
Octrooiraad



⑩ A **Terinzagelegging** ⑪ **8005293**

Nederland

⑲ **NL**

- ⑤4 **Werkwijze voor de bereiding van
6-D-alfa-amino-p-hydroxyfenylaceetamido penicillaanzuur.**
- ⑤1 Int.Cl³: C07D499/68, C07D499/08, A61K31/43.
- ⑦1 Aanvrager: Dobfar S.p.A. te Milaan, Italië.
- ⑦4 Gem.: Ir. H. Mathol c.s.
Octrooi- en Merkenbureau van Exter
Willem Witsenplein 3 & 4
2596 BK 's-Gravenhage.

-
- ②1 Aanvraag Nr. 8005293.
- ②2 Ingediend 23 september 1980.
- ③2 Voorrang vanaf 2 november 1979.
- ③3 Land van voorrang: Italië (IT).
- ③1 Nummer van de voorrangsaanvraag: 2701379 .
- ②3 - -
- ⑥1 - -
- ⑥2 - -

-
- ④3 Ter inzage gelegd 1 juni 1981.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

Korte aanduiding: Werkwijze voor de bereiding van 6-D- α -amino-p-hydroxyfenylaceetamido penicillaanzuur.

De uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor de bereiding van 6-D- α -amino-p-hydroxyfenylaceetamido penicillaanzuur, een antibioticum dat algemeen bekend staat onder de naam amoxicilline.

Amoxicilline is een algemeen bekend produkt en beschreven in
5 Brits octrooischrift 978.178. Volgens dit octrooischrift wordt amoxicilline bereid door synthese van 6-aminopenicillaanzuur (algemeen bekend als 6-APA) met het gemengde anhydride gevormd door de reactie van ethylchloorformiaat met O,N-dibenzylloxycarbonyl-p-hydroxyfenylglycine en daarop volgend de verwijdering van de beschermende
10 groepen door katalytische hydrogenering.

Er zijn reeds talrijke andere werkwijzen bekend, die echter vanuit economisch oogpunt gezien van weinig belang zijn met betrekking tot de bereiding van amoxicilline.

Zo is in Belgisch octrooischrift 737.848 de synthese be-
15 schreven van amoxicilline uit 6-APA en het gemengde anhydride verkregen door een Dane zout van het p-hydroxyfenylglycine en ethylchloorformiaat. De tijdens deze reactie gevormde tussenprodukten worden geïsoleerd; het is niet mogelijk om de totale opbrengsten aan amoxicilline te berekenen. Een analoge werkwijze is beschreven in
20 Duits Offenlegungsschrift 2.520.647 waar, dankzij het gebruik van een katalysator, zoals dimethylaceetamide hydrochloride, opbrengsten verkregen worden tot 78%. Er is echter niets beschreven met betrekking tot de zuiverheid van het eindprodukt.

Brits octrooischrift 1.241.844 beschrijft een werkwijze
25 waarbij de aminogroep van het p-hydroxyfenylglycine beschermd wordt door een carbobenzyloxygroep en het gebruik van p-hydroxyfenylglycinechloride hydrochloride door reactie met 6-APA in een waterige fase, waarbij de opbrengsten echter niet vermeld zijn.

Volgens Amerikaans octrooischrift 3.980.637 laat men p-
30 hydroxyfenylglycinechloride hydrochloride in een organisch oplosmiddel reageren met de mono- en disilylverbinding van 6-APA. De opbrengsten zijn hoog doch het aldus verkregen amoxicilline moet gezuiverd worden met harsen vanwege het gebruik van dimethylaniline.

De werkwijze beschreven in Amerikaans octrooischrift
35 4.127.571 berust ook op het gebruik van p-hydroxyfenylglycine-

chloridehydrochloride dat men laat reageren met het O,N-digesubstitueerd 6-APA met cyclische boriumverbindingen.

Europees octrooischrift 1.133 beschrijft een werkwijze waarbij men een silylderivaat van 6-APA laat reageren met een gemengd anhydride van een Dane zout van p-hydroxyfenylglycine onder toepassing van een mengsel van oplosmiddelen en co-oplosmiddelen. Als co-oplosmiddelen worden genoemd dimethylformamide, sulfolaan, tetrahydrofuran, N-methylpyrrolidon, 1,4-dioxan, acetonitril, dimethylaceetamide en tetramethylureum. Het volgens de werkwijze van Europees octrooischrift 1.133 verkregen eindprodukt (amoxicilline) bevat onzuiverheden die voortkomen uit het gebruik van een silylverbinding van 6-APA (zoals hexamethyldisiloxan) welke moeilijk te verwijderen zijn tengevolge van hun onoplosbaarheid in water.

