



[B] (11) **KUULUTUSJULKAISU** 77265  
**UTLÄGGNINGSSKRIFT**

C (45) Patentti julkistettu  
Patentti julkaisti 10.08.1980

(51) Kv.lk.<sup>4</sup>/Int.Cl.<sup>4</sup> C 12 P 19/46, C 07 H 17/00,  
C 07 K 15/14

**SUOMI-FINLAND**

(FI)

**Patentti- ja rekisterihallitus**  
**Patent- och registerstyrelsen**

(21) Patentihakemus - Patentansökning	832931
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	15.08.83
(23) Aikupäivä - Giltighetsdag	15.08.83
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	17.02.84
(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	31.10.88
(86) Kv. hakemus - Int. ansökan	
(32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus - Begärd prioritet	16.08.82
USA(US) 408369 Toteennäytetty-Styrkt	

(71) American Cyanamid Company, Wayne, New Jersey, USA(US)

(72) Jack Peter Waite, Fareham, Hampshire, Iso-Britannia-Storbritannien(GB)

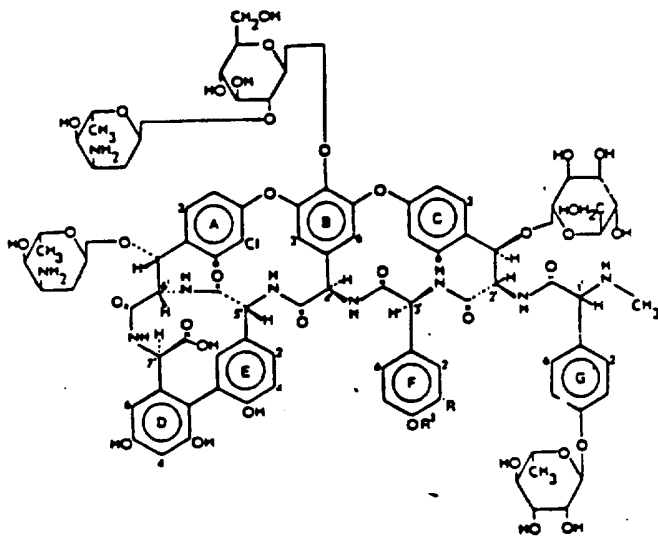
(74) Oy Kolster Ab

(54) Menetelmä suuritehoisen, myseelittömän avoparsiinin alkyylisulfaattikompleksin valmistamiseksi - Förfarande för framställning av ett högeffektivt myceliefritt avoparcinalkyylsulfatkomplex

(57) Tiivistelmä

Keksintö koskee eläinten rehun lisäaineena käytettävää suuritehoista myseelittöntä avoparsiinin alkyylisulfaattikompleksia, joka on olennaisesti vapaa mainitun antibiootin fermentointibiosynteesissä muodostuneista, väriltään tummista orgaanisista johdannaisista, sekä menetelmä sen valmistamiseksi.

Avoparsiinin kaava on

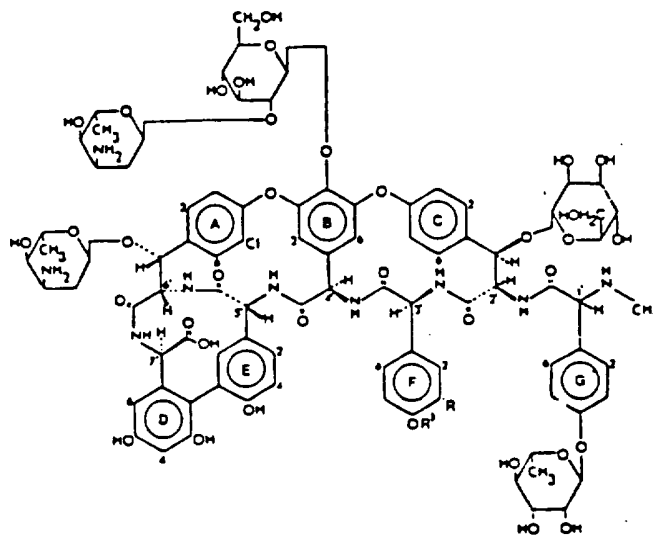


$\alpha$ -avoparsiini R' = R = vety

$\beta$ -avoparsiini R' = vety, R = kloori.

## (57) Sammandrag

Uppfinningen hänför sig till ett som tillsatsmedel i djurfoder användbart högeffektivt, myceliefritt alkylsulfatkomplex av avoparcin, vilket är väsentligen fritt från mörkfärgade organiska derivat som bildats vid fermentationsbiosyntesen av nämnda antibiotikum, samt till ett förfarande för framställning av detsamma. Avoparcinet har formeln



vari för  $\alpha$ -avoparcin  $R' = R =$  väte och  
för  $\beta$ -avoparcin  $R' =$  väte och  $R =$  klor.

Menetelmä suuritehoisen, myseelittömän avoparsiinin alkyylisulfaattikompleksin valmistamiseksi

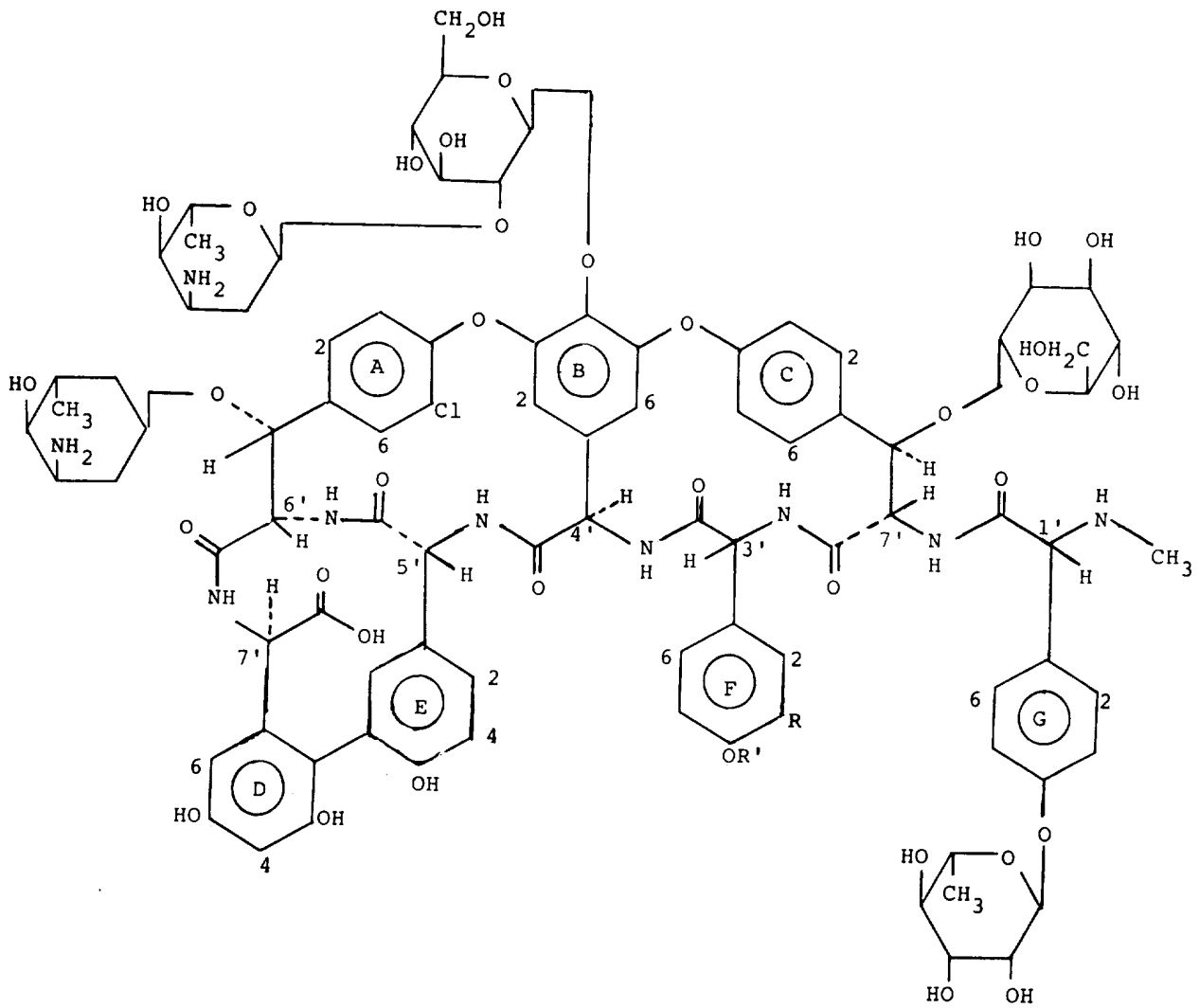
Avoparsiini on tärkeä kaupallisesti saatava anti-  
5 biootti, jota käytetään lihaa tuottavien eläinten ruokin-  
nassa niiden kasvunopeuden kiihdyttämiseksi. Tämä anti-  
biootti valmistetaan yleensä fermentointimenetelmällä ja  
se koostuu olennaisilta osiltaan kahdesta vesiliukoises-  
ta glykopeptidistä, joihin seuraavassa viitataan avopar-  
10 siinin  $\alpha$ - ja  $\beta$ -komponentteina. Näitä komponentteja on  
käsitelty seuraavissa julkaisuissa:

W. J. McGahren et al., Structure of Avoparcin Components,  
Journal of the American Chemical Society, 102 (1980, s.  
1671; ja Avoparcin, Journal of the American Chemical  
15 Society, 101 (1979), s. 2237.

On myös tunnettua valmistaa antibioottien komp-  
lekseja synteettisten parkitusaineiden, alkalimetalli-  
alkyyylisulfaattien ja dioktyylisulfosukkinaattisuolojen  
kanssa (ks. EP-hakemusjulkaisu 3 644 ja US-patenttijul-  
20 kaisu 3 856 937 ja 3 950 515).

