

323059



323059

P A T E N T E    DE    I N V E N C I O N

por V E I N T E años

a favor de D. ARTUR PEREIRA DA LUZ

de nacionalidad portuguesa

domiciliado en Lisboa, c/ Luciano Cordero 41

por: "

»UN PROCEDIMIENTO EN LA EXTRACCION Y PURIFICACION DE UN ANTIBIO-

TICO DE LARGO ESPECTRO»

-----



M e m o r i a   d e s c r i p t i v a

La presente invención se refiere a un proceso de extracción y purificación de tetraciclina producida por fermentación.

Estas mejoras, reducen de manera sustancial, los disolventes necesarios o los eliminan totalmente.

- 5.- Cuando la tetraciclina fué producida por primera vez, era un subproducto derivado de la clorotetraciclina. Más tarde la tetraciclina, fué producida químicamente por hidrogenación catalítica de la clorotetraciclina. Recientemente la tetraciclina se produce casi exclusivamente por fermentación en orden a razones económicas y por se más difícil la extracción o purificación.
- 10.- El producto es fermentado y filtrado y centrifugado para retirar el cúmulo de microorganismos solidos, y permite a la tetraciclina ser filtrada por varios procesos. Uno de los métodos más corrientes es el precipitado por la extracción de actividades antibióticas, en
- 15.- forma de complejo, con calcio o magnesio o una mixtura de cloratos de alquildimetilamonico o alquiltrimetilamonico conocido. El antibiótico obtenido por este proceso, va todavía contaminado aunque en pequeñas dosis y ello ha obligado a estudiar un nuevo método de purificación que consiste en una extracción de producto filtrado
- 20.- a 7,5-8,5, con un solvente que contenga oxígeno y sea similar al agua (tal como butanol), seguido de una dilución en un solvente rico en antibiótico con un hidrocarbonato alifático y lavadas con agua conteniendo ácido clorhídrico.
- 25.- El proceso protegido por la presente Patente, determina la obtención de un caldo fermentado y acidificado con ácido sulfúrico de graduación comprendida entre 1,5 a 3,0 (con preferencia 2,0)



323059

- y centrifugado y filtrado con auxilio de un producto de filtración y fase correspondiente. El líquido limpio, es llevado lentamente a una graduación de 8,8 - 9,1, con sosa caústica al 20%, agitándose y separándose por filtrado o centrifugación las sales de calcio o magnesio de tetraciclina. La masa mojada es suspendida en un 10-12 del volumen del caldo filtrado con un disolvente similar al agua y que contenga oxígeno. Tal solvente puede ser n-butanol, acetato de n-butilo, acetato de isoamilo o metilisobutilcetona. Puede ser lavado a 1,5 - 2,5 (de preferencia 2,0) con ácido sulfúrico y acondicionándose clorato sódico (30-150 grs. por litro de solvente hidratado), especialmente se escoge el n-butanol como solvente. En estas condiciones se descarta la mixtura y se separa el solvente rico en antibiótico, llevándose a pH 10 con hidroxido de sodio y se agita 4- 8 veces con igual volumen de agua. Estas soluciones acuosas juntas son llevadas rápidamente a pH 1,5 - 2,5 y tratadas con carbón activo, (0,1-10%) para remover las impurezas. Se agrega ácido o-xálico sólido (0,5-2,5 grs. por litro) elevándose a pH lentamente y agitándose constantemente entre 3,8 a 4,3, con sosa caústica al 20%. Al cabo de 3-5horas a temperatura ambiente se cristaliza la tetraciclina base pura y se procede a la separación de los cristales por medio de un filtro de vacío o de un hidroextractor. El producto se seca con un secador de lento fluido a 60°C. El rendimiento varianentre 75 y 90% y la pureza de la base puede conseguirse al 99% con ligeros vestigios de cenizas.

