



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETA' INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101993900289773
Data Deposito	10/03/1993
Data Pubblicazione	10/09/1994

Priorità	0472/92
Nazione Priorità	AT
Data Deposito Priorità	

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

PROCEDIMENTO PER LA PREPARAZIONE DI SALI DELL'ACIDO CLAVULANICO.

RM 93 A 000147

Caso 970-9808

DESCRIZIONE dell'invenzione industriale dal titolo:

"Procedimento per la preparazione di sali dell'acido clavulánico".

Inventori: Franz KRENMUELLER e Harald SUMMER

BIOCHEMIE Gesellschaft m.b.H., di nazionalità austriaca
con sede in A-6250 KUNDL (Austria)

Depositata il _____ al No. _____

La presente invenzione riguarda un nuovo procedimento per la preparazione di sali farmaceuticamente accettabili dell'acido clavulánico.

L'acido clavulánico è di speciale interesse come additivo a formulazioni di antibiotici del tipo β -lattame dovuto alla sua attività inibitrice sulle β -lattamasi. Le β -lattamasi sono degli enzimi che aprono il ciclo β -lattame delle penicilline e cefalosporine, dopodichè la loro efficacia antibatterica è perduta. Le β -lattamasi vengono formate da molti batteri e sono la causa della loro resistenza verso le penicilline e cefalosporine (formazione di resistenza). E' dunque vantaggioso impiegare antibiotici del tipo β -lattame in miscela con l'acido clavulánico o i suoi sali farmaceuticamente accettabili, l'efficacia del β -lattame essendo completamente mantenuta persino in presenza di batteri produttori β -lattamasi. Un esempio di questo è la combinazione disponibile sul mercato di

amoxicillina e il sale potassico dell'acido clavulanico, largamente impiegato per trattare le malattie infettive.

L'acido clavulanico è ottenuto per fermentazione di *Streptomyces clavuligerus* e viene isolato e purificato secondo procedimenti complicati, per esempio quelli descritti nella DOS 2 517 316. Dopo avere separato la massa cellulare, si acidifica il filtrato e si estrae l'acido clavulanico con un solvente organico, per esempio l'n-butanolo. Dopo nuova ri-estrazione in una soluzione acquosa, seguono procedimenti di purificazione tecnologicamente complicati ed economicamente costosi, come per esempio la cromatografia per mezzo di resine scambiatrici di ioni o cromatografia su gel. Il brevetto europeo B 00 26 044 descrive l'impiego del sale di terz.-butilamina dell'acido clavulanico come prodotto intermedio nell'isolamento di questo. Il sale viene cristallizzato da una miscela di solventi organici contenenti acetone sotto forma d'un solvato d'acetone. Quando il sale di terz.-butilamina dell'acido clavulanico viene trasformato in sali farmaceuticamente accettabili dell'acido clavulanico, l'acetone viene ripartito nella miscela di reazione, complicando così il procedimento di lavorazione e il riciclaggio dei solventi.

La domanda di brevetto europeo 0 387 178 descrive l'impiego di sali d'ammine organiche per l'isolamento dell'acido clavulanico. L'ammina può essere primaria, secondaria o terziaria e può essere sostituita con resti idrocarburici ali-

fatici aventi fino a 7 atomi di carbonio o con resti aromatici. Esempi di differenti sali d'ammine cristallini dell'acido clavulanico sono descritti. Tuttavia, i nostri tentativi di riprodurre questi sali d'ammine sotto forma cristallina sono falliti, eccetto per le basi sec.-butilammina e benzil-terz.-butilammina. Mentre la prima produce il sale d'ammina dell'acido clavulanico solo lentamente e con scarsa tendenza alla cristallizzazione, pregiudicando così la purezza del sale, la seconda ammina è poco comune e molto costosa.

Per l'applicazione farmaceutica del materia attiva, i sali d'ammine dell'acido clavulanico summenzionati vengono preferibilmente trasformati nei loro sali alcalini farmaceuticamente accettabili, specialmente il sale di potassio. Questo viene effettuato sciogliendo il sale d'ammina in un solvente, eventualmente con aggiunta di acqua, e aggiungendovi una soluzione d'un sale alcalino facilmente solubile, per esempio il 2-etilesanoato di sodio o di potassio, il sale alcalino dell'acido clavulanico scarsamente solubile cristallizzando e potendo venire isolato. Dovuto alla scarsa solubilità dei detti sali d'ammine in solventi organici appropriati, è necessario aggiungere acqua, dopodichè la solubilità è migliorata. Tuttavia, questa aggiunta necessaria aumenta ugualmente in modo indesiderato la solubilità del sale alcalino dell'acido clavulanico che viene fatto precipitare più tardi, causando così una perdita di resa.

Vi era sempre una grande domanda nella tecnica per un procedimento migliorato di preparare sali farmaceuticamente accettabili dell'acido clavulanico. E' stato trovato in modo sorprendente che si può raggiungere questo impiegando un sale d'ammina specifico dell'acido clavulanico.