Avoparsiinin (AV 290) rakennetta havainnolliste-  
taan seuraavassa kuvassa I.  $\alpha$ -komponentilla on konfigu-  
raatio, joka on esitetty kuvassa I, jossa R' ja R kumpi-  
kin on vety ja  $\beta$ -komponentti on samanlainen, paitsi et-  
25 tä R' on vety ja R on kloori.

Kuva I



$\alpha$ -avoparsiini  
 $\beta$ -avoparsiini

$R' = R = \text{vety}$   
 $R' = \text{vety}, R = \text{kloori}$

Eläinrehun lisäaineena käytettynä avoparsiinia (kuvan I antibiootti) on yleensä annettu mainituille eläimille niiden rehussa tai sen mukana alkyylisulfaattikompleksina yhdessä koko sen valmistuksessa muodostuneen massan kuivattujen kiinteiden aineiden kanssa. Käytännössä tätä tuotetta on saatu menetelmällä, joka käsittää (1) antibioottia sisältävän, fermentointiprosessista saadun koko tuotemassan tekemisen happamaksi; (2) happamaksi tehdyn, koko tuotemassan käsittelyn suodatusapuaineella ja alkalimetallialkyylisulfaattilla; (3) näin käsitellyn, happamaksi tehdyn massan suodattamisen ja (4) talteenotettujen kiinteiden aineiden kuivaimisen; nämä kiinteät aineet koostuvat avoparsiinialkyylisulfaattikompleksista, suodatusapuaineesta, huovastosta ja muista liukenemattomista käymistuotteista. Vaikkakin näin valmistettua tuotetta on käytetty tehokkaasti eläinten kasvunopeuden kiihdyttämiseen lähes vuosikymmenen ajan ilman, että olisi rapotoitu ei-toivotuista sivuvaikutuksista tai toksisuusongelmista, rajoittaa tämän huovastoa sisältävän tuotteen suhteellisen alhainen teho jossain määrin antibiootin markkinoitavuutta ja fysikaalisia muotoja, joina sitä voidaan käyttää. Tästä syystä on aloitettu melko laaja tutkimusohjelma suuritehoisen, myseelittömän avoparsiinin käytännöllisen ja kaupallisesti käyttökelpoisen tuotantomenetelmän kehittämiseksi.

Vaikkakin alalla esitetään, että avoparsiinin alkyylisulfaattikompleksia voidaan saada viimeisteltynä muotona, joka ei sisällä huovastoa, eivät nämä menetelmät valitettavasti ole täysin tyydyttäviä laajennettuna siihen mittaan, että avoparsiinin alkyylisulfaattikompleksia voitaisiin tuottaa määriä, jotka tarvitaan lihantuotantoteollisuudessa. Niitä rajoittavat pidentyneet suodatusajat sekä huomattavat energian ja/tai polttoaineen kulumäärät, jotka ovat tarpeen, jotta saavutetaan riittävä kuivuusaste kuivan, stabiilin tuotteen aikaansaamiseksi. Lisäksi on laajennetussa mitassa toteutetulla menetelmällä valmistetun avoparsiinin alkyylisulfaattikom-

leksin fysikaalisessa muodossa ja ulkonäössä toivomisen varaa.

5 Yllättäen on nyt havaittu, että fermentointimene-  
telmässä, jossa avoparsiini-antibioottia muodostuu, syn-  
tyy myös väriltään tummia orgaanisia johdannaisia, jot-  
ka näyttävät olevan yllä mainittujen ongelmien ensisi-  
jainen syy. Ne vaikeuttavat suodattamista, aiheuttavat  
tervamaisten möhkäleiden muodostumista avoparsiinin  
alkyyli-sulfaattisakkaan ja ehkäisevät talteenotettavan  
10 tuotteen kuivumista.

Vaikkakin edellä esitetty koskee avoparsiini-  
antibioottia, ovat muita antibiootteja, joita voidaan  
valmistaa alkyylisulfaattikomplekseina, emäksiset anti-  
biootit kuten BM 123, BM 123 gamma, gentamysiini ja  
15 aminoglykosidit, joihin kuuluvat streptomysiini ja neo-  
myysiini. Näitä antibiootteja voidaan valmistaa esitetyillä  
biosynteettisillä käymistekniikoilla ja muuttaa vastaa-  
viksi alkyylisulfaattikomplekseihin menetelmällä, joka  
on olennaisesti sama kuin edellä avoparsiinin alkyyli-  
sulfaattikompleksien valmistamiseksi kuvattu. Mainit-  
20 tujen antibioottien alkyylisulfaattikompleksien valmis-  
tukseen ja käyttöön liittyvät ongelmat ovat kuitenkin  
oleellisesti samat kuin avoparsiinin alkyylisulfaatti-  
kompleksien tuotantoon ja käyttöön liittyvät. Vastaavasti  
25 niihin voidaan soveltaa yllä määriteltyjen antibioottien  
alkyyli-sulfaattikompleksien valmistusmenetelmän parannuk-  
sia.

Tämän keksinnön kohteena on siten saada aikaan  
suuritehoinen, myseelitön antibiootin alkyylisulfaatti-  
30 kompleksi, joka on käytännöllisesti katsoen vapaa anti-  
biootin fermentoinnissa muodostuneista, väriltään tummis-  
ta orgaanisista johdannaisista, menetelmällä, joka on käy-  
tännöllinen ja kaupallisesti käyttökelpoinen. Keksinnön

mukaisella menetelmällä näihin haluttuihin tuloksiin päästään siksi, että antibioottikompleksin talteenot-  
tamiseksi tavallisesti tarvittava pitkäikäinen suodatusaika  
lyhenee merkittävästi, tervamaisten möhkäleiden muodos-  
5 tuminen saostuneeseen avoparsiinin alkyylisulfaatti-  
kompleksiin eliminoituu ja halutun tuotteen kuivaami-  
seen tarvitaan vain minimimäärä energiaa ja/tai poltto-  
ainetta.

Tämän keksinnön mukaisen menetelmän mukaan koko  
10 fermentoinnissa muodostunutta, avoparsiiniantibioottia  
sisältävää massaa käsitellään sopivalla mineraalihilapolla,  
edullisesti rikkihapolla, suolahapolla tai fosfori-  
hapolla, niin että pH tulee alueelle 1,9-2,3. Happamak-  
si tehty massa suodatetaan antibioottia sisältävän suo-  
15 doksen erottamiseksi käymismassan liukenemattomista ainek-  
sista, joihin sisältyy huovasto. Suodatusapuaineita ku-  
ten esimerkiksi piimaata voidaan käyttää apuna suodatuk-  
sessa, mutta tämä ei ole keksinnön mukaiselle menetelmäl-  
le olennaista. Suodatinkakku pestään yleensä vedellä sii-  
20 hen tarttuneen antibiootin poistamiseksi kakusta ja täs-  
tä saatu suodos yhdistetään alkuperäisestä erotuksesta  
saatuun suodokseen. Sekoitettuun happamaan suodokseen  
lisätään sitten noin 5-50 grammaa, edullisesti 7,5-40 gram-  
maa tehokkaasti adsorboivaa hienojakoista epäorgaanista  
25 adsorbenttia litraa kohti hapanta suodosta. Adsorbentteja,  
jotka ovat käyttökelpoisia selektiivisesti adsorboimaan  
tummat orgaaniset johdannaiset antibioottia sisältävän  
massan happamasta suodoksesta samalla kun antibioottia  
poistuu suodoksesta vähän tai sitä ei poistukaan,  
30 ovat magnesium-pioksidikoostumukset, joissa  $\text{SiO}_2$ :n  
suhde  $\text{MgO}$ :iin on välillä 2,2:1 - 6,5:1, ja aktiivihiili.  
Adsorbentin tehokkaimman hyväksikäytön saavuttamiseksi  
on havaittu, että valitun adsorbentin keskimääräisen

hiukkasksoon tulisi olla alueella noin 2,0-15 mikronia. Magnesium-piiksidikoostumuksiin, joita voidaan käyttää esillä olevan keksinnön menetelmässä, kuuluvat attapulgiitti, magnesiumtrisilikaatti ja synteettinen hydratoitu magnesium-piiksidikoostumus, jota Johns Manville markkinoi nimellä Celkate T-21.

Massasta saadun happaman suodoksen ja adsorbentin seosta sekoitetaan 14-45 minuuttia, minkä jälkeen seos suodatetaan, erottuneet kiinteät aineet pestään vedellä, jonka pH on säädetty alueelle 1-3 vahvalla mineraalihapolla, edullisesti rikkihapolla tai suolahapolla, ja saadut suodokset säästetään jatkokäsittelyä varten. Pestyt kiinteät ainekset voidaan heittää pois tai ne voidaan käsitellä ammoniakkin vesiliuoksella, pestä vedellä ja ottaa talteen kierrätystä varten.

