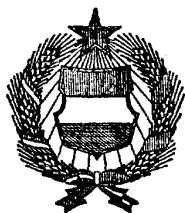


(19) HU

MAGYAR
NÉPKÖZTÁRSASÁG



ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) 185 619

A bejelentés napja: (22) 80. 08. 22.

(21) (2090/80)

A bejelentés elsőbbsége:

(33)
GB

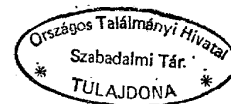
(32)
79. 08. 24.

(31)
(7929544)

A közzététel napja: (41) (42) 83. 10. 28.

Megjelent: (45) 87. 10. 20.

Nemzetközi
osztályjelzet:
(51) NSZO₄
C 07 D 498/02



Feltaláló(k): (72)

COOK Michael Allen, Laughton, Nr. Lewes, CURZONS Alan
David, Brighton, Patcham, WILKINS Robert Bennet, Worthing,
Sussex, vegyészek, GB

Szabadalmaz: (73)

Beecham Group Limited, Brentford, Middlesex, GB

(54) ÚJ ELJÁRÁS TISZTA KLAVULÁNSAV, VALAMINT GYÓGYÁSZATILAG ELFOGADHATÓ
SÓI ÉS ÉSZTEREI ELŐÁLLÍTÁSÁRA

(57) KIVONAT

A találmány tárgya új eljárás tiszta klavulánsav, valamint gyógyászatilag elfogadható sói előállítására. Az eljárás lényege, hogy nyers klavulánsavat szerves oldószerben terc-butil-aminnal reagáltatunk, adott esetben acetone jelenlétében, az adott esetben acetoneos szolvát alakjában képződött klavulánsav-terc-butil-aminsót elkülönítjük és klavulánsavvá vagy kívánt esetben ennek valamelyik gyógyászatilag elfogadható sójává alakítjuk.

Az eljárással igen tiszta termékek állíthatók elő.

A találmány tárgya új eljárás tiszta klavulánsav, valamint gyógyászatiilag elfogadható sói előállítására. A klavulánsav az I képlettel ábrázolható.

Az 1 508 977 számú nagy-britanniai szabadalmi leírásban többek között ismertetik, hogy a klavulánsav sói úgy állíthatók elő, hogy szűrt fermentlében található klavulanát-aniont anioncserélő gyantán adszorbeáltatnak, a gyantát egy elektrolittal eluálják, a kapott oldatot sómentesítik, a sómentesített oldatot felviszik egy második anioncserélő gyantára, ezt azután kromatográfiásan eluálják egy elektrolittal, az így kapott oldatot sómentesítik és végül az oldószert eltávolítják belőle. Ez az eljárás ugyan felhasználható elfogadható mennyiségű tiszta anyag előállítására, azonban a gyanta-oszlopok használata jelentős beruházást kíván, továbbá ezek a gyanta-oszlopok nagyüzemi méretű termelés esetén csökkenthetik a termelési kapacitást. Ezért kívánatos lenne olyan alternatív módszer, amely nem, vagy csak kis mértékben venne igénybe ioncserélő gyantát hasznosító lépést. Az 1 543 563 számú nagy-britanniai szabadalmi leírásban eljárást ismertetnek a klavulánsav előállítására a lítium-klavulanát kicsapása útján.

Felismerjük, hogy a klavulánsav nagy tisztaságban állítható úgy elő, hogy terc-butil-ammal alkotott sója formájában különítjük el. Ez a só ugyanis nagy tisztaságban nyerhető ki. A klavulánsav terc-butil-ammal alkotott sója meg van említve a 862 211 számú belga szabadalmi leírásban, azonban csak mint gyógyászati készítményekhez alkalmazható komponens.

A találmány szerinti eljárás tehát abban áll, hogy

(i) nyers klavulánsavat szerves oldószerben terc-butil-ammal reagáltatunk, adott esetben aceton jelenlétében, majd

(ii) a klavulánsav így képződött terc-butil-aminsóját elkülönítjük, és végül

(iii) a terc-butil-aminsót ismert módon klavulánsavvá vagy annak valamelyik gyógyászatiilag elfogadható sójává alakítjuk.