Om de bovengenoemde nadelen te ondervangen heeft aanvraagster getracht het silylderivaat van 6-APA te vervangen door andere 6-APA derivaten doch zonder merkbare resultaten. Van deze 6-APA derivaten werden door aanvraagster gebruikt de boriumderivaten van 6-APA (beschreven in het Amerikaans octrooischrift 4.127.571 en Italiaanse octrooiaanvraag 26.865 A/79) doch de verkregen opbrengsten bleken niet van industrieel belang te zijn.

Verrassenderwijze is nu gevonden dat wanneer men, in plaats van een mengsel te gebruiken van oplosmiddelen en co-oplosmiddelen zoals beschreven in het Europese octrooischrift, boriumderivaten van 6-APA laat reageren met een gemengd anhydride van een Dane zout van p-hydroxyfenylglycine bereid in een oplosmiddel gekozen uit alleen dimethylformamide of dimethylsulfoxyde tezamen met methyleenchloride of chloroform, hoge opbrengsten aan eindprodukt verkregen kunnen worden, welke eindprodukten in zeer zuivere toestand geïsoleerd kunnen worden.

De uitvinding heeft derhalve betrekking op een werkwijze voor de bereiding van 6-D- α -amino-p-hydroxyfenyl-aceetamidopenicillaanzuur die gekenmerkt is doordat men een boriumderivaat van 6-APA met de algemene formule 1 van het formuleblad waarin R een waterstofatoom of een groep met formule 3 voorstelt waarin n 2 of 3 is, met een tenminste equimolaire hoeveelheid van een acyleringsmiddel afkomstig van D(-)-p-hydroxyfenylglycine met formule 2, waarin R₁ een alkylgroep is zoals methyl, ethyl en isobutyl en R₂ een

8005293

alkylogroep zoals methoxy of ethoxy, in een oplosmiddel bestaande uit alleen dimethylformamide of dimethylsulfoxyde gemengd met methyleenchloride of chloroform, het reaktiemengsel gehydrolyseerd wordt met water waarbij men twee fasen verkrijgt, de enaminegroep
5 verwijderd wordt door verlaging van de pH van het reaktiemengsel tot 0,8-1,8 door toevoegen van een waterige oplossing van een zuur, uit de amoxi~~cilline~~hydrochloride bevattende waterige oplossing het amoxi~~cilline~~trihydraat volgens op zichzelf bekende wijze geïsoleerd kan worden. De verbindingen met formule 1 worden bereid volgens de
10 werkwijzen als beschreven in het Amerikaanse octrooischrift 4.127.571 en Italiaanse octrooischrift 26.865 A/79.

De p-hydroxyfenylglycinederivaten met formule 2 zijn algemeen bekend en beschreven in Belgisch octrooischrift 737.848.

Bij voorkeur worden zij bereid volgens de werkwijze als beschreven in Europees octrooischrift 1.133 waarbij men het overeenkomstige Dane zout van het D(-)-p-hydroxyfenylglycine (gevormd door condensatie van p-hydroxyfenylglycine met methylacetoacetaat of met ethylacetoacetaat) met een chloorformiaat bestaande uit ethylchloorformiaat, methylchloorformiaat of isobutylchloorformiaat in
20 tegenwoordigheid van N-methylmorpholine of N,N-dimethylbenzylamine als katalysatoren.

De verwijdering van de beschermende enaminegroepen aan het einde van de reactie wordt uitgevoerd met behulp van zoutzuur met een concentratie van ongeveer 37%.

25 De fasen worden gescheiden en de waterige fase die het opgeloste amoxi~~cilline~~chloorhydraat bevat wordt gezuiverd. Uit de gezuiverde waterige fase isoleert men amoxi~~cilline~~trihydraat door neerslaan met behulp van een anorganische base zoals verdund ammoniak, verdunde natriumhydroxyde of verdunde kaliumhydroxyde tot de pH van
30 het mengsel een waarde bereikt van 4,7 tot 5,2. Het verkregen produkt wordt vervolgens gefiltreerd, gewassen en aan de lucht gedroogd.

Een van de voordelen verkregen volgens de werkwijze der uitvinding bestaat uit de zeer grote zuiverheid van het verkregen produkt; de produkten afkomstig van de hydrolyse van de boriumesters
35 zijn namelijk buitengewoon oplosbaar in water.

Een ander voordeel ligt in de uitstekende opbrengsten die

verkregen worden bij de werkwijze der uitvinding daar men een omzetting tot in oplossing aanwezig amoxicilline verkrijgt van 97% en na isolatie nog een opbrengst aan amoxicilline van ongeveer 84%, welke opbrengsten hoger zijn dan de opbrengsten verkregen volgens de bekende werkwijzen.

Bovendien bezit de werkwijze volgens de uitvinding het voordeel dat men gebruik maakt van de Dane zouten van p-hydroxyfenylglycine die zeer stabiel zijn en gedurende langere perioden bewaard kunnen worden in tegenstelling tot het gebruik van p-hydroxyfenylglycinechloridehydrochloride volgens andere octrooischriften, welke verbinding zeer duur en instabiel is zodat deze verbinding niet lang bewaard kan worden.

