



УКРАЇНА

(19) UA (11) 22115 (13) C1

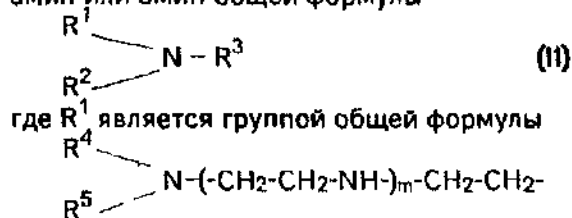
(51) C 07 D 503/06, 503/18

ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІД

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ КЛАВУЛАНОВОЇ КИСЛОТИ АБО ЇЇ ФАРМАЦЕВТИЧНО ПРИЙНЯТНИХ СОЛЕЙ АБО ЕФІРІВ, СІЛЬ КЛАВУЛАНОВОЇ КИСЛОТИ З АЛКІЛАМІНОМ ЯК ПРОМІЖНА СПОЛУКА ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ КЛАВУЛАНОВОЇ КИСЛОТИ

1

(21) 94095779
(22) 05 09 94
(24) 30 04 98
(86) PCT/GB 93/01206 (07 06 93)
(31) 9212379 3, 9222841 0
(32) 11 06 92, 31.10.92
(33) GB, GB
(46) 30 04 98 Бюл. № 2
(56) Заявка EP № 0026044, кл. C 07 D 498/04, опубл. 1981
(72) Кук Майкл Аллен (GB), Уілкінс Роберт Беннет (GB)
(73) СМІТКЛАЙН БІЧЕМ ПЛЦ (GB)
(57) 1 Способ получения клавулановой кислоты или ее фармацевтически приемлемых солей или эфиров, включающий контактирование неочищенной клавулановой кислоты в органическом растворителе с алкиламином выделение полученной соли клавулановой кислоты с алкиламином и превращение ее в клавулановую кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль или эфир, отличающийся тем, что в качестве алкиламина используют трет-октил-амин или амин общей формулы

где R^1 является группой общей формулы

где R^2 , R^3 , R^4 и R^5 независимо представляют собой водород или незамещенный или аминозамещенный C_1-C_6 -алкил, а m равно 0 или целому числу от 1 до 5, который контактирует с неочищенной клавулановой кислотой или ее лабильным производным

2. Способ по п. 1 отличающийся тем, что в амине формулы (II) одна из групп R^4 и R^5 представляет собой водород, другая

2

- C_1-C_6 -алкил, а R^2 и R^3 представляют собой водород или C_1-C_6 -алкил

3. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что используют по существу осушенный органический растворитель

4. Способ по п. 3, отличающийся тем, что органический растворитель содержит воду в количестве менее 6 г/л

5. Способ по п. 3, отличающийся тем, что органический растворитель содержит воду в количестве 0,25-0,6 г/л

6. Способ по любому из пп. 3-5 отличающийся тем, что органический растворитель сушат центрифугированием.

7. Способ по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что неочищенную клавулановую кислоту получают ферментацией микроорганизмов, образующих клавулановую кислоту.

8. Способ по п. 7, отличающийся тем, что некоторые суспендированные в растворе неочищенной клавулановой кислоты твердые вещества удаляют

9. Способ по п. 8, отличающийся тем, что твердые вещества удаляют фильтрацией

10. Способ по любому из пп. 1-9, отличающийся тем, что водный раствор клавулановой кислоты, полученный ферментацией, предварительно подвергают концентрации с последующей экстракцией

11. Способ по п. 10, отличающийся тем, что процесс предварительного концентрирования осуществляют абсорбцией клавуланової кислоты на ионообменную смолу с последующим элюированием клавулановой кислоты водным раствором электролита

12. Способ по п. 10 или 11, отличающийся тем, что полученный концентрат обессоливают.

(19) UA (11) 22115 (13) C1

13. Способ по любому из пп. 7-12, отличающийся тем, что водный раствор клавулановой кислоты подкисляют перед экстракцией

14. Способ по п. 13, отличающийся тем, что водный раствор клавулановой кислоты подкисляют до pH 1-3

15. Способ по п. 13, отличающийся тем, что водный раствор клавулановой кислоты подкисляют до pH 1,5-2,5.

16. Способ по любому из пп. 1-15, отличающийся тем, что экстракцию неочищенной клавулановой кислоты или ее лабильного производного проводят органическим растворителем при температуре от 5 до 15°C

17. Способ по п. 16, отличающийся тем, что в качестве органического растворителя используют растворитель, выбранный из группы, состоящей из углеводородных, эфирных, галогенированных и кетонных растворителей

18. Способ по п. 17, отличающийся тем, что растворитель выбирают из группы, состоящей из гексана, тетрагидрофурана, диэтилового эфира, хлороформа, ацетона и этилцетата.

19. Способ по любому из пп. 1-18, отличающийся тем, что соль клавулановой кислоты и алкиламина получают обработкой 1 моля клавулановой кислоты или ее лабильного производного в органическом растворителе одним эквивалентом алкиламина или его небольшим избытком.

20. Способ по п. 19, отличающийся тем, что соль клавулановой кислоты и алкил-

амина получают при температуре от 0 до 15°C.

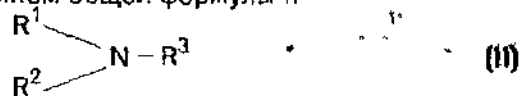
21. Способ по любому из пп. 1-20, отличающийся тем, что соль клавулановой кислоты с алкиламином превращают в фармацевтически приемлемую соль ионным замещением

22. Способ по п. 21, отличающийся тем, что ионное замещение осуществляют, пропуская раствор соли клавулановой кислоты с алкиламином через слой катионообменной смолы в натриевой, калиевой или кальциевой форме.

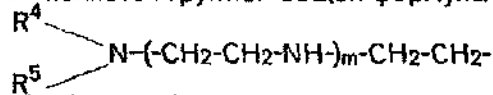
23. Способ по п. 21, отличающийся тем, что ионное замещение осуществляют реакцией протонированного алкиламинного катиона с соединением - предшественником соли.

24. Способ по п. 23, отличающийся тем, что в качестве соединения - предшественника соли используют атилгексаноат калия.

25. Соль клавулановой кислоты с алкиламином общей формулы II

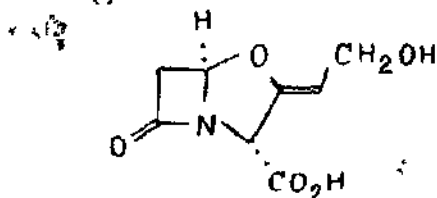


где R^1 является группой общей формулы



где R^2 , R^3 , R^4 и R^5 независимо представляют собой водород или замещенный или аминозамещенный C_1 - C_6 -алкил, а m равно 0 или целому числу от 1 до 5, в качестве промежуточного соединения для получения клавулановой кислоты.

Настоящее изобретение относится к новому способу получения клавулановой кислоты (I)



и ее фармацевтически приемлемых солей и эфиров.

Клавулановую кислоту обычно получают ферментацией микроорганизма, выделяющего клавулановую кислоту, например, различных микроорганизмов, принадлежащих

к различным разновидностям *Streptomyces*, например, *S. clavuligerus* NRRL 3585, *S. japoninensis* NRRL 5741, *S. Katsurahamanus* IFO 13716 и *Streptomyces* P 6621 FERM P2804 и т.д. Получающийся водный бульон может быть подвергнут стандартным процессам очистки и концентрирования, включая, например, фильтрование и хроматографическую очистку.

