

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D499/18

C07D501/12 C12P 37/04

C12P 35/04

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 98811310.4

[43] 公开日 2001 年 1 月 10 日

[11] 公开号 CN 1279685A

[22] 申请日 1998.9.18 [21] 申请号 98811310.4

[30] 优先权

[32] 1997.9.19 [33] NL [31] 1007077

[86] 国际申请 PCT/NL98/00538 1998.9.18

[87] 国际公布 WO99/15531 英 1999.4.1

[85] 进入国家阶段日期 2000.5.18

[71] 申请人 DSM 有限公司

地址 荷兰海尔伦

[72] 发明人 E·E·克斯 H·M·穆迪

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 罗宏 王其灏

权利要求书 2 页 说明书 11 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 回收 β -内酰胺抗生素的方法

[57] 摘要

从在溶液中含有 β -内酰胺抗生素和 D-苯基甘氨酸(FG)的混合物回收 β -内酰胺抗生素的方法,在浓缩时将混合物的 pH 调节到 3 和 8 之间,浓度使 FG 保留在溶液中,回收获得固体 β -内酰胺抗生素,并且将残留的液体进行浓缩,在其中生成含有固体 β -内酰胺抗生素和固体 FG 的浆液,将浆液的 pH 调节到 β -内酰胺抗生素能够溶解的水平,FG 以固体的形式分离,至少部分利用了母液中存在的 β -内酰胺抗生素。优选地,利用来源于酶酰化反应的基本含有 β -内酰胺抗生素和 FG 的初始混合物,在上述反应中 D-苯基甘氨酸衍生物酰化对应的 β -内酰胺核,特别是 6-氨基青霉素烷酸,7-氨基去乙酰基头孢菌酸和 7-氨基-3-氯-头孢-3- α -羧酸。

ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. 从在溶液中含有 β -内酰胺抗生素和 D-苯基甘氨酸(FG)的混合物回收 β -内酰胺抗生素的方法, 将混合物的 pH 调节到 3 和 8 之间, 浓度使 FG 保留在溶液中, 回收获得 β -内酰胺抗生素并且将残留的液体进行浓缩, 在其中生成含有固体 β -内酰胺抗生素和固体 FG 的浆液, 把浆液的 pH 调节到 β -内酰胺抗生素能够溶解的程度, FG 以固体的形式被分离, 并且至少部分利用了母液中存在的 β -内酰胺抗生素。
2. 根据权利要求 1 所述的方法, 其中选择混合物的浓度以便当把混合物的 pH 调节到 3 和 8 之间后, 溶液中的 FG 能达到超饱和。
3. 根据权利要求 1 或 2 的方法, 其中至少部分回收了存在于母液中的 β -内酰胺抗生素。
4. 根据权利要求 1-3 的任何一个所述的方法, 其中把母液返回并且与混合物合并。
5. 根据权利要求 1-4 的任何一个所述的方法, 其中在温度 20-60℃, 0.5-10 小时进行浓缩。
6. 根据权利要求 5 所述的方法, 其中在温度 25-55℃, 1-5 小时进行浓缩。
7. 根据权利要求 1-6 的任何一个的方法, 其中在薄膜蒸发器中进行浓缩。
8. 根据权利要求 1-7 的任何一个所述的方法, 其中在浓缩过程中的浓缩因子在 3 至 20 之间。
9. 根据权利要求 1-8 的任何一个所述的方法, 其中将浆液先分离成液体流以及浓缩的浆液或固体。
10. 根据权利要求 9 所述的方法, 其中在倾析器中进行分离。
11. 根据权利要求 1-10 的任何一个所述的方法, 其中基本含有 β -内酰胺抗生素和 FG 的起初混合物来源于酶酰化反应, 在该反应中利用 D-苯基甘氨酸衍生物酰化相应的 β -内酰胺核。
12. 根据权利要求 11 所述的方法, 其中把在酰化反应之后获得的混合物的 pH 值首先调节到 pH6.5 和 11 之间, 或 pH0 和 3 之间。
13. 根据权利要求 12 的方法, 其中把混合物的 pH 下降到 0.3 和 2 之间。

14. 根据权利要求 1-13 的任何一个所述的方法, 其中混合物含有 10-1500 毫摩尔/升 β -内酰胺抗生素, 0-1500 毫摩尔/升 FG, 0-1000D-苯基甘氨酸衍生物和 0-1000 毫摩尔/升 β -内酰胺核。

