

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2002 - 3723

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **09.05.2001**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **13.05.2000 13.05.2000**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **2000/0011521 2000/0011519**

(33) Země priority: **GB GB**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14.05.2003**

(Věstník č. 5/2003)

(86) PCT číslo: **PCT/GB01/02025**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO01/087891**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 498/04

(71) Přihlašovatel:

SMITHKLINE BEECHAM PLC, Brentford, GB;

(72) Původce:

Zhang Guo, Worthing, GB;

McKnight John, Worthing, GB;

(74) Zástupce:

Zelený Pavel JUDr., Hálkova 2, Praha 2, 12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Způsob čištění soli klavulanové kyseliny

(57) Anotace:

Způsob, při kterém se sůl kyseliny klavulanové, obvykle aminová sůl nebo sůl alkalického kovu vystaví podmínkám, obzvláště hodnotě pH 6,0 nebo nižší, které snižují množství kontaminujících nečistot. Tímto způsobem může být způsob promývání, způsob rekrystalizace nebo preparativní způsob.

CZ 2002 - 3723 A3

Způsob čištění soli klavulanové kyseliny

2002-3223

Oblast techniky

Tento vynález se týká nových způsobů přípravy solí kyseliny klavulanové v čistějším stavu.

Dosavadní stav techniky

Kyselina klavulanová ((Z)-(2R,5R)-3-(2-hydroxyethyliden)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylová kyselina) je inhibitor β -laktamázy, který se používá komerčně jako složka farmaceutických prostředků, obvykle ve formě farmaceuticky přijatelných solí, obzvláště klavulanátu sodného. Kyselina klavulanová se vyrábí komerčně kultivací mikroorganismu *Streptomyces clavuligerus*, například podle popisu v GB 1 508 977.

Kyselina klavulanová se může extrahovat z kultivačního média různými způsoby. Obvykle se buňky *Streptomyces clavuligerus* napřed vyjmou z kultivačního média takovými způsoby jako je filtrace nebo odstředování než takové extrakční postupy započnou. Kyselina klavulanová se může z tohoto vyčištěného kultivačního média extrahovat extrakcí rozpouštědly ze studeného vyčištěného média jehož hodnota pH je upravena do kyselé oblasti. Extrakce celého bujónu je také proveditelná. Při způsobu extrakce rozpouštědlem se kyselina klavulanová extrahuje do organického rozpouštědla. Po oddělení fází se kyselina klavulanová nachází v roztoku v organické fázi.

Kyselina klavulanová se může zpětně extrahovat z organické fáze do nové vodné fáze využitím větší

rozpustnosti solí kyseliny klavulanové s organickými aminy ve vodě a izolací takové aminové soli z vodné fáze. Při takovém způsobu se aminová sůl vytvoří jako meziprodukt při způsobu konverze surové kyseliny klavulanové na farmaceuticky přijatelnou sůl. Takový způsob je popsán například v EP-A-0 026 044, kde se roztok nečisté kyseliny klavulanové v organickém rozpouštědle uvede do kontaktu s terc-butylaminem k vytvoření terc-butylaminové soli kyseliny klavulanové, které se poté izoluje. Jsou známy další podobné způsoby, které využívají organické aminy, jako je terciární oktylamin (viz EP-A-0 594 099 (Pharma Development), diethylamin, tri-(nižší alkyl)aminy, dimethylanilin a N,N'-diisopropylethyldiamin. WO-A-93/25557 (SmithKline Beecham) uvádí velmi rozsáhlý seznam aminů, které mohou být použity tímto způsobem. WO-A-94/22873 (Gist Brocades) popisuje použití různých terciárních diaminů, jako je N,N,N',N'-tetramethyl-1,2-diaminoethan, N,N,N',N'-tetramethyl-1,6-diaminohexan, 1,2-dipiperidinoethan a dipiperidinomethan. WO-A-96/20199 (Spurcourt) popisuje použití diaminoetherů jako je bis(2-dimethylaminoethyl)ether. GB-A-2298201 (Spurcourt) popisuje použití různých benzhydrylaminů. WO-A-96/33197 (LEK) popisuje použití dalších aminů včetně symetrických N,N'-alkylethyldiaminů, jako je N,N'-diisopropylethyldiamin, N,N'-diethylen-diamin, N,N'-dibenzylethyldiamin a N,N,N',N'-tetramethylethyldiamin. WO-A-98/21212 (Gist-Brocades) například popisuje způsob, kde se používají aminy N,N,N',N'-tetramethylethyldiamin, 1,3-bis(dimethylamino)-2-propanol, benzhydrylamin a bis[2-(dimethylamino)ethyl]ether. WO-A-98/23622 (Biochemie) popisuje použití diisopropylethyldiaminu.

27.01.00

Po izolaci se meziproduktová aminová sůl může převést na farmaceuticky užitečnou sůl kyseliny klavulanové, obzvláště sůl s alkalickým kovem, zvláště na klavulanát draselný, obecně reakcí meziproduktové aminové soli s prekurzorovou sloučeninou soli, jako je 2-ethyl-hexanoát.

Proces fermentace, kterým se kyselina klavulanová připraví také produkuje vedlejší produktové nečistoty. Řada těchto nečistot byla identifikována jako píky v HPLC stopě surové kyseliny klavulanové, meziproduktových aminových solí a farmaceuticky přijatelných solí kyseliny klavulanové jak se připraví obvyklými způsoby, ale málo z nich bylo chemicky identifikováno. V současnosti byla identifikována jedna takováto nečistota jako N-sukcinyltyrosin.

Je žádoucí, aby v konečném produktu farmaceuticky přijatelné soli kyseliny klavulanové bylo co nejméně takových nečistot a tudíž aby tyto nečistoty byly odstraněny buď během izolace kyseliny klavulanové nebo z konečného produktu. Například mohou takové nečistoty být odstraněny z výše uvedené meziproduktové aminové soli během kroku konverze meziproduktové aminové soli na farmaceuticky přijatelnou sůl nebo z konečného produktu ve formě soli.