De uitvinding zal nu worden toegelicht aan de hand van een aantal uitvoeringsvoorbeelden.

15 Voorbeeld I.

a) Bereiding van een ethoxycarbonyl D- α -(1-carbomethoxypropenyl)-amino-p-hydroxyfenylacetaat (met formule 2).

In een 2 liter rondbodemkolf brengt men 37,4 g (0,123 mol) methylkalium Dane zout van p-hydroxyfenylglycineⁱⁿ 220 ml CH_2Cl_2 (K.F. 0,0015%), voegt vervolgens 26 ml dimethylsulfoxyde (DMSO) toe en koelt het mengsel onder roeren tot -40°C . Men voegt dan 13,9 g ethylchloroformiaat en 0,35 ml N-methylmorpholine toe.

Tijdens de reactie laat men de temperatuur ten hoogste stijgen tot -35°C waarna men nog 2 uren bij -35°C laat reageren.
25 Het reaktiemengsel koelt men af tot -50°C .

b) Bereiding van een suspensie van 6-APA boriumester in een oplosmiddel.

In een rondbodemkolf brengt men 266 ml watervrij CH_2Cl_2 (K.F. 0,0015%). Het oplosmiddel wordt afgekoeld tot -50°C en bij
30 deze temperatuur voegt men 80 g toe van een produkt verkregen volgens de werkwijze beschreven in de Italiaanse octrooiaanvraag 26.865 A/79, dat een 6-APA tussenprodukt bevat overeenkomende met 26,6 g 6-APA ^{bepaald} base/ door middel van hogedruk vloeistof chromatografie; bij I.R. analyse valt de verdwijning van de carboxylband bij
35 1600 nm op.

c) Bereiding van amoxicilline.

Het tot -50°C gekoelde mengsel als verkregen onder trap (b)

8005293

wordt zo snel als mogelijk toegevoegd aan een suspensie van het in trap (a) verkregen gemengde anhydride; de reaktietemperatuur wordt binnen een grens van -35°C gehouden en het mengsel nog 1 uur op deze temperatuur gehouden. 1 ml van het reaktiemengsel wordt ont-
5 trokken en gehydrolyseerd met een oplossing van 4 ml water en 1 ml aceton; 30-50-10 μl van de oplossing worden op silicagel plaat GF 254 aangebracht en vergeleken met amoxiline en 6-APA.

Elutie wordt uitgevoerd in mengsel van 20 ml $\text{CH}_3\text{-CN}$:
3,5 ml water: 2 ml HCOOH .

10 De plaat wordt ontwikkeld met ninhydrine en de aanwezigheid van een amoxicilline vlek en de afwezigheid van niet omgezet 6-APA beoordeeld. Aan het einde van de condensatie voegt men een mengsel toe van 133 ml water en 40 ml aceton; vervolgens voegt men druppelsgewijs bij 0°C een 37%'s zoutzuuroplossing toe
15 om het enamine te hydrolyseren tot een konstante pH in het gebied van 1-1,3; na 1 uur bij konstante pH scheiden zich twee fasen af. De organische fase wordt opnieuw geëxtraheerd bij een pH van 1-1,3 met een mengsel van 133 ml water en 40 ml aceton.

De bij elkaar gevoegde amoxicilline-bevattende waterige fasen
20 worden gefiltreerd en de hoeveelheid amoxicilline wordt bepaald door middel van hogedruk vloeistof chromatografie en microbiologisch. Men verkrijgt 95% van de theoretische opbrengst. Bij kristalliseren volgens op zichzelf bekende wijze verkrijgt men 42,3 g amoxicilline trihydraat met een microbiologische zuiverheid van 847 mcg/mg met
25 een opbrengst van 82%.

Voorbeeld II.

a) Bereiding van ethoxycarbonyl D- α -(1-carbomethoxypropenyl)-amino-p-hydroxyfenylacetaat (formule 2).

In een 2 l rondbodemkolf brengt men 42,2 g (0,1388 mol)
30 methylkalium Dana zout van p-hydroxyfenylglycine in 250 ml water-vrij CH_2Cl_2 (K.F. 0,0015%); men voegt vervolgens 30 ml dimethylsulfoxyde toe en onder roeren koelt men het mengsel tot -40°C . Men voegt dan 15,7 g (0,144 mol) ethylchloroformiaat en 0,4 ml N-methylmorpholine toe.

35 Tijdens de exotherme reactie houdt men de temperatuur op ten hoogste -35°C waarna men het reaktiemengsel nog 2 uren bij -35°C laat reageren. Het reaktiemengsel wordt vervolgens afgekoeld tot -50°C .

8005293

b) Bereiding van de boriumester van 6-APA (formule 1).