5 15. 根据权利要求 1-14 的任何一个所述的方法, 其中 β -内酰胺核是 6-氨基青霉素烷酸(6-APA)并且 β -内酰胺抗生素是氨苄青霉素。

16. 根据权利要求 1-14 的任何一个所述的方法, 其中 β -内酰胺核是 7-氨基去乙酰基头孢菌酸(7-ADCA), 并且 β -内酰胺抗生素是头孢氨苄。

10 17. 根据权利要求 1-14 的任何一个所述的方法, 其中 β -内酰胺核是 7-氨基-3-氯-cef-3-em-4-羧酸(7-ACCA), 而 β -内酰胺抗生素是头孢氯。

说明书

回收 β -内酰胺抗生素的方法

5 本发明涉及从在溶液中大量含有 β -内酰胺抗生素和 D-苯基甘氨酸 (FG) 的混合物中回收 β -内酰胺抗生素的方法, 在使 FG 保留在溶液中的浓度, 将混合物的 pH 调节到 3 和 8 之间, 回收获得固体 β -内酰胺抗生素并且将残留的液体进行浓缩, 在其中生成含有固体 β -内酰胺抗生素和固体 FG 的浆液, 将浆液的 pH 调节到 β -内酰胺抗生素能够溶解的程度, FG 以固体的形式被分离出来, 并且至少部分利用母液 10 中存在的 β -内酰胺抗生素。

通常, 在用 D-苯基甘氨酸衍生物酰化 β -内酰胺核从而制备 β -内酰胺抗生素的过程中, β -内酰胺抗生素是难于回收的, 反应混合物难于加工。加工过程中经常基本丢失了有价值的成分, 特别是 β -内酰胺抗生素, 部分是溶解性损失, 部分是由于 β -内酰胺抗生素的 15 稳定性有限而降解。

本发明提供了回收 β -内酰胺抗生素的新概念, 由此, 在可以用于工业规模的简单方法中, 大大减少了 β -内酰胺抗生素的损失, 同时回收了有价值的 D-苯基甘氨酸。

在利用适当的酰化试剂酰化内酰胺核的反应过程中, 特别是在利用例如 D-苯基甘氨酸的酰胺, 例如 D-苯基甘氨酸酰胺 (FGA) 或 D-苯基甘氨酸的酯, 例如 D-苯基甘氨酸的甲基酯 (FGM) 的酶酰化反应 20 中, 酰化试剂水解 β -内酰胺抗生素形成 D-苯基甘氨酸 (FG)。

在酰化反应后获得的混合物除了含有 β -内酰胺抗生素和 FG 之外, 可能还含有例如仍未转化的 β -内酰胺核和/或酰化试剂, 例如 FGA 或 FGM。已经发现可以被用于本发明方法的混合物的准确组成并不是特别关键。可以适用于本发明方法的混合物优选地是含有 10-1500 毫摩尔/升, 特别是 50-1000 毫摩尔/升 β -内酰胺抗生素; 0-1500 毫摩尔/升, 特别是 0-1000 毫摩尔/升 FG; 0-1000 毫摩尔/升, 特别是 0-200 毫摩尔/升 β -内酰胺核; 以及 0-1000, 特别是 0-400 毫摩尔/升 D-苯基甘氨酸衍生物的混合物。 25 30

如果需要, 将含有 β -内酰胺抗生素和 FG 的混合物调节到一定的浓度和 pH 以使所有的成分, 特别是上面提到的成分, 可选地, 除了 β

- 内酰胺抗生素以外，都产生溶解。为此目的，可以选择高的 pH，例如在 6.5 和 11 之间，优选地在 7 和 9.5 之间，或低的，例如在 0 和 3 之间，特别是 0.3 和 2 之间。当大规模进行该方法时，优选地选择程度不同的连续的工作方法。连续溶解过程可使残留时间在相当高或低的 pH 下更短。如果需要，可以通过例如过滤或超滤把仍然存在的任何固体成分分离出来。