Наиболее близким по технической сути и достигаемому результату является способ получения клавулановой кислоты, включающий контактирование неочищенной клавулановой кислоты в органическом растворителе с трет-бутиламином, выделение полученной соли и превращение ее в

клавулановую кислоту или ее фармацевтически приемлемые соли или эфиры.

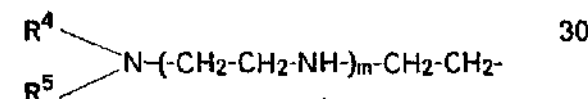
Однако, этот способ не обеспечивает высоких выходов и достаточной чистоты получаемого продукта.

В основу изобретения поставлена задача разработать такой способ получения клавулановой кислоты, в котором, путем замены используемого амина, достигалось бы повышение выхода и чистоты получаемой клавулановой кислоты.

Поставленная задача решается в способе получения клавулановой кислоты, включающем включающий контактирование неочищенной клавулановой кислоты в органическом растворителе с алкиламином, выделение полученной соли и превращение ее в клавулановую кислоту или ее фармацевтически приемлемые соли или эфиры, в котором, согласно изобретению, в качестве алкиламина используют трет-октиламин или амин общей формулы



где R^1 является группой общей формулы



где R^2 , R^3 , R^4 и R^5 независимо представляют собой водород или незамещенный или аминзамещенный C_1 - C_6 -алкил, а m равно 0 или целому числу от 1 до 5, который контактируют с неочищенной клавулановой кислотой или ее лабильным производным.

Примерами таких аминов могут служить этилендиамин, N,N' -диэтилэтилендиамин, N,N' -диизопропилэтилендиамин, N,N,N' -триэтилэтилендиамин, N,N,N',N' -тетраметилэтилендиамин, диэтилентриамин, $N,N,N',N''N''$ -пентаметилдиэтилентриамин, N' -метилдиэтилентриамин, триэтилентетрамин, тетраэтиленпентамин и др.

Когда амин (II) содержит более одного атома азота, клавулановая кислота может образовывать соль с одним или более атомами азота, например, как в N,N' -диизопропилэтилендиаминдиклавуланате.

Согласно настоящему изобретению соль клавулановой кислоты и амина (II) можно использовать для очистки неочищенной клавулановой кислоты во время ее получения. Поэтому соль можно получить в растворе клавулановой кислоты или ее лабильного производного, содержащем примеси, выде-

ляя соль в виде отдельной фазы, например, в виде твердого осадка, из раствора, содержащего остаточные примеси, затем повторно образовывая клавулановую кислоту или образовывая ее фармацевтически приемлемые соли или эфир

Приемлемые лабильные производные клавулановой кислоты включают соли, например, соли щелочных металлов, такие как клавуланаты лития или натрия, или эфиры, например силилэфиры. Приемлемые лабильные производные амина (II) включают соли, например, фосфат, борат, хлорид, хлорат, перхлорат, бромид, толуолсульфонат или алканаты, такие как ацетат или этилгексаноат.

Вышеописанный способ в соответствии с изобретением осуществляют в органическом растворителе, растворяющем клавулановую кислоту и амин (II). Этот растворитель предпочтительно по существу сухой, например, содержащий менее 6 г/л, например, 0,26-0,6 г/л воды, может содержать некоторое количество воды. Приемлемая степень сухости может быть достигнута посредством стандартных способов обезвоживания, например, центрифугированием. Вода, присутствующая в растворителе, может быть растворена или находиться в виде капель отдельной фазы.

Раствор клавулановой кислоты в органическом растворителе может быть получен посредством экстракции подкисленного водного раствора клавулановой кислоты, например, ферментационной жидкости. Если начальным источником клавулановой кислоты является бульон, получающийся при ферментации микроорганизмов, образующих клавулановую кислоту, то для получения экстракта с приемлемой, концентрацией клавулановой кислоты желательно удалить некоторые суспендированные в бульоне твердые вещества, например, посредством фильтрования, предшествующего экстракции.

Приемлемые способы предварительного концентрирования включают абсорбцию клавулановой кислоты на анионообменную смолу, с последующим элюированием клавулановой кислоты со смолы водным раствором электролита, например, хлорида натрия, и необязательным обессоливанием. Также предпочтительно до экстракции растворителем подкислить водный раствор до pH от 1 до 3, например, pH около от 1,5 до 2,5. Предпочтительно экстракцию осуществлять при температуре от 5 до 15°C.

Приемлемые органические растворители, в которых неочищенная клавулановая кислота может контактировать с амином (II);

включают углеводородные растворители, такие как гексан, эфиры, такие как тетрагидрофуран, диэтиловый эфир, галогенированные растворители, например, хлороформ, кетоны, такие как ацетон и сложные эфиры, например, этилацетат. Настоящее изобретение также предполагает использование смесей таких растворителей.

По-видимому, особенно желательно включить в систему растворителя кетоны, например, ацетон, поскольку они, вероятно, ингибируют образование соли клавулановой кислоты и амина (II) в виде масла.

Как правило, для получения соли клавулановой кислоты используют один эквивалент амина (II) на моль клавулановой кислоты или его небольшой избыток. Растворы клавулановой кислоты и амина (II) можно вводить в реакцию при перемешивании и перемешивать смесь в течение некоторого времени после того, как закончено добавление. Реакцию между клавулановой кислотой или ее лабильным производным и амином в соответствии с изобретением осуществляют при температуре ниже температуры окружающей среды, например 0 до 15°C, например, 0 до 10°C или от 0 до 5°C.

Например, в другой методике амин (II) можно вводить, примешивая его к потоку раствора клавулановой кислоты в растворителе, таким образом, что соль образуется в потоке, или в растворе или в виде частиц или суспендированных капель растворенной соли в суспензии. Амин (II), вводимый этим способом, можно вводить индивидуально или можно вводить в виде раствора в растворителе, например, в том же самом органическом растворителе, в котором растворяют клавулановую кислоту.

В альтернативной методике выделения соль клавулановой кислоты и амина (II) можно выделить из органического растворителя, который полностью или частично не смешивается с водой, посредством контактирования растворителя с водой с тем, чтобы экстрагировать соль, которая может находиться в растворе или в суспензии, из органического растворителя и получить водный раствор соли. Поскольку соли клавулановой кислоты с амином (II) прекрасно растворимы в воде, такой водный раствор можно хорошо сконцентрировать, например, до около 20-30% (вес.).

При использовании этого способа очень большая часть органических примесей в

растворе клавулановой кислоты в органическом растворителе остается в органическом растворителе, тогда как клавулановую кислоту в виде соли с амином (II) в относительно чистом состоянии получают в водном растворе. Полученный таким образом водный раствор клавулановой кислоты можно подвергнуть дальнейшей стандартной обработке, например, очистке или превращению в клавулановую кислоту или в фармацевтически приемлемые соль или эфир в соответствии с нижеописанным

В другой альтернативной или дополнительной методике клавулановую кислоту и амин можно смешивать в растворе в первом органическом растворителе, а затем соль можно отделить от раствора посредством добавления второго органического растворителя. В соответствии с изобретением первый органический растворитель может представлять собой органический сложный эфир, например, этилацетат, а второй растворитель может, например, быть галогенированным растворителем, таким как хлороформ, простым эфиром, например, диэтиловым эфиром, углеводородом, например, толуолом, спиртом, например, этанолом, или кетоном, например, ацетоном или метилизобутилкетонам.

