



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

197600

(11)

(B1)

(51) Int. Cl.³
C 12 P 1/06

(22) Přihlášeno 14 07 77
(21) (PV 4695-77)

(40) Zveřejněno 31 08 79

(45) Vydáno 28 02 83

(75)

Autor vynálezu

BĚLÍK EDUARD ing. CSc., KOUŘIM
ŠEVČÍK BOHUMIL doc. MVDr. DrSc., POHOŘÍ-CHOTOUŇ
CHROMÍK JINDŘICH ing. a
HOFFMAN JOSEF, PRAHA

(54) Způsob izolace antibiotika tylosinu

Vynález se týká způsobu izolace antibiotika tylosinu z vyfermentované živné půdy po ukončené kultivaci produkčního mikroorganismu. Tylosin je antibiotikum účinné proti gram-positivním bakteriím a mykoplasmosám. Je produkováno kmeny *Streptomyces fradiae*. Chemicky jde o makrolidovou bázi sumárního vzorce $C_{45}H_{77}O_{17}N$, tvořící s kyselinami dobře krystalující sole, rozpustné snadno ve vodě i v polárních a semipolárních organických rozpouštědlech. Doposud se tylosin izoloval z půdy po ukončené kultivaci produkčního mikroorganismu tak, že se mycelium odfiltrovalo a filtrát se při slabě alkalické reakci extrahoval chloroformem v objemovém poměru 1:2. K dobrému přestupu antibiotika z filtrátu je nutný, jak je patrné, velký objem extrakčního rozpouštědla, které je v dalším stupni zapotřebí odpařit za sníženého tlaku, přičemž dochází ke značným ztrátám. Nevýhodou tohoto způsobu izolace je i silně toxická povaha chloroformu a dále likvidace značných objemů extrahovaného filtrátu vyfermentované půdy.

Nově bylo shledáno, že lze antibiotikum tylosin izolovat mnohem pohodlněji a hospodárněji z vyfermentované živné půdy po ukončené kultivaci produkčního kmene *Streptomyces fradiae*, způsobem podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že se vyfermentovaná živná půda s hodnotou pH 6,5 až 7,5 nejprve vysuší v roz-

prašovací sušárně, získaný práškový koncentrát se extrahuje bezvodým nebo vodným polárním nebo semipolárním organickým rozpouštědlem nebo směsí těchto rozpouštědel, zejména alkanolem s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alifatickým ketonem s 3 až 6 atomy uhlíku, načež se extrakt zpracuje na bázi nebo sůl tylosinu.

Výhodně lze jako extrakčního činidla používat 90 %ního vodného n-propanolu nebo 80 %ního vodného acetonu.

Při realizaci způsobu podle vynálezu odpadá nutnost filtrace vyfermentované půdy před jejím dalším zpracováním, potřebné objemy extrakčních rozpouštědel, která jsou ve srovnání s chloroformem méně toxická a podstatně lacinější, jsou nepoměrně menší, poněvadž tato rozpouštědla velmi rychle dobře rozpouštějí tylosin, který se extrahuje z malého množství pevné práškovité látky, odpadá i nutnost nákladné likvidace velkých objemů extrahované půdy.

Získané roztoky surového tylosinu lze dále jednoduše zpracovávat po odpaření organického rozpouštědla na surový tylosin nebo čistit ve formě vhodné krystalické sole, popřípadě srážet přidávkou nepolárního rozpouštědla tylosin ve formě báze a tu pak čistit po převedení ve vhodnou sůl krystalizací.

Bližší podrobnosti způsobu podle vynálezu jsou patrné z následujících příkladů provedení.

Příklad 1

100 litrů vyfermentované půdy po kultivaci kmene *Streptomyces fradiae*, s obsahem báze tylosinu 1100 $\mu\text{g/ml}$, se upraví na hodnotu pH 6,8 a vysuší v rozprašovací sušárně. Získají se 3,3 kg jemně práškového produktu o účinnosti 32 400 mj/g , vztaženo na bázi tylosinu, což odpovídá 97 % výchozí aktivity vyfermentované půdy. 100 g získaného produktu se extrahuje za míchání 500 ml 80 %ního vodného acetonu 15 minut. Získaný extrakt se oddělí na tlakovém filtru s výtěžkem 400 ml. Slabě na-

žlutlý filtrát se odbarví aktivním uhlím a odpaří ve vakuu. Získá se 3,9 g odparku surového tylosinu o účinnosti 302 mj/mg , což odpovídá výtěžku 74,3 % vztaženo na vysušenou půdu.

Příklad 2

100 g vysušené půdy z příkladu 1 se extrahuje 2x po 300 ml 90 %ního vodného n-propanolu. Spojené extrakty po odbarvení 2 g aktivního uhlí a přísadě 0,5 g D-vinné kyseliny poskytnou po zahuštění vakuovou azeotropickou destilací surový vinan tylosinu o účinnosti 540 mj/mg .

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob izolace antibiotika tylosinu z vyfermentované živné půdy po ukončené kultivaci produkčního kmene *Streptomyces fradiae*, vyznačující se tím, že se vyfermentovaná živná půda s hodnotou pH 6,5 až 7,5 nejprve vysuší v rozprašovací sušárně, získaný práškový koncentrát extrahuje bezvodým nebo vodným polárním nebo semipolárním organickým rozpouštědlem nebo směsí těchto rozpouštědel, zejména alkanolem s 1 až 4 atomy uhlíku nebo alifatickým ketonem s 3 až 6 atomy uhlíku, načež se extrakt zpracuje na bázi nebo sůl tylosinu.
2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako extrakčního činidla používá 90 %ního vodného n-propanolu.
3. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako extrakčního činidla používá 80 %ního vodného acetonu.