



(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 203 953** <sup>(13)</sup> **C2**  
(51) МПК<sup>7</sup> **C 12 P 33/00**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 99123420/13 , 05.11.1999  
(24) Дата начала действия патента: 05.11.1999  
(43) Дата публикации заявки: 27.04.2002  
(46) Дата публикации: 10.05.2003  
(56) Ссылки: SU 1660379 A1, 30.09.1994. SU 1656870 A1, 30.09.1994.  
(98) Адрес для переписки:  
142450, Московская обл., Ногинский р-н, Старая Купавна, Микрорайон, 6, кв.42, Н.В.Домрачеву

(71) Заявитель:  
Домрачев Николай Васильевич  
(72) Изобретатель: Домрачев Н.В.  
(73) Патентообладатель:  
Домрачев Николай Васильевич

(54) СПОСОБ ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ БУДЕСониДА

(57)  
Изобретение относится к способу выделения и очистки будесонида - высокоэффективного гормонального бронхолитического средства. Способ заключается в том, что выделение технического будесонида из культуральной жидкости до рН 2-2,5 проводят экстракцией будесонида из выпавшей в осадок смеси стероида и биомассы культуры этилацетатом в соотношении будесонид:этилацетат 1:20-28.

Перекристаллизацию будесонида проводят после предварительного замачивания технического будесонида в этилацетате при соотношении 1:1,9-2,1. Предлагаемый способ выделения и очистки будесонида позволяет получить будесонид, отвечающий всем требованиям фармакопейной статьи, снизить в 8-10 раз расход этилацетата, интенсифицировать процесс, повысить выход фармакопейного будесонида на 8-9%. 1 з.п. ф-лы.

RU 2 203 953 C2

RU 2 203 953 C2



(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 203 953** <sup>(13)</sup> **C2**  
(51) Int. Cl.<sup>7</sup> **C 12 P 33/00**

RUSSIAN AGENCY  
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 99123420/13 , 05.11.1999  
(24) Effective date for property rights: 05.11.1999  
(43) Application published: 27.04.2002  
(46) Date of publication: 10.05.2003  
(98) Mail address:  
142450, Moskovskaja obl., Noginskij r-n,  
Staraja Kupavna, Mikrorajon, 6, kv.42,  
N.V.Domrachevu

(71) Applicant:  
Domrachev Nikolaj Vasil'evich  
(72) Inventor: Domrachev N.V.  
(73) Proprietor:  
Domrachev Nikolaj Vasil'evich

(54) **METHOD OF ISOLATION AND PURIFICATION OF BUDESONIDE**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmacy. SUBSTANCE:  
invention relates to method of isolation and purification of budesonide that is highly effective hormonal broncholytic agent. Isolation of crude budesonide from cultural fluid is carried out at pH value 2-2.5 and budesonide is extracted from precipitated mixture of steroid and cultural biomass with ethyl acetate in the ratio budesonide : ethyl acetate = 1 : (20-28), respectively. Recrystallization of budesonide is carried

out after preliminary soaking crude budesonide in ethyl acetate in the ratio = 1 : (1.9-2.1), respectively. Proposed method of isolation and purification of budesonide allows to obtain budesonide satisfying for all requirements of pharmacopoeia article, to reduce ethyl acetate consumption by 8-10 times, to enhance the yield of pharmacopoeia budesonide by 8-9%. EFFECT: improved method of isolation and purification of budesonide. 2 cl, 2 ex

RU 2 203 953 C 2

RU 2 203 953 C 2

Изобретение относится к способу выделения и очистки будесонида - высокоэффективного гормонального бронхолитического средства, который получают известным способом: микробиологической трансформацией 11,21-диацетата будесонида с использованием культуры *Corynebacterium mediolanum* штамм ВКПМ В-964 (патент РФ 1656870).