A találmány szerinti eljárással előállítható klavulánsav-sók vonatkozásában utalunk az 1 508 977 számú nagy-britanniai és a 173 700 számú magyar szabadalmi leírásokra, vagyis tulajdonképpen a találmány szerinti eljárással előállítható sók az ezekben a szabadalmi leírásokban ismertetett sók.

A klavulánsav különösen előnyösen alkalmazható sói közé tartoznak a gyógyászatiilag elfogadható alkálifém- és alkáliföldfém-sók, például a nátrium-, kálium-, kalcium- és magnéziumsók. Ezek közül a sók közül a leggyakrabban a nátrium- és a káliumsó kerül felhasználásra és az utóbbi a leginkább előnyös.

A találmány szerinti eljárásban kiindulási anyagként tetszőleges eredetű nem tisztított klavulánsavat, illetve a nem tisztított klavulánsav forrásaként bármely, klavulanátot termelő mikroorganizmust használhatunk, és az ilyen mikroorganizmusok fermentálásával kapott fermentleveget az oldószeres extrahálást megelőzően bármely hagyományos módon, például az 1 508 977 számú nagy-britanniai szabadalmi leírásban leírtak szerint kezelhetjük.

A klavulánsav terc-butil-aminsóját úgy állítjuk elő, hogy a klavulánsavat terc-butil-ammal, illetve – szabatosabb nomenklatura szerint – 2-amino-2-metil-propánnal reagáltatjuk. Ezt a reagáltatást egyszerűen úgy hajthatjuk végre, hogy a nem tisztított klavulánsav szerves oldó-

szerrel készült oldatához hozzáadjuk a terc-butil-amin szerves oldószerrel készült oldatát.

A klavulánsav szerves oldószeres oldatát a klavulánsav megsavanyított vizes oldatának extrahálása útján állíthatjuk elő. A vizes oldat pH-ja az extrahálást megelőzően előnyösen 1 és 3 között van. Az extrahálást előnyösen 5 °C és 15 °C közötti hőmérsékleten hajtjuk végre. Jó eredmények elérése céljából a vizes oldatnak legalább mintegy 25 mg/ml, előnyösen mintegy 100 mg/ml klavulánsavat kell tartalmaznia. Az extraháláshoz felhasznált vizes oldatot egyszerűen fermentléből nyerhetjük úgy, hogy a fermentléből a klavulanát-aniont anioncserélő gyantán adszorbeáltatjuk, a gyantát egy elektrolit vizes oldatával eluáljuk, a kapott vizes oldatot adott esetben sómentesítjük, és végül a vizes oldatot megsavanyítjuk.

A nem tisztított klavulánsav és a terc-butil-amin reagáltatásához célszerűen felhasználható szerves oldószerek közé tartoznak a II általános képletű oldószerek – a képletben R⁸ 1–6 szénatomot tartalmazó alkil- vagy 1–6 szénatomot tartalmazó alkoxycsoportot és R⁹ 1–6 szénatomot tartalmazó alkilcsoportot jelent. További célszerűen felhasználható oldószerek az éterek, például a tetrahidrofurán vagy a dioxán. A találmány értelmében azonban alkalmazható ilyen oldószerek elegye is.

Még célszerűbben a reagáltatáshoz azt a szerves oldószert használjuk, amelyet a megsavanyított vizes oldat közvetlen extrahálására hasznosítottunk. E célra használhatjuk az etil-acetátot, metil-acetátot, propil-acetátot, n-butil-acetátot, metil-etil-ketont, metil-izobutil-ketont, tetrahidrofuránt vagy ezek elegyét. Ezek közül az oldószerek közül a legcélszerűbb a metil-izobutil-keton, metil-etil-keton és az etil-acetát használata. A különösen alkalmas oldószerelemek közé tartozik a metil-etil-keton és a metil-izobutil-keton, továbbá a tetrahidrofurán és a metil-izobutil-keton elegye. A leginkább előnyös oldószert az etil-acetát.