根据本发明，通过采取措施，例如加水，将可能仍然含有固体 β -内酰胺抗生素的混合物的 pH 调节到 3 和 8 之间，优选地 4 至 7 之间，以保证反应试剂的浓度，特别是 FG 的浓度，达到一定水平，从而保证所有的反应试剂，除了 β -内酰胺抗生素以外不管是否达到过饱和，都保留在溶液中的。优选地，选择一个浓度，使 FG 在溶液的 pH 被调节到 3 和 8 之间后在溶液中超饱和。温度不是特别关键，例如在 -5 到 45℃ 之间，特别是在 0 至 25℃ 之间。如果混合物中 FG 的浓度相当高，则把温度优选地维持在 0 至 10℃ 之间。这是因为已惊人地发现 FG 在这些条件下可以严重地超饱和，而不产生 FG 沉淀。这使得能够维持相当高的浓度，以致需要的体积更小，而在溶液中保留的 β -内酰胺抗生素也更少。结果是， β -内酰胺抗生素基本以固体的形式沉淀下来，从而可以对它进行回收。

但是，已经发现，在回收了固体 β -内酰胺抗生素后，在母液中存在的 β -内酰胺抗生素的量仍然相当高。本申请人现在已经发现了对这一液体进一步进行加工，从而使 β -内酰胺抗生素的产量进一步提高的方法。根据本发明，将液体进行浓缩。为了防止 β -内酰胺抗生素的降解和 β -内酰胺抗生素和 FG 晶体的脱色，应该选择相对较低的温度，浓缩步骤应该持续相对较短的时间，而在另一方面，应该选择相对较高的温度，相对较长的渐进的浓缩过程获得不太粘稠的浆液和可以容易地进行分离的大的 FG 晶体。惊人地发现，可以进行一定的浓缩操作，从而使 β -内酰胺抗生素的降解剧烈减少，而 FG 的晶体仍然相当大并且可以容易地进行分离。

进行浓缩的温度可能是在例如 10 至 80℃ 之间，优选地在 20 和 60℃ 之间，特别是在 25 和 55℃ 之间。浓缩的持续时间在例如 10 分钟至 24 小时之间，优选地在 0.5 至 10 小时之间，特别是在 1 至 5 小时之间。选择进行浓缩的温度和浓缩的持续时间，通常，选择相对较短

的持续时间和较高的温度，或者反之。

浓缩可以通过例如在减压下进行蒸发或通过微过滤来进行。蒸发可以在例如薄膜蒸发器中进行。已经发现器壁易于保持清洁，并且β-内酰胺抗生素所发生的降解很少。另外，已经发现当例如以高的流
5 速将待蒸发的液体悬浮液通过蒸发器，逐渐进行蒸发时，可以获得更好质量的 FG 晶体，在这一过程中，液体的组成逐渐发生变化。浓缩的第二个可能的实施方案是蒸发器-结晶器，例如通过式蒸发器或许多串联的通过式蒸发器。

已经发现通过微过滤也可以非常好地进行浓缩。惊人地发现，即
10 使在微过滤过程中发生了结晶，通过膜的流量仍然非常高。适用于微过滤浓缩的膜有，例如 SeIRO MPT-10 (Membrane Products Kiryat Weizmann) ， WFN0505 (Stork Friesland) 和 Nanomax-50 (Millipore)。

浓缩系数，即浓缩前后的体积比例，可以在宽阔的范围内变化，
15 优选地在 1 和 30 之间，特别是在 3 和 20 之间。浓缩系数越高，效率越高。优选地，选择适当的浓缩系数以使在该过程中产生的盐能保持溶解。本领域的技术人员可以容易地确定出在他们的具体情况中的最佳浓缩系数。

优选地首先将浓缩步骤获得的浆液分离成清澈的液体流和浓缩
20 的浆液，或分离成清澈的液体流和固体。可以用任何分离仪器，例如离心机或过滤器进行分离。因为固体用不着以固体的形式被分离，所以优选地使用一倾析槽。可以把清澈的液体排放，这样可以防止降解产物和盐的积累。因为这一排泄流是相当小，只有小量的β-内酰胺抗生素因为溶解性损失而丢失。

