

(19) Országkód:

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL**

**SZABADALMI
LEÍRÁS
SZOLGÁLATI TALÁLMÁNY**

(11) Lajstromszám:

210 867 A

(21) A bejelentés ügyszáma: P 92 03458

(22) A bejelentés napja: 1992. 11. 04.

(51) Int. Cl.⁶

C 07 D 309/30

C 07 B 63/00

(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 1995. 10. 30.

(72) Feltalálók:

Jekkel Antalné dr. 8.5%, Budapest (HU)
Moravcsik Imre 2%, Budapest (HU)
Andor Attila 6%, Budapest (HU)
Deák Lajos 4%, Debrecen (HU)
Szabó István 5%, Kecskemét (HU)
Jakab Attila 4%, Debrecen (HU)
Kéri Vilmos 11%, Debrecen (HU)
Eszenyi László 2%, Debrecen (HU)
Kovács Lászlóné 2%, Debrecen (HU)
Sztáray Gyuláné 2%, Debrecen (HU)
Hőgye Irma 9%, Debrecen (HU)
Székely Imre 2%, Debrecen (HU)
Dr. Ilkőy Éva 10.5%, Budapest (HU)
Bagdiné Forgács Ilona 9%, Debrecen (HU)

(72) Feltalálók:

Dr. Ambrus Gábor 5.5%, Budapest (HU)
Dr. Bálint János 3%, Debrecen (HU)
Scheidlné Balogh Zsuzsanna 3%, Budapest (HU)
Dr. Deliné Dr. Konszky Etelka 3%, Debrecen (HU)
Dr. Horváth Gyula 3%, Budapest (HU)
Szabó Csaba 2%, Debrecen (HU)
Láng Ildikó 2%, Budapest (HU)
MátyásSzabolcs 1,5%, Budapest (HU)

(73) Szabadalmas:

BIOGAL Gyógyszergyár Rt., Debrecen (HU)

(74) Képviselő:

INNOPATENT Kft., Debrecen

(54)

Eljárás mevinolin kinyerésére és tisztítására fermentléből

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás mevinolin kinyerésére fermentléből.

Az eljárás lényege, hogy a hatóanyagot pH 7,5–

10,0 értéken átoldják a biomasszáról a fermentlébe, majd a szűrt fermentléből választják le pH 1,0–4,5, előnyösen pH 2,0–2,2 értéken és ismert módon, átkristályosítással tisztítják.

A találmány tárgya eljárás mevinolin kinyerésére és tisztítására fermentáléból.

A mevinolin (lovastatin, monacolin K, MK 803) a vér koleszterin szintjét csökkentő vegyület, amelyet a szakirodalom szerint fermentációs úton állítanak elő *Aspergillus terreus* fajhoz tartozó mikroorganizmussal vagy különböző, *Monascus* genushoz tartozó fajokkal azonosított mikroorganizmusokkal.

A hatóanyag izolálását a fermentlé közvetlen oldószeres extrakciójával, vagy a szűrlé és a biomassza extrakciójával valósítják meg, majd a nyersteget kromatográfiás módszerrel tisztítják.

Az extrakcióhoz etil-acetátot, kloroformot vagy benzolt használnak. A fermentlében részben a mevinolin nyitott, hidrox-sav formája 3,5-dihidrox-7-[1,2,6,7,8,8a-hexahidro-2,6-dimetil-8-(2-metilbutiril-oxi)-naftalin-1-il]-heptánsav van jelen. Ezt toluolban melegítve laktónizálják mevinolinná. A mevinolint már kizárólag laktón formában tartalmazó nyersteget tisztítást kromatográfiás módszerrel, majd átkristályosítással végzik (4 319 039 számú USA-beli, 182 069 lajstromszámú, 182 075 lajstromszámú és 187 296 lajstromszámú magyar szabadalmi leírások).

A 4 231 938 és a 4 319 039 lajstromszámú USA-beli szabadalmi leírásokban az extrakció mellett, XAD-2 adszorpciós gyanta alkalmazását is ismertetik a mevinolin izolálására.