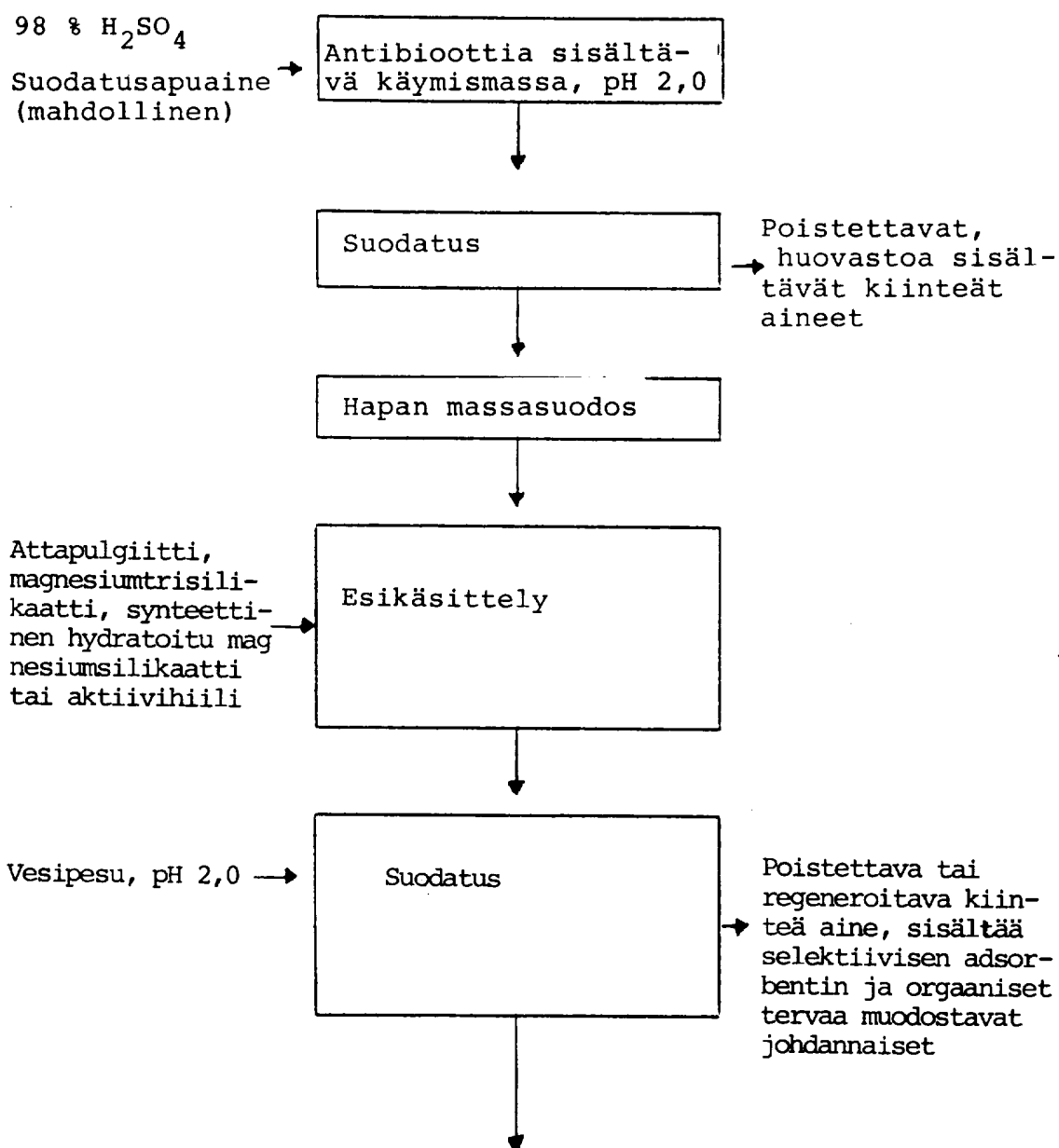
Yllä kuvatusta menetelmävaiheesta saatua suodosta, joka on olennaisesti vapaa väriltään tummista orgaanisista johdannaisista ja adsorbentista, käsitellään sitten vesiliuoksella, joka sisältää noin 10-20 % kaupallista laatua olevaa alkalimetallialkyyli-sulfaattia, jolla on kaava  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{SO}_2-\text{OM}$ , jossa n on kokonaisluku 9-17, ja M on natrium tai kalium, tai näiden seosta. Seuspensioon lisätty määrä alkalimetallialkyyli-sulfaattia on alueella 0,50-1,5 g ja edullisesti 0,7-0,9 g alkalimetallialkyyli-sulfaattia grammaa kohti antibioottia. Suspensio väkevöidään millä tahansa sopivalla tavalla, kuten suodattamalla tai laskeuttamalla ja dekantamalla saostuneiden, antibiootin alkyyli-sulfaattikompleksin sisältävien kiinteiden ainesten erottamiseksi emäliuoksesta. Sakkaa käsitellään sitten ammoniakkin vesiliuoksella sen pH:n säätämiseksi välille 6,5-9,0 ja edullisesti noin pH-arvoon 8,0 ja kuivataan sen jälkeen, jolloin saadaan kuiva, stabiili antibiootin alkyyli-sulfaattikompleksi, joka on olennaisesti vapaa antibiootin fermentoinnin aikana muodostuneesta huo-  
vastosta ja tummista orgaanisista johdannaisista ja jonka

77265

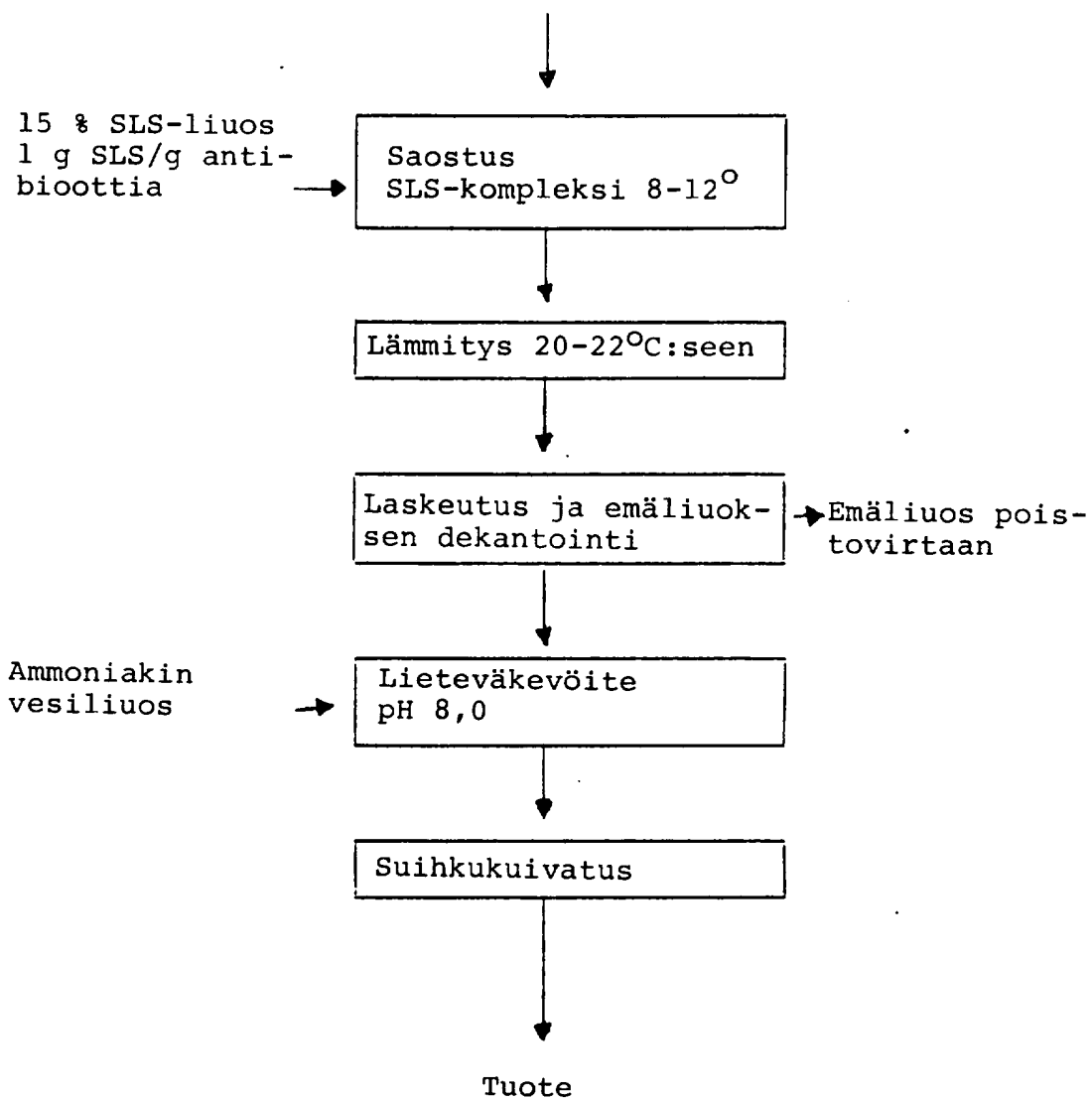
antibioottinen teho on alueella 34-45 %. Tämä kuiva sta-  
biili tuote voidaan sekoittaa syötäväksi kelpaaviin kanto-  
aineisiin lopullisen eläinrehuvalmisteen aikaansaamiseksi.

5        Sopiviin kantoaineisiin, joita voidaan käyttää lo-  
pullisten eläinrehuvalmisteiden valmistukseen, kuuluvat:  
soijajauho, sinimailasjauho, maissijauho, urea, melassi  
ja niiden kaltaiset kantoaineet.

Yllä esitettyä menetelmää havainnollistetaan seu-  
raavassa graafisesti juoksukaaviossa I.