Por este proceso es posible obtenerse un producto muy puro

323059



y también una notable reducción del costo de producción, debido a la disminución de las cantidades de solvente empleado. También al ser eliminado este último solvente, altamente inflamable, se evita el peligro de explosión.

- 5.- También es posible establecer por la invención, un nuevo sistema para llevar a cabo otros usos de solvente que pueden ser completamente eliminados, reduciéndose notablemente el gasto de producción y el peligro de explosión. A tal fin, la masa mojada conteniendo las sales de calcio y magnesio de tetraciclina, suspendida en agua y acidificado cuidadosamente con ácido sulfúrico
- 10.- concentrado, se pueden obtener una solución que contenga prácticamente toda la tetraciclina en un decimo del volumen original del caldo fermentado y filtrado. Después de separados el sulfato de calcio formado, la solución purificada con carbón activo, ácido
- 15.- oxalico y ferrocianato de potasio, la tetraciclina base se cristaliza aumentando lentamente el pH entre 3,8-4,3, en presencia de 1 a 3 grs. por litro de una sustancia complejante de agentes derivados del ácido etilenodiaminotetracético.

- Los ejemplos siguientes dan a conocer a título de ilustración,
- 20.- la manera como el invento puede ser puesto en práctica sin que exista ninguna limitación en su protección.

EJEMPLO 1

- Ocho litros de caldo fermentado concentrado, conteniendo 6795/ug/ml de actividad tetraciclínica es llevado a pH 8,8-9,9
- 25.- con sosa caustica al 20%, y centrifugado después de agitado durante una hora.

323059



El caldo reducido contando apenas 270/ug/ml de tetraciclina es despreciado y/o precipitado cuando contenga tetraciclina en forma de complejo y suspendido en 0,8 litros de m-butano hidratado siendo elevado al pH ajustado a 2.0 con ácido sulfúrico al 50%.

5.- Se incorporan 150 gramos de clorato sodico químicamente puro y se agita esta disolución completa y se reajusta al pH. Después de filtrar la suspensión y llevar el solido con 0,4 litros de m-butanol a pH 2,0, el solvente rico en tetraciclina, es separada la solución salina que contenga impurezas. Un análisis de estas dos

10.- fases, muestra que la fase orgánica, (950 ml.) contiene 45545/ ug/ml. de tetraciclina, en tanto que la fase acuosa (350 ml.) contiene cerca de 2075/ ug/ ml.

La solución butanolica es lavada 5-6 veces con agua alcalinizada con soga entre pH 10 y la fase orgánica queda agotada. Al pH

15.- de las aguas de lavado reunidas, se ajustan rápidamente a 1,5-2,0 juntandose 20 grs. de carbon activado y se agita durante 45-60 minutos. La solución limpia obtenida después de la separación del carbón, es tratada con ácido oxalico en proporción de 0,5 grs. por litro y el pH es llevado lentamente en agitación constante entre

20.- 3,8-4,3. Se extraen muestras para realizar analisis periódicos, de modo que al tratarse la curva de cristalización y pasadas tres horas, los líquidos acuosos solo contienen 1.400/ ug/ ml. de tetraciclina. Los cristales son entonces separados por filtración al vacío o por centrifugación y secados en estufa de vacío a 60% C.

25.- El rendimiento es de 91, 8% en 56 grs. de tetraciclina cristalizada, conteniendo 89, 2% de base y 10% de humedad (98, 9% referido

323059



a sustancia seca).

