

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10) **PL 245624 B1**

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **439357**

(22) Data zgłoszenia: **2021.10.28**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2023.05.02 BUP 18/2023**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2024.09.09 WUP 37/2024**

(51) MKP:

C07D 311/30 (2006.01)

C07D 311/40 (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:
**POLITECHNIKA RZESZOWSKA IM. IGNACEGO
ŁUKASIEWICZA, Rzeszów, PL
PODKARPACKIE CENTRUM INNOWACJI
SPÓŁKA Z OGRANICZONĄ
ODPOWIEDZIALNOŚCIĄ, Rzeszów, PL**

(72) Twórca(-y) wynalazku:
**EWA CISZKOWICZ, Rzeszów, PL
KATARZYNA LECKA-SZLACHTA, Chmielnik, PL
ELŻBIETA WOŹNICKA, Rzeszów, PL
LIDIA ZAPAŁA, Świlcza, PL
MAŁGORZATA KOSIŃSKA-PEZDA,
Braciejowa, PL
JANUSZ PUSZ, Łańcut, PL
MAKSYMILIAN OLBRYCHT, Trzebuska, PL**

(74) Pełnomocnik:
rzecz. pat. Piotr Okarmus, Rzeszów, PL

(54) Tytuł:

Sposób rozdzielania i oczyszczania produktów reakcji sulfonowania chryzyny

PL 245624 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób rozdzielania i oczyszczania produktów reakcji sulfonowania chryzyny, dla zwiększenia ich biodostępności.

Naturalnie występujące w przyrodzie flawonoidy są związkami o znanym i szerokim spektrum właściwości biologicznych. Jednakże, podstawowym problemem, ograniczającym w znaczący sposób ich biodostępność, jest ich wyjątkowo słaba rozpuszczalność w wodzie. Jedną z metod stosowanych do poprawienia rozpuszczalności flawonoidów w wodzie, w tym chryzyny, jest synteza ich sulfonowych pochodnych – znana z publikacji E. Woźnicka, A. Kuźniar, D. Nowak, E. Nykiel, M. Kopacz, J. Gruszecka, K. Golec, Comparative study on the antibacterial activity of some flavonoids and their sulfonic derivatives, *Acta Pol. Pharm. – Drug Res.* 2013, 70, 567–571; W. Król, S. Dworniczak, G. Pietsch, Z. P. Czuba, M. Kunicka, M. Kopacz, D. Nowak, Synthesis and tumoricidal activity evaluation of new morin and quercetin sulfonic derivatives, *Acta Pol. Pharm.* 2002, 59, 77–9; E. Chlebda, J. Magdalan, A. Merwid-Lad, M. Trocha, M. Kopacz, A. Kuźniar, D. Nowak, A. Szelag, Influence of water-soluble flavonoids, quercetin-5'-sulfonic acid sodium salt and morin-5'-sulfonic acid sodium salt, on antioxidant parameters in the subacute cadmium intoxication mouse model, *Exp. Toxicol. Pathol.* 2010, 62, 105–108, doi:10.1016/j.etp.2009.02.118; M. Trocha, A. Merwid-Lad, A. Szuba, T. Sozański, J. Magdalan, A. Szelag, M. Kopacz, A. Kuźniar, D. Nowak, Effect of quercetin-5'-sulfonic acid sodium salt on SOD activity and ADMA/DDAH pathway in extracorporeal liver perfusion in rats, *Adv. Clin. Exp. Med.* 2012, 21, 423–431; 6) J. Magdalan, A. Szelag, E. Chlebda, A. Merwid-Lad, M. Trocha, M. Kopacz, A. Kuźniar, D. Nowak, Quercetin-5'-sulfonic acid solution salt and morin-5'-sulfonic acid sodium salt as antidotes in the subacute cadmium intoxication in mice, *Pharmacol. Reports*, 2007, 59, 210–216.