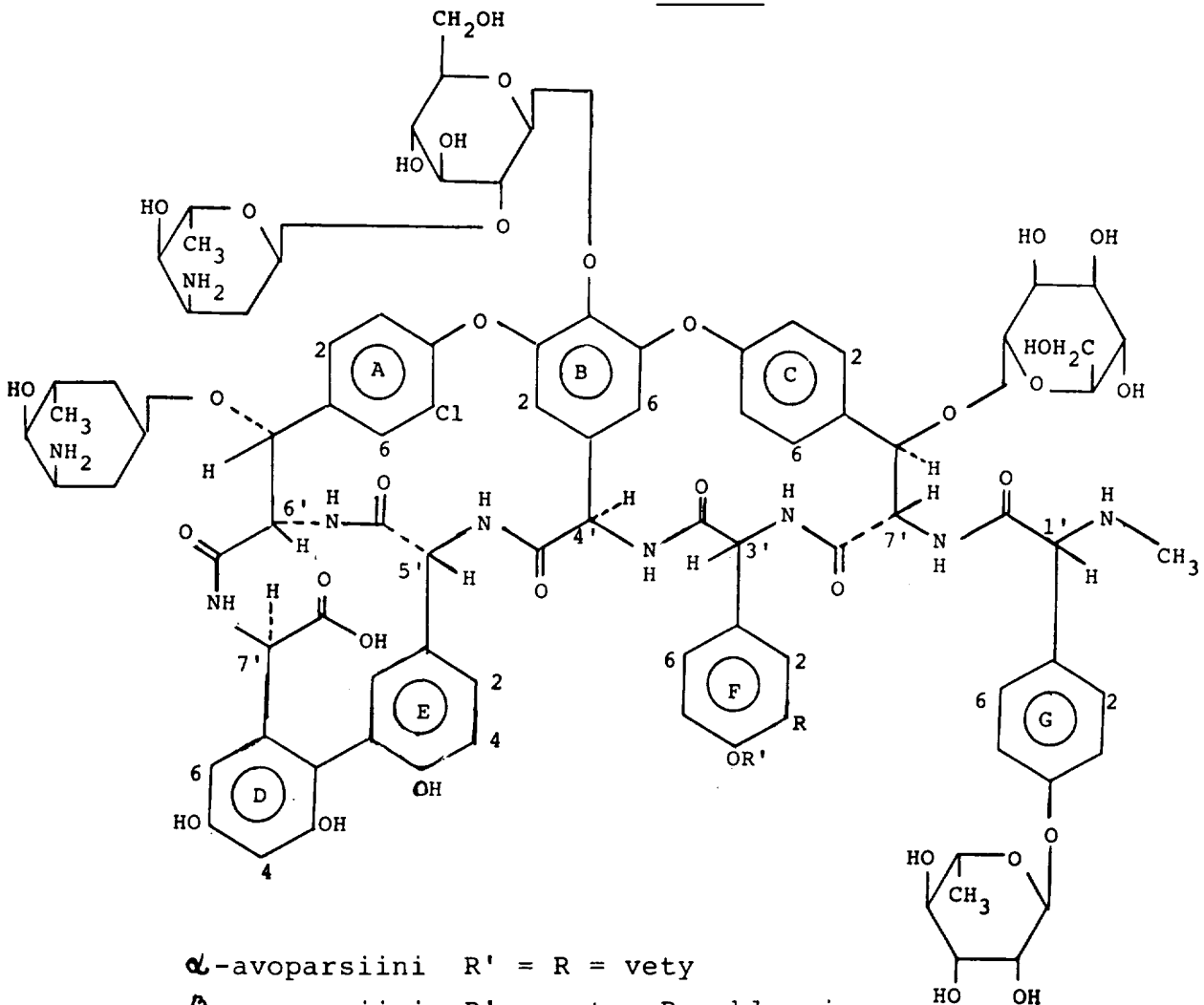
Juoksukaavio I

(jatkuu..)

Juoksukaavio I (jatkoa)

Tämän keksinnön mukainen menetelmä on erityisen tehokas avoparsiinin alkyylisulfaattikompleksin valmistamiseksi. Sen mukaisesti tehdään happamaksi koko fermentointituotteena muodostunut massa, joka sisältää antibioottia, joka on esitetty seuraavassa kuvassa I:

Kuva I



30

35

Koko fermentointituotteena muodostunutta massaa käsitellään sopivalla mineraalihakolla, edullisesti rikkihapolla, niin että sen pH tulee alueelle 1,9 - 2,3 ja edullisesti alueelle 2,1 - 2,3. Muita sopivia mineraalihappoja ovat: fosforihappo ja suolahappo. Happamaksi tehty massa suodatetaan sitten millä tahansa sopivalla tavalla, kuten esim. pyörivällä tyhjösuoitimella. Pieni määrä tavanomaista suodatusapuainetta voidaan lisätä happamaksi tehtyyn massa suodatuksen helpottamiseksi, mutta se ei ole

oleellista eikä erityisen toivottavaa tässä kuvatussa, edullisessa keksinnön mukaisessa menetelmässä. Tästä käsittelystä saatava suodos sisältää pääosan massan happaman suodoksen sisältämästä antibiootista ja se johdetaan säilytysastiaan jatkokäsittelyä ja talteenottoa varten.

Tästä suodatuksesta saatua kiinteää ainesta nimetään primaarikakuksi. Se sisältää käytännöllisesti katsoen kaiken liukenemattoman aineksen fermentointimassasta sekä vähäisen määrän siihen tarttunutta antibioottia. Kiinnitarttuneena jäljellä olevan antibiootin talteenottamiseksi primaarikakku lietetään veteen ja käsitellään mineraalihakolla, edullisesti rikkihapolla, lietteen pH:n säätämiseksi alueelle 2,1-2,3. Sen jälkeen liete suodatetaan millä tahansa sopivalla tavalla, kuten pyörivällä tyhjösuoitimella. Tästä suodatuksesta saatu suodos yhdistetään alkuperäisestä suodatuksesta saatuun suodokseen ja saatu kiinteä aines, joka sisältää antibioottifermentoinnissa muodostuneen huovaston, poistetaan jäännöskakuna.

Yhdistettyihin happamiin suodoksiin, jotka sisältävät antibiootin ja antibioottifermentoinnissa muodostuneita tummia orgaanisia johdannaisia, lisätään voimakkaasti selektiivisesti adsorboivaa epäorgaanista kiinteää ainetta, kuten attapulgiittia, magnesiumtrisilikaattia tai synteettistä hydratoitua magnesium-piidioksidikoostumusta, jota Johns Manville markkinoi nimellä Celkate T-21. Näiden adsorbenttien  $\text{SiO}_2:\text{MgO}$ -suhde on alueella 2,2:1-6,5:1 ja keskimääräinen hiukkaskoko alueella 2-15 mikronia ja edullisesti 2,9-10 mikronia.

Vaihtoehtoisesti voidaan adsorbenttina käyttää sopivan asteista aktiivihiiltä. Edullisia adsorbentteja ovat kuitenkin: attapulgiitti, magnesiumtrisilikaatti ja synteettinen hydratoitu magnesium-piidioksidikoostumus. Lisätty määrä on yleensä alueella 5-50 grammaa ja edullisesti 7,5-40 grammaa adsorbenttia litraan hapanta massasuodosta.

Hapanta suodoksen ja adsorbenttin muodostamaa seosta sekoitetaan noin 15-45 minuuttia ja edullisesti noin 30 minuuttia, jotta adsorbentti adsorboi selektiivisesti tummat orgaaniset johdannaiset (so. tummat orgaaniset väriaineet, jotka aiheuttavat tervamaisten möhkäleiden muodostumista avoparsiinin alkyylisulfaattisakkaan). Mikäli on tarpeen, lisätään käsiteltävään happamaan suodosseokseen mineraalihappoa, edullisesti rikkihappoa seoksen pH:n pitämiseksi alueella 1,9-2,3 ja edullisesti noin 2,0:na.

Vanhentamisen jälkeen seos suodatetaan, pestään happamaksi tehdyllä vedellä (OH 2,0) ja kiinteät aineet, jotka sisältävät käytetyn adsorbenttin sekä orgaanisia tervamaisia aineosia, poistetaan systeemistä. Käytännössä voidaan kiinteät hukka-aineet poistaa jätteenä tai ne voidaan käsitellä ammoniakkin vesiliuoksella tummien orgaanisten johdannaisten liuottamiseksi ja adsorbenttin talteenottamiseksi uudelleen käyttöä varten.