Podstata vynálezu

Úspěšná identifikace této nečistoty jako N-sukcinyltyrosinu neočekávaně učinila dostupnými způsoby přípravy solí kyseliny klavulanové, které jsou kontaminovány menším množstvím N-sukcinyltyrosinu než bylo dosud možné.

Tímto způsobem může být způsob čištění, kde se N-sukcinyltyrosin odstraní ze soli kyseliny klavulanové, která je jím kontaminována.

Tento vynález tedy poskytuje způsob čištění, při kterém se sůl kyseliny klavulanové, která je kontaminována nebo o které se věří, že je kontaminována N-sukcinyltyrosinem, podrobí podmínkám, které jsou zvoleny k odstranění N-sukcinyltyrosinu. Takovými podmínkami mohou být chemické podmínky, např. zpracování s jedním nebo více vhodnými činidly. Vhodně se sůl kyseliny klavulanové, která je kontaminována nebo o které se věří, že je kontaminována N-sukcinyltyrosinem, může podrobit takovým podmínkám expozicí kapalnému prostředí, např. organickému rozpouštědlu nebo směsi organické rozpouštědlo-voda, které takové činidlo obsahují. Takový způsob může zahrnovat promytí soli kyseliny klavulanové v tuhém stavu takovým kapalným prostředím nebo krystalizaci soli kyseliny klavulanové z takového kapalného prostředí. Alternativně se sůl kyseliny klavulanové, která je kontaminována nebo o které se věří, že je kontaminována N-sukcinyltyrosinem, může vystavit vhodnému činidlu v tuhé formě.

Alternativně způsob čištění může být způsobem, při kterém se sůl kyseliny klavulanové, která je kontaminována nebo o které se věří, že je kontaminována N-sukcinyltyrosinem, se suspenduje nebo rozpustí v kapalném prostředí, např. organickému rozpouštědlu nebo směsi organické rozpouštědlo-voda, a vystaví se materiálu, který je zvolen k absorpci N-sukcinyltyrosinu a tím odstraňuje N-sukcinyltyrosin ze soli.

Alternativně způsobem může být způsob přípravy, při kterém se sůl kyseliny klavulanové připraví za podmínek k minimalizaci tvorby N-sukcinyltyrosinu a/nebo jeho zadržení v produktové soli kyseliny klavulanové. Například sůl kyseliny klavulanové se může připravit v kapalném prostředí, např. organickém rozpouštědle, vodném prostředí nebo ve směsi organického rozpouštědla, které obsahuje činidla, která odstraňují N-sukcinyltyrosin, nebo se podrobí chemickým nebo fyzikálním podmínkám, které odstraňují N-sukcinyltyrosin.

Sůl kyseliny klavulanové vyčištěná nebo připravená výše uvedeným způsobem může být aminovou solí kyseliny klavulanové, např. s kterýmkoli z aminů uvedených výše, obzvláště terciárním butylaminem, přičemž tato aminová sůl se může následně převést na konečný produkt farmaceuticky přijatelné soli kyseliny klavulanové, jako je sůl s alkalickým kovem, např. klavulanát draselný. Alternativně může sůl být kovovou solí kyseliny klavulanové, např. solí kyseliny klavulanové s alkalickým kovem, obzvláště klavulanát draselný.

Dále bylo neočekávaně nalezeno, že hladina nečistot, jako je výše uvedený N-sukcinyltyrosin, v soli kyseliny klavulanové se může snížit pokud se sůl vystaví zvolenému rozmezí hodnot pH. Je předmětem tohoto vynálezu použít toto zjištění při poskytování zlepšených způsobů pro přípravu takových farmaceuticky přijatelných solí.

Podle tohoto vynálezu je poskytnut způsob zahrnující vystavení soli kyseliny klavulanové kapalnému prostředí s hodnotou pH nižší než 6,5, výhodně 6,0 nebo nižší, výhodněji s hodnotou pH 5,5 nebo nižší, výhodněji

27.01.00

s hodnotou pH 5,0 nebo nižší, výhodněji s hodnotou pH vyšší než 3,5, např. od 3,5 do 5,5, obvykle okolo 4,5. Pojem „pH“ jak je zde používán zahrnuje obvyklé použití pojmu pH jako logaritmu převrácené hodnoty koncentrace iontů vodíku.

Pojem pH jak je zde používán také zahrnuje pozorovanou hodnotu pH, tj. hodnotu pH naměřenou vystavením prostředí obvyklému pH metru známého typu, vhodně kalibrovanému známými způsoby. Obvykle bude prostředí použité při způsobu podle tohoto vynálezu obsahovat určité množství vody.

Zpracování soli tímto způsobem při způsobu podle tohoto vynálezu může snížit hladinu jedné nebo více nečistot, obzvláště N-sukcinyltyrosinu, v soli nebo dalších solích kyseliny klavulanové, např. farmaceuticky přijatelné soli, připravené z této soli.

V první formě způsobu podle tohoto vynálezu se sůl může promýt prostředím, tj. promývacím prostředím, s hodnotou pH nižší než 6,5, výhodně s hodnotou pH 5,5 nebo nižší. Solí může být aminová sůl kyseliny klavulanové, např. s kterýmkoli z aminů uvedených výše, obzvláště terciárním butylaminem, přičemž tato aminová sůl se může promývacím prostředím a poté případně se aminová sůl může následně převést na konečný produkt farmaceuticky přijatelné soli kyseliny klavulanové, jako je sůl s alkalickým kovem, např. klavulanát draselný. Alternativně může sůl, která se promývá, může být kovovou solí kyseliny klavulanové, např. solí kyseliny klavulanové s alkalickým kovem, obzvláště klavulanát draselný.