Еще одним объектом изобретения является соль клавулановой кислоты с алкиламином формулы (II), которая может быть использована в качестве промежуточного соединения для получения клавулановой кислоты.

В одном предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения соль клавулановой кислоты и амина (II) можно использовать в виде ацетонного сольвата. Ацетонные сольваты в некоторых случаях обладают преимущественной устойчивостью и показателями чистоты, по сравнению с солями клавулановой кислоты с аминами как таковыми. Такие сольваты особенно полезны, поскольку часто их можно выделить в виде стабильного кристаллического соединения с высокой чистотой.

Соответственно настоящее изобретение также предусматривает соль клавулановой кислоты с амином (II) в виде ацетонного сольвата. Во время выделения и/или сушки некоторое количество ацетона может быть потеряно, поскольку прочность сольватации может не быть высокой, но количество ацетона в продукте не является определяющим.

Ацетонный сольват может быть образован при контактировании клавулановой кис-

лоты с амином (II) в присутствии ацетона. Как правило, когда соль осаждается, раствор, содержащий клавулановую кислоту, можно смешать с, по крайней мере, таким же объемом ацетона, содержащим амин.

Амин (II) может быть растворен в ацетоне и смешан с раствором клавулановой кислоты в органическом растворителе. Предпочтительные растворители органические включают этилцетат, тетрагидрофуран, метилэтилкетон, метилизобутилкетон и смеси таких растворителей, среди этих растворителей предпочтителен этилацетат. Или же водный раствор соли клавулановой кислоты и амина (II), получаемый посредством экстракции водой, в соответствии с вышеописанным, может быть смешан с ацетоном для образования сольвата. В соответствии с изобретением концентрированный водный раствор соли может быть смешан с избытком ацетона для образования сольвата.

Перекристаллизация соли клавулановой кислоты или ацетонного сольвата может быть полезной для дополнительного уменьшения содержания примесей. Обычный растворитель для перекристаллизации представляет собой водный ацетон. Подобную перекристаллизацию осуществляют стандартным образом, например, соль или сольват растворяют в воде, обрабатывают небольшим количеством ацетона, фильтруют и затем обрабатывают большими объемами ацетона с необязательным перемешиванием и/или охлаждением с тем, чтобы получить перекристаллизованный продукт.

Еще в одном аспекте настоящее изобретение предлагает способ получения клавулановой кислоты или ее фармацевтически приемлемых соли или эфира, причем этот способ включает превращение соли клавулановой кислоты и амина формулы (II) в ее фармацевтически приемлемые соль или эфир.

Наиболее пригодные фармацевтически приемлемые соли включают фармацевтически приемлемые соли щелочных и щелочноземельных металлов, например, соли натрия, калия, кальция и магния. Среди этих солей предпочтительны соли натрия и калия, наиболее предпочтительны соли калия.

Приемлемые эфиры включают эфиры, расщепляемые с образованием клавулановой кислоты или ее соли посредством химических методов например, гидрогенолиза или биологических методов.

Соль клавулановой кислоты и амина (II) необязательно в виде ацетонного сольвата может быть превращена в клавулановую

кислоту или ее фармацевтически приемлемые соль или эфир посредством, например, ионного замещения в случае свободной кислоты или солей, или посредством этерификации

Ионное замещение можно осуществлять, используя ионообменные смолы, например, пропуская раствор соли через слой катионообменной смолы в натриевой, калиевой или кальциевой форме. Пригодные катионообменные смолы включают Amberlite IR 120 и равноценные смолы

Или же ионное замещение можно осуществлять посредством реакции протонированного аминного катиона с сольобразующим соединением, которое может быть основанием, например, карбонатом, бикарбонатом или гидроксидом фармацевтически приемлемого щелочного или щелочноземельного металла или солью органической карбоновой кислоты с фармацевтически приемлемым катионом, таким как щелочной или щелочноземельный металл.

Примеры приемлемых солей включают ацетаты, пропионаты или этилгексаноаты, причем 2-этилгексаноат калия и 2-этилгексаноат натрия являются предпочтительными. Обычно соль клавулановой кислоты и амина (II) в растворе может быть приведена во взаимодействие с солью щелочного металла и кислоты (IV) в растворе или суспензии в приемлемом растворителе, который может, например, представлять собой органический растворитель, воду или смесь воды и органического растворителя, например, изопропанола. В соответствии с изобретением растворы соли клавулановой кислоты и амина (II) и сольобразующего соединения можно смешать и позволить кристаллизоваться фармацевтически приемлемой соли

В соответствии с изобретением реакцию можно осуществлять при температуре ниже температуры окружающей среды, например, от 0° до 15°C, например, от 0° до 10°C, приемлемо от 0° до 0,5°C. В соответствии с изобретением, если соль клавулановой кислоты с амином (II) образуется в водном растворе, ее можно высадить, смешивая водный раствор с избытком ацетона.

Далее изобретение иллюстрируется рядом примеров.

Пример 1. В каждом из нижеперечисленных примеров использовали одну и ту же методику, а именно амин смешивали с клавулановой кислотой в растворе ТГФ, и наблюдали быструю кристаллизацию с образованием твердой соли.

Амин	Примечания	Стабильность соли
D-(+)- α -фенилэтиламин	кристаллическое твердое вещество	стабильно более 70 часов, 20°C, относительная влажность 50%
трет-октиламин	кристаллическое твердое вещество	стабильно более 70 часов, 20°C, относительная влажность 50%
1-гидрокси-2-метил-2-пропиламин	кристаллическая соль	относительная влажность 50%, 20°C, темнеет через 72 часа
циклопентиламин	кристаллическая соль	относительная влажность 50%, 20°C, темнеет через 72 часа
1-адамантиламин	кристаллическая соль	относительная влажность 50%, 20°C, стабильна более 70 часов
N-этилпиперидин	кристаллическая соль	относительная влажность 50%, 20°C, стабильна более 70 часов
N,N-диметилциклогексил-амин	кристаллическая соль	относительная влажность 50%, 20°C, стабильна более 90 часов
аммиак	кристаллическая соль	более 70 часов, относительная влажность 50%, некоторое изменение цвета
ксантинол	белое твердое вещество	гигроскопично
триэтилентетрамин	бледножелтое твердое вещество	малая проба
p-метоксибензил- α -аминофенилацетат	твердая соль	белая после 16 часов в сухой атмосфере при комнатной температуре, желтая после 16 часов при относительной влажности 50% и комнатной температуре
n-бутил- α -аминофенилацетат	твердая соль	желтая после 16 часов в сухой атмосфере при комнатной температуре оранжевая после 16 часов при относительной влажности 50% и комнатной температуре
метиларгинат	твердая соль	белая после 16 часов в сухой атмосфере и при комнатной температуре оранжевая после 16 часов при относительной влажности 50% и комнатной температуре

Пример 2. В нижеследующем примере соль клавулановой кислоты и амина получали в растворе в первом органическом растворителе, а затем посредством смешивания со вторым органическим растворителем высаживали из раствора в виде твердого осадка.

