(19) DANMARK

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 164914 B

Patentdirektoratet
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: 5894/84
(22) Indleveringsdag: 10 dec 1984
(41) Alm. tilgængelig: 13 jun 1985
(44) Fremlagt: 07 sep 1992
(86) International ansøgning nr.: -
(30) Prioritet: 12 dec 1983 US 560300

(51) Int.Cl.5 C 07 G 11/00
C 07 K 9/00

(71) Ansøger: *ELI LILLY AND COMPANY; 307 East McCarty Street; Indianapolis; Indiana 46285, US
(72) Opfinder: Kuo Shang *Yang; US, Ronald Gene *Abel; US, Harvey M. *Higgins, Jr.; US

(74) Fuldmægtig: Hofman-Bang & Boutard A/S

(54) Fremgangsmåde til udvinding af vancomycin i form af et krystallinsk salt fra en vandig opløsning af vancomycin samt krystallinsk vancomycin-diphosphat opnået ved fremgangsmåden

(56) Fremdragne publikationer

US pat. nr. 3067099

(57) Sammendrag:

5894-84

Glycopeptid-antibiotiket vancomycin isoleres fra vandige opløsninger heraf ved at gøre opløsningen sur og tilsætte et alkalimetaldiphosphat. Herved dannes vancomycin-diphosphat, som i hydratiseret tilstand er særdeles krystallinsk. Diphosphatet kan omdannes til den frie vancomycin-base ved behandling med en base.

Herved kan man opnå vancomycin som fri base i væsentligt højere udbytter, end der hidtil har kunnet opnås.

DK 164914 B

Den foreliggende opfindelse angår en fremgangsmåde til udvinding af vancomycin i form af et krystallinsk salt fra en vandig opløsning af vancomycin, og fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved, at man omsætter opløsningen af vancomycinet med phosphorsyre til dannelse af et krystallinsk diphosphatsalt, som man derefter separerer fra opløsningen ved udkrystallisation.

Opfindelsen angår endvidere et krystallinsk vancomycindiphosphat fremstillet ved den omhandlede fremgangsmåde, og dette salt er ejendommeligt ved det i den kendetegnende del af krav 6 angivne.

Vancomycin er et glycopeptid-antibiotikum, som produceres ved fermentering af Nocardia orientalis (tidligere betegnet Streptomyces orientalis), en mikroorganisme isoleret fra jordprøver fra Indonesien og Indien. Ligesom de fleste andre antibiotika, der opnås ved fermentering, er vancomycin et multi-faktor-kompleks af adskillige nært beslægtede og kemisk ensartede forbindelser. Fremstillingen af vancomycin er beskrevet i detaljer i US patentskrift nr. 3 067 099. Kommercielt anvendes vancomycin primært som et antibakterielt middel, omend stoffet også er effektivt som et middel til forøgelse af foderudnyttelsen hos drøvtyggere; se US patentskrift nr. 3 816 618.

Fremstillingen af kommercielt vancomycin har hidtil krævet en proces i flere trin, herunder en fermentering, efterfulgt af temmeligt kostbare isolations- og rensningstrin. Generelt filtreres den hele fermenteringsvæske for at fjerne faste bestanddele og mycelier, hvorefter filtratet, der indeholder det opløselige antibiotikum, ledes igennem en kationbytterharpiks med lav tværbinding, hvor den antibiotiske aktivitet tilbageholdes. Eluatet fra ionbytteren, som indeholder vancomycin, behandles derefter med afblegende trækul, hvorefter det opløselige vancomycin isoleres som et uopløseligt kobberkompleks.

Dette kobberkompleks behandles slutteligt med hydrogensulfid under sure betingelser for at solubilisere vancomycinet, som kan isoleres som fri base ved passende indstilling af pH. Den frie base anvendes i formuleringer til oral indgivelse til dyr, og den kan enten anvendes direkte eller omdannes til et derivat, såsom hydrochloridsaltet, med henblik på fremstilling af injicerbare formuleringer.