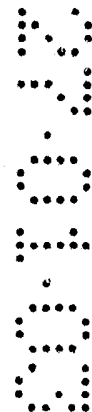
Promývacím prostředím může být vodné promývací prostředí s takovou hodnotou pH, např. okyselená voda nebo výhodně směs vody a s vodou mísitelného organického

rozpouštědla, jako je alkanol s 1 až 7 atomy uhlíku, obvykle obsahující od 0,5 do 20 % objemových vody, při takové hodnotě pH. Vhodně se vodné promývací prostředí, např. voda nebo takové směs vody a s vodou mísitelného organického rozpouštědla, může okyselit minerální kyselinou, jako je kyselina sírová, chlorovodíková nebo dusičná, nebo organickou, např. karboxylovou, kyselinou, jako je alkanová kyselina s 1 až 7 atomy uhlíku, jako je kyselina octová.

Tato první forma způsobu může tedy být způsobem, při kterém je poskytnuta výchozí sůl kyseliny klavulanové obsahující jednu nebo více nečistot jako je N-sukcinyltyrosin, přičemž sůl se promyje promývacím prostředím k vyrobení soli kyseliny klavulanové, ve které hladina jedné nebo více nečistot je nižší.

Tato forma způsobu může tedy být způsobem, při kterém se jedna nebo více nečistot jako je N-sukcinyltyrosin odstraní z výchozí soli kyseliny klavulanové promytím výchozí soli kyseliny klavulanové promývacím prostředím.

Ve druhé formě způsobu podle tohoto vynálezu se sůl může rekrystalizovat z prostředí s hodnotou pH nižší než 6,5. Například aminová sůl se může rekrystalovat z takového rekrystalizačního prostředí, poté se může následně převést na konečnou produktovou farmaceuticky přijatelnou sůl kyseliny klavulanové, jako je sůl a alkalickým kovem, např. klavulanát draselný, známými způsoby, jako jsou způsoby uvedené výše, například reakcí s 2-ethyl-hexanoátem draselným.



Vhodně se v tomto způsobu rekrystalizace sůl, např. aminová sůl, může rozpustit ve vodném prostředí, např. okyselené vodě nebo ve směsi vody a s vodou mísitelného rozpouštědla, jako je alkanol s 1 až 7 atomy uhlíku. Výhodně je koncentrace roztoku vysoká, např. 10 až 40%, nicméně zdá se, že zde není žádný teoretický horní limit. Vodné prostředí může zpočátku být s hodnotou pH nižší než 6,5 nebo hodnota pH se může upravit, když se vodný roztok zpracuje, např. vodný roztok se poté může okyselit kyselinou, vhodně minerální kyselinou, jako je kyselina sírová, chlorovodíková nebo dusičná, nebo organickou kyselinou, např. karboxylovou kyselinou jako je alkanová kyselina s 1 až 7 atomy uhlíku, jako je kyselina octová. Výhodná hodnota pH je okolo 5,5 nebo nižší.

Sůl, např. aminová sůl, se poté může izolovat z vodného roztoku. Toho se může dosáhnout například krystalizací smísením roztoku, např. vodného roztoku, se srážecím rozpouštědlem, jako je s vodou mísitelný keton. Vhodné ketony zahrnují alifatické ketony, například dialkylketon s 1 až 7 atomy uhlíku v každé alkylové části, přičemž výhodný je aceton. Solváty aminových solí klavulanátu s takovými ketony jsou známy a aminová sůl se mohou srážet jako ketonový solvát. Například tento roztok se může naředit s přebytkem, např. 5- až 50-násobným přebytkem srážecího rozpouštědla, např. ketonu. Ochlazení naředěného roztoku může napomoci ke zlepšení výtěžku vysrážených krystalů aminové soli, např. jako solvát, který se může izolovat.

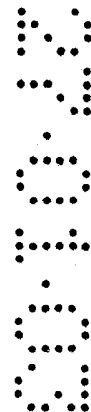
Tato druhá forma způsobu může tedy být způsobem, při kterém je poskytnuta výchozí sůl kyseliny klavulanové, která obsahuje jednu nebo více nečistot jako je N-suk-

cinyltyrosin, přičemž sůl se rekrystaluje v rekrystalizačním prostředí k vyrobení soli kyseliny klavulanové, ve které hladina jedné nebo více nečistot je nižší.

Tato druhá forma způsobu může tedy být způsobem, při kterém se jedna nebo více nečistot jako je N-sukcinyltyrosin odstraní z výchozí soli kyseliny klavulanové rekrystalizací výchozí soli kyseliny klavulanové z rekrystalizačního prostředí.

Třetí formou způsobu může být preparativní způsob, při kterém se sůl kyseliny klavulanové připraví v kapalném prostředí s hodnotou pH nižší než 6,5. Například tato třetí forma způsobu může obsahovat způsob, při kterém se aminová sůl kyseliny klavulanové připraví reakcí kyseliny klavulanové s aminem v kapalném prostředí s hodnotou pH nižší než 6,5. Tato třetí forma způsobu se může použít k přípravě aminové soli kyseliny klavulanové obsahující nižší hladinu nečistot jako je N-sukcinyltyrosin než se vyskytuje v aminových solích kyseliny klavulanové připravených alternativními způsoby nebo způsoby dosavadního stavu techniky.

Ve výhodném ztělesnění této třetí formy způsobu se reakce provádí ve dvoufázovém systému, kterým je fáze organického rozpouštědla obsahující kyselinu klavulanovou a vodná fáze, do níž se aminová sůl extrahuje a která má hodnotu pH 6,5 nebo nižší. Vhodně tedy vodná fáze může obsahovat vodný roztok nebo suspenzi aminu, obzvláště vodný roztok nebo suspenzi terciárního butylaminu. Fáze organického rozpouštědla je výhodně nemísitelná s vodou,



tj. ačkoliv může dojít k určitému mísení s vodou, ve většině fázového diagramu se vytvoří 2 fáze.