A terc-butil-amin oldására alkalmas oldószerek közé tartozik az aceton, etil-acetát, metil-izobutil-keton és a metil-etil-keton. Ezek közül az aceton a leginkább előnyös.

Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy a találmány szerinti eljárás végrehajtható az oldószerben vagy oldószerelegyen lévő kis mennyiségű víz jelenlétében is. Általában 0–7 térfogat% víz lehet jelen, előnyösen azonban a víz mennyisége 4 térfogat%-nál kevesebb. Még célszerűbben azonban a klavulánsav oldatát szárításnak vetjük alá, ehhez a művelethez például magnézium-szulfátot használva.

Általában egy mólekvalens terc-butil-ammal vagy csekély fölöslegét használjuk a megfelelő klavulánsav-só előállításához. Az oldatokat általában lassan, keverés közben keverjük össze, majd a reakcióelegyet az adagolás befejezése után még egy ideig keverjük. A klavulánsav előállítani kívánt terc-butil-aminsója ezután elkülöníthető. Ilyen módon a klavulánsav terc-butil-aminsója gyakorlatilag az összes szennyezőjétől elválasztható. Az elkülönítést hagyományos módon, például centrifugálás és a fölülszó folyadékfázis ezt követő eltávolítása útján végrehajthatjuk.

A találmány szerinti eljárás egy előnyös foganatosítási módja értelmében a klavulánsav terc-butil-aminsóját acetonnal alkotott szolvátja formájában különítjük

el. Ennek az acetonnal alkotott szolvátnak igen előnyös a stabilitása és a tisztasága a klavulánsav terc-butil-aminsójának a korábban, például a 862 211 számú belga szabadalmi leírásból ismert formáihoz képest. A szolvát a találmány értelmében azért is hasznosítható különösen előnyösen, mert nagy tisztaságú és stabilis kristályos anyagként könnyen elkülöníthető.

Ha tehát a klavulánsav és a terc-butil-amin reagáltatását aceton jelenlétében hajtjuk végre, akkor a képződő só acetonnal alkotott szolvátja formájában fog kicsapódni, mégpedig ez a szolvát kötött acetont tartalmaz olyan mennyiségben, hogy hemi- vagy monoszolvátnak felel meg. Az elkülönítés és/vagy szárítás során a szolvát bizonyos mennyiségű acetont azért veszthet, mert a szolvatálás erőssége nem túl nagy, azonban a termékben az aceton mennyisége tulajdonképpen nem lényeges paraméter és általában legfeljebb 17 súly % (vagyis legfeljebb a monoszolvátnak megfelelő mennyiségű) lehet. Vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy a szolvátban az aceton mennyisége célszerűen 2–9 súly %, különösen célszerűen 4–8 súly %, előnyösen mintegy 7 súly %. Azt tapasztaltuk továbbá, hogy a szolvátban az aceton mennyisége nagy mértékben csökkenthető szerves oldószerrel, például metil-izobutil-ketonnal vagy etil-acetáttal végzett mosás útján. A teljes acetontartalmat azonban nehéz eltávolítani még vákuumban is, ami arra utal, hogy az acetonnal képzett szolvát külön kémiai egységként fogandó fel. Az acetonos szolvát előállítása során általában úgy járunk el, hogy a klavulánsavat tartalmazó oldatot legalább azonos térfogatú acetonnal keverjük össze a terc-butil-aminnal való reagáltatással egyidejűleg, amikor a képződő só szolvát formájában fog kicsapódni.

Előnyösen a terc-butil-amint oldjuk fel acetonban, majd az így kapott oldatot összekeverjük a klavulánsavnak egy szerves oldószerrel alkotott oldatával. Az utóbb említett oldószer előnyösen etil-acetát, tetrahidrofuran, metil-etil-ke-ton, metil-izobutil-ke-ton vagy ezek elegye lehet, de ezek közül a leginkább előnyösen az etil-acetátot hasznosítjuk. Az acetonos szolvát képződése szempontjából előnyös, ha az összekeverés után a szerves oldószer és az aceton térfogataránya közel 1 : 1.