Den kommercielle produktion af vancomycin er behæftet med flere ulemper. Anvendelsen af cuprisalte ved isolationsprocessen kræver, at man bagefter anvender et middel, såsom hydrogensulfid, til at sprænge kobberkomplekset og til at udfælde de opløselige salte af kobber i form af uopløselige sulfider eller lignende. Dette har resulteret i et vancomycin-produkt, som undertiden har en frastødende lugt, og som generelt er farvet i nogen grad. Isolations- og rensningsprocessen, som omfatter flere trin, medfører desuden et produkttab på hvert trin, hvilket medfører, at det samlede udbytte af vancomycin som fri base på denne måde bliver så lavt som 30%.

Med den foreliggende opfindelse tilvejebringes en hidtil ukendt saltform af vancomycin, som er krystallinsk, og som kan isoleres direkte fra en vandig opløsning af relativt råt vancomycin, f.eks. fra fermenteringsvæsker. Det har hidtil ikke været muligt at opnå nogen saltformer af vancomycin i krystallinsk form. Den nye krystallinske form ifølge opfindelsen er stabil i længere perioder, og den kan anvendes direkte i farmaceutiske præparationer. Den foreliggende opfindelse indebærer en forbedring af processen til isolation af vancomycin, idet nødvendigheden af at danne et vancomycin-kobber-kompleks elimineres, og der opnås forøgede udbytter, samtidig med at der opnås et produkt, der har forbedrede farmaceutiske egenskaber.

Fra det ovennævnte US patentskrift nr. 3 067 099 er det kendt, at vancomycin reagerer med phosphorsyre under saltdannelse, men saltet, som opnås ifølge skriftet, er ikke krystallinsk. Derimod er der tale om en amorf substans, som kræver en omfattende efterbehandling og omdannelse til et hydrochlorid, inden produktet kan anvendes, og selv da er produktet behæftet med en grålig farve som følge af resterende urenheder. Produktet fremstillet ifølge den foreliggende opfindelse er derimod særdeles krystallinsk, hvilket indebærer, at man undgår at skulle håndtere store volumener opløsningsmiddel, som efterfølgende må fjernes ved inddampning. Endvidere er produktet med det samme så rent, at en efterfølgende oprensning er unødvendig.

Den nye krystallinske forbindelse ifølge opfindelsen er diphosphatsaltet af vancomycin. Forbindelsen kan isoleres fra en sur vandig opløsning af vancomycin, og den eksisterer generelt som et hydrat. Graden af hydratisering varierer i afhængighed af, i hvilken udstrækning forbindelsen udsættes for tørring, men normalt isoleres saltet med mellem 0 og ca. 10 mol hydratvand. En foretrukken forbindelse ifølge opfindelsen er krystallinsk vancomycin-diphosphat-decahydrat. Vancomycin-diphosphatet ifølge opfindelsen er et særdeles krystallinsk materiale med god stabilitet. Når denne forbindelse er hydratiseret, udviser den de følgende røntgendiffraktionsegenskaber (målt ved pulvermetoden med et 114,6 mm Debye-Scherrer kamera under anvendelse af nikkel-filtreret kobber-stråling på 1,5418 Å):

Gitterafstand, d:	Relative intensiteter, I/I_1:
16,52	1,00
12,36	0,30
10,28	0,50
8,98	0,75
7,97	0,50
7,41	0,20
6,76	0,20
6,24	0,20
5,61	0,50
5,34	0,50
4,96	0,40
4,73	0,20
4,44	0,50
4,26	0,50
3,98	0,40
3,75	0,40
3,55	0,50
3,35	0,30
3,15	meget svag
3,01	meget svag
2,81	meget svag
2,66	meget svag