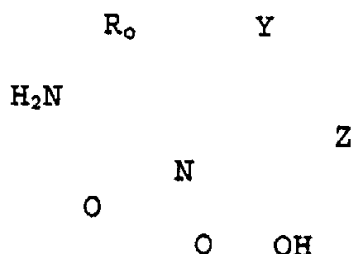
在浓缩过程中，FG 和β-内酰胺抗生素都以固体的形式生成。已经
25 发现可以容易地过滤在浓缩步骤中形成的固体 FG。结果是，部分由于β-内酰胺抗生素的浓度现在非常低，现在发现通过将浆液的 pH 调节到β-内酰胺抗生素可以溶解，而 FG 不能溶解的范围，例如在 6.5 和 11 之间，优选地在 7 和 9.5 之间，或在 0 和 3 之间，优选地在 0.3
30 和 2 之间，然后通过例如过滤或离心来回收 FG 固体是可能的。因为现在可以快速地分离固体，所以不管 pH 值高还是低，在分离过程β-内酰胺抗生素的降解相对较少。如果需要，随后可以把过滤物返回到

工序中或留为他用。

例如可以通过用 pH 转换引导结晶的方式回收前面提到的过滤物中的β-内酰胺抗生素。另一个可能性是将过滤物返回到如含有溶解的β-内酰胺抗生素和 FG 的混合物中。

- 5 本发明的工序可以适用于如具有苯基甘氨酸侧链，例如头孢氨苄，氨苄青霉素，cephaclor，匹氨西林，becampicillin，酰氨西林和头孢甘氨酸的β-内酰胺抗生素的制备。

原则上可以利用任何β-内酰胺核，特别是具有通式(1)的β-内酰胺核：



- 10 其中 R₀代表 H 或具有 1-3 个碳原子的烷氧基；Y 代表 CH₂，O，S 或硫的氧化形式，而 Z 则代表



- 15 其中 R₁代表例如 H，OH，卤素，具有 1-5 个碳原子的烷氧基，具有 1-5 个碳原子的烷基基团，具有 4-8 个碳原子的环烷基基团，具有 6-10 个碳原子的芳基或杂合芳基，其中这些基团可以被或不被替换成例如具有 1-8 个碳原子的烷基，芳基，羧基或烷氧基基团；并且如果需要，其中的羧酸基团可以是酯基团。

- 20 可以用于本发明方法的β-内酰胺核的合适的例子有青霉素衍生物，例如 6-氨基青霉烷酸(6-APA)和头孢菌酸衍生物，例如在 3-位置带有或不带有取代基的 7-氨基头孢菌酸，例如 7-氨基头孢菌酸(7-ACA)，7-氨基去乙酰基头孢菌酸(7-ADCA)，和 7-氨基-3-氯-头孢-3-em-4-羧酸(7-ACCA)。

原则上，任何适合在偶联反应中作为催化剂的酶可以被用作本发明的酶。这样的酶包括总称为青霉素酰胺酶或青霉素酰基转移酶的



酶。例如在 J.G.Shewale 等人, Process Biochemistry, 1989 年 8 月, 146-154 中, 在 J.G.Shewale 等人, Process Biochemistry International 1990 年 6 月, 97-103 中叙述了这样的酶。合适的酶的例子是来源于以下的酶: 醋杆菌属的, 特别是巴氏醋杆菌, Aeromonas, Alcaligenes, 特别是, 粪产碱菌, aphanocladium, 芽胞杆菌属, 特别是巨大芽胞杆菌, Cephalosporium, 埃希氏杆菌属, 特别是, 大肠杆菌, 黄杆菌属, Fusarium, 特别是 Fusarium oxysporum, 和 Fusarium Solani, 克吕沃尔氏菌属, Mycoplana, 精肱杆菌属, Proteus, 特别是, Proteus rettgeri, 假单胞菌属, 和 Xanthomonas, 特别是 Xanthomonas citrii.

优选地使用经过固定的酶, 因为这种酶可以容易地分离和再利用。例如在 EP-A-222462 中叙述了合适的固定技术。另一个适当的技术包括在含有凝胶化试剂, 例如明胶, 和含有游离氨基的多聚物, 例如藻酸胺, 几丁质或聚乙烯亚胺, 的载体上固定青霉素 G 的酰基转移酶。另外, 也可以使用晶态的酶 (CLEC'S™).