Az extrakciós módszer legfőbb hátránya, hogy az oldószer a hatóanyaggal együtt sok kísérő szennyezőt is beold, ami a későbbi tisztítást megnehezíti és költségessé teszi. A kellő hatékonyságú tisztítás ugyanis csak többlépcsős, oszlopkromatográfiás módszerrel és az azt követő átkristályosítással valósítható meg.

A 187 296 lajstromszámú magyar szabadalmi leírásban ismertetett extrakciós módszerrel összehasonlító kísérletet végeztünk az általunk alkalmazott *Aspergillus obscurus* n. sp. MV-1 holotípusú törzssel [deponálási száma: NCAIM (P)F 001 189] fermentált mevinolin kinyerésére a fermentációs folyadékból. Az 1. példa eredményei azt bizonyítják, hogy a fermentáléból extrakcióval kinyert anyag átkristályosítással nem tisztítható megfelelő mértékben. Gyógyszer minőségű termék előállítása csak további oszlopkromatográfiás tisztítási módszerrel valósítható meg.

A találmány célja fermentáléból mevinolin kinyerésére alkalmas olyan eljárás kidolgozása, amely az eddig ismert módszereknél egyszerűbben és gazdaságosabban megvalósítható és alkalmas gyógyszer minőségű hatóanyag előállítására.

A találmány azon a felismerésen alapszik, hogy a hatóanyag jó hatásfokkal közvetlenül a fermentlé szűrléből (továbbiakban: szűrléből) leválasztható pH 1,0–4,5 tartományban. Az így leválasztott nyers termékkel együtt meglepően kevés szennyezőanyag válik le, ezért az nem igényel kromatográfiás tisztítást, hanem egyszerű átkristályosítással megfelelő minőségű terméké alakítható.

A találmány szerint úgy járunk el, hogy a biomasszáról a hatóanyagot pH 7,5–10,0 tartományban oldjuk át a fermentációs folyadékból, a biomasszát az

általánosan ismert és a sarzsméretnek megfelelő szűrés megoldásokkal (pl. nyomószűrő, vákuum nuccsszűrő, vákuum dobszűrő, keretes prés, szalagszűrő stb.) kiszűrjük és a szűrléből pH 1,0–4,5 értéken leválasztjuk a nyersteget, majd ismert módon átkristályosítással tisztítjuk.

Vizsgáltuk a hatóanyag leválasztását különböző savas pH-n. Tapasztalataink szerint a leválás pH 2,4–1,8 tartományban, még előnyösebben pH 2,2–2,0 értéken a legkedvezőbb.

Felismertük továbbá azt is, hogy a hatóanyag leválasztása a szűrléből és különösen a csapadék szűrhetősége két- vagy háromértékű fémek, pl. alkáliföldfémek (CaCl_2 , MgCl_2 , MgSO_4) vagy földfémek $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ adagolásával kedvezőbbé tehető.

Ennek alátámasztására az alábbi táblázatban feltüntettük a szűrlének, a hatóanyag kiszűrése után mért hatóanyagtartalmát különböző pH értékeken kalcium-klorid hozzáadása mellett és anélkül. A hatóanyag meghatározását HPLC módszerrel végeztük.

pH	Hatóanyagtartalom a szűrlében ($\mu\text{g}/\text{cm}^3\text{M}$)	
	só hozzáadása nélkül	0,2 M CaCl_2 mellett
7,0	418	60
6,0	387	65,8
5,0	201	103
4,0	58	50
3,0	31	22
2,0	14	10
1,5	10	10
1,0	8	8

Tekintettel arra, hogy a hatóanyag nagy része a biomasszához kötődik, lényeges, hogy az átoldódás a fermentlébe milyen hatásfokkal és mennyi szennyezőanyag kíséretében történik.

Ezért találmányunk további lényeges részét képezi az a felismerés, hogy a hatóanyag átoldása a fermentlébe pH 7,5–10,0 tartományban, ezen belül pH 8,0–9,0 értéken minimális anyagvesztéssel és minimális szennyezőanyag kíséretében megvalósítható.