Forbedringen ved den omhandlede fremgangsmåde til udvinding af vancomycin opnås ved, at man omdanner vancomycin fra en vandig opløsning, f.eks. en vandig fermenteringsvæske, til et diphosphatsalt, hvorefter man isolerer saltet ved filtrering. I praksis filtreres den vancomycinholdige væske ved en basisk pH-værdi på mellem ca. 8,0 og ca. 10. Generelt anvender man en konventionel diatomé-jord-filterhjælp, såsom Celite® (Johns Manville, Inc.) og lignende, for at lette fjernelsen af faste urenheder og mycelier fra fermenteringen. Filtratet ledes derefter igennem en ionbytterharpiks, såsom Ionac X-236, som er en

polystyren-divinylbenzen-natrium-kationbytterharpiks med lav tværbinding, og vancomycinet adsorberes på denne harpiks. Derefter elueres vancomycinet fra harpiksen ved at vaske denne med vand og eluere med en vandig basisk opløsning med en pH-værdi på mellem ca. 9,0 og ca. 11,0. Et typisk opløsningsmiddel til elueringen er vandigt natriumhydroxid med en pH-værdi på mellem ca. 10,0 og ca. 11,0. De basiske eluat, som indeholder vancomycin, neutraliseres, hvorefter det aktive stof re-adsorberes på en ikke-funktionel harpiks, f.eks. en kommerciel Diaion HP-20 harpiks. Den ladede harpiks elueres derefter med et passende opløsningsmiddel, fortrinsvis en vandig alkoholopløsning, f.eks. ca. 3-30% (v/v) vandig ethanol eller isopropanol. Om ønsket kan den vandige alkohol gøres sur, f.eks. ved tilsætning af phosphorsyre, hvilket fører til dannelse af vancomycin-diphosphat under elueringen af den ikke-funktionelle harpiks.

Eluatet, som indeholder vancomycinet, koncentreres generelt ved fjernelse af en del af opløsningsmidlet, f.eks. ved inddampning under reduceret tryk. Det foretrækkes at koncentrere opløsningen, indtil den indeholder fra omkring 250 til omkring 285 mg vancomycin pr. ml opløsning. Det koncentrerede eluat gøres surt ved hjælp af en phosphatkilde til en pH-værdi på omkring 2,0 eller derunder, f.eks. ved tilsætning af vandig phosphorsyre. Såfremt det ønskes, kan man sætte en yderligere mængde phosphatanioner til opløsningen, f.eks. ved at tilsætte et alkalimetalsalt af dihydrogenphosphat-anionen, såsom natrium- eller kalium-dihydrogenphosphat. Mængden af den således tilsatte phosphat-kilde er ikke kritisk, og den er generelt af størrelsesordenen fra omkring 10 til omkring 20%, beregnet på vægten af det tilstedeværende vancomycin i opløsningen. Ved at afkøle den vandige sure opløsning til mellem ca. 0 og ca. 20 °C udfælder man den krystallinske form af vancomycin-diphosphat ifølge opfindelsen, og krystallerne kan udvindes ved filtrering.

Om ønsket kan produktet renses yderligere på konventionel måde, f.eks. ved at vaske krystallerne med koldt vand eller med et opløsningsmiddel, såsom en alkohol, eller ved omkrystallisation fra sædvanlige opløsningsmidler, såsom vand, ethanol eller lignende.

Opfindelsen illustreres nærmere ved de følgende eksempler.

EKSEMPEL 1

Til en omrørt suspension af 10 g vancomycin i 15 ml vand sattes 2 ml 85 % (w/v) vandig phosphorsyre. Herved gik alle partikler i opløsning. Opløsningen blev afkølet til 0 °C i 16 timer. Det krystallinske bundfald, som herved dannedes, blev opsamlet ved filtrering, vasket med 20 ml isopropanol og derefter med 20 ml diethylether og endelig lufttørret til opnåelse af 7,5 g vancomycin-diphosphat med et smeltepunkt på 194 °C (dekomponering).

En prøve af det krystallinske produkt blev tørret ved 120 °C (vægttabet var 11,55 %, hvilket antydede en tilstedeværelse af 10 mol krystalvand), og prøven blev underkastet en grundstofanalyse.