De rondbodenkolf brengt men 300 ml watervrij CH_2Cl_2 (K.F. 0,0015%), voegt vervolgens 30 g (0,1388 mol) 6-APA bij kamertemperatuur toe en daarna 28,05 g (0,277 mol) TEA waarna men het mengsel 1 uur bij kamertemperatuur roert. Men koelt het mengsel af tot -50°C en voegt druppelsgewijs in 30 min. een oplossing toe van methyleenchloride die 29,49 g ethylchloorboronaat bevat (256 ml van een oplossing die 11,52 g ethylchloorboronaat per 100 ml bevat). Aan het einde van de toevoeging laat men het reaktiemengsel 2 uren op -50°C staan. Bij onderzoek van een klein monster met behulp van infrarood spectrografie blijkt de verdwijning van de carboxylband bij 1600 nm.

c) Bereiding van amoxicilline

Het onder trap (b) verkregen reaktiemengsel, afgekoeld tot -50°C, wordt zo snel als mogelijk toegevoegd aan een suspensie van het volgens trap (a) bereide gemengde anhydride. Men houdt de temperatuur tijdens de exotherme reactie op ten hoogste -35°C en laat vervolgens het reaktiemengsel nog 1 uur bij deze temperatuur. Vervolgens onderwerpt men het mengsel aan een dunnelaagchromatografie volgens voorbeeld I (c) waarbij men de aanwezigheid van amoxicilline en afwezigheid van niet omgezet 6-APA kan beoordelen. Aan het einde van de condensatie voegt men een tot 0°C voorgekoeld mengsel van 150 ml water en 45 ml aceton toe en hydrolyseert het enamine bij 0°C door toevoeging van 37%'s zoutzuuroplossing tot een konstante pH van 1-1,3. Het mengsel roert men 1 uur bij een konstante pH.

De fasen worden gescheiden en de organische fase opnieuw geëxtraheerd bij pH 1-1,3 met een mengsel van 150 ml water en 45 ml aceton. De waterfasen worden bij elkaar gevoegd en gefiltreerd. Het juiste volume wordt gemeten en een klein monster daarvan onderworpen aan een hogedruk vloeistof chromatografie bepaling. In de oplossing blijkt 56,7 g amoxicilline aanwezig te zijn overeenkomende met een theoretische opbrengst van 97,5% welke waarde ook microbiologisch bevestigd werd. Aan de tot 0°C gekoelde waterfasen voegt men een oplossing toe van 10% natriumhydroxyde om de pH op 5-5,2 te brengen. Men leidt de kristallisatie in door toevoegen van entkristallen en na beëindiging van de kristallisatie laat men het mengsel nog 5 uur staan onder roeren. Men filtreert het neerslag

8005293

af, wast met 100 ml water:aceton (1:1) en vervolgens met aceton. Na drogen in vacuum verkrijgt men 48,3 g ver**binding** overeenkomende met 83% van de theoretische opbrengst, met een microbiologische zuiverheid van 845 mcg/mg.

5 $[\alpha]_D^{20} = +303^{\circ}$ op droge basis.

Wanneer men het gemengde anhydride van het Dane zout (formule 2) beschreven onder trap (a) bereidt onder toepassing van alleen CH_2Cl_2 verkrijgt men geen gemengd anhydride.

Het is onmogelijk om deze reactie alleen in dimethylsulfoxyde
10 uit te voeren daar dit, bij een temperatuur van ongeveer 18°C , vast wordt en het derhalve onmogelijk is om de voor de synthese noodzakelijke lage temperaturen te bereiken. Voor de synthese is het noodzakelijk om de temperatuur toe te passen van -50°C , en om dit te bereiken is het derhalve noodzakelijk om het dimethylsulfoxyde te
15 mengen met een oplosmiddel dat vast worden van de dimethylsulfoxyde voorkomt.

Voor dit doel geschikte verbindingen zijn methyleenchloride en chloroform.

Voorbeeld III.

20 Dezelfde werkwijze als beschreven in voorbeeld II wordt herhaald, doch in trap (a) gebruikt men 20 ml dimethylsulfoxyde in plaats van 30 ml. Het eindproduct wordt gekristalliseerd uit de uiteindelijke waterige oplossing door afkoelen tot 0°C en brengen op een pH van 5-5,2 met een 10% 's kaliumhydroxydeoplossing. Kristallisatie wordt ingeleid door enten met 0,1 g produkt waarna men
25 de oplossing 5 uren bij 0°C laat kristalliseren. De verkregen vaste stof wordt afgefiltreerd, gewassen met 100 ml water:aceton (1:1) en vervolgens met 50 ml aceton. Vervolgens wordt het residu bij -40°C gedroogd in een luchtoven waarbij men 48,8 g amoxicilline verkrijgt
30 overeenkomende met 84% van de theoretische opbrengst, het amoxicilline bezit een zuiverheid van 98,8% volgens mercuriometrische bepaling, $[\alpha]_D^{20} = +302^{\circ}$ op droge basis, K.F. 13,8%.

