



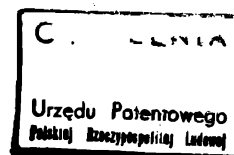
Patent dodatkowy
do patentu nr 113 855

Zgłoszono: 82 04 19 (P. 236034)

Pierwszeństwo _____

Zgłoszenie ogłoszono: 83 10 24

Opis patentowy opublikowano: 1986 09 25



Int. Cl.³ C12P 29/00

Twórcy wynalazku: Ryszard Heropolitański, Maria Stasiak, Barbara Mucha

Uprawniony z patentu: Instytut Chemii Przemysłowej, Warszawa;
Krakowskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfa”,
Kraków (Polska)

Sposób izolacji tetracyklin

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wydzielania tetracykliny z wodnego roztworu tej grupy związków znajdujących się w bulionie lub ługach uzyskanych po wytrąceniu tetracykliny stanowiący ulepszenie wynalazku według patentu nr 113855 w zakresie regeneracji sorbentów.

Tetracykliny stanowią grupę antybiotyków pokrewnych pod względem chemicznym, o zbliżonych właściwościach fizycznych. Podstawowymi antybiotykami tej grupy są: tetracyklina, oksytetracyklina i chlorotetracyklina. Antybiotyki te wytwarzane są na drodze biosyntezy w wyniku procesu fermentacyjnego. Z uzyskanej w takim procesie brzojki pofermentacyjnej po oddzieleniu biomasy pozostaje klarowna ciecz zwana bulionem, zawierająca rozpuszczalne w wodzie sole antybiotyku. Wynalazek dotyczy również wydzielania tetracykliny z ługów powstających w dalszych etapach produkcyjnych.

W patencie głównym nr 113 855 podano sposób izolacji tetracykliny polegający na przepuszczeniu bulionu bądź ługów po wytrąceniu tetracyklin mających odczyn kwaśny o pH 1,5—5,6 przez układ co najmniej dwóch kolumn pracujących szeregowo, z których pierwsza wypełniona jest anionitem, z grupami funkcyjnymi zablokowanymi anionem kwasu mineralnego, a następna makroporowatą żywicą niejonową. Większość smolistych substancji barwnych zostaje zasorbowana na anionicie, a antybiotyk wychwytywany jest na drugiej kolumnie

2

z niejonową żywicą sorpcyjną. Antybiotyki odzyskuje się z kolumny drugiej i ewentualnie następnych na drodze desorpcji selektywnej przemawiając sorbent 15—40% wodnym roztworem acetonu lub metanolu zakwaszonym kwasem mineralnym do pH 1—5. Po zdesorbowaniu antybiotyku przeprowadza się regenerację kolumny z anionitem oraz żywicą niejonową. Przy tym ważnym zagadnieniem jest również regeneracja złóż sorbentu, 10 której celem jest całkowite usunięcie z powierzchni sorbentów substancji smolistych w celu uzdatniania ich do następnych cykli wydzielania.

Regenerację sorbentów przeprowadza się przemawiając je acetonem bądź metanolem względnie 15 ich wodnymi roztworami, przy czym jako zalecenie podaje się zakwaszenie tych roztworów. Podczas wykonywania wielu prób stwierdzono, że opisana metoda regeneracji sorbentów nie pozwala na pełną ich regenerację. Na sorbentach regenerowanych tą 20 metodą pozostają pewne ilości substancji smolistych, które w kolejnych cyklach kumulują się zmniejszając wyraźnie ich pojemność sorpcyjną, dając równocześnie produkty bardziej zanieczyszczone. Po dłuższym okresie pracy następuje całkowite ich zablokowanie.

25 Stwierdzono jednak nieoczekiwanie, że pełną regenerację sorbentów, po wydzielaniu tetracyklin, od substancji żywcowatych osiąga się przemawiając je wodnymi roztworami acetonu bądź metanolu o zawartości do 80% rozpuszczalnika organicznego

z dodatkiem wodorotlenku sodu czy potasu lub amoniaku w ilości od 0,4 do 6% wagowych i następnie przemywając je wodą do odbicia rozpuszczalnika organicznego. Stwierdzono również, że złoże anionitu i żywicy sorpcyjnej po desorpcji antybiotyku można przemywać w każdym cyklu wodnym roztworem wodorotlenku sodowego lub potasowego bądź amoniaku o stężeniu 0,5 do 8% wagowych bez dodatku rozpuszczalników organicznych. Jednakże desorpcja substancji smolistych w tym przypadku nie jest całkowita i wymaga okresowego, co kilka do kilkunastu cykli, stosowania regeneracji z zastosowaniem wodnego roztworu acetonu lub metanolu o zawartości do 80% objętościowych rozpuszczalnika organicznego z dodatkiem 0,4 do 6% wagowych wodorotlenku sodowego lub potasowego bądź amoniaku. Korzystnie jest, jeżeli złoże anionitu i makroporowatej żywicy sorpcyjnej po regeneracji alkalicznej przemywa się wodnym roztworem kwasu nieorganicznego.