Analyse beregnet for $C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24}.2\ H_3PO_4$
Teoretisk: C 48,18; H 4,96; N 7,66; Cl 4,31; O 31,12; P 3,77.
Fundet: C 47,98; H 51,9; N 7,41; Cl 4,20; O 31,04; P 3,77.

EKSEMPEL 2

En vandig fermenteringsvæske indeholdende vancomycin blev gjort basisk til pH 9 ved tilsætning af 6N natriumhydroxid. Den vandige basiske blanding blev filtreret, og filtratet blev indstillet til pH 7 og filtreret pány. Filtra-

tet blev ledt igennem en Ionac X236-kolonne på natriumform, og kolonnen blev vasket med vand og derefter elueret med en borat-buffer (pH 10). Den i det neutraliserede eluat indeholdte aktivitet blev adsorbereret på en HP-20-harpiks. Den ladede harpiks blev vasket med vand og derefter elueret med en opløsning af 0,1 N phosphorsyre og 10% (v/v) vandig isopropanol. De fraktioner, der indeholdt vancomycin, blev kombineret (2300 ml) og koncentreret under reduceret tryk til et volumen på 65 ml. Opløsningen viste sig ved en biologisk analyse at indeholde 258 mg/ml vancomycin. Opløsningen blev gjort sur til pH 2 ved tilsætning af 6 N phosphorsyre. Den sure opløsning blev omrørt ved 25 °C, imens der portionsvis tilsattes 2,5 g kaliumdihydrogenphosphat. Den sure opløsning blev derefter afkølet til omkring 5 °C i 18 timer. Det krystallinske bundfald, som herved dannedes, blev opsamlet ved filtrering og vasket med 26 ml kold (5 °C) 2% (w/v) vandigt kaliumdihydrogenphosphat, med 13 ml koldt (5 °C) demineraliseret vand og endelig med 26 ml kold (5 °C) isopropanol. Det krystallinske produkt blev tørret i vakuum ved 42 °C i 12 timer, hvilket gav 13,5 g (76,6% udbytte) vancomycin-diphosphat.

EKSEMPEL 3

Den krystallinske form af vancomycin-diphosphat ifølge opfindelsen er, når den hydratiseres, et særdeles krystallinsk fast stof, som er stabilt over lange tidsperioder. Stabiliteten af store prøver af vancomycin-diphosphat blev bestemt ved at fremstille 3 portioner af forbindelsen ved metoden beskrevet i eksempel 2. Prøver af de tre individuelle portioner blev opbevaret ved 21-28 °C i beholdere af polyethylen. Forskellige fysiske parametre for hver af de tre portioner blev analyseret efter 0, 6, 12 og 18 måneder. Resultaterne af disse undersøgelser fremgår af den følgende tabel:

TABEL

Stabilitet af vancomycin-diphosphat

Vancomycin-diphosphat*	Alder (mdr)	Klarhed (Naphlos)	Farve (465 m/u)	Karl Fischer (% H_2O)	pH	Antibakteriel styrke (/ug/mg)	Antibakteriel styrke (% af begyndelsesværdi)	(% af faktor B)**
Portion 1	1	12,6	0,098	3,13	2,53	989	100	88,8
	6	20,0	0,115	2,82	2,39	939	94,9	88,2
	12	28,0	0,114	2,60	2,68	911	92,1	86,2
	18	38,0	0,110	3,39	2,73	864	87,4	85,5
Portion 2	1	21,6	0,145	2,00	2,54	935	100	88,5
	6	46,0	0,168	1,79	2,39	948	101,4	87,9
	12	58,6	0,172	1,91	2,66	871	93,2	87,1
	18	52,0	0,158	2,09	2,69	878	93,9	84,0
Portion 3	1	5,0	0,105	4,25	2,53	893	100	87,7
	6	17,0	0,114	3,75	2,39	926	103,7	87,8
	12	21,3	0,113	3,87	2,69	854	95,6	87,3
	18	30,0	0,113	4,21	2,70	830	92,9	85,6

* fremstillet ifølge eksempel 2

** Vancomycin er sammensat af flere faktorer, hvoraf hovedfaktoren er B.

DK 164914 B

De i den ovenstående tabel angivne data viser, at det omhandlede vancomycin-diphosphat er meget stabilt, idet det beholder mere end ca. 90% af den oprindelige biologiske aktivitet over en periode på 12 måneder.

