



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

214 350

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 05 12 80
(21) PV 8557-80

(51) Int. Cl.¹ C 12 P 1/06

(40) Zveřejněno 15 09 81
(45) Vydáno 01 06 84

(75)

Autor vynálezu BĚLÍK EDUARD ing. CSc., KOUŘIM, ŠEVČÍK BOHUMIL doc. MVDr. DrSc., POHOŘÍ-CHOTOUŇ,
CHROMÍK JINDŘICH ing. CSc., PRAHA, HOFFBAUER HENRICH ing., BUČKO MICHAL ing. CSc.,
BANSKÁ BYSTRICA, HOFMAN JOSEF, PRAHA, MIKLÁŠ EMIL ing., BANSKÁ BYSTRICA

(54) Způsob izolace vysoce čistého koncentráту tylosinu z fermentačních pūd

Vynález se týká způsobu izolace vysoce čistého antibiotika tylosinu z fermentačních pūd po oddělení mycelia, popřípadě části rozpustných proteinů, přidáním rozpustné pevné soli kyseliny sírové, chlorovodíkové nebo dusičné s alkalickým kovem nebo soli amonné, například síranu nebo chloridu sodného, při teplotě 20 až 33 °C, při hodnotě pH pūd 6 až 7.

Tylosin je produkován kmeny *Streptomyces fradiae* jako makrolidové antibiotikum. Toto antibiotikum má mimořádný význam pro snížení ztrát ve velkochovech, zejména selat, telat i drůbeže, pro zvýšení přírůstků a relativní snížení spotřeby jaderných krmiv. Tylosin má dále specifické účinky proti mykoplasmózám, zejména u mláďat, a je nenahraditelný jiným antibiotikem. Tylosin je získáván z fermentačních pūd po oddělení mycelia a částečné deproteinaci extrakcí chloroformem, při čemž je nutno volit extrakční poměr nejméně 1 : 1, nemá-li dojít k vysokým ztrátám na nevyextrahovaném antibiotiku.

Shledali jsme nyní, že tylosin lze z filtrátů fermentačních pūd zísat s výhodou ve formě vysoce čistého koncentrátu po přísadě vhodných neutrálních, ve vodě dobře rozpustných anorganických solí v pevné formě a v množství dovolujícím vyloučení tylosinu z více než 90 %.

Jako vhodné soli k provedení našeho postupu připadají v úvahu především alkalické nebo amonné soli kyselin : sírové, solné a dusičné. Potřebné koncentrace těchto solí k vyloučení tylosinu se pohybují v rozmezí 20 % až ke koncentraci odpovídající nasycenému vodnému roztoku uvedených solí při dané teplotě. Navrhovaný postup lze provést v rozmezí teploty 5 až 60 °C, s výhodou při teplotách blízkých teplotě pracovních prostor. Reakce půdního filtrátu před přísadou vysolovacího činidla se volí v rozmezí pH 5 až 8,5, s výhodou v oblasti neutrální, tj. v rozmezí pH 6 - 7. Daným navrhovaným postupem se tylosin vyloučí v pevné formě a stačí jej ze směsi oddělit filtrací a vysušit, čímž se získá 15 až 48 % koncentrát převážně znečištěný solí, jíž bylo použito k jeho vyloučení z roztoku. Tento koncentrát lze namnoze již přímo použít. Prostým vyloučením bezvodným organickým rozpustidlem, v němž je tylosin rozpustný, lze po odpaření použitého rozpustidla získat tylosin o čistotě blízké teoretickým hodnotám. Jiný postup dalšího čištění spočívá na příklad v rozpuštění získaného koncentrátu ve vodě a vyloučení tylosinové base úpravou pH na 8 až 8,5.

Nový způsob izolace tylosinu je zřejmý z níže uvedených příkladů:

Příklad 1

K 1 000 l odfiltrované vyfermentované pūdý po kultivaci *Streptomyces fradiae*, o účinnosti 2 500 m.j. tylosinu/ml a pH 6,2 bylo při 32 °C přidáno 400 kg bezvodného síranu sodného. Tylosin se vyloučil v pevné formě v povrchové vrstvě, z níž byl, po odpuštění 900 l spodní čiré vrstvy, oddělen filtrací a vysušen s výtěžkem 10 kg práškového nažloutlého filtrátu o účinnosti 248 m.j./mg, což odpovídalo celkovému výtěžku 99,2 %. Půdní filtrát po oddělení tylosinu vykázal jen stopovou biologickou účinnost.

Příklad 2

K 10 l odfiltrované vyfermentované pūdý po kultivaci *Streptomyces fradiae*, o účinnosti 2 620 m.j./ml pH 6,0, přidáno při teplotě 22 °C celkem 3,6 chloridu sodného. Po rozpuštění soli vyloučený tylosin byl oddělen filtrací, promyt na filtru malým množstvím nasyceného vodného roztoku chloridu sodného a vysušen s výtěžkem 50,1 g mírně nažloutlého prášku o účinnosti 487 m.j./mg /celkový výtěžek 93 %/.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob izolace vysoce čistého koncentrátu tylosinu z fermentační půdy po ukončené kultivaci produkčního kmene *Streptomyces fradiae*, vyznačující se tím, že se k fermentační půdě po oddělení mycelia, popřípadě i části rozpustných proteinů, při teplotě 5 až 60 °C, s výhodou 20 až 33 °C, při hodnotě pH 5 až 9, s výhodou 6 až 7, přidává v pevné formě neutrální, ve vodě dobře rozpustná sůl, zejména síran, chlorid nebo dusičnan alkalického kovu nebo amonia, například síran sodný, chlorid sodný nebo síran amonný, v množství odpovídajícím koncentraci od 20 % až do koncentrace nasyceného roztoku použité soli ve fermentační půdě.