La presente invenzione riguarda dunque un procedimento per la preparazione d'un sale farmaceuticamente accettabile dell'acido clavulanico che comprende la formazione del sale di 2-ammino-2,4,5-trimetilpentano dell'acido clavulanico e la trasformazione di questo sale in un sale farmaceuticamente accettabile dell'acido clavulanico.

L'acido clavulanico può venire isolato sotto forma del sale con il 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano vantaggiosamente con elevata resa e sotto forma altamente pura a partire da una soluzione organica di acido clavulanico impuro, ottenuta per esempio per estrazione con un solvente organico dal brodo di fermentazione o del suo filtrato. Il sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico è stato descritto nel brevetto statunitense 4 650 795, ma soltanto con riguardo al suo impiego nelle formulazioni farmaceutiche e non per l'isolamento e la purificazione dell'acido clavulanico.

La presente invenzione riguarda in particolare un procedimento per la preparazione di sali farmaceuticamente accettabili dell'acido clavulanico comprendente

- a) il trattamento d'una soluzione dell'acido clavulanico in un

solvente organico come viene eventualmente ottenuto per estrazione da un brodo di fermentazione o da un filtrato derivato da questo brodo, con il 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano,

- b) l'isolamento del sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico ed eventualmente ricristallizzazione del sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico e
- c) la trasformazione del sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico in un sale farmaceuticamente accettabile dell'acido clavulanico.

Secondo un altro aspetto, la presente invenzione riguarda l'impiego del sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico come prodotto intermedio nella preparazione di sali farmaceuticamente accettabili dell'acido clavulanico.

I sali farmaceuticamente accettabili particolarmente accettabili dell'acido clavulanico comprendono i sali di metalli alcalini e alcalino-terrosi, per esempio di sodio, potassio, calcio o magnesio. I sali di sodio e di potassio sono i più appropriati. Il sale di potassio è preferito.

Il procedimento secondo l'invenzione può venire effettuato per esempio come segue:

Una soluzione dell'acido clavulanico in un solvente organico, preferibilmente un chetone, un alcool o un estere

non miscibile o soltanto parzialmente miscibile con acqua, per esempio il dietilchetone, il metilisobutilchetone, il cicloesano, l'n-butanolo, il cicloesano, l'acetato d'etile, l'acetato di n-butile, preferibilmente il metilisobutilchetone o l'acetato d'etile, per esempio prodotta per estrazione dell'acido clavulanico dal brodo di fermentazione o dal suo filtrato, viene cautamente liberata dall'acqua residua, per esempio per essiccazione azeotropica sotto pressione ridotta o per aggiunta d'un agente disidratante come il solfato di magnesio. Si aggiunge in seguito il 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano sotto forma pura o sotto forma di soluzione, il sale d'ammina corrispondente dell'acido clavulanico separandosi sotto forma d'un solido cristallino. Il procedimento viene effettuato a qualsiasi temperatura non estrema; in generale temperature comprese tra 0° e 35°C sono appropriate, per esempio tra 0° e 25°C. Il sale che è precipitato viene isolato per filtrazione e lavato, lavorato ulteriormente dopo essiccazione o mentre è bagnato con solvente.

Se lo si desidera, il sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico può venire purificato per ricristallizzazione. La ricristallizzazione può venire effettuata per scioglimento del sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico in un solvente appropriato o una miscela appropriata di solventi, che può essere un alcool, come il metanolo, l'etanolo o l'isopropanolo, o acqua o una miscela

di acqua e d'un solvente organico miscibile con acqua come l'isopropanolo, il tetraidrofurano o l'acetone. La precipitazione viene effettuata per aggiunta d'un solvente in cui il sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico è soltanto scarsamente solubile, come per esempio il tetraidrofurano, l'acetone, il dietilchetone, il metiletilchetone, l'ossido di metile e di terz.-butile o l'acetato di n-butile.

Per la trasformazione del sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico in un sale farmaceuticamente accettabile dell'acido clavulanico, si scioglie il sale d'ammina isolato intermediatamente in un solvente organico, preferibilmente un alcool come l'etanolo, l'isopropanolo o il butanolo, l'aggiunta di acqua per migliorare la solubilità non essendo necessaria. Si aggiunge una soluzione del sale alcalino o alcalino-terroso desiderato come sale d'un acido carbossilico organico. Come esempi di sali di acidi carbossilici appropriati, si possono citare l'acetato, il propionato o il 2-etilesanoato. Si impiegano preferibilmente i sali dell'acido 2-etilesanoico. Questo acido forma vantaggiosamente nel solvente impiegato sali alcalini e il sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano facilmente solubili. Il sale desiderato farmaceuticamente accettabile dell'acido clavulanico, per esempio un sale alcalino o alcalino-terroso, per esempio il sale di potassio dell'acido clavulanico, precipita così con elevata resa e purezza e viene isolato per filtrazione, lavato ed

essiccato.