Det krystallinske diphosphat ifølge opfindelsen kan anvendes som mellemprodukt ved syntese af andre vancomycin-saltformer, og forbindelsen kan formuleres med konventionelle excipienser og bærestoffer og anvendes til behandling af sygdomme af bakteriel oprindelse.

Det krystallinske diphosphatsalt kan let formuleres til bekvem oral eller parenteral indgivelse med henblik på terapeutisk og profylaktisk behandling af bakterielle infektioner. F.eks. kan saltet blandes med konventionelle farmaceutiske bærestoffer og excipienser og benyttes i form af tabletter, kapsler, eliksirer, suspensioner, sirupper, oblatkapsler og lignende. Sådanne midler vil indeholde fra omkring 0,1 til omkring 90 vægt-% af det aktive vancomycin-diphosphat, fortrinsvis mellem ca. 10 og ca. 30 vægt-%. Midlerne kan indeholde sædvanlige bærestoffer og excipienser, såsom majsstivelse, gelatine, lactose, saccharose, mikrokrystallinsk cellulose, kaolin, mannitol, dicalciumphosphat, natriumchlorid og alginsyre. Blandt de disintegrerende midler, der sædvanligvis anvendes i farmaceutiske præparater, kan nævnes natriumcroscarmellose, mikrokrystallinsk cellulose, majsstivelse, natriumglycolat og alginsyre. Tabletbindemidler, som kan inkluderes, omfatter acaciegummi, methylcellulose, natriumcarboxymethylcellulose, polyvinylpyrrolidon, hydroxypropylmethylcellulose, saccharose, stivelse og ethylcellulose. Der kan også anvendes smørende midler og anti-klæbestoffer, og disse omfatter magnesiumstearat og andre metalstearater, stearinsyre, flydende silicone, talkum, voksarter, olier og kolloidt siliciumoxid. Endvidere kan man anvende aromastoffer, såsom pebermynte, vintergrøntolie,

kirsebæraroma eller lignende. De følgende eksempler er illustrative eksempler på formuleringer, der egner sig til oral indgivelse:

EKSEMPEL 4

Tabletter, der indeholder 250 mg vancomycin beregnet som fri base, fremstilles på følgende måde:

Ingrediens	Vægt
Vancomycin-diphosphat (fremstillet ved metoden beskrevet i eksempel 2)	282,5 mg
mikrokrystalinsk cellulose	101,5 mg
natriumcroscarmellose	12,0 mg
polyvinylpyrrolidon	12,0 mg
magnesiumstearat	3,0 mg
stearinsyre	4,0 mg
renset vand	0,16 ml

Vancomycin-diphosphatet anbringes sammen med en del af den mikrokrystallinske cellulose og en del af natriumcroscarmellosen i en passende beholder, og der blandes indtil opnåelse af homogenitet. Samtidig fremstilles en opløsning af polyvinylpyrrolidon i vand, og denne opløsning sættes til de blandede pulvere. Den resulterende blanding granuleres og sigtes om nødvendigt, hvorefter den tørres. Den resterende mikrokrystallinske cellulose og natriumcroscarmellose sættes til den tørrede granulering. Efter blanding tilsættes magnesiumstearat og stearinsyre, hvorefter der blandes påny. Den resulterende pulverblanding presses til tabletter med en teoretisk vægt på 415 mg. Hver tablet indeholder vancomycin-diphosphat i en mængde, der er ækvivalent med 250 mg vancomycin som fri base.