Na przykładzie reakcji sulfonowania chryzyny – pokazanej na pos. I – można jednak zauważyć, że silny wpływ na rodzaj tworzących się sulfonowych pochodnych, pod wpływem działania kwasu siarkowego(VI), wywierają warunki prowadzenia procesu, przede wszystkim temperatura – S. Gao, Y. Zhang, L. Wang, Y. Tang, B. Hu, H. Zhang, Synthesis and Characterization of a Flavonoid Chrysin Derivative, *International Conference on Biomedical Sciences and Information Systems 2020*, DOI:10.25236/icbsis.2020.043. Prowadzenie reakcji sulfonowania w temperaturze poniżej 100°C prowadzi do podstawienia grupy sulfonowej w pierścieniu A cząsteczki w pozycji 8 lub 6. Natomiast zastosowanie wyższej temperatury procesu, tj. około 150°C, powoduje wymuszenie podstawienia grupy sulfonowej w pierścieniu B. Przegląd literatury wskazuje, że największym zainteresowaniem, ze względu na działanie biologiczne, cieszy się produkt sulfonowania chryzyny zawierający grupę sulfonową w pierścieniu bocznym B i jest to chryzyno-4'-sulfonian sodu – J. Pusz, B. Nitka, S. Wołowiec, The Titanium(IV), Iron(III) and Manganese(II) complexes of chrysin-4'-sulfonate. *Polish. J. Chem.* 2001, 75, 795–801; J. Pusz, Physicochemical Properties of the Co(II), Ni(II) and Cu(II) complexes with chrysin-4'-sulfonic acid. *Polish. J. Chem.* 2001, 75, 1401–1406; 10) J. Pusz, S. Kopacz, New solid compounds of lanthanide ions with sodium salt of chrysin-4'-sulfonic acid (Nachsa-4'), *Annals of the Polish Chemical Society*, 2005, 303–306; J. Pusz, E. Ciszkowicz, K. Lecka-Szlachta, S. Wołowiec, E. Woźnicka, Synthesis and antibacterial activity of La(III), Ce(III), Pr(III), and Nd(III) complexes of chrysin-4'-sulfonate, *Acta Pol. Pharm.* 2017, 74(4), 1101–1110 12) J. Pusz, E. Pieniążek, E. Woźnicka, E. Ciszkowicz, K. Lecka-Szlachta, S. Wołowiec, L. Byczyński, Synthesis and antibacterial activity of Tb(III), Ho(III), Er(III) and Yb(III) complexes of chrysin-4'-sulfonate, *Acta Pol. Pharm.* 2018, 75(3), 613–623. Ponadto brak jest danych literaturowych o innych produktach reakcji sulfonowania chryzyny w temperaturze powyżej 140°C.

Dane doświadczalne jednoznacznie wskazują jednak, że produktem sulfonowania chryzyny za pomocą stężonego kwasu siarkowego w temperaturze nie niższej niż 140°C nie jest wyłącznie izomer 4', lecz każdorazowo mieszanina izomerów konstytucyjnych chryzyno-4'-sulfonianu sodu (izomer 4') i chryzyno-3'-sulfonianu sodu (izomer 3') o zmiennej zawartości poszczególnych związków oraz produktu nieorganicznego (wodorosiarczanu sodu) – pos. II.

Z publikacji J. Pusz, B. Nitka, S. Wołowiec, *The Titanium(IV), Iron(III) and Manganese(II) complexes of chrysin-4'-sulfonate*. *Polish. J. Chem.* 2001, 75, 795–801 znana jest metoda oczyszczania produktu po sulfonowaniu chryzyny polegająca na jego kilkukrotnej krystalizacji z roztworów wodnych. Biorąc pod uwagę fakt tworzenia się w wyniku sulfonowania chryzyny w temperaturze ok. 150°C izomerów konstytucyjnych chryzyno-4'-sulfonianu sodu i chryzyno-3'-sulfonianu sodu, krystalizacja z wody nie

jest metodą umożliwiającą rozdzielanie tych izomerów, a jedynie umożliwiającą częściowe oczyszczenie z ubocznego produktu nieorganicznego. Ponadto biorąc pod uwagę dużą rozpuszczalność produktów sulfonowania chryzyny w wodzie, proces ten charakteryzuje się niską wydajnością.