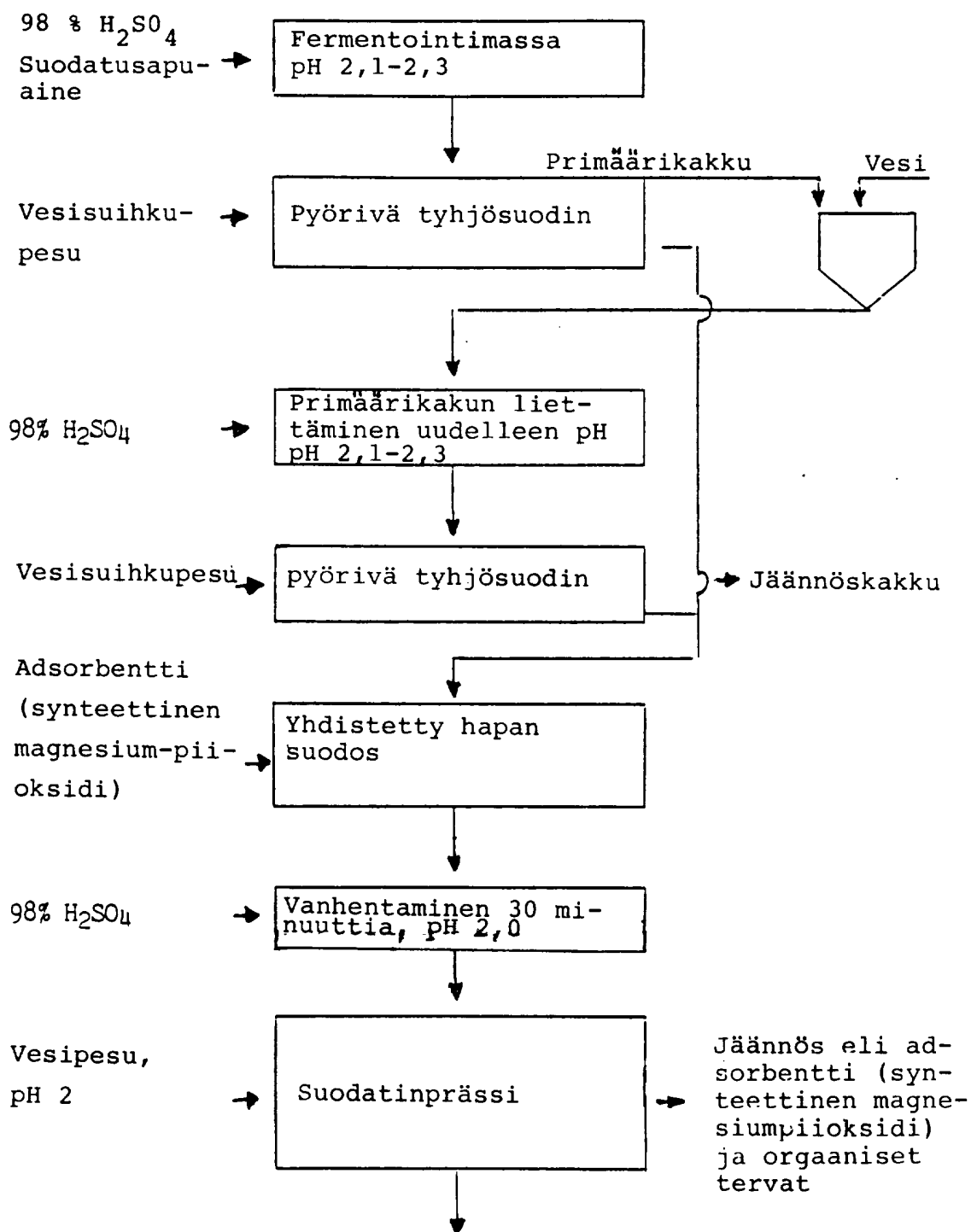
Hapan suodos, joka ei sisällä huovastoa eikä tummia orgaanisia johdannaisia, jäähdytetään sen jälkeen noin 5°C:n ja 15°C:n väliseen lämpötilaan ja edullisesti 10-12°C:seen. Vesiliuos, joka sisältää noin 10-20 paino-% ja edullisesti 14-15 paino-% kaupallista laatua olevaa alkalimetallialkyylisulfaattia, lisätään hitaasti suodokseen ja näin muodostetun sakan annetaan vanheta sekoitetaan noin 0,5-1,5 tuntia. Vanhentamisvaiheen kuluessa alkalimetallialkyylisulfaatin ja suodoksen muodostaman seoksen lämpötilan annetaan nousta noin 20°C:seen. Sen jälkeen annetaan kiinteiden aineiden laskeutua seoksessa ja liuos poistetaan sitten dekantoimalla tai muulla tavantomaisella tavalla.

Antibioottia sisältävään suodokseen lisättävän alkalimetallialkyylisulfaatin määrä on alueella 0,50-1,5 grammaa ja edullisesti 0,75-1,0 grammaa alkalimetallialkyylisulfaattia grammaa kohti happamasta massasuodoksesta mitattua kuvan I mukaisen avoparsiini-antibiootin aktiivisuutta.

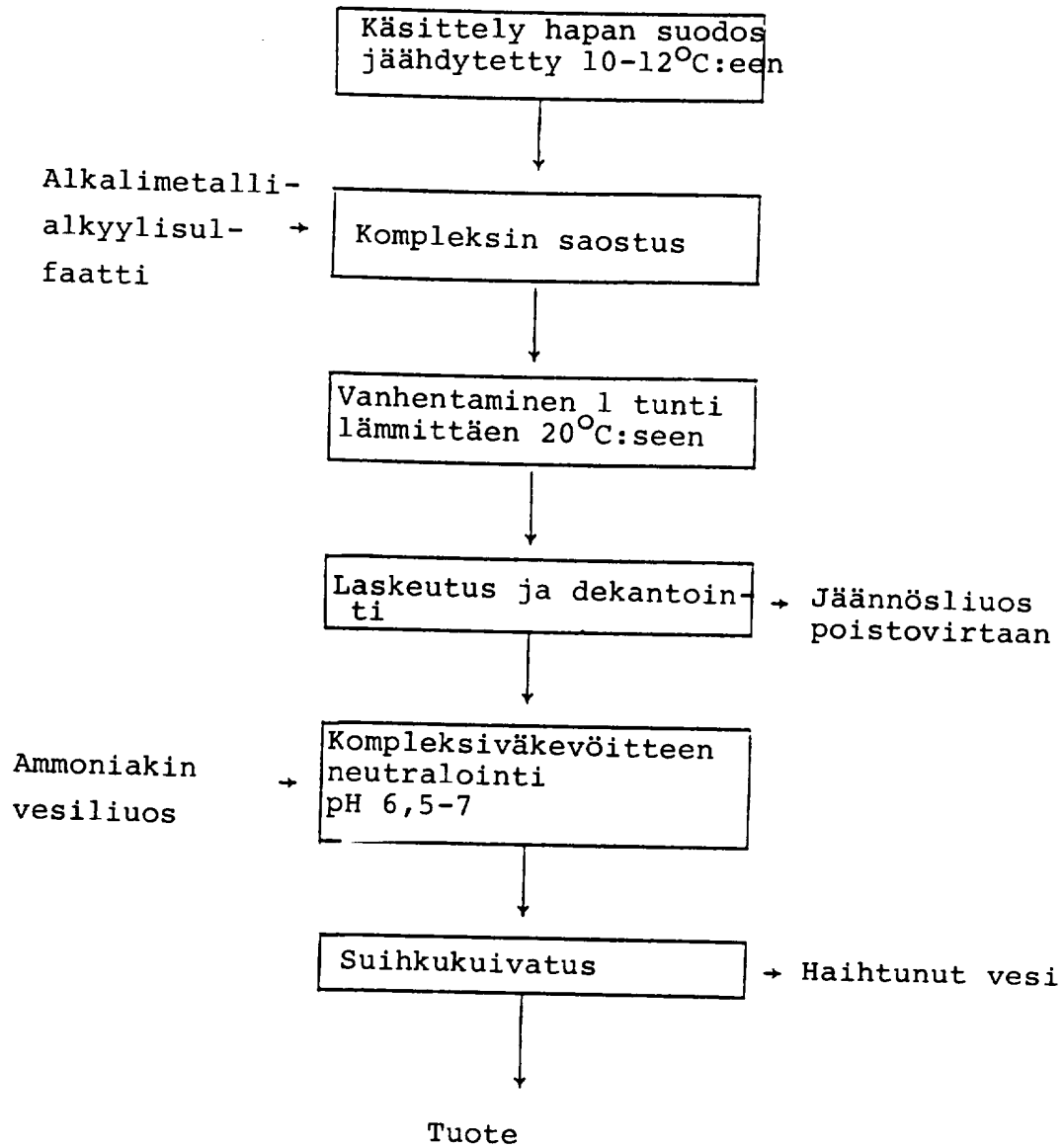
Kuten edellä esitettiin, keksinnön mukaisessa menetelmässä käytetään alkalimetallialkyyylisulfaatteja, joilla on yleinen kaava  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{SO}_2-\text{OM}$ , jossa n on kokonaisluku 9-17 ja M on natrium tai kalium. Tyypillisiä tällaisia alkalimetallialkyyylisulfaatteja, joita voidaan käyttää, ovat esim. natriumdekyylisulfaatti, kaliumhendekyyylisulfaatti, natriumlauryylisulfaatti, kaliumtridekyylisulfaatti, natriummyristyyylisulfaatti, kaliumpentadekyylisulfaatti, natriumsetyyylisulfaatti, kaliumheptadekyylisulfaatti ja natriumoktadekyylisulfaatti. Voidaan käyttää myös alkalimetallialkyyylisulfaattien seoksia, kuten natriumhendekyyylisulfaatin ja kaliumoktadekyylisulfaatin seosta; kaliumdekyylisulfaatin ja natriumheptadekyylisulfaatin seosta; kaliumlauryylisulfaatin ja kaliumsetyyylisulfaatin seosta; natriumtridekyylisulfaatin, kaliummyristyyylisulfaatin ja natriumpentadekyylisulfaatin seosta ja näiden kaltaisia seoksia. Kun käytetään alkalimetallialkyyylisulfaattien seoksia, saadaan vastaava antibiootin alkyyylisulfaattikompleksien seos.

Yllä esitetystä käsittelystä saatu laskeutettu liete, joka sisältää antibiootin alkyyylisulfaattikompleksin, neutraloidaan sitten ammoniakkin vesiliuoksella ja neutraloitu liete kuivataan millä tahansa tavanomaisella tavalla, kuten esimerkiksi suihku- tai jäädytyskuivauksella, jolloin saadaan tuote. Tuotteen antibioottinen teho on noin 31-45 % ja se on likimain 300-400 % tehokkaampi kuin avoparsiinituotteita sisältävä biomassa ja noin 100-200 % tehokkaampi kuin avoparsiinin alkyyylisulfaattikompleksit, joita saadaan samantapaisilla menetelmillä, jotka menetelmät eivät kuitenkaan sisällä tummien orgaanisten johdannaisten poistamista avoparsiinia sisältävän massan happamista suodoksista ennen käsittelyä alkalimetallialkyyylisulfaatilla.

Tätä menetelmää havainnollistetaan seuraavassa graafisesti juoksukaaviossa II.

Juoksukaavio IITervaton ja myseelitön avoparsiini

(jatkuu...)

Juoksukaavio II (jatkoa)

Tätä keksintöä havainnollistetaan edelleen seuraavassa esitetyillä esimerkeillä.

