



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

227589

(11)

(B1)

(61)

(23) Výstavná priorita

(22) Prihlášené 12 11 82

(21) PV 8074-82

(40) Zverejnené 26 08 83

(45) Vydané 01 06 86

(51) Int. Cl.³

C 12 P 37/00

(75)

Autor vynálezu

KLIMENT JÚLIUS ing., JAKUBČOVÁ MÁRIA ing.,
HUDEC MILAN ing., DAUČÍK ADAM, BANSKÁ BYSTRICA

(54) Spôsob izolácie čistej vápenatej soli fenoxymetylpenicilínu

Vynález sa týka spôsobu izolácie čistej vápenatej soli fenoxymetylpenicilínu z roztokov získaných extrakciou sfiltrovanej fermentačnej pôdy organickými, s vodou nemiešateľnými rozpúšťadlami, s výhodou butylacetátom.

Izolácia fenoxymetylpenicilínu v jej prvých stupňoch sa podľa jednotlivých patentových spisov v princípe nemení už niekoľko rokov. Takmer všetky uvádzajú postupy, pri ktorých sa fermentačná pôda sfiltruje a to za účelom odstránenia pevných častíc, filtrát fermentačnej pôdy, v ktorom je rozpustený fenoxymetylpenicilín vo forme soli, sa spracuje extrakciou v kyslej oblasti s rozpúšťadlom, ktoré je s vodou nemiešateľné, napr. butylacetátom, čím takmer kvantitatívne prejde fenoxymetylpenicilín do organického rozpúšťadla. V ďalších izolačných stupňoch sa potom ako východzí materiál berie extrakt fenoxymetylpenicilínu v organickom rozpúšťadle.

Mnohé patentové spisy uvádzajú postupy izolácie fenoxymetylpenicilínu vo fáze koncového spracovania, t. j. od extraktu penicilínu v organickom rozpúšťadle po výsledný produkt. Keďže najčastejšie používaným organickým rozpúšťadlom je butylacetát, vychádza sa z tzv. bohatého butylacetátu, v ktorom je fenoxymetylpenicilín nakoncentrovaný 5–8-krát oproti filtrátu fermentačnej pôdy a zbavený prevažnej časti balastných látok, sprie-

vodných z prvej, biologickej časti výroby. Ako výsledný produkt uvádzajú väčšinou draselnú soľ alebo voľnú kyselinu fenoxymetylpenicilínu, niektoré soli fenoxymetylpenicilínu s organickými bázami (amer. pat. spis č. 2719149, britský pat. spis č. 833060, francúzske pat. spisy č. 1228098 a 1270010, západonem. pat. spis č. 1131677). Vo všetkých postupoch sa využívajú špecifické vlastnosti fenoxymetylpenicilínu, t. j. tvorba málo rozpustných solí s draslíkom a organickými bázami a vysoká stabilita v kyslej oblasti.

Aj keď predchádzajúci izolačný stupeň, t. j. extrakcia, z hľadiska odstraňovania balastných látok je veľmi účinná, do bohatého butylacetátu prechádzajú ešte v dosť veľkom množstve sprievodné balastné látky, ktoré majú podobné fyzikálno-chemické vlastnosti ako fenoxymetylpenicilín. Sú to hlavne fenoxyoctová kyselina v množstve 0–10 %, rozkladné produkty fenoxymetylpenicilínu v množstve 2–10 %, p-hydroxyfenoxyoctová kyselina v množstve 0–3 % a rozkladné produkty p-hydroxyfenoxymetylpenicilínu v množstve 0,1–2 %, počítané všetko na obsah fenoxymetylpenicilínu v bohatom butylacetáte. Podobnosť fyzikálno-chemických vlastností uvedených balastných látok spôsobuje to, že tieto sa počas jednotlivých izolačných postupov ťažko odstraňujú. Aby výsledné produkty vyhovovali predpísaným lieko-

pisným parametrom, hlavne účinnosti produktu, pomeru absorbancií meraných pri 268 a 274 nm (A_{268}/A_{274}) a obsahu samotného fenoxymetylpenicilínu, kritériom ktorého je hodnota E_1^1 , jednotlivé postupy musia pozostávať z niekoľkých stupňov, čím dochádza k zníženiu výťažnosti.

Podstatne efektívnejšie riešia odstraňovanie balastných látok postupy podľa čs. pat. spisov č. 191597 a 208049, u ktorých sa jednoduchým spôsobom takmer vo všetkých prípadoch uvedené balastné látky odstraňujú pod prípustnú hranicu. Vzhľadom na veľkú variabilitu, hlavne obsahu p-hydroxyfenoxymetylpenicilínu, môže v niektorých prípadoch jeho obsah prekročiť hranicu 10 %, čo spôsobuje ťažkosti aj u uvedených postupov.