Sposób rozdzielania i oczyszczania produktów reakcji sulfonowania chryzyny, w postaci izomerów chryzyno-4'-sulfonianu sodu i chryzyno-3'-sulfonianu sodu oraz nieorganicznego produktu ubocznego reakcji, poprzez ich wielostopniową krystalizację, według wynalazku charakteryzuje się tym, że jako rozpuszczalnika używa się etanol, a wielostopniowa krystalizacja obejmuje co najmniej trzy stopnie, przy czym w pierwszym stopniu krystalizacyjnym do surowego, stałego posyntetycznego produktu sulfonowania chryzyny dodaje się etanol, a następnie całość miesza się, po czym mieszaninę przesącza się a otrzymany osad suszy się do stałej masy, następnie w drugim stopniu krystalizacyjnym do osadu otrzymanego w pierwszym stopniu krystalizacyjnym, dodaje się etanol, następnie mieszaninę miesza się, po czym przesącza się ją a otrzymany osad suszy się do uzyskania stałej masy, a następnie w trzecim stopniu krystalizacyjnym do osadu otrzymanego jako produkt w drugim stopniu krystalizacyjnym dodaje się etanol, następnie mieszaninę miesza się, po czym przesącza się ją, a otrzymany osad suszy się do stałej masy, po zakończeniu wielostopniowej krystalizacji otrzymany osad rozpuszcza się na gorąco w etanolu, mieszaninę przesącza się a następnie przesącz odparowuje się do uzyskania stałej masy, zaś przesącze otrzymane w pierwszym oraz drugim stopniu krystalizacyjnym łączy się oraz zatęża, a otrzymany osad przesącza się oraz suszy do otrzymania stałej masy.

Korzystnie w pierwszym stopniu krystalizacyjnym stały posyntetyczny produkt reakcji sulfonowania chryzyny stosuje się w ilości odpowiadającej od 1,25 do 1,35% wag. mieszaniny, zaś etanol stosuje się w ilości odpowiadającej 98,65 do 98,75% wag. mieszaniny.

Dalsze korzyści uzyskiwane są, jeśli w drugim stopniu krystalizacyjnym stały posyntetyczny produkt reakcji sulfonowania chryzyny stosuje się w ilości odpowiadającej od 0,30 do 0,34% wag. mieszaniny, zaś etanol stosuje się w ilości odpowiadającej od 99,66 do 99,7% wag. mieszaniny.

Kolejne korzyści uzyskiwane są, jeśli w trzecim stopniu krystalizacyjnym stały posyntetyczny produkt reakcji sulfonowania chryzyny stosuje się w ilości odpowiadającej od 0,33 do 0,37% wag. mieszaniny, zaś etanol stosuje się w ilości odpowiadającej od 99,63 do 99,67% wag. mieszaniny.

Następne korzyści uzyskuje się, jeżeli po zakończeniu wielostopniowej krystalizacji rozpuszczanie otrzymanego osadu na gorąco w etanolu prowadzi się w temperaturze wynoszącej $65 \pm 0,1^\circ\text{C}$, przy czym osad stosuje się w ilości od 0,05 do 0,06% wag. mieszaniny, zaś etanol w ilości odpowiadającej od 99,94 do 99,95% wag. mieszaniny.

Dalsze korzyści uzyskiwane są, jeżeli po rozpuszczeniu na gorąco osadu otrzymanego w trzecim stopniu krystalizacji w etanolu, mieszaninę miesza się w temperaturze $65 \pm 0,1^\circ\text{C}$ przez 24 godziny z prędkością 150 rpm.

Kolejne korzyści uzyskiwane są, jeżeli otrzymane w pierwszym oraz w drugim stopniu krystalizacyjnym przesącze zatęża się ośmiokrotnie.

Następne korzyści uzyskiwane są, jeżeli mieszanie w każdym stopniu krystalizacji prowadzi się w temperaturze $24 \pm 0,1^\circ\text{C}$, przez 24 godziny, z prędkością 150 rpm.

Zaletą sposobu według wynalazku jest możliwość skutecznego oddzielenia chryzyno-4'-sulfonianu sodu od chryzyno-3'-sulfonianu sodu poprzez wykorzystanie różnicy ich rozpuszczalności w alkoholu etylowym.