Esimerkki I

5 Antibioottisen avoparsiinin lauryylisulfaattikompleksin saostaminen happamasta käymismassasuodoksesta

Sarja tuotantokäymismassoja, jotka sisälsivät avoparsiini-antibioottia, säädettiin pH-alueelle 2,0-2,3, 98 %:sella rikkihapolla ja suodatettiin käyttäen Dicalite-  
10 esipäälyllytettyä Buchner-suodinta. Natriumlauryylisulfaatin 14 %:ista vesiliuosta lisättiin hitaasti 1 litran näytteeseen hapanta suodosta. Lisäyksen alkuvaiheessa muodostui hieno, gelatiinimainen sakka, jota oli käytännöllisesti katsoen mahdotonta erottaa suodattamalla tai  
15 linkoamalla. Erottaminen voitiin suorittaa vain käyttäen kohtuuttoman korkeatasoisia suodatusapukeinoja. Lisäksi avoparsiinin lauryylisulfaattikompleksin saavuttaessa 90 %:n tason alkoivat hiukkaset kasaantua ja tulivat koostumukseltaan tervamaisiksi. Lisättäessä edelleen  
20 natriumlauryylisulfaattia, kun saostuminen oli yli 80 %:nen, hiukkaset höytylöityivät ja kasaantuivat sitten suuriksi, puoliksi nestemäisiksi, tervamaisiksi möhkäleiksi. Tyydyttävää menetelmää lauryylisulfaattikompleksin erottamiseksi näistä tervamaisista möhkäleistä ei keksitty.

25 Esimerkki II

Antibioottisen avoparsiinin lauryylisulfaattikompleksin saostaminen happamasta käymissuodoksesta kalsiumkarbonaatin läsnäollessa

Esimerkin 1 menettely toistettiin, paitsi että  
30 käytettiin 3-5 litran näytteitä happamasta käymismassasuodoksesta ja happamaan käymismassasuodokseen, jonka pH oli 2, lisättiin 15-20 grammaa  $\text{CaCO}_3$ .  $\text{CaCO}_3$  liukeni osittain ja liuoksen pH nousi alueelle 4,1-4,3. Seosten

pH säädettiin uudelleen arvoon 2-2,1 rikkihapolla. Tapahtui täydellinen liukeneminen ja kalsiumsulfaatti alkoi saostua jokseenkin hitaasti seoksen vanhetessa. Kuhunkin näytteeseen lisättiin natriumlauryylisulfaatin 14 %:ista vesiliuosta ja kussakin näytteessä havaittiin kalsiumsulfaatin ja avoparsiinin lauryylisulfaatin rinnakkaissaostuminen. Aluksi sakan havaittiin kussakin näytteessä olevan homogeeninen ja kaikilla oli hyvät suodatusominaisuudet. Havaittiin kuitenkin, että vanhennettaessa näytteitä 30 minuuttia alkoi kaikissa lietteissä esiintyä erottumista. Antibioottikompleksi kasautui kaikissa näytteissä ja erottui tervamaisiksi möhkäleiksi, joista kompleksi ei ollut helposti talteenotettavissa.

### Esimerkki III

Antibioottisen avoparsiinin lauryylisulfaattikompleksin saostaminen happamasta käymismassasuodoksesta kalsiumhydroksidin läsnäollessa

Esimerkin 1 menettely toistettiin taas, paitsi että käytettiin 3-5 litran näytteitä happamasta käymismassasuodoksesta ja happamaan käymismassasuodokseen, jonka pH oli 2, lisättiin  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Happamia käymismassasuodoksia käsiteltiin kalsiumhydroksidin 20 %:isella vesilietteellä ja säädettiin tämän avulla pH alueelle 7-9. Sitten lisättiin 14 %:ista natriumlauryylisulfaattiliuosta ja pH säädettiin hyvin hitaasti arvoon 2,0 lisäämällä 98 %:ista rikkihappoa. Muodostuu sakka, joka sisältää avoparsiinin lauryylisulfaattikompleksia ja on aluksi homogeeninen ja helposti suodatettavissa. Kuitenkin samoin kuin edellisessäkin esimerkissä tapahtuu kompleksin erottuminen tervana, kun seoksen annetaan seistä lyhyt aika, so. noin 30 minuuttia. Tuote otettiin talteen ja tutkittiin antibioottitehon suhteen. Mainitun tuotteen tehon havaittiin olevan alueella 17-22 %. Saadut tulokset on esitetty seuraavassa.

<u>Koe n:o</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>Keskiarvo</u>
Pitoisuus, hapan massasuodot g/l	13,64	12,00	10,45	10,45	11,64
g SLS/g avoparsiinia käsitellyssä happamassa suodoksessa	0,69	0,82	1,0	1,0	0,88
<u>% teho</u>					
Käsitelty suodot/suihkukuivattu tuote	98,8	96,9	102,9	93,8	98,1
Kaikkiaan	90,0	91,1	98,0	87,6	91,8
Pitoisuus, suihkuivattu tuote, % 'd.b.'	21,68	20,6	18,7	17,45	19,6

Kun näitä tuloksia verrataan tuloksiin, jotka saatiin tämän keksinnön mukaista menetelmää käytettäessä, so. esimerkkeihin 7-9, havaitaan, että keksinnön mukaisella menetelmällä saavutetaan 100-200 %:n parannus talteenotetun avoparsiinin lauryylisulfaattikompleksin tehossa verrattuna yllä esitetyillä menetelmillä saavutettuun.

#### Esimerkki IV

Antibioottisen avoparsiinin lauryylisulfaattikompleksin saostaminen happamasta käymismassasuodoksesta käyttäen mukana erilaisia hienojakoisia kiinteitä adsorbentteja

Näissä kokeissa koko käymistuotteena muodostunut massa, joka sisälsi avoparsiiniantibiootin, huovaston ja kaikki käymisprosessin aikana muodostuneet aineosat, suodatettiin. Hapan suodos jaettiin sitten tilavuudeltaan saman kokoiseksi näytteiksi ja eri näytteitä käsiteltiin hienojakoisella attapulgiitilla, bentoniitilla, montmorilloniitilla, jauhetulla selluloosalla, magnesiumtrisilikaatilla tai synteettisellä hydratoidulla magnesium-piiksidikoostumuksella, joita käytettiin 50 g/l, sekä 14 paino-% natriumlauryylisulfaattia sisältävällä vesiliuoksella, jota käytettiin sellainen määrä, että natriumlauryylisulfaattia oli 1,0 grammaa happamasta käymismassasuodoksesta mitattua avoparsiiniantibiootin yhtä grammaa kohti. Seoksia sekoitettiin 30 minuuttia antaen avoparsiinin lauryylisulfaatin muodostua ja sen jälkeen niiden annettiin laskeutua. Kussakin tapauksessa havaittiin, että saostuneisiin kiinteisiin aineisiin muodostui tummanruskeita tervamaisia kasaumia. Tällaisenaan menettely oli epätydyttävä.

#### Esimerkki V

Antibioottisen avoparsiinin lauryylisulfaattikompleksin valmistus happamasta käymismassasuodoksesta, joka on esikäsitelty erilaisilla hienojakoisilla kiinteillä adsorbenteilla

Näissä kokeissa suodatettiin koko happamaksi tehty,

käymistuotteena muodostunut massa, joka sisälsi avopar-  
siinantibiootin, huovaston ja kaikki käymisprosessin  
aikana muodostuneet aineosat. Hapan suodos jaettiin  
sitten tilavuudeltaan saman kokoiseksi näytteiksi, ja  
5 eri näytteitä käsiteltiin hienojakoisella attapulgiitilla,  
bentoniitilla, montmorillonitilla, jauhetulla selluloosalla,  
magnesiumtrisilikaatilla tai synteettisellä mag-  
nesium-pioksidikoostumuksella, joita käytettiin 50 g/l.  
Kutakin seosta sekoitettiin 30 minuuttia ja suodatettiin  
10 sitten. Jokaisesta seoksesta otettiin kiinteä aine tal-  
teen ja sen väri tutkittiin.

Tässä arvostelussa adsorbentit, jotka adsorboivat  
merkittäviä määriä tervanmuodostaja-aineosia happamasta  
käymismassasuodoksesta, tulevat väriltään tummanruskeik-  
15 si. Lisäksi pestäessä nämä adsorbentit ammoniakkin vesi-  
liuoksella tervanmuodostaja-aineosat liukenevat pesuliuok-  
seen ja värjäävät sen tummanruskeaksi palauttaen kiin-  
teälle adsorbentille sen luonnollisen ulkonäön.

Näissä kokeissa havaittiin, että käymismassasuo-  
doksissa, jotka oli käsitelty attapulgiittilla, magne-  
siumtrisilikaatilla ja synteettisellä hydratoidulla mag-  
nesium-pioksidikoostumuksella, oli erittäin merkittävä  
värin väheneminen. Käymismassasuodoksissa, jotka oli kä-  
sitelty bentoniitilla, montmorillonitilla tai jauhetulla  
25 selluloosalla, ei kuitenkaan ollut lainkaan huomattavaa  
värinmuutosta.

Lisäksi attapulgiitti, magnesiumtrisilikaatti ja  
synteettiset hydratoidut magnesium-pioksidikoostumuk-  
set, jotka otettiin talteen yllä esitetyistä käsittelyis-  
30 tä olivat tummanruskeita kun taas mainituista käsitte-  
lyistä talteenotetut bentoniitti, montmorillonitti ja  
jauhettu selluloosa olivat käytännöllisesti katsoen muut-  
tumattomia alkuperäiseen väriinsä nähden. Täten havait-  
tiin yllättävästi, että attapulgiitti, magnesiumtrisili-  
35 kaatti ja synteettiset hydratut magnesium-pioksidikoos-  
tumukset ovat erittäin selektiivisiä adsorbentteja tervaa

muodostaville aineosille, joita esiintyy kokonaisuudessaan happamaksi tehdyssä antibiootin fermentointimassassa.

5 Osia edellä käsitellyistä happamista käymismassasuodoksista käsiteltiin sitten vesiliuoksella, joka sisälsi 14 paino-% natriumlauryylisulfaattia. Natriumlauryylisulfaattia lisättiin niin paljon, että kuhunkin näytteeseen saatiin 1,0 grammaa happamasta käymismassasuodoksesta mitattua avoparsiiniantibioottia.