Il sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano impiegato presenta considerevoli vantaggi in confronto ai sali d'ammine dell'acido clavulánico impiegati per l'isolamento e la purificazione dell'acido clavulánico nel brevetto europeo 00 26 044 e nella domanda di brevetto europeo 0 387 178. Un vantaggio essenziale del sale d'ammina dell'acido clavulánico secondo l'invenzione è che può venire fatto precipitare sotto forma cristallina a partire dalla soluzione in un solvente appropriato per l'estrazione, senza aggiunta di acetone. Così il ricupero dei solventi impiegati, divenuto molto importante per motivi ecologici, viene semplificato considerevolmente. Quando si impiega un unico solvente per l'estrazione, il ricupero di questo solvente viene semplificato. Un altro vantaggio è la rapida cristallizzazione del sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulánico con elevata resa ed elevata purezza, nonché la facile disponibilità commerciale del 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano.

Un altro vantaggio di detto sale è la sua eccellente solubilità in solventi organici impiegati per la trasformazione in sali farmaceuticamente accettabili dell'acido clavulánico. L'aggiunta di acqua, necessaria quando si impiegano altri sali d'ammine dell'acido clavulánico, può venire evitata così.

Il procedimento presentemente rivendicato è appropriato su scala industriale.

Gli esempi che seguono illustrano la presente invenzione senza limitarne la portata in alcun modo. In questi esempi, tutte le temperature sono indicate in gradi Celsius.

Esempio 1

Si mescolano sotto agitazione 100 ml d'una soluzione essiccata di metilisobutilchetone contenente 30 g/l di acido clavulanico, con 2,5 ml di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano. Si agita la miscela per 30 minuti a temperatura ambiente, la si raffredda a 5° e la si agita per 2 ore a questa temperatura. Si separa per filtrazione il deposito che è precipitato, lo si lava con metilisobutilchetone e lo si essicca sotto pressione ridotta a 30°, ciò che dà 4,7 g (resa: 95%) del sale cristallino di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico.

Esempio 2

Si mescolano sotto agitazione 130 ml d'una soluzione essiccata di acetato d'etile contenente 26 g/l di acido clavulanico, con una soluzione di 3,0 ml di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano in 25 ml di acetato d'etile. Si agita la miscela per 30 minuti a temperatura ambiente, la si raffredda a 15° e la si agita per 3 ore a questa temperatura. Si separa per filtrazione il prodotto che è precipitato, lo si lava con acetato d'etile e lo si essicca sotto pressione ridotta a 30°, ciò che dà 5,2 g (resa: 93%) di sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico.

Esempio 3

A 4,0 l d'una soluzione essiccata di acido clavulánico in acetato d'etile ottenuta per estrazione d'un brodo di fermentazione con acetato d'etile e concentrazione delle fase organica per distillazione sotto pressione ridotta, si aggiungono 235 ml di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano. Si agita la miscela per 2 ore a temperatura ambiente, la si raffredda a 5° e la si agita durante la notte a 5°. Si separa per filtrazione il precipitato formatosi, lo si lava con acetato d'etile e lo si essicca sotto pressione ridotta a 30°, ciò che dà 232 g del sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulánico.

Esempio 4

Si sciolgono in 150 ml di isopropanolo a 20°, 4,0 g di sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulánico dell'esempio 1 o 2 e si aggiungono 6,7 ml d'una soluzione 2M di 2-etilesanoato di potassio in isopropanolo. Si agita la miscela per 30 minuti a 20° e poi la si raffredda per 2 ore a 0-5°. Se separa per filtrazione il deposito, lo si lava con isopropanolo e lo si essicca sotto pressione ridotta a 30°, ciò che dà 2,7 g (resa: 95%) di clavulanato di potassio cristallino.

R i v e n d i c a z i o n i

1) Un procedimento per la preparazione d'un sale farmaceuticamente accettabile dell'acido clavulanico, caratterizzato dal fatto che si forma il sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico e si trasforma questo sale in un sale dell'acido clavulanico farmaceuticamente accettabile.

2) Un procedimento per la preparazione d'un sale farmaceuticamente accettabile dell'acido clavulanico, caratterizzato dal fatto che comprende

- a) il trattamento d'una soluzione dell'acido clavulanico in un solvente organico, come viene eventualmente ottenuto per estrazione da un brodo di fermentazione o da un filtrato derivato da questo brodo, con il 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano,
- b) l'isolamento del sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico e
- c) la trasformazione del sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico in un sale farmaceuticamente accettabile dell'acido clavulanico.

3) Un procedimento per la preparazione d'un sale farmaceuticamente accettabile dell'acido clavulanico, caratterizzato dal fatto che si trasforma il sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico in un sale farmaceuticamente accettabile dell'acido clavulanico.

4) Un procedimento secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 3, caratterizzato dal fatto che il sale farmaceuticamente accettabile è il sale di potassio dell'acido clavulanico.

5) Un procedimento secondo la rivendicazione 2, caratterizzato dal fatto che il solvente organico è scelto tra il dietilchetone, il cicloesanone, il metilisobutilchetone, il cicloesano, l'n-butanolo, l'acetato d'etile e l'acetato di n-butile.

6) L'impiego del sale di 2-ammino-2,4,4-trimetilpentano dell'acido clavulanico come prodotto intermedio nella preparazione di sali farmaceuticamente accettabili dell'acido clavulanico.

BIOCHEMIE Gesellschaft m. b. H.

Elling

Kans