Az először képződött acetonos szolvát átkristályosítása gyakran előnyös lehet a szennyezők mennyiségének még további csökkentése céljából. Az átkristályosításhoz oldószerként célszerűen vizes acetont használunk. Az ilyen átkristályosítást hagyományos módon hajthatjuk végre, például úgy, hogy a szolvátot vízben oldjuk, a kapott vizes oldathoz kis mennyiségű acetont adunk, szűrést végzünk, és ezután a szűrlethez nagyobb mennyiségű acetont adunk – adott esetben keverés és/vagy hűtés közben – a kristályosítás végrehajtása céljából.

Az adott esetben acetonos szolvát alakjában lévő klavulánsav-terc-butil-aminsót klavulánsavvá vagy annak valamelyik gyógyászatiag elfogadható sójává ioncserével vagy észterezéssel alakíthatjuk át.

Az ilyen ioncserét végrehajthatjuk ioncserélő gyantákat használva, például úgy, hogy a terc-butil-aminsó oldatát nátrium-, kálium- vagy kalcium-formájú kationcserélő gyanta ágyán vezetjük át. Az e célra alkalmazható kationcserélő gyanták közé tartozik az Amberlite IR 120 márkanevű gyanta, illetve az ezzel a gyantával ekvivalens gyanták. Alternatív módon az ioncserét úgy is végre-

hajthatjuk, hogy a terc-butil-aminsót cserebomlásba visszük egy bázissal, például egy gyógyászatiag elfogadható alkálifém vagy alkáliföldfém karbonátjával, hidrogén-karbonátjával vagy hidroxidjával, vagy pedig egy szerves karbonsav, például valamely III általános képletű alkánkarbonsav – a képletben R^{10} jelentése például 1–20, előnyösen 1–8 szénatomot tartalmazó alkil-csoport – sójával. Az e célra alkalmazható sókra például megemlíthetjük a megfelelő acetát-, propionát- vagy etil-hexanoátsókat, amelyek közül előnyösen a 2-etil-hexánkarbonsav-nátriumsót és -káliumsót használhatjuk.

A találmány értelmében lehetővé válik a klavulánsav sóinak tisztább formában való előállítása, mint az 1 508 977 és 1 543 563 számú nagy-britanniai szabadalmi leírásokban ismertetett módszerekkel. Így például az egyik különösen előnyös termék, a klavulánsav-káliumsó az említett szabadalmi leírásokban ismertetett módszerek szerint előállítható ugyan kristályos formában, ezek a kristályok azonban mikrokristályok. A találmány szerinti eljárás viszont lehetővé teszi a klavulánsav-káliumsó olyan tiszta formában való előállítását, hogy az nagy kristályokat – amelyek lehetnek jól azonosíthatóan tűkristályok vagy pillangószerű alakú lapkristályok formájában – képez.

A találmány szerinti eljárást a következő kiviteli példával kívánjuk megvilágítani.

1. példa

Ismert módon kapott, 24,75 mg/ml koncentrációban nyers klavulánsavat tartalmazó etil-acetátos extraktum 63 liternyi mennyiségét 10 percen át 1,7 kg magnézium-szulfáttal keverjük, majd 1,7 kg „Norrit GSX” márkanevű aktív szenet adunk hozzá és a keverést még 10 percen át folytatjuk. Az így kapott szuszpenziót ezután vákuumos szivattyú mellett finomszűrővel kanavász szűrőn (muccs-szűrőn) szűrjük, majd az utóbbi 10 liter etil-acetáttal mossuk. A szűrletet és a mosófolyadékot egyesítjük, majd az így kapott 71 liternyi folyadékhoz [amely 23,7 mg/ml klavulánsavat tartalmaz vízmentes etil-acetátban oldva] 71 liter acetont és ezután 30 perc leforgása alatt 1,13 liter terc-butil-amin 5,6 liter acetonnal készült oldatát adjuk. Az így kapott reakcióelegyet 60 percen át keverjük, majd a szilárd terméket centrifugálással elkülönítjük. A terméket ezt követően 10–10 liter acetonnal kétszer mossuk, majd szobahőmérsékleten fluidágyas szárítóban szárítjuk, 2,25 kg mennyiségben klavulánsav-terc-butil-aminsót kapva acetonos szolvát formájában. A termék elemzésének tanúsága szerint 65,8 súly % szabad savat, illetve 97 súly % klavulánsav-terc-butil-aminsót tartalmaz acetonos szolvát formájában. Így a tiszta termékre korrigált hozam 88 %. Nujol-mullszövetben felvett infravörös spektrumában 1780/ β -laktámgyűrű karbonilcsoportja), 1708 (szolvatáló acetont) és 1695 ($>C=C<$) cm^{-1} -nél észlelhető jellegzetes abszorpció. Összehasonlítási célokból megjegyezzük, hogy a fenti mintához szabad acetont adva 1721 cm^{-1} értéknél a szabad acetonnak megfelelő abszorpció észlelhető, míg a nem szolvatált klavulánsav-terc-butil-aminsó nem mutat abszorpciót 1708 cm^{-1} értéknél.