Například se může ustavit dvoufázový systém zahrnující fázi organického rozpouštědla obsahující rozpuštěnou kyselinu klavulanovou a oddělenou vodnou fázi, přičemž do tohoto dvoufázového systému může být zaveden organický amin, např. injikován do vodné fáze, za vhodných podmínek mísení, např. míchání nebo turbulence, tak, že se aminová sůl extrahuje do vodné fáze při jejím vytváření. Obvykle může mít organická fáze koncentraci od 5 do 100 g/litr, například od 10 do 40 g/litr kyseliny klavulanové, např. okolo 30 g/litr. Vhodná rozpouštědla pro organickou fázi zahrnují s vodou v podstatě nemísitelné estery alkanoátů s 1 až 7 atomy uhlíku jak v alkylové části, tak v esterové části, jako je ethyl-acetát a terc-butyl-acetát, a dialkylketony s 1 až 7 atomy uhlíku v každé alkylové části, jako je methylišobutylketon. Pro tuto reakci je výhodná teplota od asi 0 do asi 5 °C. Vhodně může být fáze organického rozpouštědla produktem extrakce organickým rozpouštědlem případně předčištěného, např. zfiltrovaného a uhlím ošetřeného, fermentačního bujónu, ve kterém se vytvořila kyselina klavulanová.

Vhodně může být vodná fáze poskytnuta zpětnou extrakcí z fáze organického rozpouštědla cirkulační extrakční kličkou tak, že ve vodné fázi se může dosáhnout vysoké koncentrace aminové soli. Vodná fáze se může odpařit na vysokou koncentraci, např. 25 % hmotnostních např. cirkulací vodní extrakční kličky po vhodnou dobu.

Obecně když se kyselina klavulanová extrahuje z vodného bujónu k vytvoření takové organické fáze, bujón



se okyslí na hodnotu pH nižší než 2,0. K úpravě hodnoty pH vodné fáze se může použít řízené přidávání organického aminu do výše uvedeného dvoufázového systému, což se může monitorovat průběžně. Výhodná hodnota pH je opět nižší než 5,5.

Aminová sůl se poté může izolovat z vodné fáze. Toho se může dosáhnout například krystalizací přimísením srážecího rozpouštědla do vodného roztoku, jako je s vodou mísitelný keton jak je popsáno výše, přičemž tato krystalizace se může provádět způsobem analogickým způsobu krystalizace jak je popsán výše.

Čtvrtou formou způsobu podle tohoto vynálezu může být preparativní způsob, při kterém se jako produkt vytvoří kovová sůl kyseliny klavulanové reakcí mezi aminovou solí kyseliny klavulanové a kovovou solí prekurzorové sloučeniny v kapalném prostředí s hodnotou pH nižší než 6,5. Tato čtvrtá forma způsobu se může použít k přípravě kovových solí kyseliny klavulanové obsahujících nižší hladinu nečistot jako je N-sukcinyltyrosin než se vyskytuje u kovových solí kyseliny klavulanové připravené alternativním způsobem nebo způsobem podle dosavadního stavu techniky.

Výhodnými produktovými solemi kyseliny klavulanové, které mohou být připraveny touto čtvrtou formou způsobu jsou soli alkalických kovů a kovů alkalických zemin, obzvláště klavulanát draselný.

Tato čtvrtá forma způsobu podle tohoto vynálezu se zdá být vhodná pro použití u všech prekurzorových sloučenin kovové soli, které mohou být převedeny na farmaceuticky přijatelnou sůl kyseliny klavulanové reakcí



s aminovou solí kyseliny klavulanové. Obecné třídy vhodných prekurzorových sloučenin kovových solí zahrnují soli kationtů alkalických kovů a kationtů kovů alkalických zemin s protianionty, které zahrnují bázecké anionty, jako je hydrogenuhličitan, uhličitan nebo hydrofenfosfát, a obzvláště anionty slabých karboxylových kyselin, jako jsou alkonové kyseliny obecného vzorce $R-CO_2H$, kde R je alkyl s 1 až 20 atomy uhlíku, například alkyl s 1 až 8 atomy uhlíku, např. soli kyseliny octové, propionové a ethylhexanové, jako je kyselina 2-ethylhexanová. Některé příklady prekurzorových sloučenin v těchto obecných třídách zahrnují hydrogenuhličitan sodný nebo draselný, hydrogenfosfát draselný a uhličitan vápenatý. Výhodnou prekurzorovou sloučeninou kovové soli pro klavulanát draselný je 2-ethylhexanoát draselný.

Reakce této čtvrté formy způsobu podle tohoto vynálezu se výhodně provádí s aminovou solí v roztoku nebo suspenzi ve směsi s vodou mísitelného rozpouštědla a vody, například alkanolu s 1 až 8 atomy uhlíku nebo ve směsi takového alkoholu s vodou, např. ve směsi isopropanol/voda. Vhodné proporce pro takovou směs rozpouštědlo : voda k vyhovění obzvláštním požadavkům se mohou stanovit experimentálně, např. směs rozpouštědlo : voda obsahující od 1 do 10 % objemových vody, např. od asi 1 do asi 5 % objemových vody. Aminová sůl se může rozpustit v takovém rozpouštědle, které může mít buď hodnotu pH 6,0 nebo nižší nebo které může být upraveno na tuto hodnotu pH přidáním vhodné kyseliny, např. minerální kyseliny nebo organické kyseliny jak je uvedeno výše. Aminová sůl může být vhodně přítomna v koncentraci roztoku od 0,1 do 1,0 M, např. okolo 0,5 M v klavulanátové části. Výhodná hodnota pH je 5,5 nebo nižší, např. od 5,5 do 5,0.