在可从商业途径获得的固定酶中特别合适的酶有 Boeringer Mannheim GmbH 的大肠杆菌酶, 其商品名为 Enzygel®; 来自 Recordati 的青霉素 G 酰基转移酶; 和来自 Pharma Biotechnology Hannover 的青霉素 G 酰基转移酶。

在酶的酰化反应中, 酰化试剂可以例如是活化形式的 D-苯基甘氨酸, 优选地是其伯、仲、叔酰胺或盐, 或更低级的烷基 (1-4 个碳) 的酯, 例如甲基酯。

通常进行酶酰化反应的温度低于 40℃, 优选地在 -5 和 35℃ 之间。进行酶酰化反应的 pH 通常是在 5.5 和 9.5 之间, 优选地在 6.0 和 9.0 之间。

当基本上达到了最大转化时, 优选地把反应差不多完全终止。终止反应的适当实施方案是降低 pH, 优选地降到 4.0 和 6.3 之间, 特别是在 4.5 和 5.7 之间。另一个适当的实施方案是在达到最大转化时降低反应混合物的温度。也可以结合以上两个实施方案。

一旦在达到最大转化时把反应终止, 反应混合物通常将以悬浮液的形式存在, 它含有许多固体, 例如抗生素, D-苯基甘氨酸, 而且可能还含有固定酶。为了使方法经济, 优选地对固定酶进行回收。这

可以通过在搅拌的同时把反应混合物用筛过滤来完成，选择搅拌器的旋转方向以使悬浮液在搅拌器的中心处被向上泵起。随后，可以通过本发明的方法，通过例如 pH 变换，使可能除了固体抗生素以外的固体成分首先溶解，由此来回收有价值的成分，例如抗生素和 FG。

5 在本发明的构架中，可以几种方法来降低 pH 值，例如可以在混合物中加入酸。适当的酸例如是矿物质酸，特别是硫酸，盐酸或硝酸。优选地，使用盐酸。通过例如在混合物中加入碱可以提高 pH。适当的碱是例如无机碱，特别是氢氧化铵，氢氧化钾和氢氧化钠。优选地，使用氢氧化铵。

10 在实践中，通常在水中进行反应混合物的酶酰化反应和加工。如果需要，反应混合物也可以含有优选地小于 30% 体积的有机溶剂或多种有机溶剂的混合物。适用的有机溶剂的例子是具有 1-7 个碳原子的醇，例如单醇，特别是甲醇或乙醇；二醇，特别是聚乙二醇；或三醇，特别是甘油。

15 本发明的方法特别适用于对酶酰化反应后的反应混合物进行加工，在上述酰化反应中利用 D-苯基甘氨酸的酰胺，例如 FGA，或 D-苯基甘氨酸的酯，例如 FGM，酰化 6-APA。

20 在本过程的优选的实施方案中，采取措施保证溶解于反应混合物中的 6-APA 的浓度保持相对较低的水平，从而比起选择溶解的 6-APA 的浓度尽可能高的情况可以获得更高的转化。另外，已经发现当溶解的 6-APA 的浓度保持低水平时反应混合物的搅拌度明显更高。

25 在本文中，“转化”指的是形成的氨苄青霉素和利用的 6-APA 的量的摩尔比例。将溶解的 6-APA 的浓度表示为每公斤反应混合物中所含的 6-APA 的摩尔数；将 6-APA 的总浓度，包括溶解和未溶解的，表示为每公斤的总反应混合物中所含的 6-APA 以及氨苄青霉素的摩尔数；反应的全部混合物除了含有溶液以外，还可含有许多固体，例如 6-APA，氨苄青霉素，苯基甘氨酸和固定酶。

30 酰化试剂和 6-APA 的摩尔比例，即所加入的苯基甘氨酸衍生物的总量，除于所加入的 6-APA 的总量(以摩尔数表示)，优选地小于 2.5。优选地摩尔比例在 1.0 和 2.0 之间，特别是在 1.2 和 1.8 之间。

优选地分批进行酶酰化反应。如果需要，也可以连续地进行反应，同时对溶解的 6-APA 的浓度，进行在线控制。

AMPI = 氨苄青霉素

AMPI. 3H₂O = 三水合氨苄青霉素

6 - APA = 6 - 氨基青霉烷酸

FGA = D - 苯基甘氨酸酰胺

5 FG = D - 苯基甘氨酸

FGHM = D - p-羟苯基甘氨酸甲基酯

如 WO - A - 97/04086 中所述, Assemblase™ 是来自大肠杆菌 ATCC1105 的固定的大肠杆菌青霉素酰基转移酶。如 EP - A - 222462 所述进行固定, 用明胶和几丁质作为凝胶试剂, 用戊二醛作为交联试剂。
10