2. példa

Klavulánsav-terc-butil-aminsó acetonos szolvátjának átkristályosítása:

Az 1. példa szerint előállított termékből vett mintát szobahőmérsékleten olyan mennyiségű vízben oldjuk, hogy a klavulanátionra számítva 20 vegyes %-os oldatot kapjunk. Ezután a vizes oldathoz nyolcszoros térfogatmennyiségű acetont adunk közel 10 perc leforgása alatt, majd az így kapott oldatot szűrjük. A szűrlethez további 32-szeres térfogatmennyiségű acetont adunk közel 30 perc leforgása alatt, majd az ekkor kapott elegyet 2 órán át keverjük 0–5 °C-on. A kivált csapadékot kiszűrjük, majd fluidágyas szárítóban megszáritjuk. Az így kapott termék elemzésének tanúsága szerint 66,0 súly % szabad savat, illetve 99,7 % szolvátot tartalmaz. Így a tiszta termékre korrigált hozam 85 %.

A példa szerinti átkristályosítás eredményeképpen a kapott termék mintegy 1–2 %-kal tisztább, mint a kiindulási anyag.

3. példa

20 °C-on 2,55 kg, acetonos szolvát formájában lévő klavulánsav-terc-butil-aminsót feloldunk 68 liter, 1,4 liter vizet tartalmazó izopropanolban, majd az így kapott oldatot átszűrjük „in-line” típusú szűrőn, ezután pedig 2 liter izopropanollal átmossuk. Ezt követően 20 perc leforgása alatt 6,1 liter 2 n izopropanolos 2-etil-hexán-karbonsav-káliumsó-oldatot (1,4 mólekivivalens) adunk hozzá. Az így kapott reakcióelegyet szobahőmérsékleten 30 percen át keverjük, majd 2 órán át 0–5 °C-on hűtjük. A kivált terméket vákuumos szivattyú mellett finomszűrő kanavaszűrőn nitrogéngázos öblítés mellett kiszűrjük, majd 10 liter izopropanollal és 10 liter acetonnal mossuk. Szobahőmérsékleten vákuumban végzett szárítás után 1,8 kg klavulánsav-káliumsót kapunk, amely elemzésének tanúsága szerint 82,3 súly % klavulánsavat tartalmaz. Így a tiszta termékre korrigált hozam 89 %.

4. példa

28,7 g nem szolvatált klavulánsav-terc-butil-aminsót (69,8 súly % tiszta savat tartalmaz) feloldunk 20 °C-on 760 ml, 10–40 ml vizet tartalmazó izopropanolban, majd az így kapott oldatot szűrjük és további 25 ml izopropanollal átmossuk. Ezután az oldathoz 15 perc leforgása alatt hozzáadunk 71 ml 2 n izopropanolos 2-etil-hexánkarbonsav-káliumsó-oldatot (1,4 mólekivivalens), majd az így kapott reakcióelegyet szobahőmérsékleten 30 percen át keverjük és ezután 2 órán át 0–5 °C-on hűtjük. A kivált terméket kiszűrjük, 100 ml izopropanollal és 100 ml acetonnal mossuk. végül szobahőmérsékleten vákuumban szárítjuk. Így 20,5 g mennyiségben klavulánsav-káliumsót kapunk, amely elemzésének tanúsága szerint 81,2 súly % klavulánsavat tartalmaz. Így a hozam 83,0 %.

