



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

208049

(11)

(B1)

(22) Prihlásené 01 11 79

(21) (PV 7434-79)

(40) Zverejnené 28 11 80

(45) Vydané 01 10 82

(51) Int. Cl.³
C 12 P 37/00

(75)

Autor vynálezu

KLIMENT JÚLIUS ing., HUDEC MILAN ing. a
DAUČÍK ADAM, BANSKÁ BYSTRICA

(54) Spôsob izolácie čistého fenoxymetylpenicilínu

Vynález sa týka spôsobu izolácie čistého fenoxymetylpenicilínu z roztokov získaných extrakciou sfiltrovanej fermentačnej pôdy organickými, s vodou nemiešateľnými rozpúšťadlami, s výhodou butylacetátom, odfarbením extraktu s adsorpčným činidlom, najmä s aktívnym uhlím, vylúčením málo rozpustnej soli fenoxymetylpenicilínu z tohoto extraktu zrážaním nasýtenými vodnými roztokmi rozpustných solí kyseliny octovej, hlavne octanom draselným, v prítomnosti vody alebo vody a organického rozpúšťadla, miešateľného alebo aspoň čiastočne miešateľného s vodou.

Izolácia fenoxymetylpenicilínu sa podľa jednotlivých patentových spisov, ktoré sa týkajú jej prvých stupňov, 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 solí, sa spracuje extrakciou pri pH 1,5–4,5 s rozpúšťadlom, ktoré je s vodou nemiešateľné, napr. butylacetátom, čím takmer kvantitatívne prejde fenoxymetylpenicilín do organického rozpúšťadla. V ďalších stupňoch sa potom ako východzí materiál berie extrakt fenoxymetylpenicilínu v organickom rozpúšťadle.

Pokusy o možnosť extrakcie penicilínu priamo z fermentačnej pôdy, bez predchádzajúceho odde-

lenia pevných častíc, stroskotali na nízkej účinnosti extrakcie, spojenej s nákladnými strojnotechnologickými zariadeniami a s ťažkosťami, ktoré sa vyskytli pri samotnom priebehu extrakcie, ako napr. nájdenie vhodného organického rozpúšťadla a deemulgátora, zlý prestup penicilínu z vodnej do organickej fázy (amer. pat. spis č. 2758783).

Patentové spisy, týkajúce sa filtrácie fermentačnej pôdy, uvádzajú postupy pri ktorých sa, za účelom odstránenia balastných látok, používajú rôzne vysokomolekulárne povrchové aktívne látky (pat. spis ZSSR č. 187241, amer. pat. spis č. 2471597, pat. spis NSR č. 941686). Tieto postupy však odstránenie balastných látok riešia len čiastočne.

Postupy, ktoré sa snažia riešiť izoláciu fenoxymetylpenicilínu bez extrakcie penicilínu do organického rozpúšťadla sú nevýhodné z hľadiska nízkej výťažnosti už v prvom stupni, t. j. pri príprave tzv. surovej voľnej kyseliny z filtrátu fermentačnej pôdy. Surová voľná kyselina je pritom zlej kvality, čo má za následok, že ďalšie medzistupne, ktoré musia byť zaradené, prinášajú ďalšie zníženie výťažnosti. (čsl. pat. spis č. 182 207).

Mnohé patentové spisy sa zaoberajú riešením najefektívnejšieho priebehu extrakcie a to použitím vhodných extraktorov (amer. pat. spis č. 2509010), organických rozpúšťadiel (francúzsky

pat. spis č. 1038127, angl. pat. spis č. 760351, amer. pat. spis č. 2488878), povrchove aktívnych látok (amer. pat. spis č. 2481092, pat. spis NSR č. 886517, angl. pat. spis č. 598597) a vhodného pH (amer. pat. spis č. 2482938).