10 Saostuneet kiinteät aineet kaikissa happamissa käymismassasuodoksissa, jotka oli esikäsitelty attapulgiitilla, magnesiumtrisilikaatilla tai synteettisellä hydratoidulla magnesium-piiksidikoostumuksella, olivat kermanvärisiä eikä saostuneissa avoparsiinin lauryylisulfaattikomplekseissa esiintynyt lainkaan kasautumista tai tervanmuodostusta. Happamista käymismassasuodoksista, jotka oli esikäsitelty bentoniitilla, jauhetulla selluloosalla tai montmorilloniitilla, saatiin kuitenkin suklaanruskeita sakkoja, jotka sisälsivät tervamaisia kasau-  
20 mia.

Yllä esitetyistä tuloksista voidaan nähdä, että attapulgiitti, magnesiumtrisilikaatti ja synteettinen hydratoitu magnesium-piiksidikoostumus ovat odottamattoman tehokkaita selektiivisiä adsorbentteja kokonaisuudessaan happamaksi tehdyn antibioottifermentointimassan sisältämille orgaanisille tervaa muodostaville aineosille, ja etteivät bentoniitti, montmorilloniitti ja jauhettu selluloosa ole selektiivisiä tähän tarkoitukseen.

30 Seuraavassa esitetyistä tuloksista voidaan myös nähdä, että selektiivisten adsorbenttien  $\text{SiO}_2:\text{MgO}$ -suhde on alueella 2,2:1-6,5:1 kun taas ei-selektiivisillä tehottomilla adsorbenteilla suhde  $\text{SiO}_2:\text{MgO}$  on 16,4:1 tai tätä suurempi.

Selektiivisten ja ei-selektiivisten adsorbenttien kemiallinen koostumus

% koostumuksesta yhdisteenä	Symteettinen hydratoitu magnesium-pioksidi-koostumus	Attapulgiitti	Magnesiumtri-silikaatti	Bentoniitti	Montmorillonitti
SiO <sub>2</sub>	65,5	68,0	68,5	64,17	68,96
MgO	14,9	10,5	31,5	3,90	1,53
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4,0	12,0	-	17,14	11,67
CaO	0,4	1,7	-	1,48	1,47
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	1,1	5,0	-	4,81	6,28
Muita	14,1	2,8	-	-	-
Suhde SiO <sub>2</sub> :MgO	4,4:1	6,5:1	2,2:1	16,4:1	45,0:1

Antibioottikäymismassa happaman suodoksen tervaa muodostaville aineosille selektiivisinä adsorbentteina käyttökelpoisten attapulgiitin ja synteettisen hydratoitun magnesium-piidoksidikoostumuksen tärkeät fysikaaliset ominaisuudet.

Fysikaalinen ominaisuus	Synteettinen hydratoitu magnesium-piioksidikoostumus	Attapulgiitti
-------------------------	--	---------------

Keskimääräinen hiuk-

10	kaskoko, mikroneja	10	2,9 (95% hienompaa kuin 10)
	Ominaispaino	2,41	2,45
	Pinta-ala, m <sup>2</sup> /g	180,0	125,0
	Massatiheys, g/cm <sup>3</sup>	0,205	0,224

15 Esimerkki VI

Tehokkuuden määrittäminen adsorbenteista, jotka ovat käyttökelpoisia tervaa muodostavien aineosien selektiiviseen poistamiseen antibioottikäymismassan happamasta suodoksesta tämän antibioottipitoisuuden vähetessä vähän tai säilyessä muuttumatta

Seurattiin edellä juoksukaavion I yhteydessä kuvattua menettelyä ja käsiteltiin sekoittaen näytteitä avoparsiinikäymismassan happamasta suodoksesta (pH 2,0) eri määrillä kutakin tutkittavaa adsorbenttia. Käsitellyt suodoksia sekoitettiin 30 minuuttia ja suodatettiin siten adsorbentin poistamiseksi ja sen seikan tutkimiseksi, poistivatko adsorbentit selektiivisesti orgaaniset tervaa muodostavat aineosat avoparsiinikäymismassan happamasta suodoksesta.

Yllä esitetystä käsittelystä saatujen suodosten värit mitattiin optisella vertailuvärimittarilla Hazen-standardiväreihin verrattuna ja suodosten avoparsiinipitoisuus mitattiin suurpaine-nestekromatografialla (HPLC).

Saadut tulokset on esitetty alla.

Adsorbentti	Käsittelypitoisuus (g/l)	Suodoksen väri, Hazen-yksiköjä (laimennettu vedellä 2:1)	Suodoksen avoparsiinipitoisuus, HPLC (g/l)
Käsittelemätön hapan suodos	-	500	10,20
Attapulgiitti-	10,0	350	9,76
jauhe	20,0	300	9,56
	30,0	200	9,22
	40,0	150/200	9,13
Attapulgiitti-	10,0	400	9,89
rakeet 30/60	20,0	350	9,59
	30,0	300	9,50
	40,0	200	9,35

Adsorbentti	Käsittelypitoisuus (g/l)	Suodoksen väri, Hazen-yksikköjä (laimennettu vedellä 2:1)	Suodoksen avoparsiinipitoisuus, HPLC (g/l)
Synteettinen hydratoitu magnesiumioksidikoostumus	10,0	450	10,17
	20,0	400	10,24
	30,0	350	10,22
	40,0	300	10,27
Aktiivihili	2,5	400	10,18
	5,0	350	10,09
	7,5	200	9,90
	10,0	150/200	9,78

Esimerkki VIIAvoparsiinin lauryylisulfaattikompleksin valmistus  
happamasta käymismassasuodoksesta

5           Kahta 2,5 litran näytettä hapanta avoparsiinifer-  
mentoinnin käymismassasuodosta (pH 2), josta huovasto oli  
poistettu suodattamalla, sekoitettiin yhdessä synteettisen  
magnesium-piiksidikoostumuksen kanssa 15 minuuttia. Kä-  
siteltyjen seosten pH säädettiin uudelleen arvoon 2,0 ja  
seosten vanhentamista jatkettiin vielä 15 minuuttia. Syn-  
10           teettinen hydratoitu magnesium-piiksidikoostumus (SHMSC)  
suodatettiin sitten pois ja pestiin 500 ml:lla vettä,  
jonka pH oli säädetty arvoon 2,0 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:llä.

            Suodokset yhdistettiin ja käsiteltiin natriumlau-  
ryylisulfaatin 14 %:isella vesiliuoksella, mikä aiheut-  
15           ti kermanvärisen avoparsiinilauryylisulfaatin saostumi-  
sen. Sakassa ei havaittu erottumista eikä tervaa muodos-  
tavia kasautumia.

            Avoparsiinilauryylisulfaattikompleksi väkevöitiin  
dekantoimalla ja tuote saatiin suihkukuivaamalla liete,  
20           joka oli neutraloitu pH-alueelle 6,5-7,0 ammoniakkin vesi-  
liuoksella. Näistä kokeista saadut tulokset on esitetty  
alla.

Koe numero	1	2
SHMSC, g/l	40,0	50,0
Määritetty pitoisuus, käymismassan hapan suodos, g/l	16,68	16,68
5 g SLS/g avoparsiinia käsitellyssä happamassa suodoksessa	0,82	0,85
<u>Teho, %</u>		
Käymismassan hapan suodos/käsitelty suodos	100,0	99,6
10 Käsitelty suodos/suihkukuivattu tuote	<u>92,35</u>	<u>92,3</u>
Kaikkiaan	92,35	91,9
Määritetty pitoisuus, suihkukuivattu tuote, % 'd.b.'	<u>38,0</u>	<u>36,4</u>
15 SLS = natriumlauryylisulfaatti		
SHMSC = synteettinen hydratoitu magnesium-piiksidikoostumus		

Esimerkki VIII

20 Menetelmä myseelittömän ja tervattoman avoparsiinin lauryylisulfaattikompleksin valmistamiseksi, täydellisenä fermentoinnissa muodostuneesta massasta suihkukuivatuksi tuotteeksi

25 Tehtiin sarja valmistuskokeita sen seikan selvittämiseksi, mitkä ovat tehoarvot kokonaisprosessissa fermentoinnissa muodostuneesta massasta suihkukuivatuksi, myseelittömäksi, tervattomaksi tuotteeksi. Tässä tutkimuksessa käytetty menetelmä on havainnollistettu edellä juoksukaaviossa II.

30 Kaikissa tapauksissa massan uutto suoritettiin pH:ssa 2,0 (98 %:inen rikkihappo) ja primaarikakku uutettiin uudelleen käyttäen 600 ml vettä lähtöaineena käytetyn massan kilogrammaa kohti. Saatua yhdistettyä hapanta suodosta (CAF) käsiteltiin synteettisellä hydratoidulla magnesium-piiksidikoostumuksella (SHMSC) pH:ssa 2,0, suodatettiin ja suotimelle jäänyt aines pestiin vedellä

35 pH:ssa 2,0 (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

Avoparsiini-lauryylisulfaattikompleksi saostettiin käsitelystä happamasta suodoksesta (TAF) samalla menettelyllä kuin edellä on kuvattu juoksukaavion II yhteydessä. Kompleksiliete väkevöitiin laskeuttamalla ja dekanttoimalla, väkevöite neutraloitiin (pH 6,5-7) ammoniakin vesiliuoksella ja suihkukuivattiin, jolloin saatiin tuote.

Yhteenvedo kolmen valmistuksen sarjasta on esitetty alla.