Sposób, według wynalazku pozwala na uzyskanie z wysoką wydajnością pożądaných izomerów pochodnej sulfonowej chryzyny o czystości 97% w przypadku chryzyno-3'-sulfonianu sodu i 95% w przypadku chryzyno-4'-sulfonianu sodu, w postaci niewymagającej żadnej dodatkowej modyfikacji chemicznej i niezawierających zanieczyszczeń nieorganicznych, które nie rozpuszczają się w etanolu. W wynalazku wyeliminowany został problem, który występował w rozwiązaniach znanych ze stanu techniki, w których stosowana była woda, polegający na występowaniu zanieczyszczeń produktów nieorganicznych sulfonowania m.in. wodorosiarczanu sodu. Sposób według wynalazku jest oparty na unikalnych właściwościach rozpuszczalnika organicznego, nie stosowanego dotychczas w tym procesie. Niewątpliwą zaletą tej metody jest również możliwość wielokrotnego wykorzystania użytego rozpuszczalnika organicznego w procesie krystalizacji, poprzez jego łatwy odzysk w czasie zatężania roztworów.

Przedmiot wynalazku został przedstawiony w przykładach wykonania.

Sposób rozdzielania i oczyszczania produktów sulfonowania chryzyny poprzez ich wielostopniową krystalizację, w pierwszym przykładzie realizacji prowadzi się tak że w pierwszym stopniu krystalizacyjnym do naczynia o pojemności 1 dm^3 zawierającego 5,8 g surowego produktu sulfonowania chryzyny dodaje się 580 ml etanolu, następnie całość miesza się przez 24 h w temperaturze $24 \pm 0,1^\circ\text{C}$

z prędkością 150 rpm. Po czym mieszaninę przesącza się, a otrzymany osad suszy się do uzyskania stałej masy, w wyniku czego otrzymano 4,5 g osadu z wydajnością 77%, zawierającego 32,5% izomeru chryzyno-4'-sulfonianu sodu (izomer 4') oraz 17,5% chryzyno-3'-sulfonianu sodu (izomer 3') oraz 50% nieorganicznego produktu reakcji, w postaci wodorosiarczanu sodu.

Następnie w drugim stopniu krystalizacyjnym do naczynia o pojemności 2 dm³ zawierającego 4,4 g osadu otrzymanego jako produkt w pierwszym stopniu krystalizacji dodaje się 1750 ml etanolu, po czym całość miesza się przez 24 h w temperaturze 24±0,1°C z prędkością 150 rpm. Po czym mieszaninę przesącza się, a uzyskany osad suszy się do uzyskania stałej masy, w wyniku czego otrzymano 2,7 g osadu z wydajnością 63%, zawierającego 46% izomeru 4' oraz 4% izomeru 3' oraz 50% nieorganicznego produktu reakcji w postaci wodorosiarczanu sodu.

Następnie w trzecim stopniu krystalizacyjnym do naczynia o pojemności 1 dm³ zawierającego 2,35 g osadu otrzymanego jako produkt w drugim stopniu krystalizacyjnym, dodaje się 900 ml etanolu, a całość miesza się przez 24 h w temperaturze 24±0,1°C, z prędkością 150 rpm. Następnie mieszaninę przesącza się a otrzymany osad suszy się do otrzymania stałej masy. Otrzymano 2 g osadu z wydajnością 87%, zawierającego 48% izomeru 4', 2% izomeru 3' oraz 50% nieorganicznego produktu reakcji – wodorosiarczanu sodu.

Po zakończeniu trzeciego stopnia krystalizacyjnego z otrzymanego w nim osadu usuwa się nieorganiczny produkt uboczny syntezy tak, że do naczynia o pojemności 6 dm³ zawierającego 1,8 g osadu otrzymanego jako produkt w trzecim stopniu krystalizacyjnym dodaje się 4800 ml etanolu. Całość podgrzewa się do temperatury 65°C, następnie miesza się przez 24 h, w temperaturze 65±0,1°C, z prędkością 150 rpm. Po czym mieszaninę przesącza się a otrzymany przesącz, odparowuje się do uzyskania stałej masy. Otrzymano 0,816 g osadu z wydajnością 45%, zawierającego 95% izomeru 4' oraz 5% izomeru 3'.