通过加入到活化的球晶中的酶量来确定大肠杆菌青霉素酰化酶的最终活性, 并且计算为 3ASU/克干重, 1ASU(阿莫西林合成单位)被定义为在 1 小时内能够用 6-APA 和 FGHM 生成 1 克阿莫西林. 3H₂O 的酶量(反应温度 20℃; 6.5% 6-APA 及 6.5% FGHM)。

15 实施例 1

制备 FGA. 1/H₂SO₄ 溶液

在 T = 5℃ 时, 在 650 克水中悬浮 301.6 克 FGA (2.00 摩尔)。在搅拌的同时在 1 小时内逐滴加入 102.1 克 96% 的 H₂SO₄ (1.00 摩尔), 通过冷却使温度保持在 T < 25℃。

20 实施例 II

青霉素的酶合成

把 300 克 net-wet assemblase™ 装于装配有 174 微米网状筛底的酶反应器 (1.5 升, 直径 11 厘米) 之中 (术语 net-wet 指通过玻璃过滤器从酶浆液中分离酶所能获得的酶的质量)。

25 把 131.6 克 6 - APA (0.600 摩尔), 30.2 克 FGA ((0.200 摩尔) 和 400 毫升水 (T=10℃) 装于一制备反应器 (1.2 升) 之中。在 T = 10℃ 搅拌混合物 15 分钟, 然后在 t = 0 通过 100 毫升水 (T=10℃) 辅助转移到酶反应器。

在 t = 0 打开酶反应器中的搅拌器。在所有时间保持温度 10℃。
30 在 233 分钟的时间内, 以恒定的速度加入 423.7 克 FGA. 1/2H₂SO₄ 溶液 (0.800 摩尔)。用 6NH₂SO₄ 滴定以使 pH 保持在约 6.3。在 t=570 分钟, AMPI 的量达到最大, 加入 6N H₂SO₄ 把 pH 降到 5.0。此时酶反应器含

有:

575 毫摩尔 AMPI
15 毫摩尔 6 - APA
50 毫摩尔 FGA

5 365 毫摩尔 FG

实施例 III

从酶反应器分离 AMPI/FG 浆液

用搅拌过滤的方法通过筛底从酶反应器除去如实施例 II 所述制备的 AMPI/FG 浆液。这是通过用定位于筛上 0.5 厘米的螺旋刀搅拌器来完成的。以 500rpm 的转速向上搅拌。利用 10×250 毫升的水 (T=10℃) 冲洗反应器。同样, 通过搅拌过滤从筛底除去冲洗的水。

合并 AMPI/FG 浆液和所有用水从反应器中分离的物质 (T=10℃)。这样获得的 AMPI/FG 浆液含有 >99.8% 的酶反应器产生的总 AMPI 的量, 和 >99.5% 的总的产生的 FG 的量。

15 经过如此搅拌过滤之后, 在酶反应器中存在着 >99.5% 的 Assemblase™。

实施例 IV

在薄膜蒸发器的辅助下蒸发浓缩氨苄青霉素母液

来自 AMPI 结晶步骤的母液 (量, 6798 克, T=5℃, pH=6.0) 含有 0.06% (17 毫摩尔) 6 - APA, 0.10% (45 毫摩尔) FGA, 0.53% (104 毫摩尔) AMPI 和 0.96% (430 毫摩尔) FG。

通过薄膜蒸发器的辅助蒸发浓缩这一母液。从一储藏容器给薄膜蒸发器进料, 并把来自薄膜蒸发器的产物返回到同一储藏容器。搅拌储藏容器。

25 将薄膜蒸发器的壁温度调节到 t=65℃, 将薄膜蒸发器的压力调节到 P=80 毫巴。

在 t=0 时开始循环 (储藏容器⇒薄膜蒸发器⇒储藏容器; 流速=41.6 公斤/小时)。

维持储藏容器中液体的温度 T=40℃。

30 在 t=257 分钟时终止蒸发, 此时已经收集了总共 5655 克的浓缩物。在把温度线性地从 T=40℃ 降低到 T=3℃ 的过程中, 将薄膜蒸发器和储藏容器的内容物另外再循环 2 小时。然后, 把浓缩物 (1084 克)