EKSEMPEL 5

Kapsler indeholdende vancomycin-diphosphat fremstilles på følgende måde:

Ingrediens	Mængde
Vancomycin-diphosphat	282,5 mg
majsstivelse (fritstrømmende pulver)	117,65 mg
flydende silicone (250 cSt)	2,75 mg
majsstivelse	147,1 mg

Man blander vancomycin-diphosphat, majsstivelse som fritstrømmende pulver, flydende silicone (350 cSt) og stivelsespulver i en passende mixer indtil homogenitet. Blandingen fyldes på hårde gelatinekapsler med passende størrelse, således at hver kapsel indeholder 550 mg blanding. Hver kapsel kommer herved til at indeholde vancomycin-diphosphat i en mængde, der er ækvivalent med 250 mg vancomycin som aktiv base.

EKSEMPEL 6

En flydende formulering af vancomycin-diphosphat fremstilles som følger:

Ingrediens	Vægt
vancomycin-diphosphat	5 g
rød farve	10 mg
kirsebæraroma	20 mg
natriumlaurylsulfat	1,5 mg
saccharose	62 g

Saccharosen anbringes i et passende blandeapparat. Der tilsættes en blanding indeholdende en del af saccharosen som et pulver sammen med det røde farvestof, aromastoffet og natriumlaurylsulfatet. Inden anvendelsen sættes 60 ml vand

til den tørre blanding i en flaske. Flasken omrystes, indtil indholdet er gået i opløsning i vandet. 5 ml af opløsningen indeholder 250 mg vancomycin-diphosphat.

EKSEMPEL 7

En suspension af vancomycin-diphosphat, som er klar til brug, fremstilles som følger:

Ingrediens		Vægt
vancomycin-diphosphat		5 g
butyl-p-hydroxybenzosyre		20 mg
rød farve		10 mg
kirsebæraroma		50 mg
thixin R		400 mg
saccharosepulver		30 g
fraktioneret kokosnøddeolie	op til	100 ml

Den fraktionerede kokosnøddeolie opvarmes, og butyl-p-hydroxybenzosyre og thixin R tilsættes under omrøring. Der afkøles til stuetemperatur, hvorefter saccharosepulveret, det røde farvestof, aromastoffet og vancomycin-diphosphatet tilsættes. Blandingen ledes igennem en kolloidmølle. 5 ml af suspensionen indeholder 250 mg vancomycin-diphosphat.

Som nævnt i det foregående kan den krystallinske form af vancomycin-diphosphat ifølge opfindelsen omdannes til andre vancomycin-derivater, f.eks. til andre saltformer, såsom hydrochloridsaltet. Man kan opløse vancomycin-diphosphat i en vandig syre, hvorefter man kan udvinde det tilsvarende syreadditionssalt, eller man kan omsætte vancomycin-diphosphat med en vandig base, hvorved man opnår den frie base, som man derefter kan omsætte med en mineralsyre eller en organisk syre til opnåelse af det tilsvarende syreadditionssalt. En foretrukken måde, hvorved man kan gennem-

føre en sådan omdannelse, gør brug af en ionbytterharpiks som eksemplificeret nedenfor:

EKSEMPEL 8

En ionbytterharpiks (IRA-45) blev vasket med 5% (w/v) vandigt natriumhydroxid og derefter med 5% (v/v) vandig saltsyre til pH 1,2.Den vaskede harpiks blev anbragt i en glaskolonne med dimensionerne 1,7 x 66 cm. En opløsning af 81 g vancomycin-diphosphat (fremstillet som beskrevet i eksempel 2) i 812,5 ml demineraliseret vand blev ledt over ionbytterharpiksen med en strømningshastighed på 13 ml/minut. Eluatet blev opsamlet, og harpiksen blev vasket med vand. Eluatet og vaskevandet blev kombineret, og der neutraliseredes til pH 3,5 ved tilsætning af den frie baseform af IRA-45-harpiksen i 180 ml vand. Harpiksen blev fjernet ved filtrering, og filtratet (1200 ml) blev analyseret. Koncentrationen af vancomycin-hydrochlorid blev bestemt ved ultraviolet analyse ved 280 nm, og den viste sig at være 51,17 mg/ml. Filtratet indeholdt således 61,4 g (95% udbytte) vancomycin-hydrochlorid. En yderligere rensning og lyofilisering gav vancomycin-hydrochlorid som et pulver.