Przesącze otrzymane w pierwszym i drugim stopniu krystalizacyjnym, łączy się i zatęża ośmiokrotnie, w celu wywołania krystalizacji, a następnie wykrystalizowany osad odsącza się i suszy do uzyskania stałej masy. Otrzymano 1 g osadu zawierającego 97% izomeru 3' oraz 3% izomeru 4'.

Sposób rozdzielania i oczyszczania produktów reakcji sulfonowania chryzyny poprzez ich wielostopniową krystalizację, w drugim przykładzie realizacji prowadzi się tak że w pierwszym stopniu krystalizacyjnym do naczynia o pojemności 1 dm³ zawierającego 6,5 g surowego produktu sulfonowania chryzyny dodaje się 600 ml etanolu, następnie całość miesza się przez 24 h w temperaturze 24±0,1°C z prędkością 150 rpm. Po czym mieszaninę przesącza się, a otrzymany osad suszy się do uzyskania stałej masy, w wyniku czego otrzymano 5,1 g osadu z wydajnością 78%, zawierającego 32,5% izomeru chryzyno-4'-sulfonianu sodu (izomer 4') oraz 17,5% chryzyno-3'-sulfonianu sodu (izomer 3') oraz 50% nieorganicznego produktu reakcji, w postaci wodorosiarczanu sodu.

Następnie w drugim stopniu krystalizacyjnym do naczynia o pojemności 2 dm³ zawierającego 4,8 g osadu otrzymanego jako produkt w pierwszym stopniu krystalizacji dodaje się 1770 ml etanolu, po czym całość miesza się przez 24 h w temperaturze 24±0,1°C z prędkością 150 rpm. Po czym mieszaninę przesącza się, a osad suszy się do uzyskania stałej masy, w wyniku czego otrzymano 3,1 g osadu z wydajnością 64%, zawierającego 46% izomeru 4' oraz 4% izomeru 3' oraz 50% nieorganicznego produktu reakcji w postaci wodorosiarczanu sodu.

Następnie w trzecim stopniu krystalizacyjnym do naczynia o pojemności 1 dm³ zawierającego 2,70 g osadu otrzymanego jako produkt w drugim stopniu krystalizacyjnym, dodaje się 920 ml etanolu, a całość miesza się przez 24 h w temperaturze 24±0,1°C, z prędkością 150 rpm. Następnie mieszaninę przesącza się a otrzymany osad suszy się do otrzymania stałej masy. Otrzymano 2,38 g osadu z wydajnością 88%, zawierającego 48% izomeru 4', 2% izomeru 3' oraz 50% nieorganicznego produktu reakcji – wodorosiarczanu sodu.

Po zakończeniu trzeciego stopnia krystalizacyjnego z otrzymanego w nim osadu usuwa się nieorganiczny produkt uboczny syntezy tak, że do naczynia o pojemności 6 dm³ zawierającego 2,4 g osadu otrzymanego jako produkt w trzecim stopniu krystalizacji dodaje się 4900 ml etanolu. Całość podgrzewa się do temperatury 65°C, następnie miesza się przez 24 h, w temperaturze 65±0,1°C, z prędkością 150 rpm. Po czym mieszaninę przesącza się a otrzymany przesącz odparowuje się do uzyskania stałej masy. Otrzymano 1,104 g osadu z wydajnością 46%, zawierającego 95% izomeru 4' oraz 5% izomeru 3'.

