



373904

373904

SECCION TECNICA	
CLASIFICACION I. P. C.	
CLASE	C-12
SUBCLASE	D

MEMORIA DESCRIPTIVA
DE UNA

PARTE DE INVENCIÓN

Por VIMIE ARCS, a favor de Laboratori Pro-Ter Prodotti
Terapeutici, S.p.A., Vía Monti Sabini, núm. 1 Milano,
Italia, para:

"UN PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCIÓN DE LA OXITETRA-
CICLINA DE LOS CALDOS DE CULTIVO".

5. Esta invención trata de un procedimiento para la extracción de la oxitetraciclina de los caldos de cultivo. Se sabe que la oxitetraciclina no puede precipitarse más que parcialmente de los caldos de cultivo, después de separación del micelio, por alcalinización directa de los caldos de cultivo, permaneciendo una cantidad considerable de este antibiótico en estado disuelto en las aguas de precipitación.
- 10.

Los procedimientos de extracción, utilizados hasta ahora, palián este inconveniente efectuando la alcalinización en presencia de sales de amonio cuaternarias, tales

**POOR
QUALITY**

373904



- 2 -

15. como las conocidas bajo la marca de fábrica "Arquads" y los iones metálicos, lo que dá lugar a la formación de sales complejas de la oxitetraciclina solubles en agua, pudiendo extraerse fácilmente por medio de disolventes que permiten recuperar casi totalmente el antibiótico contenido en el caldo.
20. Estos procedimientos incluyen sin embargo inconvenientes, especialmente, que el producto final contiene casi siempre trazas mas o menos sensibles de sales cuaternarias de amonio. Además, la utilización de disolventes para la extracción de este complejo de oxitetraciclina es bastante costosa.
25. En particular, según la invención, la extracción de la oxitetraciclina de los caldos de cultivo se efectúa sin utilizar sales cuaternarias de amonio o disolventes, por acidificación directa de los caldos de cultivo.
30. En particular, según la invención, la oxitetraciclina puede recuperarse casi totalmente del caldo de cultivo actuando de la forma siguiente:
Se acidifica el caldo de cultivo, hasta un pH de 2 aproximadamente con ácido sulfúrico, de forma que se solubilice el antibiótico y se asegure su paso a fase líquida, y se
35. agrega un coadyuvante de filtración al caldo que se filtra. Se trata el caldo filtrado con ácido oxálico de forma que se precipite la mayor parte del calcio en el caldo, se deja
40. descansar y se filtra el oxalato precipitado. Se agrega amoníaco al filtrado hasta un pH de 6, y se agrega 3'5 a 4 Kgs de carbonato de sodio por m³ de caldo y amoniáco hasta un

.../...

**POOR
QUALITY**



45. pH de 8, 8-9'5. La oxitetraciclina se precipita casi totalmente en forma de una sal compleja de calcio-amonio-magnésico pudiendo variar su grado de pureza entre 70 y 85%. El producto complejo precipitado se recoge por filtración y se lava en filtro de agua desmineralizada. La torta de filtración se seca en vacío a una temperatura que no sobre pase los 50° C., hasta una humedad residual que no exceda del 5%.

50. El producto bruto es así obtenido se purifica recuperándolo con alcohol metílico anhidro y agregándole sucesivamente una solución de ácido clorhídrico gaseoso en el alcohol metílico anhidro. La oxitetraciclina pasa a solución, estando favoreciendo su solubilidad en el alcohol por la

55. presencia del cloruro clorhídrico. Las impurezas insolubles se filtran y se agregan otra solución de ácido clorhídrico gaseoso, al alcohol metílico anhidro, de forma que se precipite el clorhidrato de oxitetraciclina, que se recoge por filtración, se lava con alcohol metílico ácido y sucesivamente con alcohol metílico puro, y finalmente se seca en vacío.

65. Es igualmente posible acidificar el caldo de cultivo directamente con ácido oxálico que se utiliza en una cantidad tal que no elimine totalmente el calcio presente, acidificar sucesivamente el caldo con ácido sulfúrico hasta un pH de 1'9 - 2 y proceder a continuación como se ha descrito antes.

EJEMPLO-1

=====

70. Se acidifican 5 litros de caldo de fermentación, con una proporción en oxitetraciclina de 4200 V/cc, por medio de ácido sulfúrico, hasta un pH de 1,9, removiendo

..../...