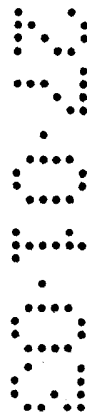
Ačkoliv mísení aminové soli a prekurzorové sloučeniny v jakémkoli pořadí spadá do rozsahu tohoto vynálezu, výhodně se prekurzor kovové soli přidá k roztoku aminové soli. Prekurzor se může přidat jako roztok, např. v alkoholu, např. isopropanolový roztok. Vhodná koncentrace roztoku pro tento roztok prekurzorové sloučeniny je od 0,5 do 3,5 M, např. okolo 2 M. Výhodné je pomalé přidávání roztoku prekurzoru, výhodně za míchání a výhodně za chlazení po přidání na teplotu nižší, než je teplota místnosti, např. od 0 do 5 °C.

Kovová sůl produktu kyseliny klavulanové se může vytvořit jako sraženina z roztoku. Srážení produktové kovové soli kyseliny klavulanové z roztoku se může uspišit smísením roztoku se srážecím rozpouštědlem, např. isopropanolem, jak je popsáno výše. Tuhý produkt se může izolovat z reakčního prostředí například filtrací a promytím produktu.

V každém z výše uvedených způsobů může hodnota pH prostředí definovaného výše vést ke snížení množství jedné nebo více nečistot jako je N-sukcinyltyrosin v produktu relativně k analogickým způsobům při vyšší hodnotě pH.

Tyto způsoby podle tohoto vynálezu mohou zahrnovat část celkového způsobu pro přípravu klavulanátu draselného ze surové kyseliny klavulanové, např. jak se vytvoří ve fermentačním bujónu, např. kde se aminová sůl použije jako meziprodukt.

Tento celkový způsob může zahrnovat kroky



- i) fermentace mikroorganismu, který produkuje vodný bujón obsahující kyselinu klavulanovou,
- ii) extrakce kyseliny klavulanové do organického rozpouštědla,
- iii) konverzi kyseliny klavulanové na aminovou sůl kyseliny klavulanové,
- iv) expozici aminové soli hodnotě pH 6,0 nebo nižší, obzvláště 5,5 nebo nižší,
- v) konverzi aminové soli na klavulanát draselný,

promývací a/nebo rekrystalizační způsob podle tohoto vynálezu se může například aplikovat na soli kyseliny klavulanové připravené jako produkty buď jednotlivého nebo obou kroků iii) a/nebo iv). Preparativní způsoby podle tohoto vynálezu se mohou například aplikovat na jeden nebo oba kroky přípravy iii) a/nebo v), jak jsou popsány výše.

Ve způsobech podle tohoto vynálezu, které zahrnují farmaceuticky přijatelnou kovovou sůl kyseliny klavulanové je výhodnou solí klavulanát draselný.

Ve způsobech podle tohoto vynálezu, které zahrnují aminovou sůl kyseliny klavulanové je výhodnou aminovou solí terc-butylaminová sůl kyseliny klavulanové. Ta se může připravit, známou reakcí (viz např. dokument EP-A-0 026 044, jehož obsah je zde zahrnut formou odkazu), reakcí terc-butylaminu s kyselinou klavulanovou a snadno se isoluje jako acetonový solvát. Jak terc-butylaminová sůl, tak její acetonový solvát se mohou snadno převést na farmaceuticky přijatelné soli kyseliny klavulanové, např. klavulanát draselný, jak je např. popsáno v EP 0 026 044A. Způsoby podle tohoto vynálezu se však jeví v principu aplikovatelné na všechny tyto aminové soli, které jsou



známy jako použitelné jako meziprodukty při konverzi kyseliny klavulanové na farmaceuticky přijatelnou sůl, jako je klavulanát draselný. V důsledku toho se způsoby podle tohoto vynálezu jeví v principu jako účinné se všemi takovými aminy.

Příklady takových aminů a jejich odpovídajících aminových solí jsou popsány například v publikacích, na něž se odkazuje výše, a zahrnují například aminové poly- a diklavulanátové soli pokud má amin více než jednu aminovou část. Další vhodné aminové soli zahrnují soli, na něž se odkazuje v publikacích uvedených výše, např. terciární oktylamin, diethylamin, tri-(nižší alkyl)aminy, dimethylanilin a N,N'-diisopropylethyldiamin, terciární diaminy, jako je N,N,N',N'-tetramethyl-1,2-diaminoethan, N,N,N',N'-tetramethyl-1,6-diaminohexan, 1,2-dipiperidinoethan a dipiperidinomethan, diaminoethery jako je bis(2-dimethylaminoethyl)ether, benzhydrylaminy, N,N'-alkylethylen-diaminy, jako je N,N'-diisopropylethyldiamin, N,N'-diethyldiamin, N,N'-dibenzylethyldiamin a N,N,N',N'-tetramethyldiamin, N,N,N',N'-tetramethylethyldiamin, 1,3-bis(dimethylamino)-2-propanol, benzhydrylamin a bis[2-(dimethylamino)ethyl]ether a diisopropylethylen-diamin.

Předložený vynález dále poskytuje produkt farmaceuticky přijatelné kovové soli kyseliny klavulanové, který je produktem kteréhokoli z výše uvedených způsobů, obzvláště klavulanát draselný.

Tyto produkty jsou charakterizovány hladinami nečistot, obzvláště N-sukcinylytyrosinu, které jsou nižší než hladiny dosažitelné známými způsoby, obzvláště

odpovídajícími způsoby, které se provádějí v prostředí s hodnotou pH vyšší, než je hodnota definovaná.

Tento vynález bude nyní popsán pouze pomocí příkladů.

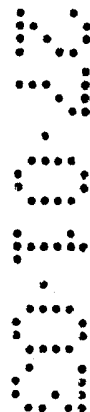
Příklady provedení vynálezu

Příklady 1, 2 a 3 jsou vyjádřeny jako snížení celkového množství nečistot v produktové soli kyseliny klavulanové, a příklady 4, 5 a 6 jsou vyjádřeny jako snížení specifické nečistoty N-sukcinyltyrosinu.