Det ifølge opfindelsen fremstillede krystallinske vancomycin-diphosphat kan anvendes som antibakterielt middel til behandling af sygdomme af bakteriel oprindelse. Forbindelsen kan formuleres på passende måde og indgives oralt eller parenteralt til et pattedyr, som lider af en bakterieinfektion. Forbindelsen kan også anvendes profylaktisk og indgives til patienter, som mistænkes for at kunne udvikle bakterieinfektioner. Vancomycin-diphosphat er særligt effektiv over for stammer af gram-positive mikroorganismer såsom streptococcer, staphylococcer, Clostridium difficile og lignende.

Når man skal praktisere denne antibakterielle behandling, kan man bekvemt formulere og administrere vancomycin-diphosphat i en effektiv mængde på mellem ca. 0,5 og ca. 25 mg pr. kg legemsvægt. En typisk daglig dosis til et voksent menneske vil ligge på mellem ca. 250 mg og ca. 1,0 g. Den nøjagtige mængde af forbindelsen, som indgives, kan naturligvis variere i afhængighed af den bestemte tilstand, der skal behandles, den pågældende patient og lignende faktorer.

Det krystallinske vancomycin-diphosphat ifølge opfindelsen kan desuden anvendes til at forbedre foderudnyttelsen hos drøvtyggere. Forbindelsen kan formuleres som et foderstof eller som et additiv til foderstoffer og indgives til drøvtyggere i mængder på mellem ca. 20 og ca. 40 g af den aktive bestanddel pr. ton foderstof. Typiske dyr, som kan underkastes en sådan behandling, omfatter kvæg til kødproduktion, får og andre drøvtyggere.

P a t e n t k r a v :

1. Fremgangsmåde til udvinding af vancomycin i form af et krystallinsk salt fra en vandig opløsning af vancomycin, k e n d e t e g n e t ved, at man omsætter opløsningen af vancomycinet med phosphorsyre til dannelse af et krystallinsk diphosphatsalt, som man derefter separerer fra opløsningen ved udkrystallisation.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at koncentrationen af vancomycin i den vandige opløsning er mellem ca. 250 og ca. 285 mg/ml.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at man sætter et alkalimetaldihydrogenphosphat til en vandig sur opløsning, der indeholder vancomycin.

4. Fremgangsmåde ifølge krav 3, k e n d e t e g n e t ved, at alkalimetaldihydrogenphosphatet er kaliumdihydrogenphosphat.

5. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at man sætter phosphorsyre til en vandig opløsning af vancomycin, indtil pH-værdien er 2,0 eller derunder.

6. Krystallinsk vancomycin-diphosphat fremstillet ved fremgangsmåden ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at det tilnærmelsesvis udviser det følgende røntgendiffraktionsmønster:

Gitterafstand, d:	Relative intensiteter, I/I_1:
16,52	1,00
12,36	0,30
10,28	0,50
8,98	0,75
7,97	0,50
7,41	0,20
6,76	0,20
6,24	0,20
5,61	0,50
5,34	0,50
4,96	0,40
4,73	0,20
4,44	0,50
4,26	0,50
3,98	0,40
3,75	0,40
3,55	0,50
3,35	0,30
3,15	meget svag
3,01	meget svag
2,81	meget svag
2,66	meget svag

7. Krystallinsk vancomycin-diphosphat-decahydrat, k e n - d e t e g n e t ved, at det er fremstillet ved fremgangsmåden ifølge krav 1.