Tapasztalataink szerint a hatóanyag átoldódását kis mennyiségű adalékanyagok hozzáadásával még jobban elő lehet segíteni. Adalékanyagként 1–4 szénatomszámú alifás alkoholok, 2–5 szénatomszámú glikolok, 1–3 szénatomszámú szekunder vagy terciér aminok, 1–5 szénatomszámú alkilacetátok, dimetilformamid, polietilén-glikol vagy polipropilén-glikol alkalmazható.

Az alábbi táblázatban feltüntettük kétféle koncentrációjú és többféle minőségű adalékanyag jelenlétében, valamint adalékanyag adagolás nélkül a szűrlé hatóanyagtartalmát a hatóanyag leválasztása előtt pH 9,0 értéken és a hatóanyag kiszűrése után pH 2,0 értéken.

Adalékanyag	A szűrtlé hatóanyagtartalma ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)			
	Adalék- anyag pH: 9,0	0,1 tér- fogató% pH: 2,0	Adalék- anyag pH: 9,0	1,0 tér- fogató% pH: 2,0
Dietilamin	398	8,8	412	9,2
Trietilamin	390	9,0	423	10,5
Dimetilformamid	420	7,5	460	6,9
Metanol	407	7,0	429	7,9
Etanol	400	8,9	455	11,2
i-Propanol	401	9,0	467	8,7
Etilénglikol	420	7,5	467	5,1
Propilénglikol	412	10,0	450	10,2
Polipropilénglikol	340	18,2	369	19,1
i-Butilacetát	235	10,1	258	8,8
Polietílénglikol	395	13,2	431	11,8
Kontroll (adalékanyag nélkül), 9,0 pH: 193			2,0 pH: 8,6	

A táblázat adataiból látható, hogy különböző adalékanyagok adagolásakor a szűrtlé hatóanyagtartalma magasabb, mint adalékanyag alkalmazása nélkül. Az adalékanyagok tehát elősegítik a hatóanyag átoldódását a biomasszából a fermentlébe. Ugyanakkor az is látható, hogy az adalékanyagok a leválasztást nem befolyásolják, azonos hatásfokkal valósítható meg adalékanyagok jelenlétében vagy azok nélkül. Adagolásuk kívánt esetben azért indokolt, mert a technológiai folyamatot egyszerűbbé teszi azáltal, hogy jelenlétükben a biomasszát elég egyszer szuszpendálni, míg adalékanyag nélkül ugyanolyan hatásfok elérésére a szuszpendálást meg kell ismételni.

Az adalékanyagok közül különösen kedvező hatású az etilénglikol és az etanol.

Azt tapasztaltuk, hogy az adalékanyagok már igen kis mennyiségben, a fermentlé térfogatára számítva 0,1 térfogat% koncentrációban kifejtik kedvező hatásukat és nagyobb mennyiségben adagolva sem befolyásolják a beoldott hatóanyag leválasztását:

Etanol koncentráció (térfogat%)	Szűrtlé hatóanyagtartalma ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	
	pH: 9,0	pH: 2,0
0,1	400	8,9
0,5	425	8,5
1,0	455	11,2
5,0	447	11,5
10,0	441	13,0
15,0	434	18,1
20,0	430	26,0

A nyerste termék tisztítása bármely ismert módszerrel, pl. egyszerű átkristályosítással is megvalósítható. Előnyösnek találtuk az átkristályosítást i-butil-acetátból oly módon, hogy az anyag i-butil-acetátos oldatát

enyhén lúgos, pH 8,5 értékre állított 2,5 t%-os ammónium-szulfát oldattal mossuk, az oldószeres fázist szénnel derítjük, majd töményítjük, és a kivált terméket szűrjük.