2a

Трет-октиламин. Сырьевой раствор клавулановой кислоты в этилацетате, содержа-

щий приблизительно 28 г/л клавулановой кислоты в неочищенном виде, получали посредством экстракции неочищенного ферментационного бульона *S. clavuligerus* этилацетатом. К 46 мл сырьевого раствора добавляли трет-октиламин (0.84 г). Через 10 минут смесь становилась мутной и выкристаллизовывались мелкие кристаллы соли. К аликвоте раствора добавляли хлороформ,

что приводило к образованию игл большого размера. К следующей аликвоте добавляли ацетон, что снова приводило к образованию игольчатых кристаллов, но меньшего размера и медленнее, чем с хлороформом. К оставшейся части раствора добавляли приблизительно 20 мл хлороформа, затем объем толуола, приблизительно равный начальному объему раствора, что приводило к осаждению значительного количества игольчатых кристаллов.

2b

Дициклогексиламин. К 46 мл сырьевого раствора, полученного как и для вышеприведенного 2a, добавляли дициклогексиламин (1,18 г). Это приводило к прозрачному раствору. Ацетон добавляли к одной аликвоте, получая мелкий аморфный осадок.

2c

Аммиак. К 500 мл сырьевого раствора, полученного как и для вышеприведенного 2a, добавляли аммиак (21,1 мл 2,5 М 2-этилгексаноата аммония в этилацетате, т.е. приблизительно 1 эквивалент). Добавление 50 мл промышленного метилированного спирта (IMS) приводило к быстрому образованию осадка из мелких игл. Отмечалось, что, когда использовали неочищенный раствор клавиулановой кислоты, как ясно показывал цвет раствора значительное количество окрашенных примесей оставалось в растворе. Выход 75%.

2d

N,N-диметилциклогексиламин. К 500 мл сырьевого раствора, полученного, как в примере 2a, добавляли N,N-диметилциклогексиламин (6,7 мл). В начале добавления образовывалось масло. Постепенно добавляли ацетон (150 мл), что приводило к мутному раствору. Отбирали аликвоту этого мутного раствора и к ней добавляли диэтиловый эфир, что приводило к кристаллизации. Диэтиловый эфир (100 мл) добавляли к основной массе раствора, что приводило к немедленной кристаллизации. Кристаллы (13,4 г) отфильтровывали и промывали ацетоном.

2e

Трет-октиламин. К 500 мл сырьевого раствора, полученного как в примере 2a, добавляли трет-октиламин (6,7 г). Раствор становился слегка мутным. Добавляли ацетон (20 мл), что проясняло раствор. К аликвоте раствора добавляли диэтиловый эфир, что приводило к немедленной кристаллизации. Диэтиловый эфир (55 мл) добавляли к основной массе раствора, что приводило к кристаллизации. Кристаллы отфильтровывали и промывали ацетоном. Выход (12,9 г)

представлял 77% извлечение клавиулановой кислоты из раствора.

2f

Бензатин. Бензатин диацетат (9,16 г) перемешивали с водным гидроксидом натрия (5Н, 10,15 мл). Водный раствор экстрагировали этилацетатом (55 мл) и экстракт добавляли к сырьевому раствору клавиулановой кислоты, полученному как в примере 2a. (1 л). Сначала образовывалось масло. Добавляли ацетон (600 мл) и образовывались кристаллы (Добавляли около 10 мл диэтилового эфира, представляющего собой остаток от опыта с испытательной трубкой). Затем добавляли метилизобутилкетон (200 мл) и смесь доводили до 2 л ацетоном. Полученные кристаллы отфильтровывали и промывали ацетоном. Выход составлял 11,5 г, представляя 59,1% извлечение клавиулановой кислоты.

Пример 3. Раствор клавиулановой кислоты в этилацетате (приблизительно 20 мг/мл) разбавляли равным объемом ацетона. Затем при 10°C в течение 1/2 часа по каплям добавляли раствор трет-октиламина в ацетоне (1,25 моль – эквивалента). После дальнейшего перемешивания в течение 1 часа осажденные кристаллы собирали, промывали ацетоном и сушили в вакууме.

Осадок образовывался довольно быстро и был белого цвета. Выход (скорректированный в зависимости от чистоты) = 76%.

Пример 4. 0,012 М р-р аствор бензилклавуланата в ТГФ каталитически гидрировали, получая раствор клавиулановой кислоты в ТГФ. К этому раствору (100 мл) при температуре окружающей среды добавляли 1-аминоадамantan (25 мл 0,012 М в ТГФ). Происходила быстрая кристаллизация. Раствор перемешивали при температуре окружающей среды в течение 30 минут, затем при 5°C в течение 2 часов. Раствор затем фильтровали, а кристаллы промывали и сушили. Выход = 83%. Температура плавления соли составляла 190–192°C (d).

Пример 5. Бензилклавуланат (очищенный посредством Sephadex хроматографии, 20 г, 0,07 моля) растворяли в тетрагидрофуране (отогнан с гидрида кальция, 400 мл) и добавляли катализатор (10%) палладия на древесном угле (5,7 г). Смесь гидрировали с перемешиванием при температуре окружающей среды и около 15 psi в течение 20–30 минут. Состояние реакции контролировали посредством тонкослойной хроматографии, используя пластины из диоксида кремния, проявленные этилацетатом и визуализированные с использованием трифенилтетразолийхлоридного

распылительного средства. Rf-клавулановой кислоты 0,0, бензилового эфира 0,4.

Реакционную смесь фильтровали и набивку фильтра хорошо промывали. Смешанные фильтраты (500 мл), содержащие клавулановую кислоту, обрабатывали при перемешивании 2-амино-2,4,4-триметилпентаном (9,0 г, 0,07 моля) в сухом тетрагидрофуране (50 мл). Кристаллизация наблюдалась в течение одной минуты. Смесь перемешивали в течение 0,5 часа при температуре окружающей среды и затем 2 часа при 5°C. Продукт отфильтровывали, промывали сухим тетрагидрофураном (100 мл) и сушили в вакууме в течение 12 часов, получая 23,0 г 100% названной соли, имеющей температуру плавления 160–170°C.

Пример 6. Приготовление осуществляли как в примере 5, используя бензилклавуланат (0,9 г, 0,003 моля) и обрабатывая получающийся раствор клавулановой кислоты 2-амино-2-метилпропаном (0,22 г, 0,003 моля) в сухом тетрагидрофуране (10 мл). Названную соль получаем в количестве 0,6 г, 73% выход, с температурой плавления 150–152°C.

Пример 7. Приготовление осуществляли как и в примере 5, используя бензилклавуланат (0,9 г, 0,003 моля) и обрабатывая получающийся раствор клавулановой кислоты D(+) 1-метилбензиламином в сухом тетрагидрофуране (10 мл). Смесь хранили при 5°C в течение двух дней, в течение этого времени протекала медленная кристаллизация. Фильтрование давало названную соль 0,6 г, 62% выход, имеющую температуру плавления 125°C (d).

Пример 8. Водный раствор клавуланата лития смешивали с водным раствором алкиламмоний фосфата. Осажденный фосфат лития отфильтровывали и аминоклавуланатную соль осаждали путем добавления ацетона. Было обнаружено, что можно использовать также клавуланат натрия, но в этом случае имелась необходимость добавления этанола, чтобы поддержать выделение фосфата натрия. Также можно использовать гидрохлориды аминов.