Najviac patentových spisov, ktoré sa týkajú izolácie fenoxymetylpenicilínu rieši otázku koncového spracovania, t. j. od extraktu penicilínu v organickom rozpúšťadle po hotový produkt. Výsledným produktom môže byť buď sodná, draselná alebo vápenatá soľ alebo voľná kyselina. U všetkých postupov sa využívajú špecifické vlastnosti fenoxymetylpenicilínu, ako sú tvorba málo rozpustných solí v organických rozpúšťadlách so sodíkom, draslíkom, vápnikom, amonným ionom, tvorba nerozpustných solí s organickými bázami, stálosť fenoxymetylpenicilínu v kyslej oblasti (amer. pat. spis č. 2719149, britský pat. spis č. 833060, francúzske pat. spisy č. 1228098 a 1270010, západonem. pat. spis č. 1131677). Využívajú sa tu hlavne metódy zrážacie a extrakčné, ktorými jednotlivé postupy riešia postupné zbavovanie sa balastných látok. Aby výsledný produkt vyhovoval kvalitatívnym požiadavkám liekopisov, hlavne účinnosti produktu, pomeru absorpcií, meraných pri 268 nm a 274 nm (A_{268}/A_{274}) a obsahu samotného fenoxymetylpenicilínu, kritériom ktorého je hodnota E_1^1 , meraná pri 268 nm, izolačné postupy musia byť zložité, pozostávajúce z niekoľkých izolačných stupňov. Tak napríklad, za účelom odstránenia balastných látok, ktoré spôsobujú nevyhovujúce uvedené parametre, z odfarbeného extraktu fenoxymetylpenicilínu sa vyzráža draselná soľ nasýteným vodným roztokom octanu draselného, zrekryštalizuje z vodného, vodne-butanolického alebo vodne-acetonového prostredia, premyje sa organickým rozpúšťadlom, napr. etanolom, pripraví sa voľná kyselina a až z tejto sa môže pripraviť čistá draselná soľ vyhovujúcej kvality. (čs. pat. spisy č. 124845 a 127853). Ďalším možným alternatívnym postupom je využitie organických báz, špecifických pre fenoxymetylpenicilín (britský pat. spis č. 806929, západonem. pat. spis č. 1058513). U tohoto postupu však tak isto musí byť zaradených niekoľko stupňov a draselná soľ sa musí pripraviť taktiež cez voľnú kyselinu.

Podstatnou mierou tieto ťažkosti rieši izolačný postup, u ktorého je využitý princíp podľa čs. pat. spisu č. 191597. Balastné látky, ktoré sú sprievodnými látkami fenoxymetylpenicilínu a ktoré prechádzajú hlavne z prvej, biologickej časti výroby, odstraňujú sa jednoduchým spôsobom už pri zrážaní draselnej soli z butylacetátového extraktu. Sú to hlavne rozkladné produkty fenoxymetylpenicilínu, ktoré majú nepriaznivý vplyv na účinnosť produktu, p-hydroxyfenoxymetylpenicilín a jeho rozkladné produkty, ktoré nepriaznivo vplyvajú na hodnotu pomeru absorpcií (A_{268}/A_{274}) a nezmatabolizovaný prekursor fenoxymetylpenicilínu, ktorým je fenoxyoctová kyselina, ktorá nepriaznivo vplyva na účinnosť produktu a hodnotu E_1^1 .

Meniacimi sa množstvami vody a organického rozpúšťadla, ktoré sa pridávajú do butylacetátového extraktu bezprostredne pred zrážaním draselnej soli sa táto pripraví takej kvality, že nasledujúcou jednou technologickou operáciou, napríklad premytím vhodným organickým rozpúšťadlom je možné pripraviť čistú draselnú soľ takej kvality, ktorá spĺňa všetky požadované kvalitatívne kritériá.

Čiastočným nedostatkom tohoto postupu je, že pri vysokom obsahu fenoxyoctovej kyseliny vo východnom butylacetátovom extrakte, a to nad 3,5 g/l, dochádza, v dôsledku použitia zvýšeného objemu vody pred zrážaním draselnej soli z extraktu, k zvýšeným stratám. Týka sa to množstva vody nad 4 objemové %.