Voorbeeld IV.

Men gebruikt dezelfde werkwijze als beschreven in voorbeeld
35 II behoudens dat men in trap (a) 36 ml dimethylsulfoxyde gebruikt in plaats van 30 ml. Het produkt wordt geïsoleerd door kristalliseren waarbij men 46,2 g amoxicilline verkrijgt overeenkomende met een

opbrengst berekend op de theoretische opbrengst van 79,5% met een microbiologisch bepaalde zuiverheid van 846 mcg/mg, K.F. 14,1%.

$[\alpha]_D = +300^\circ$ op droge basis.

Voorbeeld V.

- 5 a) Bereiding van 2-ethoxycarbonyl- α -(1-carbomethoxypropenyl)-amino-p-hydroxyfenylacetaat (formule 2).

In een 2 l rondbodemkolf brengt men 44,31 g (0,145 mol) methylkalium Dane zout van p-hydroxyfenylglycine in 250 ml water-vrij methyleenchloride (K.F. 0,0015%), waarna men 30 ml dimethyl-
10 sulfoxyde toevoegt en onder roeren bij -25°C nog 16,5 g (0,152 mol) ethylchlorformiaat en 0,4 ml N-methylmorpholine. Tijdens de exothermo reactie houdt men de temperatuur op ten hoogste -20°C . Het reaktiemengsel wordt nog 1 uur op -20°C gehouden en vervolgens afgekoeld tot -50°C .

- 15 b) Bereiding van de 6-APA boriumester (formule 1).

Men gebruikt dezelfde werkwijze en dezelfde stoechiometrische hoeveelheden als in voorbeeld II, trap (b).

- c) Bereiding van amoxicillinetrihydraat.

Men gebruikt dezelfde werkwijze als beschreven in voorbeeld
20 II, trap (c).

In de amoxicilline-rijke vloeistoffen wordt het gehalte aan amoxicilline bepaald door middel van hogedruk vloeistof chromatografie en op microbiologische wijze waarbij de oplossing 56,1 g amoxicilline blijkt te bevatten overeenkomende met 96,5% van de theoretische op-
25 brengst. Na kristalliseren verkrijgt men 47,7 g amoxicilline overeenkomende met 82% van de theoretische hoeveelheid met een zuiverheid van 98,8% bepaald met behulp van hogedruk vloeistof chromatografie en op microbiologische wijze 851 mcg/mg, K.F. 13,8%, $[\alpha]_D = +302^\circ$ op droge basis.

30 Voorbeeld VI.

- a) Bereiding van ethoxycarbonyl D- α -(1-carbomethoxypropenyl)-amino-p-hydroxyfenylacetaat (formule 2).

In een rondbodemkolf van 2 l brengt men 46,4 g (0,152 mol) methylkalium Dane zout van p-hydroxyfenylglycine in 250 ml watervrij
35 methyleenchloride (K.F. 0,0015%) voegt vervolgens 30 ml dimethylsulfoxyde toe en koelt het mengsel onder roeren tot -30°C . Vervolgens voegt men 17,26 g (0,159 mol) ethylchlorformiaat en 0,4 ml

8005293

N-methylmorpholine toe. Het mengsel wordt tijdens de reactie op een temperatuur gehouden van ten hoogste -25°C en vervolgens wordt het reaktiemengsel nog 1 uur op -25°C gehouden. Daarna koelt men het reaktiemengsel tot -50°C .

- 5 b) Bereiding van de 6-APA boriumester (formule 1).

Men past dezelfde werkwijze toe als beschreven in voorbeeld II, trap (b).

- c) Bereiding van amoxicillinetrihydraat.

Men gebruikt dezelfde werkwijze als beschreven in voorbeeld
10 II, trap (c).

In de vloeistoffen wordt met behulp van hogedruk vloeistof chromatografie het gehalte aan amoxiciline bepaald wat overeenkomt met 56,4 g of wel 97% van de theoretische opbrengst. Men isoleert 47,2 g amoxilinetrihydraat wat overeenkomt met 81,5% van het theoretische opbrengst met een zuiverheid van 98,7%.

Voorbeeld VII.

- a) Bereiding van ethoxycarbonyl D- α -(1-carbomethoxypropenyl)-amino-p-hydroxyfenylacetaat (formule 2).

In een rondbodemkolf brengt men 42,2 g (0,1388 mol) van het
20 methylkalium Dane zout van p-hydroxyfenylglycine in 90 ml watervrij dimethylformamide (DMF). Men koelt het mengsel tot -40°C en voegt 15,7 g ethylchlorformiaat en 0,4 ml N-methylmorpholine toe. Men houdt de temperatuur tijdens de exotherme reactie op ten hoogste -35°C en laat vervolgens het mengsel nog 2 uren bij -35°C reageren.
25 Het reaktiemengsel wordt tenslotte afgekoeld tot -50°C .