Таким же образом клавуланат лития использовали для получения N-этилпиперидинклавуланата, и клавуланат натрия использовали для получения N-этилпиперидин-клавуланата.

Пример 9. Неочищенный экстракт клавулановой кислоты, представляющий собой сырой экстракт из ферментационного бульона *S.clavuligerus* после некоторой предварительной очистки при помощи ионообмена (500 мл, 21 мг/мл в этилацетате) смешивали с ацетоном (150 мл) и посте-

пенно обрабатывали раствором N,N-диметилциклогексиламина (6,7 мл) в ацетоне (25 мл). Аликвоту удаляли и обрабатывали диэтиловым эфиром, происходила немедленная кристаллизация. Затравка кристаллами основной массы раствора приводила к быстрой кристаллизации белых пластинок, эта кристаллизация становилась более полной при добавлении простого эфира (110 мл). Аминную соль отфильтровывали, промывали ацетоном (3x100 мл) и сушили на воздухе. Выход 13,4 г, 82% выделение, 64,9 pfa (теоретическое 61,0%).

Пример 10. К неочищенному раствору клавулановой кислоты использованному в примере 9 (500 мл, 21 мг/мл), дополнительно содержащему ацетон (20 мл), добавляли трет-октиламин (7,7 г, 1,0 экв.), что давало небольшую туманность. Добавление диэтилового эфира (55 мл) вызывало выделение аминной соли в виде мелких белых игл, которые отфильтровывали и промывали ацетоном. Выход 12,9 г, 77,2% выделение, 62,8 pfa (теоретическое = 60,6%).

Пример 11. Неочищенный раствор клавулановой кислоты в этилацетате (1 л, 10,14 мг/мл), полученный экстракцией ферментационного бульона *S.clavuligerus* этилацетатом и некоторой предварительной очисткой путем ионообмена, смешивали с ацетоном (600 мл) и затем обрабатывали бензатином (6,15 г) в этилацетате (55 мл). Смесь начинала кристаллизоваться по мере того, как добавление бензатина близилось к завершению. Затем для того, чтобы сделать осаждение более полным, добавляли метилизобутилкетон (200 мл). Кристаллы отфильтровывали и промывали ацетоном (3x100 мл). Выход = 11,5 г, 67,0% выделение.

Пример 12. Повторяли методику примера 11, используя неочищенный влажный (приблизительно 1% воды) раствор клавулановой кислоты в этилацетате. К отдельным 1 л порциям этого раствора добавляли при перемешивании избыток чистого этилендиамина, N,N'-диэтилэтилендиамина и N,N'-диизопропилэтилендиамина, причем количество каждого амина было в избытке по отношению к количеству, необходимому для образования диаммониевой соли с клавулановой кислотой. После непрерывного перемешивания образовывался осадок соли. Дополнительное количество кристаллов получали добавлением избытка ацетона. Осажденную диаммониевую соль отфильтровывали и промывали ацетоном.

Сформированные таким образом кристаллы каждой из диаммониевых солей превращали в клавуланат калия посредством растворения соли в минимальном количест-

ве воды с последующим добавлением раствора избыточного количества 2-этилгексаноата калия в изопропиловом спирте. После непрерывного перемешивания осадок клавуланата калия образовывался, его фильтровали, промывали изопропиловым спиртом и сушили.

П р и м е р 13. Раствор клавулановой кислоты (0,0046 моля) в тетрагидрофуране (30 мл) обрабатывали раствором триметиламина в метаноле (1,0 мл 25 вес. %) раствора, приблизительно 0,0042 моля, получая бледно-желтый раствор. Кристаллизацию вызывали, затравливая раствор кристаллами и выдерживая его при комнатной температуре. Кристаллизация была быстрой, дающей мелкие иглы, и завершалась при выстаивании в течение ночи при +4°C. Продукт отфильтровывали, промывали небольшим объемом свежего растворителя (приблизительно 5 мл) и сушили в вакууме. Выход 0,9 г (75%), температура плавления более 310°C, медленно становящийся коричневым при температуре выше приблизительно 130°C.

Проба В 24641: найдено С 51,32; Н 7,15; N 10,68%. $C_{11}H_{18}N_2O_5$ требует С 51,16; Н 7,02; N 10,84%.

Проба А 15230. Имидазол 77,2; 76,4% (расчитано 77,1%, приблизительно 99,5% чистота). Вода 1,18; 1,34%.

Качество соединения (в виде кремово-окрашенных мелких иголок) ухудшается при стоянии на воздухе в течение нескольких дней. Соединение поглощает воду и медленно становится желтым.

П р и м е р 14. Ниже приведены способы получения вышеупомянутого вещества, поскольку каждый дает несколько отличающийся результат. Первый дает умеренный выход продукта, содержащего воду до степени, соответствующей полугидрату, тогда как второй дает по существу безводное вещество, хотя и с низким выходом.

14А.

Клавулановую кислоту (0,00346 моля) в тетрагидрофуране (25 мл) обрабатывали триэтиламинном (0,4 г, 0,00346 моля) и смешивали, получая гомогенный прозрачный раствор. Кристаллизацию инициировали посредством затравливания раствора кристаллами и завершали, выдерживая в течение ночи при +4°C. Продукт отфильтровывали и сушили в вакууме. Выход 0,7 г (63%) в виде больших белых игл.

Проба В 24639: найдено С 54,74; Н 7,95; N 8,94%. $C_{14}H_{24}N_2O_5$ требует С 56,05; Н 8,00; N 9,33%. $C_{14}H_{24}N_2O_5 \times 1/2 H_2O$ требует С 54,36; Н 8,14; N 9,05%.

Проба А 15220: Имидазол 61,0; 61,1% (расчитано 64,4%, приблизительно 95,0% чистота).

Вода 2,64% (полугидрат требует 12,91%).

Клавулановую кислоту (0,021 моля) в тетрагидрофуране (60 мл) обрабатывали триэтиламинном (2,1 г, 0,021 моля) и перемешивали получающийся прозрачный раствор, затравленный истинной солью. Продукт начинал кристаллизоваться при комнатной температуре в виде длинных игл, причем процесс завершался в течение ночи при +4°C. Продукт собирали фильтрованием, промывали на фильтре свежим растворителем (приблизительно 10 мл) и диэтиловым эфиром (приблизительно 20 мл) и, наконец, сушили в вакууме, получая белый кристаллический продукт. Выход 1,7 г (27%).

Проба В 24676: найдено С 56,07; Н 7,83; N 9,32%. $C_{14}H_{24}N_2O_5$ требует С 56,05; Н 8,00; N 9,33%. $C_{14}H_{24}N_2O_5 \times 1/2 H_2O$ требует С 54,36; Н 8,14; N 9,05%.

25 Проба А 15268: Имидазол 65,1; 65,1% (расчитано 66,3%, приблизительно 98,2% чистота).

Вода 0,9% (α) 24=47,0°
(с=0,2% в воде)

30 Аналогично соли триметиламина качество продукта ухудшается при стоянии на воздухе в течение нескольких дней.

Эти два примера иллюстрируют получение солей клавулановой кислоты высокой чистоты из растворов клавулановой кислоты в органических растворителях.