5 A találmány szerinti eljárás előnye, hogy lehetővé teszi a fermentlé és a biomassza oldószeres extrakciójának elhagyását a technológiai folyamatban, a szűrtléből savas pH-n leválasztott hatóanyag meglepően tiszta, így nem igényel kromatográfiás tisztítást, hanem egyszerű átkristályosítással gyógyszer minőségű termék nyerhető. A technológiai folyamat egyszerű, kevés anyagvesztéssel (90%-nál magasabb kitermeléssel), gazdaságosan valósítható meg.

10 A találmány szerinti eljárás bármely, a mevinolint nyitott hidroxi-sav formában és/vagy lakton formában bioszintetizáló mikroorganizmus által előállított, vizes fermentléből kiindulva alkalmazható.

Találmányunkat az alábbi példákban részletezzük, anélkül, hogy oltalmi igényünket azokra korlátoznánk.

20

1. példa

(összehasonlító példa a 187 296 lajstromszámú magyar szabadalmi leírásban ismertetett extrakciós módszer szerint)

25 *Aspergillus obscurus* n. sp. MV-1 holotípusú törzzsel [deponálási száma: NCAIM (P)F 001189; 1992. 04. 03.] fermentált 800 g tömegű fermentlé pH-ját, amely 670 mg lakton, illetve hidroxi-sav formában jelenlévő mevinolint tartalmaz együttesen, 20 tömeg%-os kénsavval pH 4 értékre állítottuk, majd 30 400 cm^3 etil-acetáttal extraháltuk. A hatóanyagot tartalmazó szerves fázis elválasztása után a vizes maradékot újabb 400 cm^3 etil-acetáttal extraháltuk. Az egyesített etil-acetátos kivonatot 760 cm^3 (hatóanyag-tartalma: 35 643 mg), vízmentes nátrium-szulfáton szárítottuk, majd vákuumban töményítettük. A sűrítményt 100 cm^3 toluolban 2 órán át visszaforraltuk. Ezt követően a toluolos oldatból az oldhatatlan részeket kiszűrtük, 50 cm^3 5 tömeg%-os nátrium-hidrogén-karbonát oldattal, majd 50 cm^3 vízzel mostuk. A toluolos oldatot 40 vízmentes nátrium-szulfáton szárítottuk és vákuumban bepároltuk. A kapott 3,5 g olajos termék hatóanyag-tartalma 630 mg. Kristályosítás céljából az olajos terméket melegen 15 cm^3 etanolban vettük fel és +5 °C-on 45 24 órán át állni hagytuk. Az anyag nem vált le kristályos formában. Oldószermentesítés után a 3,5 g olajos terméket megfeleztük.

1,75 g anyagot 6 cm^3 i-butil-acetáttal átkristályosítottunk a 2. példában leírt módon. Az anyag nem vált ki 50 kristályosan.

Az anyag másik felét kromatográfiásan tisztítottuk. Az 1,75 g olajos nyerste terméket 20 g Kieselgel 60 (0,063–0,2 mm) adszorbensből készített oszlopon (magasság: 22 cm, átmérő: 1,6 cm) kromatografáltuk.

55 Az eluálást etil-acetát – metilénglikol eleggyel (40:60) végeztük 20 cm^3 /óra sebességgel. A hatóanyagot tartalmazó 6–10 frakciókat egyesítettük, aktív szénnel derítettük, szűrtük, majd vákuumban bepárolva 260 mg sárgásfehér szilárd bepárlási maradékot kaptunk, amelyet etanolból átkristályosítottunk. A kivált 60

kristályokat G-4-es szűrőn szűrtük, 10 cm³ n-hexánnal mostuk, majd vákuumban szobahőmérsékleten szárítottuk. 180 mg kromatográfiásan tiszta mevinolint kaptunk. Az átkristályosítási anyalúg bepárlási maradékát ismét etanolból átkristályosítva további 35 mg mevinolint kaptunk, melynek minősége megegyezik az 1. generációval.