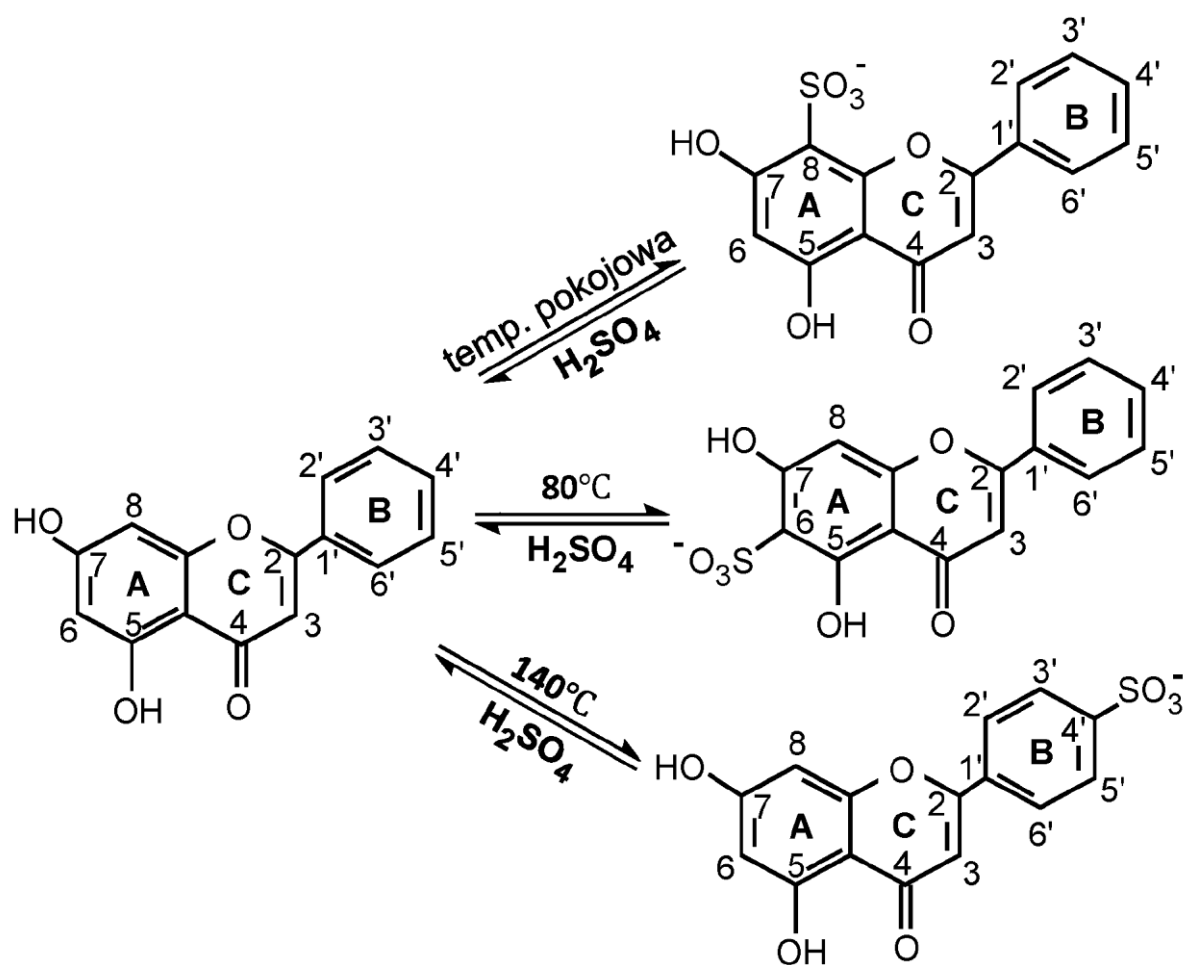
Przesącze otrzymane w pierwszym i drugim stopniu krystalizacyjnym, łączy się i zatęża ośmiokrotnie, w celu wywołania krystalizacji, a następnie wykrystalizowany osad odsącza się i suszy do uzyskania stałej masy. Otrzymano 1,02 g osadu zawierającego 97% izomeru 3' oraz 3% izomeru 4' o czystości wynoszącej odpowiednio 95% oraz 97%.