Příklad 1

Okyselení aminové soli během krystalizace soli

30 g terc-butylaminové („t-BA“) klavulanátové soli se rozpustí ve vodě k získání 30% roztoku čisté volné kyseliny (tj. vypočítáno jako „čistá volná kyselina“, tj. část kyseliny klavulanové jako hmotnost : objem). Změří se hodnota pH roztoku a roztok se okyselí na hodnotu pH 4,5 pomocí přibližně 1,1 ml 50% kyseliny sírové nebo koncentrované kyseliny dusičné. Přidá se 5-násobný objem acetonu a směs se 15 minut míchá. Během 20 minut se přidá další aceton až na 35-násobek objemu vodné fáze. Během předchozí části se roztok aminové soli udržuje při teplotě místnosti. Produktová terc-butylaminová sůl se krystaluje a chladí na teplotu od 0 do 5 °C po dobu 60 minut a zachytí se filtrací. Produkt se promyje 600 ml acetonu před 12 hodinami sušení ve vakuu. Tato procedura se opakuje při „přirozené“ hodnotě pH bez přidání kyseliny, tj. při hodnotě pH okolo 7,5. terc-Butylaminová sůl získaná za



použití těchto procedur se poté převede na produktový klavulanát draselný za použití známého způsobu, přičemž hladiny celkových nečistot v klavulanátu draselném připraveném za použití vzorků terc-butylaminové soli se změří následovně:

Hodnota krystalizačního pH terc-butylaminového roztoku	% celkových nečistot v klavulanátu draselném (wrt klavulanátu pomocí HPLC)
přirozená (pH 7,0 až 7,5)	2,03
pH 4,5	0,03

Příklad 2

Příprava aminové soli klavulanátu z kyseliny klavulanové a aminu za kyselých podmínek

100 litrů vodného koncentráту kyseliny klavulanové (okolo 20 až 40 g/litr) ze zfiltrovaného fermentačního bujónu se extrahuje rozpouštědlem při pH 1,5 do methylišobutylketonu („MIBK“). Methylišobutylketon bohatý na klavulanovou kyselinu se zpracuje s uhlím (17 litrů) a zpětně se extrahuje do vody, která se upraví na hodnotu pH 4,5 řízeným vstříknutím 50% roztoku terc-butylaminu v methylišobutylketonu. Řízením rychlosti přidávání terc-butylaminu se hodnota pH vodné fáze může nastavit, přičemž v separačních experimentech se použijí hodnoty pH 4,5 a 5,4. Jakmile zpětný extrakční roztok dosáhne vhodné krystalizační koncentrace, krystaluje se 100ml alikvot přidáním 35 objemů acetonu a vysrážený produkt se isoluje jako v příkladu 1 uvedeném výše. Následný krystalovaný amin se převede na draselnou sůl a analyzuje se na celkové

hladiny nečistot. To se poté opakuje s vodnou fází s hodnotou pH 5,4. Použitím hodnoty pH 4,5 se hladina celkových nečistot v klavulanátu draselném sníží o 50 % ve srovnání s úrovní dosaženou při hodnotě pH 5,4.

Příklad 3

Konverze aminové soli na klavulanát draselný

25 g terc-butylaminu klavulanátu se rozpustí ve směsi isopropanolu (81 ml) a destilované vody (10 ml) a hodnota pH se sníží na 6,8 pomocí ledové kyseliny octové. Za míchání se během 20 minut po kapkách přidá dalších 145 ml isopropanolu a 59,5 ml 2-ethyl-hexanoátu draselného (1,92 N) rozpuštěného v isopropanolu. Takto vytvořená suspenze se 120 minut míchá v ledové lázni při teplotě od 0 do 5 °C a zfiltruje se. Koláč klavulanátu draselného se promyje acetonem (120 a 200 ml) a vysuší se ve vakuu s odsáváním dusíku. Se změnami objemu přidané ledové kyseliny octové se mění hodnota pH rozpouštěcího roztoku. Výsledky ukazující účinek na množství celkových nečistot v klavulanátu draselném („Kklav“) a celkový výtěžek klavulanátu draselného jsou ukázány v tabulce uvedené dále:

pH rozpouštěcího roztoku	% celkových nečistot v Kklav (wrt klav)
6,8	0,87
6,5	0,92
6,0	0,63
5,5	0,57
5,0	0,13
5,0*	0,11

* Objem vody se sníží ke kompenzaci dalšího objemu použité kyseliny octové.

Experimenty popsané v příkladu 3 uvedeném výše se opakují za použití jiných kyselin než je kyselina octová k dosažení specifikované hodnoty pH, například kyselina chlorovodíková se použije s podobnými výsledky.

Příklad 4

Okyselení aminové soli během krystalizace aminové soli

30 g terc-butyloaminové („t-BA“) klavulanátové soli se rozpustí ve vodě k získání 30% roztoku čisté volné kyseliny (tj. vypočítáno jako „čistá volná kyselina“, tj. část kyseliny klavulanové jako hmotnost : objem). Změří se hodnota pH roztoku a roztok se okyselí na hodnotu pH 4,5 pomocí přibližně 1,1 ml 50% kyseliny sírové nebo koncentrované kyseliny dusičné. Přidá se 5-násobný objem acetonu a směs se 15 minut míchá. Během 20 minut se přidá další aceton až na 35-násobek objemu vodné fáze. Během předchozí části se roztok aminové soli udržuje při teplotě místnosti. Produktová terc-butyloaminová sůl se krystaluje a chladí na teplotu od 0 do 5 °C po dobu 60 minut a zachytí se filtrací. Produkt se promyje 600 ml acetonu před 12 hodinami sušení ve vakuu. Tato procedura se opakuje při „přirozené“ hodnotě pH bez přidání kyseliny, tj. při hodnotě pH okolo 8,5. Hladiny N-sukcinyltyrosinu v klavulanátu draselném připraveném za použití vzorků terc-butyloaminové soli se změří následovně:

Krystalizační hodnota pH	% N-sukcinyltyrosinu v
terc-butylaminového roztoku	terc-butylaminu klavulanátu
	(wrt klavulanátu pomocí
	HPLC)

Přirozená (pH 8,5)	3,48
pH 4,5	0,03

Příklad 5

Příprava aminové soli klavulanátu z kyseliny klavulanové a aminu za kyselých podmínek

100 litrů vodného koncentráту kyseliny klavulanové (okolo 20 až 40 g/litr) ze zfiltrovaného fermentačního bujónu se extrahuje rozpouštědlem při pH 1,5 do methylisobutylketonu („MIBK“). Methylisobutylketon bohatý na klavulanovou kyselinu se zpracuje s uhlím (17 litrů) a zpětně se extrahuje do vody, která se upraví na hodnotu pH 4,5 řízeným vstříknutím 50% roztoku terc-butylaminu v methylisobutylketonu. Řízením rychlosti přidávání terc-butylaminu se hodnota pH vodné fáze může nastavit, přičemž v separačních experimentech se použijí hodnoty pH 4,5 a 5,4. Jakmile zpětný extrakční roztok dosáhne vhodné krystalizační koncentrace, krystaluje se 100ml alikvot přidáním 35 objemů acetonu a vysrážený produkt se izoluje jako v příkladu 1 uvedeném výše. Následný krystalovaný amin se převede na draselnou sůl a analyzuje se na hladiny N-sukcinyltyrosinu. To se poté opakuje s vodnou fází s hodnotou pH 5,4. Použitím hodnoty pH 4,5 se hladina N-sukcinyltyrosinu v klavulanátu draselném sníží 26-krát ve srovnání s úrovní dosaženou při hodnotě pH 5,4.

Příklad 6

Konverze aminové soli na klavulanát draselný

25 g terc-butylaminu klavulanátu se rozpustí ve směsi isopropanolu (81 ml) a destilované vody (10 ml) a hodnota pH se sníží na 6,8 pomocí ledové kyseliny octové. Za míchání se během 20 minut po kapkách přidá dalších 145 ml isopropanolu a 59,5 ml 2-ethyl-hexanoátu draselného (1,92 N) rozpuštěného v isopropanolu. Takto vytvořená suspenze se 120 minut míchá v ledové lázni při teplotě od 0 do 5 °C a zfiltruje se. Koláč klavulanátu draselného se promyje acetone (120 a 200 ml) a vysuší se ve vakuu s odsáváním dusíku. Se změnami objemu přidané ledové kyseliny octové se mění hodnota pH rozpouštěcího roztoku. Výsledky ukazující účinek na množství nečistoty N-sukcinyltyrosinu v klavulanátu draselném („Kklav“) a celkový výtěžek klavulanátu draselného jsou ukázány v tabulce uvedené dále:

pH rozpouštěcího roztoku	% N-sukcinyltyrosinu v Kklav (wrt klav)
6,8	0,62
6,5	0,65
6,0	0,44
5,5	0,40
5,0	0,04
5,0*	0,07

* Objem vody se sníží ke kompenzaci dalšího objemu použité kyseliny octové.

Experimenty popsané v příkladu 3 uvedeném výše se opakují za použití jiných kyselin než je kyselina octová k dosažení specifikované hodnoty pH, například kyselina chlorovodíková se použije s podobnými výsledky.

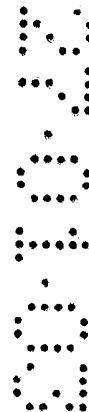
27.01.02



P A T E N T O V É N Á R O K Y

2002-3223

1. Způsob v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje expozici soli kyseliny klavulanové kapalnému prostředí s hodnotou pH nižší než 6,5.
2. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že hodnota pH je od 3,5 do 5,5.
3. Způsob podle nároku 1 nebo 2, v y z n a č u j í c í s e t í m, že sůl se promyje promývacím prostředím s hodnotou pH 6,0 nebo nižší.
4. Způsob podle nároku 3, v y z n a č u j í c í s e t í m, že solí je aminová sůl kyseliny klavulanové.
5. Způsob podle nároku 4, v y z n a č u j í c í s e t í m, že aminová sůl se následně převede na konečnou produktovou farmaceuticky přijatelnou sůl kyseliny klavulanové.
6. Způsob podle nároku 3, v y z n a č u j í c í s e t í m, že solí, která se promývá, je kovová sůl kyseliny klavulanové.
7. Způsob podle kteréhokoli z nároků 3 až 6, v y z n a č u j í c í s e t í m, že promývacím prostředím je směs vody a rozpouštědla mísitelného s vodou s hodnotou pH 6,0 nebo nižší.
8. Způsob podle kteréhokoli z nároků 3 až 7, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje způsob, při kterém je poskytnuta výchozí sůl kyseliny klavulanové, která obsahuje



jednu nebo více nečistot, přičemž sůl se promyje promývacím prostředím k vyrobení produktové soli kyseliny klavulanové, ve které hladina jedné nebo více nečistot je nižší.

9. Způsob podle kteréhokoli z nároků 3 až 8, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje způsob, při kterém se z výchozí soli kyseliny klavulanové odstraní jedna nebo více nečistot promýváním výchozí soli kyseliny klavulanové promývacím prostředím.

10. Způsob podle nároku 1 nebo 2, v y z n a č u j í c í s e t í m, že sůl klavulanové kyseliny se rekrystaluje z rekrystalizačního prostředí s hodnotou pH 6,0 nebo nižší.