5. példa

A klavulánsav-terc-butil-aminsó összehasonlítása más aminosókkal

a) Kísérleti módszer

Klavulánsav etil-acetáttal alkotott oldatát (mintegy 20 000 µg/ml koncentrációjú) azonos térfogatmennyiségű acetonnal hígítjuk, majd 10 °C-on 0,5 óra leforgása alatt cseppenként hozzáadjuk 1,25 mólekivivalens amin acetonos oldatát. A reakcióelegyet az adagolás befejezése után további 1 órán át keverjük, majd a kivált (ha képződik) csapadékot elkülönítjük, acetonnal mossuk és vákuumban szárítjuk.

b) Eredmények

i) Terc-butil-aminsó

Az a) bekezdésben ismertetett kísérleti körülmények között a klavulánsav-terc-butil-aminsó 95 %-os hozamul képződik.

ii) Tipikus tercier aminok

triethyl-amin: nem képződik csapadék

tripropil-amin: nem képződik csapadék

iii) Más aminok

ciklohexil-amin: csapadék rendkívül lassan képződik hozam

(nem korrigált tisztaságra) = 68 %

terc-oktil-amin: csapadék meglehetősen jól képződik hozam

(korrigált tisztaságra) : 76 %

30 n-oktil-amin: nem képződik csapadék.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás tiszta klavulánsav, valamint gyógyászatilag elfogadható sói előállítására, *azzal jellemezve*, hogy nyers klavulánsavat szerves oldószerben, célszerűen etil-acetátban, metil-acetátban, propil-acetátban, acetonban, n-butil-acetátban, metil-etil-keetonban, metil-izobutil-keetonban, tetrahidrofuranban vagy ezek tetszőleges elegyében terc-butil-aminnal reagáltatunk, adott esetben további mennyiségű aceton jelenlétében, az adott esetben acetonos szolvát alakjában képződött klavulánsav-terc-butil-aminsót elkülönítjük és klavulánsavvá vagy kivált esetben ennek valamelyik gyógyászatilag elfogadható sójává alakítjuk.

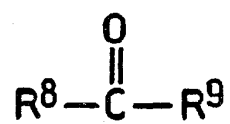
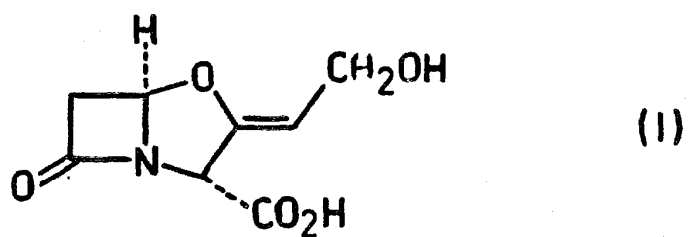
2. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogatosítási módja, *azzal jellemezve*, hogy a klavulánsav sóvá való átalakításhoz gyógyászatilag elfogadható kationt tartalmazó alkálifémvegyületet használunk.

3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti eljárás fogatosítási módja, *azzal jellemezve*, hogy a klavulánsav sóvá való átalakításhoz káliumvegyületet használunk.

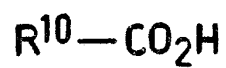
4. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogatosítási módja, *azzal jellemezve*, hogy oldószerként etil-acetátot használunk.

5. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogatosítási módja, *azzal jellemezve*, hogy az acetonos szolvátot 4–8 súly % acetont tartalmazó formában különítjük el.

6. Az 1. igénypont szerinti eljárás fogatosítási módja, *azzal jellemezve*, hogy a szerves oldószer és aceton térfogatarányát 1 : 1 értékre állítjuk be.



(II)



(III)