2. példa

Az 1. példa szerinti törzzsel fermentált 800 g tömegű fermentlevet, amely 536 mg lakton, illetve nyitott hidroxisav formában jelenlévő mevinolint tartalmaz együttesen, vízzel 1200 g-ra hígítunk, majd állandó kevertetés mellett környezeti hőmérsékleten a pH-t 20 tömeg%-os KOH oldattal 8,5–9,0 értéken tartjuk 2 órán át.

A biomasszát nyomószűrőn kiszűrjük és 2×400 cm³ vízzel szuszpendáljuk. A szuszpenzió pH-ját 20 tömeg%-os kálium-hidroxid oldattal 8,5–9,0 értékre állítjuk, majd újra szűrjük és a szűrleteket egyesítjük.

A kapott 1900 cm³ térfogatú, 530 mg hatóanyagtartalmú szűrlet pH-ját kevertetés mellett 15 tömeg%-os kénsavval 2,1 értékre állítjuk. A kivált csapadékot ülepítjük, majd vákuum nuccszűrőn szűrjük, a csapadékot 100 cm³ pH 2-es kénsavas vízzel szuszpendáljuk, ismét szűrjük. A szűrlet hatóanyagtartalma 12 µg/cm³.

A kiszűrt vizes csapadékot 50 cm³ i-butil-acetátban oldjuk, a vizes fázist leválasztjuk és az oldószeres fázist 2,5 cm³-re töményítjük. A sűrítmenyt 60 cm³ i-butil-acetátban oldjuk, 2×60 cm³ ammónium-hidroxiddal pH 8,5-re állított vizes ammónium-szulfát oldattal mossuk, majd 0,5 g szénnel derítjük, 10 cm³-re töményítjük, 25 órán +5 °C-on kristályosítjuk, szűrjük és vákuumban szárítjuk.

A kinyert mevinolin tömege: 436 mg

Hatóanyag-tartalma: 98,7% (HPLC)

Az összegyűjtött anyalúgokból még további 65 mg 92,8%-os tisztaságú mevinolint kapunk.

Az egyesített nyerstermék etanolból átkristályosítjuk.

A kinyert termék tömege: 450 mg

Hatóanyag-tartalma: 99,8% (HPLC)

Dihidro-mevinolin tartalom: 0,17% (GC)

$[\alpha]_D^{25} = +329,8^\circ$ (c = 0,5; acetonitril)

3. példa

Az 1. példa szerinti törzzsel fermentált 800 g tömegű fermentlevet, amely 605 mg lakton, illetve hidroxisav formában lévő mevinolint tartalmaz együttesen, vízzel 1200 g-ra hígítunk, 2,4 g etilénlikolt adunk hozzá, majd állandó kevertetés mellett a pH-ját 20 tömeg%-os KOH oldat adagolásával 8,5–9,0 értéken tartjuk 2 órán keresztül.

A biomasszát környezeti hőmérsékleten nyomószűrővel szűrjük és 400 cm³, 0,8 g etilénlikolt tartalmazó vízzel szuszpendáljuk. A szuszpenzió pH-ját 20 tömeg%-os kálium-hidroxiddal pH 8,5–9,0 értékre állítjuk, és újra szűrjük hasonló módon. A szűrleteket egyesítjük.

Az 1470 cm³ térfogatú 600 mg hatóanyagtartalmú szűrlet pH-ját kevertetés mellett 15 tömeg%-os fosz-

forsavval 2,1 értékre állítjuk. A csapadékot 4 órán át ülepítjük. A továbbiakban a 2. példa szerint jártunk el.

A kinyert mevinolin tömege: 548 mg

Hatóanyag-tartalma: 99,7% (HPLC)

5 Dihidro-mevinolin tartalom: 0,15% (GC)

$[\alpha]_D^{25} = +329^\circ$ (c = 0,5; acetonitril)

4. példa

Az 1. példa szerinti törzzsel fermentált 800 g tömegű fermentlevet, amely 575 mg lakton, illetve nyitott hidroxisav formában jelenlévő mevinolint tartalmaz együttesen, vízzel 1200 g-ra hígítunk, 2,4 g etilénlikolt adunk hozzá, majd állandó kevertetés mellett a pH-ját 20 tömeg%-os kálium-hidroxid oldat adagolásával 9,0–9,5 értéken tartjuk 2 órán keresztül.