Niektoré patentové spisy sa zaoberajú prípravou vápenatej soli fenoxymetylpenicilínu (britský pat. spis č. 796359). Takmer u všetkých postupov ako východzia látka sa používa buď voľná kyselina alebo niektorá zo solí fenoxymetylpenicilínu, ktoré sa pripravujú z bohatého butylacetátu, čo má za následok zníženie výťažnosti výslednej vápenatej soli.

Tieto nedostatky sa podarilo odstrániť spôsobom izolácie čistého fenoxymetylpenicilínu z roztokov získaných extrakciou sfiltrovanej fermentačnej pôdy organickými, s vodou nemiešateľnými rozpúšťadlami, s výhodou butylacetátom, odfarbením extraktu s odsorpčným činidlom, najmä s aktívnym uhlím a vylúčením vápenatej soli z tohoto extraktu.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že sa na zrážanie tejto soli v prítomnosti vody alebo vody a organického rozpúšťadla miešateľného alebo aspoň čiastočne miešateľného s vodou, použije vodný roztok octanu vápenatého o koncentrácii 5–35 hmotnostných %, v množstve 2–15 objem. %, stiahnuté na objem bohatého butylacetátu a vápenatá soľ sa po pridaní zrážacieho roztoku nechá kryštalizovať 5–180 min.

Spôsob podľa vynálezu vychádza zo známej skutočnosti, a to že vápenatá soľ fenoxymetylpenicilínu je vo vode málo rozpustná a že jej kryštalizácia z extraktov penicilínu v organických rozpúšťadlách prebieha veľmi pomaly alebo vôbec nekryštalizuje.

Autori zitsili, že kryštalizácia vápenatej soli dá sa urýchliť použitím vodného roztoku octanu vápenatého o vhodnej koncentrácii. Pri použití uvedených množstiev roztoku octanu vápenatého kryštalizácia je dostatočne pomalá na to, aby v roztoku ostala prevažná časť balastných látok, ktoré môžu zhoršovať kvalitatívne parametre výsledného produktu. Tento efekt sa znásobuje aj tým, že vápenaté soli kyslých nežiadúcich prímies sú podstatne rozpustnejšie vo vode ako vápenatá soľ fenoxymetylpenicilínu. Týka sa to hlavne odstraňovania p-hydroxyfenoxymetylpenicilínu a jeho rozkladných produktov, ktoré majú nepriaznivý vplyv na hodnotu pomeru absorbancií, meraných pri 268 a 274 nm (A_{268}/A_{274}) výsledného produktu. Porovnaním množstiev odstránených uvedených balastných lá-

tok vo fáze zrážania solí z bohatého butylacetátu, efekt ich odstraňovania je vyšší pri príprave vápenatej soli ako napr. pri známych postupoch prípravy draselnej soli fenoxymetylpenicilínu.

Vzhľadom k tomu, že ku kryštalizácii vápenatej soli dochádza asi po 15 minútach od pridaní zrážacieho roztoku, v ktorom je dostatočné množstvo vody na rozpustenie vápenatých solí balastných látok, nie je potrebné pridávať vodu do bohatého butylacetátu pred zrážaním. Pridaním organického rozpúšťadla do bohatého butylacetátu pred zrážaním, napr. etanolu, acetónu alebo butanolu, efekt odstraňovania balastných látok sa zvyšuje.

Výhodou prípravy vápenatej soli je aj nižšia spotreba zrážacieho roztoku ako napr. pri príprave draselnej soli a to asi o polovicu. Oproti nasýtenému vodnému roztoku octanu draselného, ktorý sa používa pri väčšine postupov prípravy draselnej soli, má octan vápenatý aj tú výhodu, že nie je potrebné, aby sa používal nasýtený vodný roztok. Pripraviť ho možno napríklad reakciou kyseliny octovej s uhličitanom vápenatým v približne stechiometrických množstvách, bez akéhokoľvek odparovania reakčnej vody.

Príprava vápenatej soli poskytuje aj ďalšiu, nie zanedbateľnú výhodu a to možnosť jej premytia, po vyzrážaní z bohatého butylacetátu, vodou. Tým sa vylučuje nutnosť použitia ďalších organických rozpúšťadiel (etanolu, acetónu) na premytie, ako je to napríklad pri príprave draselnej soli fenoxymetylpenicilínu.

