

2

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

49555

Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 05.VII.1963 (P 102 074)

Pierwszeństwo: _____

Opublikowano: 14.VI.1965

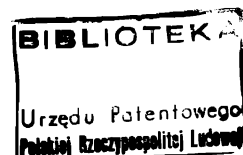
Kl. 30h, 6

MKP C 12 d

UKD

9/14.

Twórca wynalazku: mgr inż. Zbigniew Kotula
Właściciel patentu: Instytut Antybiotyków, Warszawa (Polska)



Sposób oczyszczania antybiotyków zasadowych za pomocą jonitów

1
Wynalazek dotyczy sposobu oczyszczania stężonych roztworów antybiotyków zasadowych takich jak streptomycyna, wiomycyna, kanamycyna, otrzymywanych na drodze fermentacyjnej.

Dotychczasowe metody oczyszczania antybiotyków zasadowych za pomocą jonitów polegają na ich sorpcji na jonitach karboksylowych w formie sodowej, a następnie na elucji rozcieńczonym kwasem lub zasadą. Otrzymany elut poddaje się następnie dalszemu oczyszczaniu np. przez odmineralizowanie go na kationicie sulfonowym. Dowex 50 W w formie kwaśnej. Uzyskany kwaśny wyciek zobojętnia się wodą barową lub anionitem i odbarwia się węglem aktywnym. Według metod opisanych w opisach patentowych Stanów Zjednoczonych Ameryki nr 2765302 (1956) i nr 2868779 (1959) do eluatu zawierającego obok znacznej ilości kationów streptomycyny, niewielkie ilości kationów wapnia, magnezu i innych wielowartościowych metali dodaje się węglanu sodu i ługu sodowego doprowadzając pH roztworu do wartości 8,7 w celu wytrącenia węglanu wapnia, a następnie sól sodową kwasu etylenodwuaminoczworoocowego dla ilościowego związania jonów wapnia, magnezu i innych wielowartościowych metali w formę kompleksową, po czym ponownie adsorbuje się na kationicie Amberlit IRC-50. Otrzymany drugi eluat odmineralizowuje się na kationicie sulfonowym Amberlit IR-120 i anionicie Amberlit IR-45.

Według opisu patentowego NRD nr 18098 (1960)

2
eluat oczyszcza się przepuszczając go przez urządzenie, którego wypełnienie stanowi zarówno kationit sulfonowy w formie wodorowej, jak też anionit w formie hydroksylowej, po czym po zagęszczeniu eluatu w wyparce, odbarwia się go wodą chlorową.

We wszystkich wyżej opisanych metodach do oczyszczania roztworów stosuje się odbarwianie za pomocą węgla aktywnego, względnie wody bromowej lub chlorowej oraz odmineralizowanie za pomocą kationitów sulfonowych i anionitów. Odbarwianie za pomocą węgla prowadzi się trzy do czterech razy, za każdym razem tracąc pewną ilość antybiotyków zasorbowaną na węglu aktywnym. Węgiel aktywny wykorzystywany jest jednorazowo bez regeneracji i aktywacji.

W dotychczas opisanych metodach oczyszczania ogólna wydajność wyizolowanego gotowego produktu wynosi 65—70% licząc na zawartość antybiotyku w brzeczce.

Stwierdzono, że oczyszczanie roztworów antybiotyków zasadowych od soli nieorganicznych, substancji organicznych i związków barwnych można przeprowadzić za pomocą jonitów typu adsorpcyjnego lub amfoterycznego. Powyższe jonity pozwalają na prowadzenie oczyszczania roztworów antybiotyków zasadowych przy różnych wartościach pH. Ilość usuniętych substancji barwnych według oznaczeń kolorymetrycznych wynosi 80—95% w stosunku do barwy początkowej roztworu,

przy czym równocześnie następuje podwyższenie mocy uzyskanego antybiotyku o 10% w stosunku do produktu uzyskanego bezpośrednio z eluatu przed oczyszczeniem jonitem amfoterycznym lub adsorpcyjnym. Równocześnie przy stosowaniu tych jonitów do oczyszczania roztworów antybiotyków nie następuje sorpcja antybiotyków.

Według wynalazku postępuje się w ten sposób, że surowy eluat antybiotyku uzyskany w znany sposób przez sorpcję antybiotyku znajdującego się w brzezce na jonicie karboksylowym w formie wodorowej i następnie przez wymycie go rozcieńczonym kwasem, przepuszcza się przez zespół kolumn zawierających jonity amfoteryczne, lub adsorpcyjne, po czym oczyszczony już eluat podgęszcza się w wyparkach próżniowych a następnie zadaje się metanolem w celu wytrącenia antybiotyku.

Jako jonity amfoteryczne stosuje się np. Wofatyt E, Wofatyt EW, Decolorex AK 731, zaś jako adsorpcyjne Asmit 259, Duolite S-30, Decolorite.