10

Fermentointimassa, panos n:o	3	4	5	Keskiarvo
Uutettu massamäärä, kg	1	1	1	-
Määritetty massan pitoisuus, g/kg	14,08	17,34	14,77	-
Teho, %:				
Massa/CAF	90,0	92,8	91,0	91,2
CAF/TAF	96,5	100,0	98,0	98,2
TAF/suihkukuivattu tuote	96,3	94,4	95,9	95,5
Kokonaismassa/suihkukuivattu tuote	93,6	87,6	85,5	85,6
g SLS/g avoparsiinia TAF:ssa	1,19	0,91	0,94	1,01
Määritetty pitoisuus suihkukuivatussa tuoteessa, % 'd.b.'	34,6	41,2	34,8	36,9

#### Esimerkki IX

Menetelmä myseelittömän ja tervattoman avoparsiinilauryylisulfaattikompleksin valmistamiseksi, täydellisenä fermentointimassasta suihkukuivatuksi tuotteeksi

30

Tässä kokeessa käytettiin menetelmää, joka on kuvattu edellä juoksukaavion II yhteydessä.

Koko avoparsiinin fermentoinnissa muodostunut massa tehtiin happamaksi pH-arvoon 2,0 98 %:isella  $H_2SO_4$ :llä ja suodatettiin käyttäen pyörivää tyhjösudinta huovaston erottamiseksi antibioottia sisältävästä suodoksesta.

35

Kuuden litran erää happamasta käymismassasuodoksesta (pH 2,0) käsiteltiin sitten synteettisellä hydratoidulla magnesiumioksidikoostumuksella, jota käytettiin 50 g/l, ja säädettiin pH uudelleen arvoon 2,0.

5 Käytetty adsorbentti suodatettiin pois ja poistokakku pestiin 1 litralla vettä, jonka pH oli 2,0 ( $H_2SO_4$ ). Suodoksen ja talteenotetun pesuliuoksen kokonaistilavuus oli 6,6 litraa.

10 Kompleksi saostettiin lisäämällä hitaasti 650 ml 15 %:ista "todellista" ("treal") natriumlauryylisulfaattia lämpötilassa 8-10°C. Muodostunut liete lämmitettiin hitaasti 22°C:seen samalla sekoittaen.

15 Lietteen annettiin laskeutua 30 minuuttia, minkä jälkeen 5,26 litraa käytännöllisesti katsoen kirkasta emäliuosta dekantoitiin pois.

Jäljelle jäänyt lietetiiviste neutraloitiin ammoniakkin vesiliuoksella ja suihkukuivattiin tuotteen talteenottamiseksi.

<u>Määritetty pitoisuus</u>	<u>g/l</u>
20 Alkuperäinen hapan massasuodos	12,70
Käsitelty hapan suodos	11,49
<u>Tehokkuus</u>	<u>%</u>
Hapan massasuodos/käsitelty suodos	99,5
Käsitelty suodos/dekantoitu liuos	3,1
25 Käsitelty suodos/suihkukuivattu tuote	97,85
Kaikkiaan	97,36
Avoparsiini-tasapaino	101,45
g SLS/g avoparsiinia käsitellyssä suodoksessa	1,285
Määritetty pitoisuus suihkukuivatussa tuotteessa,	
30 % 'd.b.'	30,6

Näissä määrityksissä todettiin, että synteettinen hydratoitu magnesiumioksidikoostumus oli erittäin tehokas poistamaan orgaanisia tervaa muodostavia aineosia antibiootin käymismassan happamasta suodoksesta. Havait-

5 tiin myös, että suodoksessa olevien orgaanisten tervaa muodostavien aineosien poistaminen ennen käsittelyä alkalimetallialkyyli-sulfaattilla eliminoi tervojen kasaantumisen saostettuun antibiootin lauryylisulfaattikompleksiin ja että voitiin päästä melkein kvantitatiiviseen avoparsiinin talteenottoon tämän keksinnön mukaisella menetelmällä.

## Patenttivaatimukset

1. Menetelmä suuritehoisen, myseelittömän, anti-  
biootin fermentoinnissa muodostuneita tummia orgaanisia  
5 johdannaisia oleellisesti sisältämättömän avoparsiini-  
alkyyli-sulfaattikompleksin valmistamiseksi, joka menetel-  
mä käsittää seuraavat vaiheet:

a) valmistetaan fermentointiliemi tekemällä koko  
fermentoinnissa muodostunut massa happamaksi pH-arvoon  
10 1,9 - 2,3 farmaseuttisesti hyväksyttävällä hapolla ja  
suodattamalla happamaksi tehty massa happaman, olennai-  
sesti myseelittömän ja liukenemattomia fermentointituot-  
teita sisältämättömän suodoksen aikaansaamiseksi,

b) lisätään happamaksi tehtyyn suodokseen, josta  
15 kiinteä adsorbentti ja tummat orgaaniset johdannaiset on  
poistettu, kompleksin muodostavaa ainetta, joka on yhdis-  
teitä, joiden kaava on  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{SO}_2-\text{OM}$ , jossa n on  
kokonaisluku 9 - 17 ja M on natrium tai kalium, tai näi-  
den seosta, kunnes riittävä määrä antibiootin alkyylisul-  
20 faattikompleksia on muodostunut,

c) väkevöidään alkalimetallialkyylisulfaatilla kä-  
sitellyssä happamaksi tehdyssä liemessä olevat kiinteät  
aineet ja erotetaan jäljellä oleva liuos kiinteistä ai-  
neista, jotka sisältävät antibiootin alkyylisulfaatti-  
25 kompleksin,

d) käsitellään kiinteitä aineita, jotka sisältävät  
antibiootin, ammoniakkin vesiliuoksella pH:n säätämiseksi  
välille 6,5 - 9,0 ja sen jälkeen kuivataan muodostunut  
seos,

30 t u n n e t t u siitä, että valmistettuun happamaan  
suodokseen lisätään suodoksen yhtä litraa kohti 5 - 50 g  
tehokkaasti adsorboivaa hienojakoista adsorbenttia, joka  
on magnesium-piiksidikoostumus, jossa suhde  $\text{SiO}_2:\text{MgO}$  on  
välillä 2,2:1 - 6,5:1, tai aktiivihiiltä, joka adsorboi  
35 selektiivisesti antibioottifermentaatiossa muodostuneita  
tummia orgaanisia johdannaisia; näin muodostunutta seosta  
sekoitetaan 15 - 45 minuuttia ja kiinteä adsorbentti ja  
tummat orgaaniset johdannaiset erotetaan antibioottia si-

sältävästä happamasta suodoksesta, suuritehoisen, myseellittömän, olennaisesti antibiootin fermentoinnissa muodostuneita tummia orgaanisia johdannaisia sisältämättömän antibioottialkyyli-sulfaattikompleksin saamiseksi.

- 5           2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u   siitä, että adsorbentti on attapul-  
giitti, magnesiumsilikaatti tai synteettinen hydratoitu  
magnesium-piiksidikoostumus, jonka keskimääräinen  
hiukkaskoko on 2 - 15 mikronia, ja alkalimetallialkyyli-  
10   sulfaatti on natriumlauryylisulfaatti.

## Patentkrav

1. Förfarande för framställning av ett högeffektivt myceliefritt avoparcinalkylsulfatkomplex, vilket är  
5 väsentligen fritt från mörkfärgade organiska derivat, vilka bildats vid fermentationen av antibiotikumet, vilket förfarande omfattar följande steg:

a) man bildar en fermentationsvätska genom surgörande av hela den vid fermentationen bildade massan  
10 till ett pH av 1,9 - 2,3 medelst en farmakologiskt godtagbar syra, och filtrering av den surgjorda massan för erhållande ett surt filtrat väsentligen fritt från mycelium och vid fermentationen bildade olösliga produkter,

b) man tillsätter i det surgjorda filtratet, från  
15 vilket den fasta adsorbenten och de mörkfärgade organiska derivaten avlägsnats, ett komplexbildande medel av föreningar med formeln  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{SO}_2-\text{OM}$ , vari n är ett heltal 9 - 17 och M är natrium eller kalium, eller en blandning därav, tills en tillräcklig mängd av antibiotikumets alkylsulfatkomplex åstadkommit,

c) man koncentrerar det fasta materialet i den med alkalimetallalkylsulfat behandlade, surgjorda vätskan och separerar återstoden av lösningen från de fasta materialen, vilka innehåller antibiotikumets alkylsulfatkomplex,

d) man behandlar antibiotikumet innehållande fasta  
25 materialen med vattenhaltig ammoniak för inställande av pH-värdet i området 6,5 - 9,0 och torkar sedan den bildade blandningen,

k ä n n e t e c k n a t därav, att i det framställda  
30 sura filtratet tillsätts per en liter filtrat 5 - 50 g av en effektivt absorberade finfördelad adsorbent, vilken är en magnesium-kiseloxidkomposition med förhållandet  $\text{SiO}_2:\text{MgO}$  mellan 2,2:1 - 6,5:1, eller aktivkol som selektivt adsorberar de mörkfärgade organiska derivaten, vilka  
35 bildats vid fermentationen av antibiotikum; den så erhållna blandningen omrörs under 15 - 45 minuter och den fasta adsorbenten och de mörkfärgade organiska derivaten separeras från det sura, antibiotikum innehållande filtratet för erhållande av det högeffektiva myceliefria anti-

biotikum-alkylsulfatkomplexet som är väsentligen fritt från de mörkfärgade organiska derivaten vilka bildats vid fermentationen av antibiotikum.

5 2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e - t e c k n a t därav, att adsorbenten är attapulgit, magnesiumsilikat eller en syntetisk hydratiserad magnesium-kiseldioxidkomposition, vilken har en medelpartikelstorlek av 2 - 15 mikron, och att alkalimetallalkylsulfatet är natriumlaurylsulfat.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

Hakemusjulkaisuja:-Ansökningspublikationer: EP 3644 (C 12 D 9/00).  
Patenttijulkaisuja:-Patentskrifter: USA(US) 3 856 937 (A 61 K 21/00),  
3 950 515 (A 61 K 35/00).