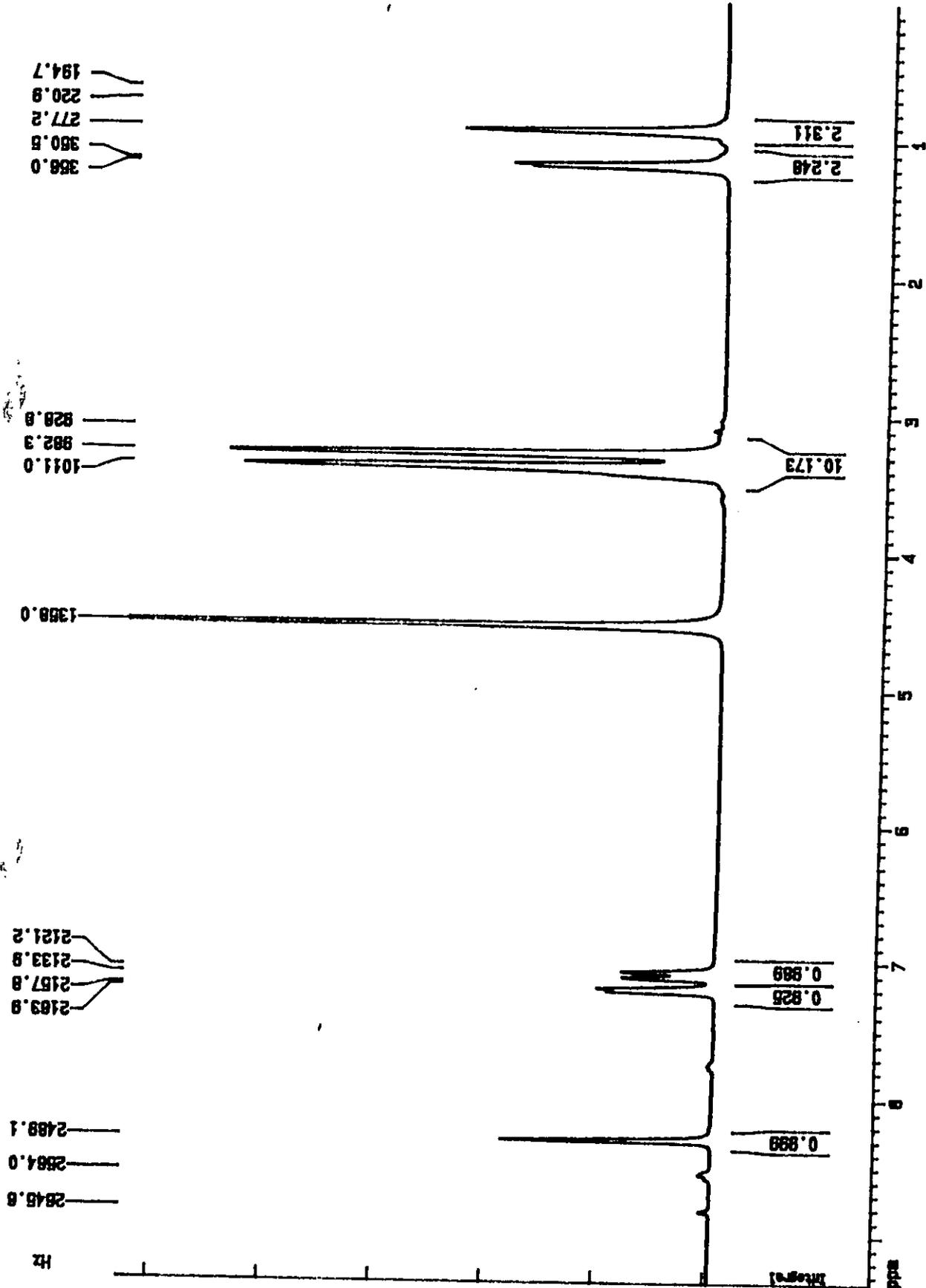
en D2O

Current Data Parameters
 NAME: CN-11
 EXPNO: 2
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ Time: 08/07/85 10.18
 PULPROG: zg30
 SOLVENT: D2O
 AS: 4.5875401 us
 FIDRES: 0.100000 Hz
 SFO1: 300.1357258 MHz
 SFO2: 300.1357258 MHz
 TO: 327.00
 NS: 32
 DS: 2

F2 - Processing parameters
 SI: 16384
 SF: 300.1341762 MHz
 NUC1: 13C
 NUC2: 13C
 LB: 0.30 Hz
 GB: 0
 PC: 1.00

3D NMR plot parameters
 CX: 22.00 cr
 P1P: 9.357 us
 F1: 2808.30 Hz
 P1P: 0.008 us
 F2: 2.45 Hz
 P1P1CH1: 0.42404 Hz
 HZ1CH1: 127.25870 Hz



ANEXO 5

Microanálisis Elemental de C, H y N.