11. Způsob podle nároku 10, v y z n a č u j í c í s e t í m, že solí je aminová sůl kyseliny klavulanové.

12. Způsob podle nároku 11, v y z n a č u j í c í s e t í m, že aminová sůl se následně převede na konečnou produktovou farmaceuticky přijatelnou sůl kyseliny klavulanové.

13. Způsob podle kteréhokoli z nároků 10, 11 nebo 12, v y z n a č u j í c í s e t í m, že sůl se rozpustí ve vodném prostředí s hodnotou pH 6,0 nebo nižší nebo se následně upraví na hodnotu pH 6,0 nebo nižší, poté se sůl izoluje z vodného roztoku krystalizací smísením roztoku se srážecím rozpouštědlem.

14. Způsob podle kteréhokoli z nároků 10 až 13, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje způsob, při kterém je poskytnuta výchozí sůl kyseliny klavulanové, která obsahuje jednu nebo více nečistot, přičemž sůl se rekrystaluje

z rekrytalizačního prostředí k vyrobení produktové soli kyseliny klavulanové, ve které hladina jedné nebo více nečistot je nižší.

15. Způsob podle kteréhokoli z nároků 10 až 14, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje způsob, při kterém se z výchozí soli kyseliny klavulanové odstraní jedna nebo více nečistot rekrytalizací výchozí soli kyseliny klavulanové z rekrytalizačního prostředí.

16. Způsob podle nároku 1 nebo 2, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje preparativní způsob, při kterém se připraví sůl kyseliny klavulanové v kapalném prostředí s hodnotou pH 6,0 nebo nižší.

17. Způsob podle nároku 16, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje přípravu aminové soli kyseliny klavulanové s aminem v kapalném prostředí s hodnotou pH 6,0 nebo nižší.

18. Způsob podle nároku 16, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se provádí ve dvoufázovém systému, kterým je fáze organického rozpouštědla obsahující kyselinu klavulanovou a vodná fáze, do níž se aminová sůl extrahuje a která má hodnotu pH 6,5 nebo nižší.

19. Způsob podle nároku 1 nebo 2, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje preparativní způsob, při kterém se připraví kovová sůl kyseliny klavulanové jako produkt reakcí mezi aminovou solí kyseliny klavulanové a prekurzorovou sloučeninou kovové soli v kapalném prostředí s hodnotou pH 6,0 nebo nižší.



20. Způsob podle nároku 19, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se připraví klavulanát draselný.

21. Způsob podle nároku 19 nebo 20, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se provádí s aminovou solí v roztoku ve směsi organického rozpouštědla mísitelného s vodou a vody buď při hodnotě pH 6,0 nebo nižší nebo se následně na tuto hodnotu pH upraví a prekurzor kovové soli se přidá k tomuto roztoku aminové soli.

22. Způsob podle kteréhokoli z předchozích nároků, v y z n a č u j í c í s e t í m, že je součástí celkového způsobu přípravy klavulanátu draselného ze surové kyseliny klavulanové jak se vytvoří ve fermentačním bujónu.

23. Způsob podle nároku 22, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje kroky

- i) fermentace mikroorganismu, který produkuje vodný bujón obsahující kyselinu klavulanovou,
- ii) extrakce kyseliny klavulanové do organického rozpouštědla,
- iii) konverzi kyseliny klavulanové na aminovou sůl kyseliny klavulanové,
- iv) expozici aminové soli hodnotě pH 6,0 nebo nižší, obzvláště 5,5 nebo nižší,
- v) konverzi aminové soli na klavulanát draselný.

24. Produktová aminová sůl kyseliny klavulanové, která je produktem způsobu podle kteréhokoli z nároků 1 až 18.

25. Klavulanát draselný, který je produktem způsobu podle kteréhokoli z nároků 1 až 3 nebo 19 až 23.



26. Způsob podle kteréhokoli z nároků 8, 9, 14 nebo 15, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jedna z uvedených jedné nebo více nečistot je N-sukcinyltyrosin.

27. Způsob čištění v y z n a č u j í c í s e t í m, že sůl kyseliny klavulanové která obsahuje nebo o které se věří, že je kontaminována N-sukcinyltyrosinem, se podrobí podmínkám, které jsou zvoleny k odstranění N-sukcinyltyrosinu.

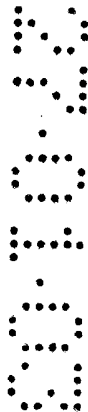
28. Způsob čištění podle nároku 27, v y z n a č u j í c í s e t í m, že sůl se vystaví kapalnému prostředí obsahujícímu činidlo, které ničí N-sukcinyltyrosin.

29. Způsob čištění podle nároku 27, v y z n a č u j í c í s e t í m, že sůl se vystaví činidlu, které ničí N-sukcinyltyrosin, které je začleněno do nebo absorbováno na tuhém substrátu.

30. Způsob čištění v y z n a č u j í c í s e t í m, že sůl kyseliny klavulanové která je obsahuje nebo o které se věří, že je kontaminována N-sukcinyltyrosinem, se suspenduje nebo rozpustí v kapalném prostředí a vystaví se materiálu, který absorbuje N-sukcinyltyrosin a tím odstraňuje N-sukcinyltyrosin ze soli.

31. Způsob přípravy v y z n a č u j í c í s e t í m, že sůl kyseliny klavulanové se připraví za podmínek zvolených k minimalizaci tvorby N-sukcinyltyrosinu a/nebo jeho zadržení v produktové soli kyseliny klavulanové.

32. Způsob podle nároku 31, v y z n a č u j í c í s e



27.01.02

t í m, že sůl kyseliny klavulanové se připraví v kapalném prostředí obsahujícím činidla, která odstraňují N-sukcinyltyrosin nebo za chemických nebo fyzikálních podmínek, které odstraňují N-sukcinyltyrosin.

27.01.02