W tabeli 1 podano przykładowo desorpcję żywicy anionowymiennej po cyklu sorpcji substancji smolistych. Próby wykonywane były metodą statyczną przy zastosowaniu wodnego roztworu wodorotlenku sodowego o różnym stężeniu. Wyniki desorpcji podano określając barwę roztworu po desorpcji w procentach transmisji (%T). Im niższy procent transmisji, tym lepszy stopień desorpcji.

Tabela 1

Skuteczność desorpcji substancji smolistych wodnym roztworem wodorotlenku sodowego

Zawartość NaOH w roztworze % wagowy	Barwa roztworu po desorpcji % T	Zawartość NaOH w roztworze % wagowy	Barwa roztworu po desorpcji % T
0 (woda)	88	1,5	1
0,2	29	2,0	1
0,5	3	3,0	1,2
0,8	2	4,0	1,9
1,0	1,2	5,0	4,5
1,3	1,0	6,0	7,8

Z wyników zamieszczonych w tabeli 1 wynika, że najkorzystniej jest stosować wodny roztwór wodorotlenku sodowego o stężeniu 0,4 do 6% wagowych.

Sposób według wynalazku może być stosowany samodzielnie do izolacji tetracyklin z bulionu uzyskanego z brzojki po oddzieleniu biomasy bądź też jako metoda uzupełniająca przy istniejących innych metodach izolacji do wychwytywania i wydziałania resztek antybiotyków z ługów i ścieków produkcyjnych. Stosowanie sposobu według wynalazku umożliwia osiągnięcie wysokich wydajności procesu izolacji i oczyszczania i pełne zregenerowanie sorbentów przy równoczesnym zmniejszeniu zużycia rozpuszczalników organicznych.

Przykład I. Bulion po biosyntezie oksytetracykliny po odsączeniu biomasy, o pH 1,9 zawierający 5670 jdc/cm³ antybiotyku przepuszczano przez układ trzech kolumn. Pierwsza kolumna wypełniona była makroporowatą żywicą anionowymienną

w formie chlorkowej (Amberlit A-21). Dwie pozostałe kolumny wypełnione były makroporowatą żywicą sorpcyjną o właściwościach hydrofobowych typu: Amberlit XAD-4. Bulion przepuszczano przez układ kolumn z prędkością 4 objętości na objętość złożeń na godzinę. Po przepuszczeniu przez kolumny około 25 objętości cieczy licząc na objętość złożeń jednej kolumny, stwierdzono, że wyciek po kolumnie 2 zawierał 920 jdc/cm³ antybiotyku, natomiast wyciek po kolumnie 3—85 jdc/cm³. W tym momencie cykl sorpcji uznano za zakończony i kolumnę, która pracowała jako druga poddano desorpcji w celu odzyskania oksytetracykliny oraz zregenerowaniu powierzchni adsorbentu.

W celu desorpcji antybiotyku przez złoże kolumny przepuszczano od góry wodny roztwór acetonu o zawartości 30% acetonu zakwaszony kwasem siarkowym do pH 1,5. Po odebraniu około 2 objętości cieczy rozpoczęto odbieranie właściwej frakcji eluatu. Roztwór wodno-acetonowy przepuszczano z prędkością 1,5 objętości na objętość złożeń na godzinę. Ogółem przez złoże przepuszczono 1,5 objętości roztworu wodno-acetonowego licząc na objętość złożeń w kolumnie. Z frakcji eluatu zawierającego oksytetracyklinę wydzielono antybiotyki przez podwyższenie pH. W celu zregenerowania powierzchni sorbentów od zanieczyszczeń na kolumny od góry dozowano 1% wodny roztwór wodorotlenku sodowego. Każdą frakcję odbierano dołem kolumny, mieszano i oznaczano w niej pH oraz barwę w procentach transmisji.

W opisany sposób wykonano 4 cykle regeneracji tego samego sorbentu po kolejnych cyklach sorpcji. Po czwartej regeneracji stwierdzono zmniejszenie pojemności sorpcyjnej i obniżenie efektywności usuwania substancji smolistych. Po czterech cyklach sorpcji i regeneracji sorbent w kolumnie przemywano od góry 25% wodnym roztworem acetonu z dodatkiem 0,5% wodorotlenku sodowego. Po odebraniu 9 objętości złożeń sorbentu przemywano wodą do zaniku zapachu acetonu. Po tak przeprowadzonej regeneracji nie stwierdzono spadku pojemności sorpcyjnej sorbentu po kolejnych kilkunastu cyklach sorpcji i desorpcji.