排空。首先利用 250 毫升，其次利用 2000 毫升水 ($T=10^{\circ}\text{C}$) 冲洗薄膜蒸发器和储藏容器。合并浓缩物和第一次冲洗的水。第二次冲洗的水含有可忽略量的 AMPI 和 FG。

实施例 V

5 将浓缩的氨苄青霉素母液返回到氨苄青霉素工序中用以再循环；FG 的分离。

在玻璃过滤器(直径 10 厘米)上过滤合并后的浓缩物 + 第一次冲洗的水(实施例 IV) (过滤时间 10 分钟)。用 25 毫升水 ($T=5^{\circ}\text{C}$) 再次冲洗固体产物。产量: 210 克 AMPI/FG 湿的块状物。排掉母液(1155 克)。

10 利用 400 克水辅助，定量地将 AMPI/FG 湿的块状物转移到搅拌反应器中。将浆液在 $T=5^{\circ}\text{C}$ 搅拌 1 小时，随后，在 $T=5^{\circ}\text{C}$ ，在 4 分钟内加入 33.0 克 6N HCl。在搅拌另外 5 分钟后，在玻璃过滤器(直径 13 厘米)，上过滤浆液(过滤时间 5 分钟)。利用 120 毫升水 ($T=5^{\circ}\text{C}$) 冲洗 FG 湿的块状物，并且把其干燥。产量为 36.7 克 FG。合并母液和冲洗的水 ($T=5^{\circ}\text{C}$)，并在 2 分钟后把其加入到实施例 VI 的酸溶液中(30 分钟)。

实施例 VI

氨苄青霉素的再结晶，包括浓缩的氨苄母液的再循环

20 在包括，如上述顺序，储藏容器(4 升)、溶解容器(0.25 升)、装有 Seitz 过滤板的过滤器、和结晶容器(7 升)的装置中进行再结晶。所有容器装备了搅拌器，pH 电极和温度计。

在结晶容器中加入含有 5.0 克作为核的 AMPI. $3\text{H}_2\text{O}$ 的 200 毫升水 ($T=5^{\circ}\text{C}$)。通过 2N NaOH 溶液调节 pH 到 7。

25 将实施例 III 所述分离的 AMPI/FG 浆液定量转移到储藏容器中，搅拌的同时冷却到 $T=2^{\circ}\text{C}$ 。在把整个循环调节到 $T=2^{\circ}\text{C}$ 之后，把浆液从储藏容器填充到溶解容器。

30 在 $t=0$ 时，利用 6N HCl 的辅助将溶解容器调节到 pH1.1，在此基础上将 pH 维持在 1.1(利用 6N HCl 辅助滴定)。然后，在 1 小时内把储存容器中的内容物加到溶解容器中，同时把溶解容器中的内容物加入到结晶容器中，溶解容器中的水平保持恒定。把结晶容器中的温度维持在 $T=5^{\circ}\text{C}$ 。利用 2N NaOH 溶液滴定，使这一容器中的 pH 保持

在 7.0。同时，将如实施例 V 所述制备的合并后的母液和冲洗的水以恒定的速度，在 $t=15$ 分钟到 $t=45$ 分钟之间加入到溶解容器中。

在 $t=60$ 分钟时，排空储藏容器，此时已经在溶解容器中加入了 300 毫升 6N HCl。利用 450 克水 ($T=5^{\circ}\text{C}$) 冲洗储藏容器，然后倒到溶解容器中。终止 6N HCl 的滴定。利用 50 克水 ($T=5^{\circ}\text{C}$) 冲洗溶解容器然后倒到结晶容器中。利用 6N HCl 将结晶容器中的 pH 将到 6.0。在搅拌 1 小时后，用玻璃过滤器过滤结晶容器中的浆液，利用 2×175 毫升水 ($T=5^{\circ}\text{C}$) 冲洗湿的块状物，并且把其干燥。产量：

227 克 AMPI. $3\text{H}_2\text{O}$ (包括核)，即获得 222 克 AMPI. $3\text{H}_2\text{O}$ (除去核)，
10 即，相当于 600 毫摩尔 6-APA 的 92% AMPI. $3\text{H}_2\text{O}$ 。