П р и м е р 15. Отдельные образцы триметиламинклавуланата и триэтиламинклавуланата из примеров 13 и 14 растворяют в минимальном количестве холодной воды. К этим растворам при перемешивании добавляют концентрированный раствор 2-этилгексаноата калия в изопропанол. После непрерывного перемешивания кристаллы клавуланата калия выделяются и могут быть отфильтрованы, промыты холодным изопропанолом и высушены.

П р и м е р 16. Неочищенный водный раствор клавулановой кислоты, получаемый из ферментационного бульона *S.clavuligerus* предварительной очисткой, включающей ионообменную хроматографию или в основном вышеописанную, содержащий приблизительно 17,1 г/л, подкисляли 25% (объемн.) серной кислотой до pH 2,0 и затем непрерывно экстрагировали в этилацетат. Этилацетатный экстракт охлаждали до 2°C, обезвоживали центрифугированием, затем сушили $MgSO_4$, затем пропускали через CPG угольную колонку.

На этой стадии этилацетатный экстракт содержал 6,02 г/л клавулановой кислоты и затем его концентрировали посредством выпаривания до концентрации 25,7 г/л клавулановой кислоты и использовали при этой концентрации. Содержание влаги в концентрате составляло приблизительно 0,26% (объемн.).

7,8 мл трет-октиламина смешивали с 25 мл свежего этилацетата. Эту смесь медленно добавляли к 2 л обогащенного клавуланатом этилацетатного экстракта, снова разбавляли свежим этилацетатом при быстром перемешивании до титра 23,0 г/л. Суспензию перемешивали при 5°C еще час. Трет-октиламинклавуланат впоследствии отделяли фильтрованием и промывали этилацетатом. Заключительную сушку осуществляли в течение ночи в вакуумной печи при 20°C с отводом азота. Вес продукта – 6,13 г.

Пример 17. 5 г аминной соли, полученной в примере 16, растворяли в 97 мл изопропанола. Продукт не растворялся легко и было найдено необходимым применить мягкое нагревание до 24°C с тем, чтобы осуществить полное растворение. 14 мл 1,5 N 2-этилгексаноата калия в изопропаноле добавляли в течение 10 минут. Суспензию непрерывно перемешивали в течение 1,5 часов при 5°C. Продукт клавуланат калия затем отфильтровывали, промывали небольшим количеством изопропанола, затем ацетона и сушили в вакууме в течение ночи, с отводом азота при 20°C. Вес продукта – 3,16 г.

Пример 18. Отфильтрованный (RVF) ферментационный бульон *S.clavuligerus*, содержащий 2 г/л клавулановой кислоты, подкисляли 25% (объемн.) серной кислотой до pH 1,6 и непрерывно экстрагировали в этилацетат. Экстракт в растворителе охлаждали до 3°C, затем обезвоживали центрифугированием, затем сушили $MgSO_4$, затем пропускали через CPG угольную колонку. Обработанный углем экстракт затем концентрировали выпариванием до концентрации клавулановой кислоты приблизительно 20 г/л с содержанием влаги приблизительно 0,06% (объемн.).

13,5 мл трет-октиламина смешивали с 43 мл свежего этилацетата. Эту смесь медленно добавляли к 400 мл обогащенного клавуланатом экстракта в этилацетате при титре клавулановой кислоты 20 г/л и быстром перемешивании. Суспензию перемешивали при 5°C еще час. Затем трет-октиламинклавуланат отделяли фильтрованием и промывали этилацетатом. Заключительную сушку осуществляли в течение ночи в вакуумной печи при 20°C с отводом азота. Вес продукта – 12,44 г.

Пример 19. 11 г соли амина, полученной в примере 18, растворяли в 213 мл изопропанола. Продукт не растворялся легко даже после применения мягкого нагревания до 24°C. Для того, чтобы обеспечить растворение, добавляли воду (3,75 мл). Как только получали раствор, добавляли дополнительный изопропанол (100 мл) для того, чтобы перед кристаллизацией снизить содержание воды. Через 15 минут добавляли 30 мл 1,5N 2-этилгексаноата калия в изопропаноле. Суспензию непрерывно перемешивали в течение 1,5 часов при 5°C. Продукт клавуланат калия затем отфильтровывали, промывали небольшими количествами изопропанола, затем ацетона и сушили в вакууме в течение ночи при 20°C с отводом азота. Вес продукта 7,29 г.

Пример 20. Приготовление диклавулановых солей этилендиаминов и их преобразование в клавуланат калия.

а) Образование соли.

Экстракт клавулановой кислоты в этилацетате (концентрация около 23 мг/мл) обрабатывали серией этилендиаминов с охлаждением в ледяной бане. В основном получали кристаллическое твердое вещество, но в некоторых случаях исходным продуктом было масло, которое кристаллизовали посредством добавления ацетона. Соли отделяли фильтрацией, вымывали ацетоном и высушивали в вакууме, затем анализировали ЯМР- или ИК-спектроскопией. Во всех случаях ЯМР-спектры подтверждали образование диклавулановых солей. Характеристические полосы ИК-излучения для каждой соли представлены ниже.

Амин	Полосы ИК-излучения (Nujol mull), cm^{-1}				
этилендиамин	1787,	1695,	1596,		
N,N'-диэтилэтилендиамина	3390,	1777,	1688,	1312,	
N,N'-диизопропилэтилендиамина	3359,	1788,	1725,	1602,	1311
N-изопропилэтилендиамина	1784,	1683,			
N,N'-диметилэтилендиамина	3342,	1784,	1684,	1303,	1198
N,N,N'-триэтилэтилендиамина	3346,	1770,	1690,	1313,	1290
N,N,N'-триметилэтилендиамина	3301,	1788,	1684,	1310,	
N,N-диметил-N'-этилэтилендиамина	3323,	1789,	1684,	1310,	

б) Преобразование в клавуланат калия.

Несколько из указанных выше солей преобразовали в клавуланат калия, используя следующий общий метод. Диклавулановую соль (3,0–4,0 г) перемешивали в изопропанол (25 мл) при охлаждении в ледяной бане. Осторожно добавляли воду до получения прозрачного раствора. Смесь разбавляли изопропанолом (25 мл), добавляли 2,16 – мольный раствор 2-этилгексаноата калия в изопропанол (7,0 мл) и полученную суспензию перемешивали в холоде в течение 15–30 минут. Белый кристаллический продукт выделяли фильтрацией, вымывали ацетоном и высушивали в вакууме. Чистоту устанавливали посредством анализа жидкостной хроматографией высокого давления.

Результаты

Амин	Чистота клавуланата калия
N,N'-диэтилэтилендиамина	91,9%
N,N'-диизопропилэтилендиамина	96,8%
N,N'-диметилэтилендиамина	94,7%
N,N,N'-триэтилэтилендиамина	95,2%
N,N-диметил-N'-этилэтилендиамина	99,8%

Пример 21. Приготовление клавуланата калия через диклавулановую соль N,N'-диизопропилэтилен диамина.

а) Экстракт клавулановой кислоты в этилацетате (360 мл, концентрация около 12,8 мг/мл) перемешивали в ледяной бане и по капельно добавляли раствор N,N'-диизопропилэтилендиамина (3,6 мл) в этилацетате (50 мл) до получения белого твердого вещества. Смесь перемешивали в холоде в течение 40 минут, продукт собирали фильтрацией, вымывали дважды этилацетатом и высушивали в вакууме.