- b) Bereiding van de 6-APA boriumester (formule 1).

Voor de bereiding van de 6-APA boriumester gebruikt men dezelfde werkwijze en hoeveelheden als beschreven in voorbeeld II, trap (b).

- 30 c) Bereiding van amoxicillinetrihydraat.

Aan de tot -50°C afgekoelde, in trap (a) bereide, suspensie voegt men zo snel mogelijk het reaktiemengsel toe als verkregen in trap (b). Tijdens de reactie houdt men de temperatuur op ten hoogste -25°C waarna men het mengsel nog 1 uur op -25°C houdt. Vervolgens
35 hydrolyseert men 1 ml van de suspensie met 5 ml van een mengsel van water:aceton (4:1). Men voert een dunnelaag chromatografie analyse uit volgens de techniek als beschreven in voorbeeld I. Met

ninhydrine wordt de aanwezigheid van amoxicilline aangetoond en de afwezigheid van niet omgezet 6-APA. Het reaktiemengsel wordt behandeld onder toepassing van dezelfde werkwijze en hoeveelheden als beschreven in voorbeeld II, trap (c). De hoeveelheid amoxicilline in de vloeistof wordt bepaald door middel van hogedruk vloeistof chromatografie waarbij men 56,4 g amoxicilline bepaalt wat overeenkomt met 97% van de theoretische opbrengst.

Uit de vloeistof verkrijgt men door kristalliseren 48,8 g amoxicilline wat overeenkomt met 83,8% van de theoretische opbrengst, waarbij het amoxicilline de volgende analytische eigenschappen bezit:
K.F. = 13,8%

$[\alpha]_D = +302^\circ$ op droge basis.

Spectrofotometrische titer = 98,8% op droge basis.

Microbiologische titer = 851 mcg/mg.

15 Voorbeeld VIII.

Men gebruikt dezelfde werkwijze als beschreven in voorbeeld II doch in trap (a) gebruikt men 220 ml chloroform in plaats van 250 ml CH_2Cl_2 .

De amoxicilline-rijke vloeistoffen koelt men af tot 0°C waarbij men door kristallisatie 46,8 g amoxicillinetrihydraat verkrijgt overeenkomende met een opbrengst van 80,5% van de theoretische opbrengst.

Voorbeeld IX.

a) Bereiding van ethoxycarbonyl D- α -(1-carbomethoxypropenyl)amino p-hydroxyfenylacetaat (formule 2).

In een 2 l rondbodemkolf brengt men 250 ml watervrij CH_2Cl_2 (K.F. 0,0015%) en 44,3 g (0,145 mol) van het methylkalium Dane zout van p-hydroxyfenylglycine. Onder roeren voegt men 30 ml dimethylsulfoxyde toe en koelt het mengsel tot -40°C . Men voegt dan 16,5 g (0,151 mol) ethylchloroformiaat en 0,4 ml N-methylmorpholine toe. Tijdens de exotherme reactie houdt men de temperatuur op ten hoogste -35°C waarna men het mengsel 2 uren bij -35°C laat reageren. Het reaktiemengsel wordt vervolgens gekoeld tot -50°C .

b) Bereiding van 6-APA boriumester (formule 1).

In een rondbodemkolf brengt men 300 ml watervrij CH_2Cl_2 (K.F. 0,0015%) waarna men 30 g (0,1388 mol) 6-APA en 25,15 g (0,249 mol) TEA toevoegt bij kamertemperatuur. Men laat het mengsel

8005293

1 uur bij kamertemperatuur staan. Men koelt dan af tot -45°C en voegt in 30 min. druppelsgewijs een oplossing toe van 26,5 g (0,249 mol) ethyleenchloorboronaat in methyleenchloride (230 ml oplossing die 11,52 g boronaat per 100 ml bevat).

- 5 Na de toevoeging laat men het mengsel 2 uren bij -45°C . Bij infrarood controle van een monster blijkt de verdwijning van de carboxylband bij 1600 nm.

c) Bereiding van amoxicillinetrihydraat.

- Men past dezelfde werkwijze toe en dezelfde hoeveelheden als
10 beschreven in voorbeeld II, trap (c). In de oplossing bepaalt men door middel van hogedruk vloeistof chromatografie de hoeveelheid amoxicillinetrihydraat welke 55,3 g blijkt te zijn wat overeenkomt met 95% van de theoretische hoeveelheid. Bij kristalliseren verkrijgt men 47,3 g, 81,3% van de theoretische hoeveelheid, van het
15 amoxicilline met een spectrofotometrische zuiverheid van 99,2%, K.F. 14,2%.