Centro de Estudios Para el Desarrollo de la Química
CEPEDEQ

CASILLA 233
SANTIAGO 1, CHILE
FAX : 2227900

INFORME

Santiago, Agosto 2 de 1996.

DATOS DEL SOLICITANTE

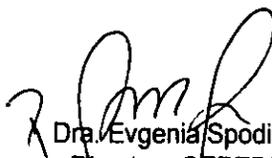
Apellido/Nombre	Señor Ricardo Moreno
Institución/Empresa	Nescott Ltda.
Teléfono	689 74 99 FAX 689 35 40

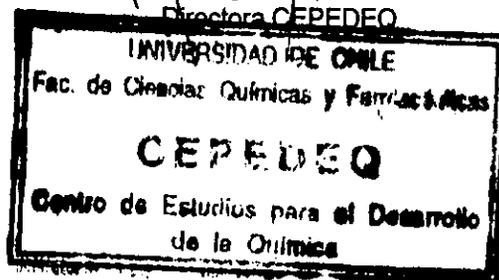
Estimado señor:

Adjunto encontrará resultados correspondiente a 1 muestra para Análisis Elemental que usted hizo llegar al CEPEDEQ para su análisis.

La factura correspondiente al valor del servicio le será enviada oportunamente por la Dirección Económica y Administrativa de la Facultad (DIRECAD).

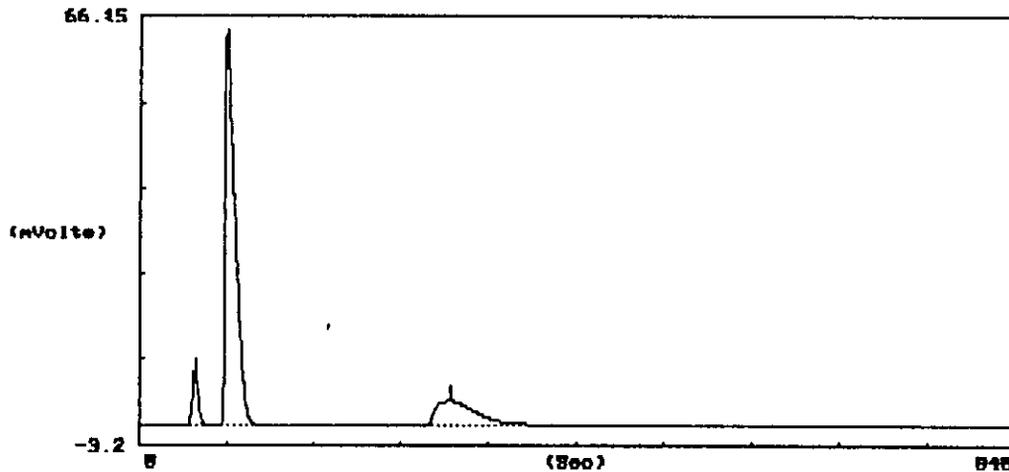
Saluda atentamente a usted,


Dra. Evgenia Spodine S
Directora CEPEDEQ



EAGER 200 Stripchart

Sample Ident. : 73 NESCOTT CN-14 Filename : A080107
 Analysed : 08-01-96 16:43:38 'Printed : 08-02-1996 09:41:29



EAGER 200 Unk Report

Instrument name : FISONS EA 1108	Blind drift (µV): 1.4
Company Name : U. DE CHILE	Operator Ident. : CEPEDEG Lucia
Analysed : 08-01-96 16:43:38	Printed : 08-02-1996 09:41:30
Sample Ident. : 73 NESCOTT CN-11	Filename : A080107
Sample Weight : 1.951	Calc. method: using 'K. Factors'

Pk. (U)	Ret Time (Sec)	Area (µV*Sec)	Element % (%)	Area Ratio	Name
1	54	51800	11.022	.130492E+02	Nitrogen
2	84	675940	54.431	.100000E+01	Carbon
3	299	198376	5.029	.340736E+01	Hydrogen
5	0	0	0.000	.000000E+00	Sulphur

Warning Peak Identification Error !!!

BIBLIOTECA CORFO