Выход диклавулановой соли N,N'-диизопропилэтилендиамина составил 7,29 г.

Анализ жидкостной хроматографией высокого давления показал, что содержание клавулановой кислоты составляет 63,5%. ЯМР-спектр показал, что продукт был сольватирован этилацетатом.

б) Диклавулановый этилацетатсольват N,N'-диизопропилэтилендиамина (2,0 г) суспендировали в изопропанол (10 мл) и охлаждали в ледяной бане. Воду добавляли осторожно до получения прозрачного раствора (требовалось 1,60 мл). Раствор разбавляли изопропанолом (15 мл) и 2,16-мольным раствором 2-этилгексаноата калия (5,0 мл), которые медленно добавля-

ли при хорошем перемешивании. Полученную суспензию кристаллов перемешивали в течение дальнейших 30 мин, затем отфильтровывали и продукт промывали изопропанолом, затем ацетоном и высушивали в вакууме.

Выход клавуланата калия составил 1,20 г (79,5%).

Анализ жидкостной хроматографией высокого давления показал, что содержание клавулановой соли составляет 99,4%.

Пример 22. Приготовление клавуланата калия через диклавулановую соль N,N,N'-триэтилэтилендиамина.

а) Экстракт клавулановой кислоты в этилацетате (400 мл, концентрация около 23 мг/мл) разбавляли ацетоном (100 мл), затравляли полученной выше солью N,N,N'-триэтилэтилендиамина и перемешивали в ледяной бане, N,N,N'-триэтилэтилендиамина (3,0 мл), затем добавляли по капельно до получения белого твердого вещества. Смесь перемешивали в течение 1 часа, продукт отделяли фильтрацией, промывали ацетоном и высушивали в вакууме.

Выход диклавулановой соли N,N,N'-триэтилэтилендиамина составил 8,60 г (68,6%).

б) Диклавулановая соль N,N,N'-триэтилэтилендиамина (5,0 г) суспендировали в изопропанол (25 мл) и охлаждали в ледяной бане. Осторожно добавляли воду до получения прозрачного раствора (требовалось 3,0 мл). Раствор разбавляли изопропанолом (75 мл) и 2,16-мольный раствор 2-этилгексаноата калия (12,0 мл) медленно добавляли при хорошем перемешивании. Полученную суспензию кристаллов перемешивали в течение 10 мин, затем отфильтровывали, продукт вымывали ацетоном и затем высушивали в вакууме.

Выход клавуланата калия составил 4,05 г (92,6%).

Анализ жидкостной хроматографией высокого давления показал, что содержание калиевой соли составляет 99,8%.

Пример 23. Приготовление клавуланата калия через диклавулановую соль N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамина.

а) Экстракт клавулановой кислоты в этилацетате (280 мл, концентрация около 8,4 мг/мл) перемешивали при комнатной температуре и добавляли раствор N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамина (3,5 мл) в этилацетате до получения прозрачного раствора, который быстро кристаллизовался. Смесь перемешивали в течение 1 часа, продукт собирали фильтрацией, промывали этилацетатом и высушивали.

Выход диклавулановой соли N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамина составил 2,17 г (71,5%).

б) Диклавулановая соль амина N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамина (2,0 г) суспензировали в изопропанол (20 мл) и охлаждали в ледяной бане. Осторожно добавляли воду до получения прозрачного раствора (требовалось 2,2 мл). 2,16-мольный раствор 2-этилгексаноата калия (5,0 мл) медленно добавляли при хорошем перемешивании и полученную суспензию кристаллов далее разбавляли изопропанолом (40 мл). Смесь перемешивали в течение дальнейших 30 мин, затем отфильтровывали, продукт промывали ацетоном и затем высушивали в вакууме.

Выход клавуланата калия составил 1,60 г (87,0%).

Анализ жидкостной хроматографией высокого давления показал, что содержание клавулановой соли составляет 99,8%.

Пример 24. Приготовление клавуланата калия из соли триэтилететрамина.

а) Экстракт клавулановой кислоты в этилацетате (100 мл, концентрация около 23 мг/мл) охлаждали до -10°C и хорошо перемешивали. По капельно добавляли раствор триэтилететрамина (1,5 г) в диэтиловом эфире до получения прозрачного раствора, после чего быстро образовывался плотный белый осадок. Смесь перемешивали в течение 1 часа при повышении температуры до комнатной температуры (приблизительно 22°C). Большую часть растворителя сцеживали, затем продукт промывали свежим этилацетатом (2x100 мл) и высушивали в вакууме до получения белого твердого вещества.

Выход составил 2,18 г.

Соль показала характеристические ИК-полосы 1789, 1598, 1306 и 1121 см⁻¹.

б) Соль триэтилететрамина (1,0 г) перемешивали в смеси этилацетата и насыщенного раствора хлорида натрия (10 мл) и охлаждали в ледяной бане. Смесь осторожно подкисляли до pH 1,5, используя 25% серную кислоту, и разделяли фазы. Фазу этилацетата высушивали над сульфатом магния, фильтровали и обрабатывали 2,16-мольным раствором 2-этилгексаноата калия в изопропанол (2 мл). Полученную суспензию помещали в холод на 30 мин и белый кристаллический продукт собирали фильтрацией, промывали ацетоном и высушивали в вакууме.

Пример 25. Экстрагирование клавулановой кислоты тетрагидрофураном (ТГФ) и последующая реакция с N,N'-диизопропилэтилендиамин или N,N,N'-N'-тетраметилэтилендиамин.

а) Ионобменный элюат (500 мл, титр 14700 мкг/мл) из рабочего ферментативно-

го бульона смешивали с ТГФ (250 мл) при 5°C. Имелась монофазная система. Хлорид натрия (15 г) добавляли и перемешивали до завершения растворения. Фазу сольвента затем отделяли довольно легко, практически без эмульсионной фазы раздела.

Раствор подкисляли 50% серной кислотой до pH 1,6. Немедленно после добавления кислоты две фазы разделяли центрифугированием для удаления имеющихся свободных капель воды. Верхняя фаза сольвента, содержащая клавулановую кислоту, перегоняли в вакууме и посредством этого этапа снижали содержание воды. Концентрат снова разбавляли до приблизительно концентрации 20000 мкг/мл сухим ТГФ.

б) Первая аликвота экстракта ТГФ (75 мл) охлаждали в ледяной бане и аккуратно перемешивали. N,N'-диизопропилэтилендиамин (0,6 г) смешивали в ТГФ (20 мл) и эту смесь медленно добавляли к раствору сольвента клавулановой кислоты в течение 25 мин. Первоначально образовывалось масло от которое отбраковывали. Дальнейшее добавление амина привело к получению желто/грязно-белого кристаллического осадка. Через 1 час продукт отфильтровывали, промывали ацетоном и высушивали в вакууме.

Продукт высушивали в течение ночи и анализ жидкостной хроматографией высокого давления показал, что содержание в нем клавулановой кислоты составляет 71,5%.

в) Вторую аликвоту экстракта ТГФ (75 мл) обрабатывали подобным образом N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамин (0,75 г) в ТГФ (20 мл).

Продукт первоначально снова образовал масло, которое удаляли, чтобы обеспечить прохождение хорошей кристаллизации в течение 1 часа. Продукт отфильтровали и высушили в течение ночи в вакууме, и анализ жидкостной хроматографией высокого давления показал, что содержание в нем клавулановой кислоты составляет 75,2%.