Tento nedostatok sa podarilo odstrániť spôsobom izolácie čistého fenoxymetylpenicilínu z roztokov získaných extrakciou sfilterovanej fermentačnej pôdy organickými, s vodou nemiešateľnými rozpúšťadlami, s výhodou butylacetátom, odfarbením extraktu s adsorpčným činidlom, najmä s aktívnym uhlím, vylúčením málo rozpustnej soli fenoxymetylpenicilínu z tohoto extraktu zrážaním nasýtenými vodnými roztokmi rozpustných solí kyseliny octovej, hlavne octanom draselným v prítomnosti vody alebo vody a organického rozpúšťadla, miešateľného alebo aspoň čiastočne miešateľného s vodou a premytím vylúčenej soli organickým rozpúšťadlom.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že sa na toto premytie použije zmes butanolu s 0–90 obj. % etanolu alebo 0–90 obj. % acetónu a 3–10 obj. % vody upravenej na pH 1,0–7,0.

Spôsob podľa vynálezu vychádza zo známej skutočnosti, že nezmatabolizovaná fenoxyoctová kyselina, ktorá je sprievodnou látkou fenoxymetylpenicilínu z biologickej časti výroby až po extrakt penicilínu v organickom rozpúšťadle, je vo forme voľnej kyseliny, v niektorých organických rozpúšťadlách napr. v dietylétere rozpustnejšia ako voľná kyselina fenoxymetylpenicilínu. Tieto rozpustnosti však u draselných solí sa líšia len veľmi málo a nie je ich možné využiť k odstráneniu fenoxyoctovej kyseliny.

Autori zistili, že rozpustnosť draselnej soli fenoxyoctovej kyseliny sa podstatne zvýši v zmesi butanol – okyselená voda a to približne šesťkrát. Z hľadiska výťažnosti je ešte výhodnejšie použiť zmes butanolu, vody a etanolu alebo acetónu, kedy dochádza k malým stratám na výťažnosti fenoxymetylpenicilínu, pritom rozpustnosť fenoxyoctovej kyseliny sa zníži len nepatrne.

Po vyzrážaní draselnej soli z butylacetátového extraktu je výhodné, a to z dôvodu zníženia strát na minimum, z draselnej soli vytlačiť vlhkosť malým množstvom organického rozpúšťadla, napríklad acetónom a potom ju premývať uvedenou zmesou.

Čistá draselná soľ fenoxymetylpenicilínu sa z východzieho odfarbeného butylacetátového extraktu, využitím princípu podľa tohoto vynálezu, môže pripraviť tak, že sa z extraktu, v prítomnosti vody

a organického rozpúšťadla, vyzráža draselná soľ prídavkom nasýteného vodného roztoku octanu draselného, po odseparovaní sa z draselnej soli vytlačí vlhkosť malým množstvom acetónu a premyje sa zmesou butanolu a etanolu s obsahom okyslenej vody. Potom sa ešte raz premyje etanolom a vysuší. Výsledná čistá draselná soľ má účinnosť nad 1450 mj/mg, hodnotu A_{268}/A_{274} v rozmedzí 1,21–1,24 a hodnotu E_1^1 , meranú pri 268 nm v rozmedzí 28,2–34,8. Výťažnosť, počítaná na východzí butylacetátový extrakt, sa dosiahne v rozmedzí 78,0–86,0 %.

Spôsobom podľa vynálezu je možné získať jednoduchým spôsobom, vo vysokom výťažku a v zodpovedajúcich kvalitatívnych požiadavkách liekopisov čistú draselnú soľ fenoxymetylpenicilínu aj z fermentačných pôd, ktoré obsahujú zvýšené množstvom nezmatabolizovanej fenoxyoctovej kyseliny.

Príklady prevedenia:

Príklad 1.