Przykład II. Przez układ trzech kolumn podobnie jak w przykładzie I przepuszczano ługi po wytrąceniu technicznej tetracykliny o zawartości antybiotyku 810 jdc/cm³. Ługi przepuszczano z prędkością 5 objętości na objętość złożeń na godzinę do chwili, kiedy po drugiej kolumnie stężenie antybiotyku wynosiło 520 jdc/cm³. Nastąpiło to po przepuszczeniu 150 objętości cieczy, po czym drugą kolumnę odłączono od odzysku antybiotyku. Desorpcję tetracykliny przeprowadzono w sposób podobny jak w przykładzie I z tą różnicą, że stosowano wodno-acetonowy roztwór o zawartości 20% acetonu zakwaszony kwasem solnym do pH 1,5. Regenerację sorbentów wykonywano podobnie jak w przykładzie I z tą różnicą, że sorbenty przemywano 4% wodnym roztworem wodorotlenku sodowego w ilości 5 objętości na objętość złożeń sorbentu. Następnie sorbent przemyto 1% wodnym roztworem kwasu siarkowego. W opisany sposób wykonano 10 cykli regeneracji tych samych sorbentów po kolejnych cyklach sorpcji. Po dziesiątej regene-

racji przez sorbenty przepuszczano 60% wodny roztwór metanolu z dodatkiem 1% wodorotlenku potasowego. Po odebraniu 8 objętości złoże przemyto wodą do odmycia alkoholu metylowego. Tym sposobem uzyskano całkowitą regenerację powierzchni sorbentów.

Przykład III. Sorpcję i desorpcję tetracykliny wykonano identycznie jak w przykładzie II. Natomiast regenerację sorbentów przeprowadzono przemywając sorbenty 10% wodnym roztworem acetonu zalkalizowanym amoniakiem w ilości 2% wagowych. Wyraźnie jaśniejszy wyciek z kolumny osiągnięto po przepuszczeniu 4 objętości eluenta. Następnie sorbent przemyto wodą podobnie jak w przykładzie I. Osiągnięto pełną regenerację sorbentu nie obserwując spadku pojemności sorpcyjnej w następnych cyklach sorpcji i desorpcji.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób izolacji tetracyklin z wodnego roztworu soli tych związków znajdujących się w bulionie lub ługach uzyskanych po wytrąceniu tetracykliny przy użyciu żywic sorpcyjnych i jonowymiennych, w którym wodny roztwór soli tetracyklin mający odczyn kwaśny o pH 1,5—5,6 przepuszcza się przez złoże słabozasadowego anionitu, którego grupy funkcyjne są zablokowane anionem kwasu mineralnego, następnie z wycieku antybiotyków sorbuje się na złożu makroporowatej żywicy sorpcyjnej, po

czym desorbuje przemywając złoże 15—40% wodnym roztworem acetonu lub metanolu zakwaszonym do pH 1—5 i z eluatu wydziela się czysty związek znanym sposobem, a złoże sorbentów regeneruje się wodnymi roztworami acetonu lub metanolu według patentu nr 113 855, **znamienny tym**, że złoże anionitu i żywicy sorpcyjnej po desorpcji antybiotyku przemywa się wodnym roztworem acetonu lub metanolu o zawartości rozpuszczalnika organicznego do 80% objętościowych z dodatkiem wodorotlenku sodowego lub potasowego bądź amoniaku w ilości od 0,4 do 6% wagowych, po czym oba złoże przemywa się wodą do odmycia rozpuszczalnika organicznego.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że złoże anionitu i żywicy sorpcyjnej po desorpcji antybiotyku przemywa się w każdym cyklu wodnym roztworem wodorotlenku sodowego lub potasowego bądź amoniaku o stężeniu 0,5 do 8% wagowych, a co kilka do kilkunastu cykli wodnym roztworem acetonu lub metanolu o zawartości rozpuszczalnika organicznego do 80% objętościowych z dodatkiem 0,4 do 6% wagowych wodorotlenku sodowego lub potasowego ewentualnie amoniaku.

3. Sposób według zastrz. 1 albo 2, **znamienny tym**, że po regeneracji alkalicznej złoże anionitu i makroporowatej żywicy sorpcyjnej przemywa się wodnym roztworem kwasu nieorganicznego.