

369

PATENTE DE INTRODUCCION

Your Case Br. 301.

C 12 K 00/00



Memoria Descriptiva

sobre:

"Procedimiento para separar tetraciclina anfótera pura de caldos de fermentación"

==.==.==.==.==.==.==.==.==

Solicitante: LEPETIT, S.p.A., entidad italiana, residente en Via Roberto Lepetit, 8, MILAN, Italia.

==.==.==.==.==.==.==.==.==

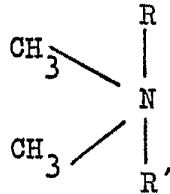
El presente invento se refiere a un procedimiento sencillo, altamente selectivo y de fácil aplicación industrial, para la aislación de tetraciclina, de caldos de fermentación.

5. El procedimiento consiste en el tratamiento de los caldos de fermentación filtrados, con un compuesto

342566



de amonio cuaternario de fórmula:



en la que R representa un grupo metilo o un grupo alquilo de 8 a 20 átomos de carbono y R' representa un grupo alquilo de 2 a 20 átomos de carbono.

5. Se sabe que esta clase de compuestos, si se agregan a un caldo de tetraciclina filtrado, obtenido por filtración ácida de un caldo de fermentación, forman con el antibiótico un complejo entre los límites de pH comprendidos entre los valores 5,5 y 12, pero de todos modos no inferiores a 5,5. Este complejo es separado con rendimientos industriales aceptables entre límites de pH de 8 y 9,5 y proporciona un producto amorfo de color parduzco que en estado seco tiene un contenido de clorhidrato de tetraciclina de 400 a 500 microgramos por miligramo. Para obtener de este producto en bruto una tetraciclina de pureza industrialmente aceptable, debe recurrirse a sucesivas purificaciones que normalmente consisten en la disolución en un disolvente, el tratamiento con resinas o carbones decolorantes de la fase disuelta y sucesivas precipitaciones de la tetraciclina.
- 10.
- 15.
- 20.

25. El procedimiento que constituye el objeto de nuestra solicitud de patente, se basa en el hecho de que, entre los límites de pH comprendidos entre los valores 4,5 y 5,0 y por consiguiente, alejados de los valores a los que se forman complejos con la tetracicli-

342566



na, la agregación de compuestos de amonio cuaternario de la fórmula indicada anteriormente, a caldos de tetraciclina filtrados, determina la precipitación con rendimientos particularmente elevados, de tetraciclina anfotera, cristalina, de color amarillo claro y con un contenido en clorhidrato de tetraciclina, mayor o igual a 1.050 microgramos por miligramo.

5. En las condiciones de trabajo indicadas, y que describiremos en detalle, dichos compuestos de amonio cuaternario tienen la propiedad de no formar un complejo con el antibiótico y de mantener en solución a las sustancias orgánicas coloreadas que de no ser así se precipitarían con la tetraciclina entre los límites de pH de 4,5 y 5,0.

10. El procedimiento del presente invento representa por lo tanto una notable simplificación de las modalidades de aislación de la tetraciclina, de los caldos de fermentación. En realidad, con solo dos operaciones, de fácil realización industrial, es decir, la separación del micelio por filtración y la separación de la tetraciclina de la partida de precipitación a un pH de 5,0, es posible obtener de los caldos de fermentación una tetraciclina de pureza industrialmente elevada y de una concentración, en clorhidrato de tetraciclina, de más de 1.050 microgramos por miligramo. Si se lo desea del producto obtenido de esta manera puede lograrse directamente, es decir, sin utilizar, sustancias decolorantes, un clorhidrato de tetraciclina purísimo, mediante su disolución en un disolvente adecuado y sucesivas salificaciones con

342566



5. ácido clorhídrico; la pureza de la tetraciclina separada de los caldos y utilizada en esta transformación es de magnitud tal que los rendimientos obtenidos en esta etapa operativa son particularmente elevados, y el clorhidrato de tetraciclina resulta de extraordinaria pureza.