Voorbeeld X.

a) Bereiding van ethoxycarbonyl D- α -(1-carbomethoxypropenyl)-amino p-hydroxyfenylacetaat (formule 2).

- 20 Men past dezelfde werkwijze en hoeveelheden toe als beschreven in voorbeeld IX, trap (a).

b) Bereiding van de 6-APA boriumester (formule 1).

- In een rondbodemkolf brengt men 300 ml watervrij CH_2Cl_2 (K.F. 0,0015%) en voegt 30 g (0,1388 mol) 6-APA en 21 g (0,207 mol) TEA
25 toe bij kamertemperatuur. Men houdt het mengsel 1 uur op kamertemperatuur. Men koelt dan tot -50°C en voegt in 30 min. druppelsgewijs een oplossing toe van 22,12 g (0,208 mol) ethyleenchloorboronaat in methyleenchloride toe (192 ml oplossing welke 11,52 g boronaat per 100 ml bevat).

- 30 Na de toevoeging laat men het mengsel 2 uren op -50°C . Bij infrarood controle blijkt de verdwijning van de carboxylband bij 1600 nm.

c) Bereiding van amoxicillinetrihydraat.

- Tewerk gaande op dezelfde wijze en onder toepassing van
35 dezelfde hoeveelheden als beschreven in voorbeeld II, trap (c), kristalliseert men amoxicillinetrihydraat uit in een hoeveelheid van 44,2 g wat overeenkomt met 76% van de theoretische opbrengst, met

een microbiologische zuiverheid van 851 mcg/mg en een K.F. van 13,8%.

Voorbeeld XI.

- a) Bereiding van ethoxycarbonyl D- α -(1-carbomethoxypropenyl) amino-p-hydroxyfenylacetaat (formule 2).

De bereiding wordt uitgevoerd onder toepassing van dezelfde werkwijze en hoeveelheden als beschreven in voorbeeld IX, trap (a).

- b) Bereiding van de 6-APA boriumester (formule 1).

Onder toepassing van dezelfde werkwijze als beschreven in voorbeeld II (b) verkrijgt men de 6-APA boriumester onder toepassing van 30 g, (0,1388 mol) 6-APA, 30,84 g (0,304 mol) TEA en 32,45 g ethyleenchloorboronaat in methyleenchloride (281 ml van een oplossing die 11,52 g boronaat per 100 ml bevat).

- c) Bereiding van amoxicilline trihydraat.

Tewerk gaande op dezelfde wijze en met dezelfde hoeveelheden als beschreven in voorbeeld II (c) verkrijgt men 46,5 g amoxicilline trihydraat met een opbrengst van 80% van de theoretische opbrengst en een microbiologisch bepaalde zuiverheid van 852 mcg/mg, K.F. 13,3% $[\alpha]_D^{+300}$ op droge basis.

Voorbeeld XII.

- a) Bereiding van ethoxycarbonyl D- α -(1-carbomethoxypropenyl)-amino p-hydroxyfenylacetaat (formule 2).

Men bereidt deze verbinding onder toepassing van dezelfde werkwijze en dezelfde hoeveelheden als beschreven in voorbeeld IX, trap (a).

- b) Bereiding van de 6-APA boriumester (formule 1).

Op dezelfde wijze als beschreven in voorbeeld II, trap (b) verkrijgt men de 6-APA boriumester onder toepassing van 30 g (0,1388 mol) 6-APA, 26,6 g (0,263 mol) TEA en 26,5 g (0,249 mol) ethyleenchloorboronaat in methyleenchloride (230 ml van een oplossing die 11,52 g boronaat per 100 ml bevat).

- c) Bereiding van amoxicilline trihydraat.

Onder toepassing van dezelfde werkwijze en dezelfde hoeveelheden als beschreven in voorbeeld II, trap (c) verkrijgt men 46,8 g amoxicilline trihydraat overeenkomende met 80,4% van de theoretische opbrengst, met een spectrofotometrisch bepaalde zuiverheid van 98,7% en een K.F. van 14%.