A biomasszát környezeti hőmérsékleten nyomószűrőn szűrjük és 400 cm³ vízzel szuszpendáljuk, a szuszpenzió pH-ját 20 tömeg%-os kálium-hidroxiddal 9,0–9,5 értékre állítjuk, majd ismét szűrjük. A szűrleteket egyesítjük.

20 Az 1480 cm³ térfogatú 567 mg hatóanyagtartalmú szűrletéhez 3,5 g kalcium-kloridot adunk. Az oldat pH-ját kevertetés mellett 15 tömeg%-os kénsavval pH 2,1 értékre állítjuk. A kivált csapadékot 4 órán át ülepítjük.

A továbbiakban a 2. példa szerint járunk el, azzal a különbséggel, hogy a hatóanyagot a csapadékból 120 cm³ i-butil-acetáttal oldjuk ki.

A kinyert mevinolin tömege: 527 mg

Hatóanyag-tartalma: 99,2% (HPLC)

Dihidro-mevinolin tartalom: 0,25% (GC)

30 $[\alpha]_D^{24} = +329,5^\circ$ (c = 0,5; acetonitril)

5. példa

Az 1. példa szerinti törzzsel fermentált 10 000 g tömegű fermentlevet, amely 4180 mg tömegű lakton, illetve hidroxisav formában jelenlévő mevinolint tartalmaz együttesen, vízzel 15 000 g-ra hígítunk, 30 g etilénlikolt adunk hozzá, majd állandó kevertetés mellett a pH-ját 20 tömeg%-os kálium-hidroxid oldat adagolásával 8,0–8,5 értéken tartjuk 2 órán át. A biomasszát nyomószűrővel, szobahőmérsékleten kiszűrjük és 5 dm³ 10 g etilénlikolt tartalmazó vízzel szuszpendáljuk, a szuszpenzió pH-ját 20 tömeg%-os kálium-hidroxid oldattal pH 8,0–8,5 értékre állítjuk, majd hasonló módon újra szűrjük. A szűrleteket egyesítjük.

45 A 18 200 cm³ térfogatú 4091 mg hatóanyagtartalmú szűrletéhez 20 g magnézium-szulfátot adunk. Az oldat pH-ját kevertetés mellett 15 tömeg%-os kénsavval 2,1 értékre állítjuk. A kivált csapadékot ülepítjük, vákuum nuccszűrőn szűrjük, 1200 cm³ pH 2-es kénsavas vízzel szuszpendáljuk és ismét így szűrjük. A kiszűrt vizes csapadékot 600 cm³ i-butil-acetátban oldjuk, a vizes fázist leválasztjuk és az oldószeres fázist 30 cm³-re töményítjük. A sűrítmenyt 400 cm³ i-butil-acetátban oldjuk, 2×400 cm³, ammónium-hidroxid oldattal pH 8,5 értékre állított 2,5 tömeg%-os ammónium-szulfát oldattal mossuk, majd 6 g szénnel félórán át szobahőmérsékleten kevertetve derítjük. Az oldatot 80 cm³-re töményítjük, 24 órán +5 °C-on kristályosítjuk, üvegszűrőn szűrjük és vákuumban megszá-
60 rítjuk. A továbbiakban a 2. példa szerint járunk el.

A kinyert mevinolin tömege: 3432 mg
 Hatóanyagtartalma: 99,1% (HPLC)
 Dihidro-mevinolin tartalma: 0,19% (GC)
 $[\alpha]_D^{25} = +328,9^\circ$ ($c = 0,5$; acetonitril)

6. példa

Az 1. példa szerinti törzzsel fermentált 100 kg tömegű fermentlevet, amely 44,3 g tömegű lakton, illetve hidroxisav formában jelenlevő mevinolint tartalmaz együttesen, vízzel 150 kg-ra hígítunk, 300 g etilén-glikolt adunk hozzá, majd állandó kevertetés mellett a pH-ját 20 tömeg%-os kálium-hidroxid oldat adagolásával 8,5–9,0 értéken tartjuk 2 órán át.