Zarówno pierwszy jak i drugi przykład realizacji prowadzony był z wykorzystaniem produktu reakcji sulfonowania chryzyny uzyskanego znanym sposobem, w którym do kolby okrągłodennej o pojemności 500 cm³ wprowadzono chryzynę w ilości odpowiadającej 7,5–9,5% wag. mieszaniny reakcyjnej oraz stężony kwas siarkowy (min. 96%, czystość cz.d.a) w ilości odpowiadającej 54–56% wag. mieszaniny reakcyjnej. Kolbę umieszczono w płaszczu grzewczym wyposażonym w mieszadło magnetyczne i mieszano jej zawartość z szybkością 1500–2000 rpm/min i ogrzewano pod chłodnicą zwrotną, utrzymując temperaturę w zakresie 150–160°C. Po ostudzeniu mieszaniny do temperatury pokojowej dodano do niej wodę destylowaną w ilości odpowiadającej 28–30% wag. mieszaniny reakcyjnej oraz stały chlorek sodu w ilości odpowiadającej 7,5–9,5% wag. mieszaniny reakcyjnej. Otrzymany żółty osad odwirowano, przemyto kilkakrotnie wodą i wysuszono na powietrzu. Otrzymano produkt z wydajnością 30–35%, zawierający średnio 28% izomeru 4', 22% izomeru 3' oraz 50% nieorganicznego produktu ubocznego reakcji.