K 1000 ml roztoku fenoxymetylpenicilínu, získaného extrakciou z filtrátu fermentačnej pôdy butylacetátom, obsahujúceho 59100 mj/ml fenoxymetylpenicilínu a 3,6 g/l fenoxyoctovej kyseliny bolo pridané 4,0 g aktívneho uhlia a po 40 min. miešania aktívne uhlie bolo odfiltrované. K odfarbenému butylacetátovému extraktu bolo pridané 25 ml vody a 20 ml acetónu a za intenzívneho miešania, pridaním 35 ml nasýteného vodného roztoku octanu draselného, bola vyzrážaná draselná soľ fenoxymetylpenicilínu. Po 30 min. miešania surová draselná soľ bola odfiltrovaná, na filtri

prekrytá 30 ml acetónu a rozsuspenderovaná v 120 ml zmesi butanolu so 7,5 objem. % okyslenej vody na pH 1,5. Voda bola okyselená 20 %-nou kyselinou sírovou. Po 30 min. miešania produkt bol odfiltrovaný a premytý ešte raz 100 ml etanolu a obsahu vlhkosti 5,0 % a to rozsuspenderovaním a miešaním počas 30 min. Po odfiltrovaní bol vysušený za vákua pri 60 °C.

Výťažok 30,9 g bielej kryštalickej soli, s účinnosťou 1510 mj/mg, t. j. 79,0 %, počítané na východzí butylacetátový extrakt. Hodnota A_{268}/A_{274} bola 1,21 a hodnota E_1^1 , meraná pri 268 nm bola 33,0.

Príklad 2.

Postup rovnaký ako v príklade 1, s tým rozdielom, že namiesto zmesi butanolu a vody bola použitá zmes butanolu a etanolu v pomere 1 : 1, ktorá obsahovala 7,5 % okyslenej vody na pH 1,5. Získané 32,4 g bielej kryštalickej soli s účinnosťou 1500 mj/mg, t. j. 82,2 %, počítané na východzí butylacetátový extrakt. Hodnota A_{268}/A_{274} bola 1,22 a hodnota E_1^1 , meraná pri 268 nm bola 33,2.

Príklad 3.

Postup rovnaký ako v príklade 1, s tým rozdielom, že namiesto zmesi butanolu a vody bola použitá zmes butanolu a acetónu v pomere 1 : 1, ktorá obsahovala 7,5 % okyslenej vody na pH 1,5. Získané 32,0 g bielej kryštalickej soli s účinnosťou 1500 mj/mg, t. j. 81,2 %, počítané na východzí butylacetátový extrakt. Hodnota A_{268}/A_{274} bola 1,22 a hodnota E_1^1 , meraná pri 268 nm bola 33,5.

PREDMET VYNÁLEZU

1. Spôsob izolácie čistého fenoxymetylpenicilínu z roztokov získaných extrakciou sfiltrovannej fermentačnej pôdy organickými, s vodou nemiešateľnými rozpúšťadlami, s výhodou butylacetátom, odfarbením extraktu s adsorpčným činidlom, najmä s aktívnym uhlím, vylúčením málo rozpustnej soli fenoxymetylpenicilínu z tohoto extraktu zrážaním nasýtenými vodnými roztokmi rozpustných solí kyseliny octovej, hlavne octanom draselným, v prítomnosti vody alebo vody a organického rozpúšťadla, miešateľného alebo aspoň čiastočne miešateľného s vodou a premytím vylúčenej soli organickým rozpúšťadlom vyznačujúci sa tým, že

sa na premytie tejto soli použije zmes butanolu s 0–90 obj. % etanolu alebo 0–90 obj. % acetónu a 3–10 obj. % vody upravenej na pH 1,0–7,0.

2. Spôsob izolácie podľa bodu 1 vyznačujúci sa tým, že sa na premytie použije zmes butanolu a 7,5 obj. % vody, upravenej na pH 1,5.

3. Spôsob izolácie podľa bodu 1 a 2 vyznačujúci sa tým, že sa na premytie použije zmes butanolu s 50 obj. % etanolu.

4. Spôsob izolácie podľa bodu 1 a 2 vyznačujúci sa tým, že sa na premytie použije zmes butanolu s 50 objemovými % acetónu.