A biomasszát keretes prészűrőn, 30 °C-on kiszűrjük és 50 kg, 100 g etilén-glikolt tartalmazó vízzel szuszpendáljuk. A szuszpenzió pH-ját 20 tömeg%-os kálium-hidroxid oldattal 8,5–9,0 értékre állítjuk, majd újra szűrjük. A szűrleteket egyesítjük.

A 183 kg tömegű 42,9 g hatóanyagtartalmú szűrletéhez 200 g magnézium-szulfátot adunk. Az oldat pH-ját kevertetés mellett 15 tömeg%-os kénsavval 2,1 értékre állítjuk. A kivált csapadékot üleptjük, vákuum dobszűrőn, környezeti hőfokon szűrjük, majd a csapadékot 12 dm³ pH 2-es kénsavas vízzel szuszpendáljuk, és ismét hasonlóan szűrjük. A kiszűrt vizes csapadékot 6 dm³ i-butil-acetátban oldjuk, a vizes fázist leválasztjuk és az oldószeres fázist 300 cm³-re töményítjük. A sűrítmenyt 4 dm³ i-butil-acetátban oldjuk, 2×4 dm³ ammónium-hidroxid oldattal pH 8,5 értékre állított 2,5 t%-os ammónium-szulfát oldattal mossuk, majd 60 g szénnel fél órán át szobahőfokon kevertetve derítjük. Az oldatot 0,8 dm³-re töményítjük, 24 órán át

+5 °C-on kristályosítjuk, szűrjük és vákuumban szárítjuk. A továbbiakban a 2. példa szerint járunk el.

A kinyert mevinolin tömege: 37,03 g
 Hatóanyagtartalma: 99,3% (HPLC)

5 Dihidro-mevinolin tartalma: 0,18% (GC)
 $[\alpha]_D^{25} = +329,5^\circ$ ($c = 0,5$; acetonitril)

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

10

1. Eljárás mevinolin előállítására a hatóanyag átolásával a biomasszából a fermentációs folyadékba, majd izolálásával a szűrt fermentléből, *azzal jellemezve*, hogy az átoldást pH 7,5–10,0, előnyösen pH 8,0–9,0 értéken végezzük, a hatóanyagot pH 1,0–4,5 előnyösen 2,0–2,2 értéken leválasztjuk a szűrletből, majd szűrjük és ismert módon, átkristályosítással tisztítjuk a hatóanyagot.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

70

75

80

85

90

95

100

105

110

115

120

125

130

135

140

145

150

155

160

165

170

175

180

185

190

195

200

205

210

215

220

225

230

235

240

245

250

255

260

265

270

275

280

285

290

295

300

305

310

315

320

325

330

335

340

345

350

355

360

365

370

375

380

385

390

395

400

405

410

415

420

425

430

435

440

445

450

455

460

465

470

475

480

485

490

495

500

505

510

515

520

525

530

535

540

545

550

555

560

565

570

575

580

585

590

595

600

605

610

615

620

625

630

635

640

645

650

655

660

665

670

675

680

685

690

695

700

705

710

715

720

725

730

735

740

745

750

755

760

765

770

775

780

785

790

795

800

805

810

815

820

825

830

835

840

845

850

855

860

865

870

875

880

885

890

895

900

905

910

915

920

925

930

935

940

945

950

955

960

965

970

975

980

985

990

995

1000

1005

1010

1015

1020

1025

1030

1035

1040

1045

1050

1055

1060

1065

1070

1075

1080

1085

1090

1095

1100

1105

1110

1115

1120

1125

1130

1135

1140

1145

1150

1155

1160

1165

1170

1175

1180

1185

1190

1195

1200

1205

1210

1215

1220

1225

1230

1235

1240

1245

1250

1255

1260

1265

1270

1275

1280

1285

1290

1295

1300

1305

1310