- 4 373904



- continuamente. Se agrega el caldo acidificado 300 g. de un coadyuvante de filtración del tipo habitual, se remueve aún durante una media hora aproximadamente, se
75. filtra y se trata el filtrado claro con 35 g. de ácido oxálico. Se remueve todo durante cuatro horas, con el fin de asegurar la precipitación de la mayor parte del oxalato de calcio, y se filtra. Se lleva el filtrado limpio a un pH de 6 con agregación de amoníaco, des-
80. pués se agregan 38 g. de carbonato de sodio, y se vuelve a elevar el pH a 9,4 con amoníaco. Después de 30 minutos aproximadamente, se filtra la base precipitada en forma de un complejo. Las aguas madres que salen tienen una proporción de oxitetraciclina de 80 V/cc. El
85. complejo de tetraciclina precipitado se lava en el filtro incluso con agua desmineralizada hasta la neutralidad, a continuación se seca en vacío a una temperatura no superior a 50°C., hasta un contenido residual de agua que no exceda al 5%.
90. El producto bruto seco se reduce a polvo fino, y a continuación se recupera con alcohol metílico anhidro hasta una concentración de complejo de oxitetraciclina de 150.000 V/cc. Se agrega a continuación, removiendo y enfriando, una solución de ácido clorhídrico gaseoso en el alcohol metílico anhidro hasta pH de 1,5.
95. La oxitetraciclina pasa a solución, y esta solución es tratada con carbón y filtrada.
- Se agrega la solución limpia obtenida de otra cantidad de solución de ácido clorhídrico en el alcohol
100. metílico anhidro, equivalente a la cantidad agregada.

../...



- al principio, cebando la precipitación por medio de la agregación de clorhidrato de oxitetraciclina y manteniéndola a continuación en una cámara frigorífica durante dos horas. Se filtra y se lava el precipitado de clorhidrato de oxitetraciclina formado, al principio por una solución de ácido clorhídrico en el alcohol metílico anhidro, y a continuación con alcohol metílico puro, y finalmente se seca el producto en el horno en vacío. El clorhidrato de oxitetraciclina obtenido tiene una pureza de 99/100%.
- 105.
- 110.

Las aguas madres que salen tienen una proporción de oxitetraciclina de 14.300 \checkmark /cc.

EJEMPLO-2

=====

- Se tratan directamente 5 litros de caldo de cultivo, con una proporción de oxitetraciclina de 3900 \checkmark /cc, con 35 g. de ácido oxálico agitando continuamente, llevando el pH a 1,9 con ácido sulfúrico 1:1. Se agita durante media hora, se agregan 100 g. de un coadyuvante de filtración habitual y se filtra en vacío. Se agrega amoníaco al filtrado limpio hasta un pH 6 y a continuación 20 g. de carbonato de sodio, y se lleva a un pH de 9,4 con amoníaco. Después de media hora se filtra el complejo precipitado, que se lava con agua hasta la neutralidad y a continuación se seca en vacío hasta una temperatura que no exceda de 50°C. El producto bruto tiene una actividad, expresada en clorhidrato de oxitetraciclina, de 780 \checkmark /mg; las aguas madres tienen una proporción de oxitetraciclina de 72 \checkmark /cc.
- 115.
- 120.
- 125.
- 130.
- El producto bruto se purifica a continuación por precipitación en forma de clorhidrato de oxitetraciclina de la forma descrita en el ejemplo precedente.



REIVINDICACIONES

135. PRIMERA.- PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCION DE OXITETRA
CICLINA DE LOS CALDOS DE CULTIVO, caracteri-
zado por el hecho de que la extracción se efectua en
ausencia de disolventes y de sales de amonio cuaterna-
rias por acidificación directa de los caldos de culti-
vo, filtración del micelio y precipitación del antiobió-
tico con amoniaco y bicarbonato de sodio.

140. SEGUNDA.- PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCION DE OXITETRA
CICLINA DE LOS CALDOS DE CULTIVO, caracteri-
zada por el hecho de que la adificación se efectua con
ácido sulfúrico y después de filtración de micelio, con
ácido oxálico.

145. TERCERA.- PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCION DE OXITETRA
CICLINA DE LOS CALDOS DE CULTIVO, caracteri-
zada por el hecho de que se lleva a cabo la acidifica-
ción del caldo de cultivo, antes de la filtración del
micelio con ácido oxálico, y a continuación se acidifi-
can con ácido sulfúrico.

150. CUARTA.- PROCEDIMIENTO PARA LA EXTRACCION DE OXITETRA-
CICLINA DE LOS CALDOS DE CULTIVO.

155. Todo ello tal y como se describe en la presen-
te memoria que consta de seis hojas foliadas y mecano-
grafiadas por una solda de sus caras y otra de planos
para su mejor compresión.

Madrid, a 25 de Noviembre 1.969

P.A.

FRANCISCO ALFONSO