Čistá vápenatá soľ fenoxymetylpenicilínu sa z východzieho odfarbeného bohatého butylacetátu, využitím princípu podľa tohoto vynálezu, môže pripraviť tak, že sa z neho v prítomnosti organického rozpúšťadla vyzráža vápenatá soľ 25 %-ným vodným roztokom octanu vápenatého v množstve 6,5 objemových %, počítané na východzí bohatý butylacetát. Po odseparovaní vápenatá soľ sa premyje vodou a vysuší. Výsledná vápenatá soľ má účinnosť nad 1490 mg/mg, hodnotu A_{268}/A_{274} v rozmedzí 1,21–1,24 a hodnotu E_1^1 v rozmedzí 28,0–35,0. Výťažnosť, počítaná na východzí bohatý butylacetát, sa dosiahne v rozmedzí 75,0–80,0 %.

Spôsobom podľa vynálezu je možné získať jednoduchým spôsobom, vo vysokom výťažku a v zodpovedajúcich kvalitatívnych požiadavkách liekopisov, čistú vápenatú soľ fenoxymetylpenicilínu aj z fermentačných pód, u ktorých veľmi kolíše obsah nežiadúcich balastných látok.

Príklady prevedenia

Príklad 1

K 1000 ml bohatého butylacetátu odfarbeného 4 hmotnostne objemovými % aktívneho uhlia, obsahujúceho 62 810 mg/ml zmesi fenoxymetylpenicilínu a p-hydroxyfenoxymetylpenicilínu, v ktorej je 6470 mg/ml p-hydroxyfenoxymetylpenicilínu, bolo pridané 65 ml 25 %-ného vodného roztoku octanu vápenatého. Po 90 min miešania

vápenatá soľ bola odfiltrovaná, premytá 3-krát po 150 ml vody a vysušená za vákua pri 60 °C.

Výťažok 31,6 g bielej kryštalickej soli, s účinnosťou 1540 mj/mg, t. j. 75,7 %, počítané na východzí bohatý butylacetát. Hodnota A_{268}/A_{274} bola 1,21 a hodnota E_1^1 , meraná pri 268 nm bola 32, 8.

Príklad 2

Postup rovnaký ako v príklade 1, s tým rozdielom, že do odfarbeného bohatého butylacetátu pred zrážaním bolo pridané 50 ml etanolu. Získané 32,2 g bielej kryštalickej soli s účinnosťou 1545 mj/mg, t. j. 79,2 %, počítané na východzí bohatý butylacetát. Hodnota A_{268}/A_{274} bola 1,22 a hodnota E_1^1 33,3.

Príklad 3

Postup rovnaký ako v príklade 1, s tým rozdielom,

že do odfarbeného bohatého butylacetátu pred zrážaním bolo pridané 50 ml acetónu. Získané 31,5 g bielej kryštalickej soli s účinnosťou 1530 mj/mg, t. j. 76,8 %, počítané na východzí bohatý butylacetát. Hodnota A_{268}/A_{274} bola 1,22 a hodnota E_1^1 32,9.

Príklad 4

Postup rovnaký ako v príklade 1, s tým rozdielom, že do odfarbeného bohatého butylacetátu pred zrážaním bolo pridané 50 ml butanolu. Získané 32,0 g bielej kryštalickej soli s účinnosťou 1540 mj/mg, t. j. 78,4 %, počítané na východzí bohatý butylacetát. Hodnota A_{268}/A_{274} bola 1,22 a hodnota E_1^1 33,2.

PREDMET VYNÁLEZU

1. Spôsob izolácie čistej vápenatej soli fenoxymetylpenicilínu z roztokov získaných extrakciou sfiltrovannej fermentačnej pôdy organickými, s vodou nemiešateľnými rozpúšťadlami, s výhodou butylacetátom, odfarbením extraktu s adsorpčným činidlom, najmä aktívnym uhlím, vylúčením vápenatej soli z tohoto extraktu zrážaním, vyznačujúci sa tým, že sa na zrážanie tejto soli v prítomnosti vody alebo vody a organického rozpúšťadla nemiešateľného alebo aspoň čiastočne miešateľného s vodou použije vodný roztok octanu vápenatého a vylúčená vápenatá soľ fenoxymetylpenicilínu sa izoluje.

2. Spôsob podľa bodu 1 vyznačujúci sa tým, že sa na zrážanie použije vodný roztok octanu vápenatého o koncentrácii 5–35 % hmotnostných.

3. Spôsob podľa bodu 1 a 2, vyznačujúci sa tým, že sa na zrážanie použije vodný roztok octanu vápenatého v množstve 2–15 objemových %, stiahnuté na objem butylacetátového extraktu.

4. Spôsob podľa bodu 1, 2 a 3, vyznačujúci sa tým, že sa vápenatá soľ po pridaní zrážacieho roztoku nechá kryštalizovať 5–180 minút.