8005293

- Bij herhaling van dezelfde werkwijze als hierboven beschreven, doch onder toepassing van de bereiding van de verbindingen met formule 2 als beschreven in trap (a) van oplosmiddelen in de vorm van mengsels van oplosmiddelen en co-oplosmiddelen zoals beschreven
- 5 in Europees octrooischrift 1.133 in plaats van $\text{DMSO} + \text{CH}_2\text{Cl}_2$, verkrijgt men veel lagere opbrengsten van ongeveer 40% met de enige uitzondering van het mengsel dimethylformamide en methyleenchloride; in dit geval bevordert het dimethylformamide de reactie (zie voorbeeld VII) daar het methyleenchloride een inert oplosmiddel is.
- 10 Volgens de voorgaande voorbeelden verkrijgt men een amoxicilli
netrihydraat met de volgende analytische eigenschappen.
Uiterlijk: kristallijn wit poeder.
Infrarood: positieve identificatie tegen een standaard.
Vochtigheid (K.F.): 13,3%.
- 15 pH (100 mg/ml): 4,9.
Hogedruk vloeistof chromatografie bepaling: 99,5 gew.% (op droge basis).
- Aminobepaling: 99 gew.%
Jodometrische bepaling: 98,8 gew.%.
- 20 Zuurbepaling: 101%.
Spectrofotometrische bepaling: 99,1 gew.%.
Specifieke rotatie $[\alpha]_D^{20}$: +303°.
Doorlaatbaarheid (1% HCl 1N 400 mμ): 85%.
Oplosmiddelen bepaald met behulp van gasvloeistofchromatografie:
- 25 Dimethylaniline (niet aantoonbaar).
Methyleenchloride (0,08%).
Aceton (0,1%).
Triethylamine (0,03%).
Microbiologische titer: 855 mcg/mg.
- 30 Stabiliteit 65° x 7 dagen: 845 mcg/mg.
Giftigheid: niet giftig.

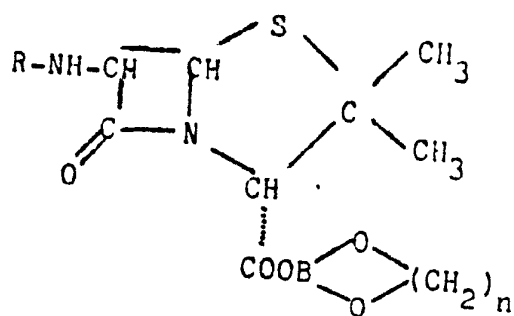


80 05 29 3

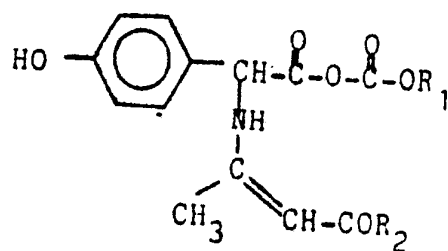
C O N C L U S I E S

1. Werkwijze voor de bereiding van 6-D- α -amino-p-hydroxyfenyl-
aceetamido penicillaanzuur, m e t h e t k e n m e r k, dat men
onder watervrije omstandigheden en bij een temperatuur tussen -20°C
en -60°C een verbinding met formule 1 waarin R een waterstofatoom
5 of een groep met formule 3 voorstelt en n 2 of 3 bedraagt, laat
reageren met een verbinding met formule 2 waarin R_1 een alkylgroep
en R_2 een alkoxygroep is, in een oplosmiddel bestaande uit alleen
dimethylformamide of dimethylsulfoxyde gemengd met methyleenchlori-
de of chloroform.
- 10 2. Werkwijze volgens conclusie 1, m e t h e t k e n m e r k,
dat men het verkregen reaktiemengsel als volgt behandelt:
a) het mengsel wordt gehydrolyseerd met water ter verkrijging van
twee fasen;
b) de pH van het reaktiemengsel wordt verlaagd tot ongeveer 0,8 tot
15 1,8 door toevoegen van een waterige oplossing van een zuur ter ver-
wijdering van de enaminegroep;
c) de waterfase wordt afgescheiden en behandeld volgens op zichzelf
bekende wijze om het daarin aanwezige amoxicillinechlorhydraat om te
zetten in amoxicillinetrihydraat, en
20 d) het verkregen produkt wordt geïsoleerd.
3. Werkwijze volgens conclusie 1 of 2, m e t h e t k e n -
m e r k, dat de waterige zure oplossing een oplossing is van zout-
zuur met een concentratie van ongeveer 37%.
4. Werkwijze volgens conclusie 1-3, m e t h e t k e n m e r k,
25 dat de temperatuur waarbij men de verbinding met formule 1 laat
reageren met een verbinding met formule 2 ongeveer -35°C bedraagt.
5. Werkwijze volgens conclusies 1-4, m e t h e t k e n -
m e r k, dat R_1 een groep is bestaande uit methyl, ethyl of isobu-
tyl.
- 30 6. Werkwijze volgens een of meer der voorgaande conclusies,
m e t h e t k e n m e r k, dat R_2 een groep is bestaande uit
methoxy of ethoxy.
7. Farmaceutisch preparaat dat 6-D- α -amino-p-hydroxyfenylaceet-
amido penicillaanzuur bevat, m e t h e t k e n m e r k, dat het
35 preparaat een 6-D- α -amino-p-hydroxyfenylaceetamido penicillaanzuur
verkregen onder toepassing van de werkwijze volgens een of meer der
voorgaande conclusies, bevat.

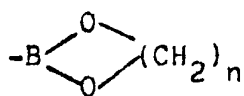
8005293



(1)



(2)



(3)

8005293