

POSTUPAK PROČIŠĆAVANJA AKARBOZE

Vladimir Mrša, redoviti član Akademije tehničkih znanosti Hrvatske, Sveučilište u Zagrebu,
Prehrambeno-biotehnološki fakultet, vmrsa@pbf.hr

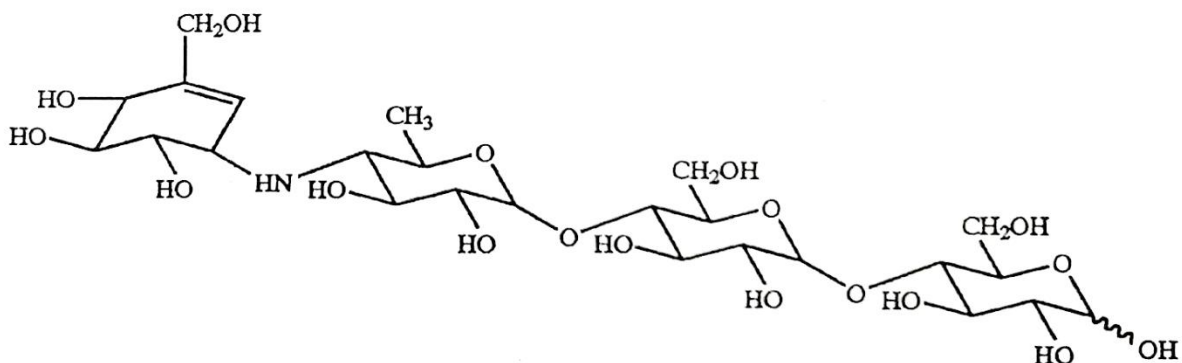
Sažetak: Patent opisuje poboljšani postupak pročišćavanja sirove otopine akarboze. Postupak se sastoji od propuštanja otopine kroz jaki kationski izmjenjivač, zasićenje stupca izmjenjivača i prikupljanje čiste akarboze kao eluata. Tim postupkom postiže se čistoća od najmanje 98%, a obično i veća od 99%.

1. Uvod

Akarboza je oligosaharid koji se sastoji od dvije glukoze, jedne deoksiglukoze i jedne jedinice dideoksiglukozamina (Laube, 2012.). Dobiva se kao sirovi produkt fermentacije mikroorganizma *Actinoplanes utahensis*, a njena primjena zahtjeva pročišćavanje dobivene sirove otopine do visokog stupnja čistoće. Akarboza se u medicinskoj praksi primjenjuje kao inhibitor pankreasne α -amilaze (Hanefeld *et al.* 2004), no za njenu primjenu farmakopeja zahtjeva čistoću veću od 98%.

2. Opis patenta, patentne prijave ili inovacije

Akarboza je molekula tetrasaharida koja je svoju primjenu našla u medicinskoj praksi kao mimetik škroba koji djeluje kao inhibitor pankreasne α -amilaze i time usporava razgradnju škroba u tankom crijevu. Zbog svog metaboličkog učinka akarboza se koristi kao antihiperглиkemik. Struktura molekule akarboze prikazana je na slici 1.



Slika 1. Struktura akarboze

Akarboza se dobiva biotehnološki, fermentacijom mikroorganizama iz roda *Actinoplanace*, nakon čega se djelomično pročišćeni materijal dobiva filtracijom i taloženjem. Takav materijal čistoćom ne zadovoljava zahtjeve farmaceutske primjene pa poseban tehnološki izazov predstavlja daljnje pročišćavanje do potrebnog stupnja čistoće koji prelazi 98%. Kako molekula ima slabo bazna svojstva, svi prethodno opisani postupci uključivali su kationske ionske izmjenjivače. Oni međutim relativno slabo vežu akarbozu što rezultira nedovoljno čistom preparacijom koja se eluira sa stupca. Dodatan problem predstavlja kemijska struktura nečistoća jer su najzastupljenije molekule koje onečišćuju akarbozu njoj strukturno vrlo slične molekule koje nije lako razdvojiti danas prisutnim separacijskim metodama (Rodriguez *et al.*, 2008)

U patentu naziva „Acarbose Purification Process“ autora Kreše Mihaljevića, Jasne Azarić, Blaženka Bajića, Vladimira Mrša i Dejana Kokanj koji je u SAD prihvaćen 11. svibnja 2004. godine pod oznakom US 6,734,300 B2, opisan je novi, poboljšani postupak pročišćavanja akarboze početne čistoće oko 80%. Postupak se sastoji od nekoliko koraka, u prvom se otopina akarboze propušta kroz kromatografski stupac jakog kationskog izmjenjivača pri pH između 5 i 7. Akarboza se pritom zajedno s nečistoćama veže na izmjenjivač. U drugom koraku smola izmjenjivača se zasiti vezanim

materijalom. Kako se nečistoće čvršće vežu na izmjenjivač, eluat sa stupca sadrži akarbozu čistoće veće od 98%. Daljnjim propuštanjem smjese akarboze i nečistoća, nečistoće zamjenjuju akarbozu vezanu na smolu izmjenjivača koja se eluira, također s čistoćom većom od 98%. Ovakav postupak može se kontinuirano provoditi uz praćenje čistoće eluirane akarboze sve dok se gotovo sva akarboza vezana na izmjenjivač ne zamijeni onečišćenjima, nakon čega počinje padati čistoća akarboze u eluatu pa u tom trenutku postupak treba prekinuti. Smola izmjenjivača nakon toga se može regenerirati propuštanjem najprije 0,2 M amonijevog hidroksida, zatim destilirane vode, pa 0,01 M HCl i konačno ponovno destilirane vode, sve dok eluat ne dosegne pH vrijednost 7. Po provedenoj regeneraciji smola izmjenjivača je spremna za novu šaržu i postupak pročišćavanja može se ponoviti kako je opisano. Konačni korak pripreme čiste akarboze predstavlja sušenje pročišćenog materijala.

3. Zaključak

Ovaj patent opisuje poboljšani postupak pročišćavanja sirove otopine akarboze do stupnja čistoće veće od 98% što je preduvjet korištenja dobivenog materijala u farmaceutske svrhe. Postupak značajno skraćuje postupak pročišćavanja biotehnološki dobivenog materijala i time snižava troškove proizvodnje farmaceutski primjenjivog pripravka.

4. Literatura

M. Hanefeld, M. Cagatay, T. Petrowitsch, D. Neuser, D. Petzinna, M. Rupp, Acarbose reduces the risk for myocardial infarction in type 2 diabetic patients: meta-analysis of seven long-term studies, *European Heart Journal*, 25 (2004) 10-16. DOI: 10.1016/S0195-668X(03)00468-8

H. Laube, Acarbose, *Clinical Drug Investigation*, 22 (2002) 141-156. DOI: 10.2165/00044011-200222030-00001

J. F. Rodriguez, A. De Lucas, M. Carmona, F. Cañas, Application of ion exchange to purify acarbose from fermentation broths, *Biochemical Engineering Journal*, 40 (2008) 130-137. DOI: 10.1016/j.bej.2007.11.025