Известен способ выделения и очистки будесонида (патент РФ 1660379), который заключается в следующем. После окончания ферментации 11,21-диацетата будесонида культуральную жидкость экстрагируют этилацетатом при соотношении: на 1 г 11,21-диацетата, взятого на ферментацию, используют 375 мл этилацетата; экстракцию проводят трижды равными порциями этилацетата. Экстракт упаривают, получают с выходом ~100% технический будесонид с т.пл. 180-200°C. Далее технический будесонид растворяют при кипении в этилацетате (при соотношении: на 1 г технического будесонида берут 60 мл этилацетата), охлаждают до 20-25°C, прибавляют активированный уголь, перемешивают 1 час, фильтруют через угольную подушку, уголь промывают этилацетатом. Объединенный фильтрат упаривают до остаточного объема 5 мл, охлаждают до 3-5°C, выдерживают при этой температуре 2 часа. Осадок очищенного будесонида отфильтровывают, промывают охлажденным этилацетатом, высушивают до постоянной массы, получают с выходом 70% будесонид в виде белого кристаллического порошка, т.пл. 224-236°C;  $[\alpha]_D^{20} +101,8^\circ$  (С 0,28,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), считая на технический продукт и соответственно на 11,21-диацетат будесонида.

Со времени разработки способа получения очищенного будесонида (патент РФ 1660379) требования к фармакопейному будесониду ужесточились. Так согласно ВФС 42-2528-95 "Будесонид" (утверждена Приказом Министра здравоохранения и медицинской промышленности РФ 212 от 20.07.95) т.пл. будесонида должна быть в пределах от 248 до 258°C.  $[\alpha]_D^{20}$  от +102 до +108°C (0,5% р-р в хлороформе), содержание посторонних стероидов должно быть не более 2%. Сравнение двух первых показателей показывает, что очищенный по примеру 6 патента 1660379 будесонид не отвечает требованиям ВФС 42-2528-95. Кроме того, ни одна из серий будесонида, очищенного по известной методике, не достигла показателя посторонних стероидов - не более 2%. В 10 сериях очищенного по известной методике будесонида содержание посторонних стероидов колебалось от 2,9 до 5,3%.

Целью настоящего изобретения является разработка способа выделения и очистки будесонида, позволяющего получить фармакопейный продукт, отвечающий требованиям ВФС 42-2528-95, а также позволяющего снизить расход дорогостоящего и взрывоопасного растворителя-этилацетата, интенсифицировать процесс.

Поставленная цель достигается предлагаемым способом выделения технического будесонида и его последующей

очистки, заключающимися в следующем. По окончании ферментации 11,21-диацетата будесонида культуральную жидкость подкисляют до pH 2,0-2,5, отстаивают 4-6 часов, в результате чего в осадок выпадает будесонид и биомасса культуры. Надосадочную жидкость осторожно декантируют, а оставшийся осадок обрабатывают этилацетатом в соотношении: на 1 г загруженного на ферментацию 11,21-диацетата будесонида - 19-22 мл этилацетата. Экстракт осветляют активированным углем, фильтруют, фильтрат упаривают до пастообразного состояния, отжимают на фильтре, высушивают до постоянной массы. Выход технического будесонида составляет 92,5-94%, считая на 11,21-диацетат будесонида.

Полученный таким способом технический будесонид и очищенный по известной методике (патент РФ 1660379) соответствует всем показателям ВФС 42-2528-95 (т.пл. в пределах 249-255°C,  $[\alpha]_D^{20}$  в пределах +103+107°C(0,5% р-р в хлороформе), кроме содержания посторонних стероидов, которое превышало требуемое "не более 2,0%" и колебалось в различных образцах от 2,3 до 3,2%.

Поэтому предлагается следующий способ очистки технического будесонида. Технический продукт суспендируют в этилацетате в соотношении 1:1,9-2,1, перемешивают, фильтруют. Осадок растворяют в этилацетате в соотношении будесонид: этилацетат 1: 48-51, кипятят с активированным углем, фильтруют, упаривают в вакууме до пастообразного состояния, охлаждают до 3-5 °С. Будесонид отжимают на фильтре, промывают небольшим количеством этилацетата, затем гексана, высушивают до постоянной массы. Получают фармакопейный будесонид, по всем параметрам соответствующей ВФС 42-2528-95 (содержание посторонних стероидов колеблется в пределах 1,3-1,8%), с выходом 83,1-85,2%, считая на технический будесонид, или с выходом 78,1-78,8%, считая на исходный 11,21-диацетат будесонида.

Все параметры процесса выделения и очистки будесонида найдены экспериментальным путем и являются оптимальными. Изменение их в сторону увеличения или уменьшения приводит либо к снижению выхода, либо к ухудшению качества целевого продукта.