EJEMPLO 2

5.- A diez litros de una solución de tetraciclina bruta, conteniendo 6.500/ ug/ ml., se junta un gr. de clorato de calcio y se ajusta al pH entre 8,8-9,1 con sosa caustica al 15% con agitado constante. Pasados carenta y cinco minutos, el solido existente en suspensión, es filtrado entero o filtrado despreciado por presentar apenas 300/ ug/ ml. de actividad. El solido en que existe la mayor parte de actividad antibiótica, es resuelto en un litro

10.- de agua y llevado a pH 1,5-2,0-, con acido clorhidrico concentrado. Después de este filtrado, la solución acuosa tiene una actividad de 38.000/ ug/ ml. de tetraciclina y un volumen de 1.670 ml. y es tratada con 20 grs. de carbon activado y 0,5 gr. de ferrocianato de potasio siempre con el pH a 2.0. Después de haber sido realizada

15.- la separación del carbón la solución se agita con 20grs. de acido oxalico y es llevado al pH a 2,5 con sosa caústica., El oxalato de calcio formado, es separado por filtración y al filtrado que contiene 37.600/ ug/ ml. de tetraciclina, se agregan 2 grs. de sal disódica del acido etilenodiaminotetra-acetico y se aumenta al

20.- pH lentamente para 3,8-4, 1 a fin de provocar el cristalizado de tetraciclina base pura. Después de cuatro horas, la cristalización termina y como sus aguas de filtrado, cuentan sus cristales 2.000/ ug/ ml., son guardadas para reutilizarlas. La base cristalina filtrada y lavada con agua desmineralizada, se desea en un secador de aire caliente a 60% C., dando 41 grs. de producto con una

25.- actividad 95, 1% y una humedad 2, 1% siendo su rendimiento global 60%.



Descrita suficientemente la naturaleza de la invención, se hace constar expresamente que cualquier modificación de detalle que se introduzca en la misma, se considerará incluida dentro de esta protección legal, en tanto que no altere o modifique esencialmente su finalidad característica.

5.-

NOTA

Por último se declaran de novedad y propia invención, las siguientes:

REIVINDICACIONES

- 10.- 1ª.- Un procedimiento en la extracción y purificación de un antibiótico de largo espectro, caracterizado esencialmente porque comprende la acidificación de caldo fermentado a pH entre 1,5 a 3,0, seguido de una filtración, ajustando el pH a 8,8-9,1 y filtrando, situando en suspensión la masa en un 10, 12 del volumen del caldo filtrado de un solvente orgánico que contenga oxígeno y es inmiscible como el agua, adicionándose clorato de sodio y realizándose un lavado de la fase orgánica con agua a pH 10, siguiendo la purificación de la fase acuosa llevada a pH comprendido entre 1,5-2,5 por medio de carbón activado, ácido oxálico y ferrocianato de potasio y cristalización de la tetraciclina, por aumento del pH en un valor comprendido entre 3,8 y 4,3.
- 15.- 2ª.- Un procedimiento en la extracción y purificación de un antibiótico de largo espectro, según la anterior reivindicación caracterizado porque en la fase de extracción con el solvente orgánico inmiscible como el agua y eliminado, siendo la masa filtrada a pH 8,8-9,1 y puesta en suspensión en un 10% del volumen ori-
- 20.-
- 25.-

323059



ginal de agua acidificada con acido sulfúrico concentrado, el precipitado formado es separado y purificado por carbón activado, acido oxalico o ferrocianato de potasio y también con sales del acido etilendiaminotetra-acetico.

5.- 3ª.- Un procedimiento en la extracción y purificación de un antibiótico de largo espectro, según las anteriores reivindicaciones, caracterizado esencialmente porque el solvente que contiene oxigeno y es inmisible como el agua y un alcohol con acetona alifatica o un acetato de alquilo.

10.- 4ª.- Un procedimiento en la extracción y purificación de un antibiótico de largo espectro, según las anteriores reivindicaciones, caracterizado esencialmente porque el solvente utilizado es m-butanol.

15.- 5ª.- UN PROCEDIMIENTO EN LA EXTRACCION Y PURIFICACION DE UN ANTIBIOTICO DE LARGO ESPECTRO.

Todo ello tal y como se reivindica en la presente memoria que consta de OCHO hojas escritas por una sola de sus caras y a dos espacios.

Madrid, 14 de Febrero de 1956