Celem przygotowania jonitu amfoterycznego lub adsorpcyjnego do sorpcji zanieczyszczeń obecnych w eluatach antybiotyków zasadowych regeneruje się je najpierw 1 n kwasem solnym w ilości 5 objętości roztworu kwasu w stosunku do objętości jonitu, następnie przemywa się wodą zdemineralizowaną w ilości 15 objętości jonitu, po czym jonit regeneruje się 0,5 n roztworu ługu sodowego, lub węgla sodowego w ilości równej dziesięciokrotnej objętości jonitu, a w końcu przemywa się wodą zdemineralizowaną w ilości 15 objętości jonitu. Tak zregenerowany jonit aktywuje się 1 n kwasem solnym, lub siarkowym w ilości 0,5—1 objętości jonitu. Rodzaj użytego kwasu powinien być zgodny z rodzajem anionu zawartego w roztworze poddawany odbarwianiu. Następnie jonit przemywa się wodą zdemineralizowaną w ilości równej 1 objętości jonitu.

Sposób oczyszczania, według wynalazku, pozwala na skrócenie czasu oczyszczania antybiotyków zasadowych do dwóch etapów, to jest do etapu usuwania zanieczyszczeń organicznych i nieorganicznych oraz barwników podczas przepływu eluatu przez kolumny wypełnione odpowiednim jonitem amfoterycznym lub adsorpcyjnym oraz do krystalizacji z roztworu wodnoalkoholowego po uprzednim podgęszczeniu eluatu. W wyniku takiego postępowania wzrasta ilość otrzymanego gotowego produktu w stosunku do zawartości w przesączu brzezki do około 75—80%, przy równoczesnym znacznym obniżeniu kosztów zużycia surowców i zastosowaniu jednego rodzaju jonitu zamiast dwóch różnych jonitów.

Przykład I. Przesącz brzezki w ilości 20 m³, zawierający streptomycynę doprowadza się do pH = 7,0—7,5 i podaje się na zestaw kolumn zawierających po 150 l kationitu karboksylowego w formie sodowej. Przepływ przesączu brzezki reguluje się tak, żeby prędkość wynosiła nie więcej niż 500 l/godzinę. Po całkowitym nasyceniu jo-

nit streptomycyną, kolumnę starannie przemywa się wodą odmineralizowaną, a następnie eluuje antybiotyki kwasem siarkowym o stężeniu 0,5 n—2,0 n. Otrzymuje się 200—800 l eluatu o stężeniu 200—50 mg streptomycyny/ml, który podaje się na kolumnę zawierającą 100 l Wofatytu E lub 150 l jonitu Asmit 259, odpowiednio aktywowanego 1 n kwasem siarkowym, w ilości 1 objętość jonitu, z prędkością 0,8 l/minutę. Eluat po przejściu przez jonit amfoteryczny zawiera około 15% barwy początkowej, wobec czego podaje się go jeszcze raz na drugą świeżą kolumnę z 70 l Wofatytu E, lub 100 l Asmitu 259. W ten sposób otrzymuje się odbarwiony roztwór antybiotyku o stężeniu 40—160 mg streptomycyny/ml. Otrzymany roztwór podgęszcza się w wyparce próżniowej do stężenia 250 mg/ml i wkrapla do 1000 l metanolu. Wytrącony osad siarczanu streptomycyny, po odsączeniu i wysuszeniu ma moc 710—740 mcg/mg.

Przykład II. Przesącz brzezki zawierającej wiomycynę zobojętnia się do pH = 6,3—6,8 po czym podaje się na zastaw kolumn zawierających po 150 l kationitu karboksylowego — Wofatytu CP-300 w formie sodowej.

Przepływ brzezki reguluje się w ten sposób, żeby prędkość nie była większa niż 2000 l/godzinę. Po całkowitym nasyceniu jonitu wiomycyną, nasycony jonit przemywa się wodą odmineralizowaną, a następnie eluuje wiomycynę kwasem siarkowym o stężeniu 0,5 n—2,0 n. Otrzymuje się 250 litrów do 1000 litrów eluatu o stężeniu 20—80 mg wiomycyny/ml. Eluat wprowadza się na kolumnę zawierającą 50 l Wofatytu E lub 75 litrów Asmitu 259 odpowiednio aktywowanego 1 n kwasem siarkowym w ilości 1 objętość jonitu, z prędkością 0,5 l/minutę. Wyciek z kolumny jest bezbarwny i może być z niego krystalizowany siarczan wiomycyny z roztworu wodno-alkoholowego. Otrzymany krystaliczny siarczan wiomycyny ma moc 700—750 mcg/mg.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób oczyszczania antybiotyków zasadowych za pomocą jonitów, **znamienny tym**, że surowy eluat antybiotyku zasadowego jak streptomycyny, wiomycyny, kanamycyny i innych uzyskany w znany sposób przez sorpcję antybiotyku znajdującego się w brzezce na jonicie karboksylowym w formie sodowej i następnie przez wymycie go rozcieńczonym kwasem, przepuszcza się przez zespół kolumn zawierających jonity amfoteryczne jak Wofatyt E, Wofatyt EW, Decolorex AK 731 lub adsorpcyjne jak Asmit 259, Dulite S-30, Decolorite po czym z oczyszczonego eluatu po podgęszczeniu go, wytrąca się antybiotyki za pomocą metanolu.
2. Sposób oczyszczania według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jonity amfoteryczne lub adsorpcyjne aktywuje się roztworami kwasów nieorganicznych.