Таким образом, предлагаемый способ выделения и очистки будесонида позволяет получить фармакопейный будесонид, отвечающий всем требованиям ВФС 42-2528-95; снизить в 8-10 раз расход этилацетата; интенсифицировать процесс за счет сокращения времени отгонки этилацетата при выделении технического будесонида; а также увеличить выход фармакопейного продукта на 8-9%, считая на исходный 11,21-диацетат будесонида.

Сопоставительный анализ с прототипом позволяет сделать вывод, что заявляемый способ выделения и очистки будесонида отличается от прототипа тем, что будесонид предварительно осаждают из культуральной жидкости, а затем обрабатывают этилацетатом с последующим выделением технического продукта. А очистку

технического будесонида проводят с предварительным замачиванием в этилацетате, а затем с последующей перекристаллизацией. Таким образом, заявляемое техническое решение соответствует критерию "новизна".

Из патентов и научно-технической литературы не известен такой способ выделения и очистки стероидов, что позволяет сделать вывод о соответствии данного решения критерию "изобретательский уровень".

Примеры конкретного осуществления способа по изобретению.

Пример 1. Получение технического будесонида.

В рабочий ферментер с 25 л питательной среды ВК-4К, содержащей культуру *Corynebacterium mediolanum*, полученную известным способом (пример 1 патента 1656870), вносят 210 г тонкодисперсного 11,21-диацетата будесонида, что соответствует теоретическому количеству технического будесонида 175,69 г, в 400 мл воды (нагрузка стероида 8,4 г/л). Ферментацию проводят при 33 °С с перемешиванием (700 об/мин) и аэрацией (0,2л/л/мин) в течение 8-9 ч до отсутствия на хроматограмме (пластина силуфол) пятна 11-ацетата будесонида (Rf 0,68) в системе бензол-ацетон 3:2.

Культуральную жидкость сливают в мерник, доводят 50%-ной серной кислотой до pH 2-2,5, отстаивают 4-6 часов. Стероид и биомасса культуры выпадают в осадок. Надосадочную жидкость декантируют, осадок промывают водой и отделяют смесь будесонида и биомассы от воды на центрифуге. Влажную массу будесонида и биомассы переносят в аппарат, снабженный мешалкой и обратным холодильником, и экстрагируют этилацетатом (3x1,5 л) при кипении. Экстракт осветляют активированным углем, фильтруют, фильтрат упаривают в вакууме до пастообразного состояния. Осадок отжимают на фильтре, промывают небольшим количеством охлажденного этилацетата, высушивают до постоянной массы. Получают 163,8 г (93,23%, считая на 11,21-диацетат) технического будесонида,

т.пл. 210-213°С.

Пример 2. Очистка технического будесонида.

163,8 г полученного в примере 1 будесонида суспендируют в этилацетате в соотношении 1:2, перемешивают 30-35 мин, фильтруют. Осадок растворяют в этилацетате в соотношении 1:50, добавляют активированный уголь, перемешивают 30 мин, и фильтруют через угольную подушку. Уголь дважды промывают небольшим количеством этилацетата. Фильтрат упаривают в вакууме до пастообразного состояния, охлаждают до 3-5°С и задерживают при этой температуре 2 часа. Осадок отфильтровывают, промывают небольшим количеством этилацетата, затем небольшим количеством охлажденного гексана, высушивают до постоянной массы. Получают 137,8 г (84,13%, считая на технический будесонид, или 78,43%, считая на 11,21-диацетат будесонида) фармакопейного будесонида, т.пл. 250-251 °С,  $[\alpha]_D^{20} +100^\circ\text{C}$  (0,5% р-р в хлороформе), содержание посторонних стероидов 1,6%.

### Формула изобретения:

1. Способ выделения и очистки будесонида, полученного ферментацией 11,21-диацетата будесонида культурой *Corynebacterium mediolanum* штамм ВКПМ В-964, с последующей экстракцией технического будесонида этилацетатом и перекристаллизацией технического будесонида из этилацетата, отличающийся тем, что выделение будесонида проводят путем предварительного подкисления культуральной жидкости до pH 2-2,5 и экстракцией будесонида из выпавшей в осадок смеси стероида и биомассы культуры этилацетатом, а перекристаллизацию будесонида проводят после предварительного замачивания технического будесонида в этилацетате.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что предварительное замачивание технического будесонида в этилацетате проводят при соотношении будесонид: этилацетат 1: 1,9-2,1.