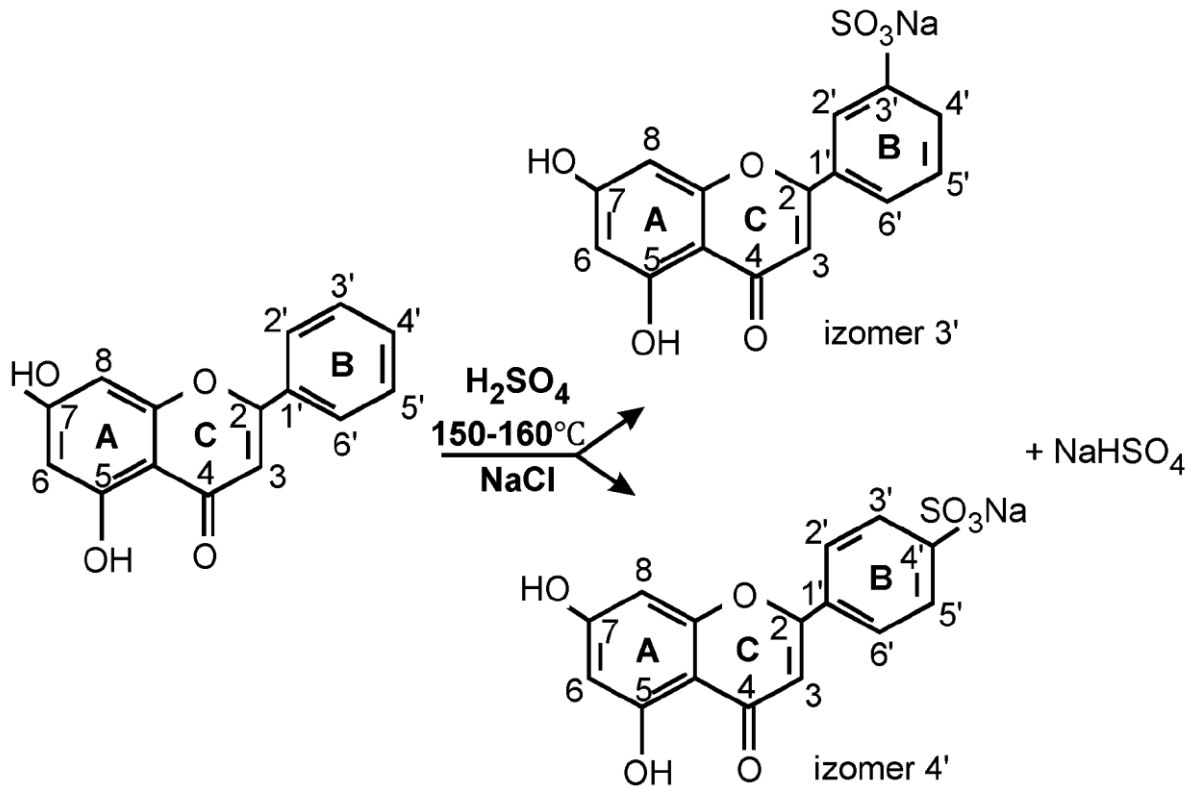
Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób rozdzielania i oczyszczania produktów reakcji sulfonowania chryzyny, w postaci izomerów chryzyno-4'-sulfonianu sodu i chryzyno-3'-sulfonianu sodu oraz nieorganicznego produktu ubocznego reakcji, poprzez ich wielostopniową krystalizację, **znamienny tym**, że jako rozpuszczalnika używa się etanol, a wielostopniowa krystalizacja obejmuje co najmniej trzy stopnie, przy czym w pierwszym stopniu krystalizacyjnym do surowego, stałego posyntetycznego produktu sulfonowania chryzyny dodaje się etanol, a następnie całość miesza się, po czym mieszaninę przesącza się a otrzymany osad suszy się do stałej masy, następnie w drugim stopniu krystalizacyjnym do osadu otrzymanego w pierwszym stopniu krystalizacyjnym, dodaje się etanol, następnie mieszaninę miesza się, po czym przesącza się ją a otrzymany osad suszy się do uzyskania stałej masy, a następnie w trzecim stopniu krystalizacyjnym do osadu otrzymanego jako produkt w drugim stopniu krystalizacyjnym dodaje się etanol, następnie mieszaninę miesza się, po czym przesącza się ją, a otrzymany osad suszy się do stałej masy, po zakończeniu wielostopniowej krystalizacji otrzymany osad rozpuszcza się na gorąco w etanolu, mieszaninę przesącza się a następnie przesącz odparowuje się do uzyskania stałej masy, zaś przesącze otrzymane w pierwszym oraz drugim stopniu krystalizacyjnym łączy się oraz zatęża, a otrzymany osad przesącza się oraz suszy do otrzymania stałej masy.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że w pierwszym stopniu krystalizacyjnym stały posyntetyczny produkt reakcji sulfonowania chryzyny stosuje się w ilości odpowiadającej od 1,25 do 1,35% wag. mieszaniny, zaś etanol stosuje się w ilości odpowiadającej 98,65 do 98,75% wag. mieszaniny.
3. Sposób według zastrz. 1 albo 2, **znamienny tym**, że w drugim stopniu krystalizacyjnym stały posyntetyczny produkt reakcji sulfonowania chryzyny stosuje się w ilości odpowiadającej od 0,30 do 0,34% wag. mieszaniny, zaś etanol stosuje się w ilości odpowiadającej od 99,66 do 99,7% wag. mieszaniny.
4. Sposób według jednego z zastrz. od 1 do 3, **znamienny tym**, że w trzecim stopniu krystalizacyjnym stały posyntetyczny produkt reakcji sulfonowania chryzyny stosuje się w ilości odpowiadającej od 0,33 do 0,37% wag. mieszaniny, zaś etanol stosuje się w ilości odpowiadającej od 99,63 do 99,67% wag. mieszaniny.
5. Sposób według jednego z zastrz. od 1 do 4, **znamienny tym**, że po zakończeniu wielostopniowej krystalizacji rozpuszczanie otrzymanego osadu na gorąco w etanolu prowadzi się w temperaturze wynoszącej 65±0,1°C, przy czym osad stosuje się w ilości od 0,05 do 0,06% wag. mieszaniny, zaś etanol w ilości odpowiadającej od 99,94 do 99,95% wag. mieszaniny.
6. Sposób według zastrz. 5, **znamienny tym**, że po rozpuszczeniu na gorąco osadu otrzymanego w trzecim stopniu krystalizacji w etanolu, mieszaninę miesza się w temperaturze 65±0,1°C przez 24 godziny z prędkością 150 rpm.
7. Sposób według jednego z zastrz. od 1 do 6, **znamienny tym**, że otrzymane w pierwszym oraz w drugim stopniu krystalizacji przesącze, zatęża się ośmiokrotnie.
8. Sposób według jednego z zastrz. od 1 do 7, **znamienny tym**, że mieszanie w pierwszym, drugim oraz trzecim stopniu krystalizacji prowadzi się w temperaturze 24±0,1°C, przez 24 godziny, z prędkością 150 rpm.

Rysunki



Pos. I



Pos. II