10. Un tipo particularmente adecuado de compuestos de amonio cuaternario para la realización del presente invento, es el constituido por los compuestos comerciales conocidos con el nombre de "Arquads", químicamente cloruros de alquil-trimetil-amonio, de fórmula $R-N(CH_3)_3Cl$, en la que R es un radical alquilo de por lo menos 8 átomos de carbono. Más particularmente, los "Arquads" son mezclas de compuestos de la

15. fórmula indicada anteriormente, que se encuentran en el comercio con denominaciones particulares de acuerdo con su composición. De este modo, por ejemplo, el "Arquad 16" es una mezcla de un 90% del compuesto de la fórmula indicada en la que R es un radical alquilo de 16 átomos de carbono, un 6% del compuesto en el que R tiene 18 átomos de carbono y un 4% del compuesto en el que R tiene también 18 átomos de carbono, pero con un doble enlace en la cadena. En el

20. "Arquad 12" el 90% está formado por el compuesto en el que R es el dodecilo, etc. El "Arquad 'C'" es una mezcla en la cual prevalece en casi el 50% el compuesto en el que R es el dodecilo.

25. Los siguientes ejemplos ilustran al invento sin limitarlo de ningún modo.

30. EJEMPLO 1

342566



5. A 1.000 litros de caldo de fermentación de una concentración de 5.000 microgramos por mililitros se agregan 14 kilogramos de ácido oxálico y 20 kilogramos de tierra filtrante. Se agita durante 30 minutos, se filtra y se lava el residuo de micelio con agua. A los 1.500 litros del caldo filtrado obtenido, se agregan 9,4 kilogramos de ácido oxálico, 2,3 kilogramos de "Arquad C" e hidróxido de sodio hasta alcanzar un pH de 4,5.
10. Después de 7 horas de agitación, se recoge la tetraciclina precipitada, se lava el producto con agua destilada y se seca al vacío a una temperatura no superior a 45°C.
15. Se obtienen 3.890 kilogramos de tetraciclina anfótera de color amarillo claro. Concentración calculada en clorhidrato de tetraciclina: 1.050 microgramos por mililitros, Rendimiento: 81,7%
- EJEMPLO 2
20. A 500 litros de caldo de fermentación de una concentración de 7.000 microgramos por mililitro, se agregan 7,4 kilogramos de ácido oxálico y 10 kilogramos de tierra filtrante. Se agita durante 30 minutos, se filtra y se lava el residuo de micelio con agua.
25. A los 800 litros de caldo filtrado obtenido se agregan 6,6 kilogramos de ácido oxálico, 4,9 kilogramos de "Arquad 16" e hidróxido de sodio hasta alcanzar un pH de 5,0. Después de 7 horas de agitación, se recoge la tetraciclina precipitada,
30. se lava el producto con agua destilada y se seca al

342566



5. vacío a una temperatura no superior a 30°C e disuelven 2,5 kilogramos del producto secado en 10 litros de etilenglicolmonoeter, se acidifica hasta alcanzar un pH de 1,0 con ácido clorhídrico concentrado y se deja cristalizar al clorhidrato de tetraciclina.

10. Se obtienen 2,1 kilogramos de clorhidrato de tetraciclina de un tenor de 995 microgramos por miligramo. El rendimiento total del procedimiento a partir del caldo de fermentación es igual al 74%.

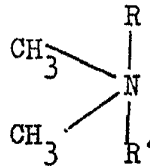
N O T A

15. Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental, siendo lo que constituye la esencia del referido invento, y por lo que se solicita Patente de Introducción por 10 años en España sobre: "PROCEDIMIENTO PARA SEPARAR TETRACICLINA ANFOTERA PURA DE CALDOS DE FERMENTACION", caracterizándose por lo siguiente:

25. 1.- Procedimiento para separar tetraciclina anfótera pura de caldos de fermentación, caracterizado porque, en una primera etapa, se ajusta el pH de los caldos de fermentación, después de la separación del micelio por filtración, a un valor comprendido entre 4,5 y 5,0 en una segunda etapa se añade a los caldos un compuesto de amonio cuaternario de

30. fórmula general:

342566



5. en la que R representa un radical elegido del grupo que comprende los radicales metilo y alquilo de 8 a 20 átomos de carbono y R' representa un radical alquilo de 2 a 20 átomos de carbono, y en una tercera y última etapa, se recoge mediante filtración la tetraciclina precipitada.

10. 2.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el compuesto de amonio cuaternario es un cloruro de alquil-trimetilamonio.

10. 3.- Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque el pH del caldo filtrado se lleva a un valor comprendido entre 4,5 y 5,0 mediante la adición de hidróxido de sodio.

15. 4.- "Procedimiento para separar tetraciclina anfótera pura de caldos de fermentación", tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

Esta Memoria consta de siete hojas, escritas a máquina por una sola cara.

3 JUL 1967

Madrid,

LEFETIT, S.p.A.

GOMEZ ACEBO Y MODEI
P. p. Firmado: F. Hernández Ruiz