Пример 26. Диклавулановая соль N,N,N',N''-пентаметилдиэтилентриамин.

а) Экстракт клавулановой кислоты в этилацетате (150 мл, содержание клавулановой кислоты прибл. 19 мг/мл) охлаждали в ледяной бане и N,N,N',N'',N''-пентаметилдиэтилентриамин (1,5 мл) медленно добавляли, пользуясь шприцем. После перемешивания в течение 15 мин белые кристаллы собирали фильтрацией, промывали этилацетатом и высушивали в вакууме.

Выход составил 3,10 г (выход 75%).

ЯМР-спектр (D2O) показал, что соотношение клавулановой кислоты к амину со-

ставляет 2:1 ЯМР-спектр также ясно показал, что центральный атом азота не протонирован, так как метильная группа на этом азоте смещена существенно вверх относительно метильных групп на конечных атомах азота.

ИК-спектр (nujol mull) показал полосы inter alia приблизительно 3340, 1787, 1694, 1620, 1305, 1017, 895 и 734 cm^{-1} .

б) Преобразование в клавуланат калия.

Экстракт клавулановой кислоты в этилацетате (150 мл, содержание клавулановой кислоты прибл. 19 мг/мл) охлаждали в ледяной бане и N,N,N',N'',N'''-пентаметилдиэтилентриамин (1,5 мл) медленно добавляли, пользуясь шприцем. Белые кристаллы собирали фильтрацией, промывали этилацетатом (100 мл) и высушивали в вакууме. Полученное белое твердое вещество добавляли порциями в смесь изопропанола (100 мл) и воды (2,0 мл) при перемешивании при комнатной температуре. Прозрачный бледно-желтый раствор затем охлаждали в ледяной бане и обрабатывали 2,16-мольным раствором 2-этил-гексоноата калия в изопропаноле (8 мл). Белый кристаллический продукт собирали фильтрацией, промывали изопропанолом, затем ацетоном и высушивали в вакууме.

Выход составил 1,60 г (выход 47% из чистой кислоты)

Анализ чистоты жидкостной хроматографией высокого давления показал, что содержание калиевой соли составляет 97,3%.

Пример 27. Диэтилентриамин моно-клавуланат.

Экстракт клавулановой кислоты в этилацетате (25 мл, содержание клавулановой кислоты прибл. 29 мг/мл) добавляли к перемешиваемому раствору диэтилентриамина (0,5 мл) при охлаждении ледяной бане. Белое твердое вещество собирали фильтрацией, тщательно промывали ацетоном и высушивали в вакууме.

Выход составил 0,35 г.

ЯМР-спектр (D20) показал, что соотношение клавулановой кислоты к амину составляет приблизительно 1:1. ИК-спектр (nujol mull) показал карбонильную полосу бета-лактама 1783 cm^{-1} .

Пример 28. N'-метилдиэтилентриамин моно- и диклавуланаты.

Экстракт клавулановой кислоты в этилацетате (50 мл, содержание клавулановой кислоты прибл. 29 мг/мл) разбавляли ацетоном (50 мл) и охлаждали в ледяной бане. N'-метилдиэтилентриамин добавляли при перемешивании и белое твердое вещество собирали фильтрацией, тщательно промывали ацетоном и высушивали в вакууме.

Выход составил 0,8 г.

ЯМР-спектр (D20) показал, что соотношение клавулановой кислоты к амину составляет приблизительно 1,5:1, который соответствует смеси солей 2:1 и 1:1. ИК-спектр (nujol mull) показал карбонильную полосу бета-лактама 1789 cm^{-1} .

Пример 29. Моно- и диклавулановые соли N-(3-аминопропил)этилендиамина.

Экстракт клавулановой кислоты в этилацетате (25 мл, содержание клавулановой кислоты прибл. 29 мг/мл) добавляли к перемешиваемому раствору N-(3-аминопропил)этилендиамина (0,5 мл) в ацетоне (50 мл) при охлаждении в ледяной бане. Образец осажденного бледно-желтого твердого вещества собирали фильтрацией, тщательно промывали ацетоном и высушивали в вакууме.

ЯМР-спектр (D20) показал, что соотношение клавулановой кислоты к амину составило приблизительно 1,4:1, что соответствует смеси солей 2:1 и 1:1. ИК-спектр (nujol mull) показал карбонильную полосу бета-лактама 1788 cm^{-1} .

Пример 30. Моноклавулановая соль тетраэтиленпентамина.

Экстракт клавулановой кислоты в этилацетате (25 мл, содержание клавулановой кислоты прибл. 29 мг/мл) добавляли к перемешиваемому раствору тетраэтиленпентамина (0,5 мл) в ацетоне (25 мл) при охлаждении в ледяной бане. Образец осажденного бледно-желтого твердого вещества собирали фильтрацией, тщательно промывали ацетоном и высушивали в вакууме.

ЯМР-спектр (D20) показал, что соотношение клавулановой кислоты к амину составило 1:1.

ИК-спектр (nujol mull) показал карбонильную полосу бета-лактама 1786 cm^{-1} .

Пример 31. Триклавулановая соль 1, 1, 4, 7, 10, 10-гексаметилтриэтилететрамина.

Экстракт клавулановой кислоты в этилацетате (50 мл, содержание клавулановой кислоты прибл. 29 мг/мл) разбавляли этилацетатом (50 мл) и охлаждали в ледяной бане. 1, 1, 4, 7, 10, 10-гексаметилтриэтилететрамин (0,7 мл) добавляли при перемешивании и немедленно получали белый осадок. Продукт собирали фильтрацией, промывали этилацетатом и высушивали в вакууме.

Выход составил 0,65 г.

ЯМР-спектр (D20) показал, что соотношение клавулановой кислоты к амину составило 3:1.

Химическое смещение для метильных групп №4 и №7 соответствовало тому, что только одна из них протонирована.

П р и м е р 32. Триклавулановая соль N,N'-бис-(3-аминопропил)этилендиамина.

Экстракт клавулановой кислоты в этилацетате (50 мл, содержание клавулановой кислоты прибл. 29 мг/мл) разбавляли ацетоном (50 мл) и охлаждали в ледяной бане. N,N'-бис-(3-аминопропил)-этилендиамин (0,5 мл) добавляли при перемешивании и немедленно получали белый осадок. Продукт собирали фильтрацией, промывали ацетоном и высушивали в вакууме.

Выход составил 2,5 г.

ЯМР-спектр (D2O) показал, что соотношение клавулановой кислоты к амину составило 3:1.

ИК-спектр (nujol mull) показал карбонильную полосу бета-лактама 1785 см^{-1} .

П р и м е р 33. Моноклавулановая соль трис-(2-аминоэтил)амин.

Экстракт клавулановой кислоты в этилацетате (50 мл, содержание клавулановой кислоты прибл. 29 мг/мл) разбавляли ацетоном (50 мл) и охлаждали в ледяной бане. Трис-(2-аминоэтил)амин (0,5 мл) добавляли при перемешивании и до получения белого осадка. Продукт собирали фильтрацией, тщательно промывали ацетоном и высушивали в вакууме.

Выход составил 2,30 г (выход 91,5%).

ЯМР-спектр (D2O) показал, что соотношение клавулановой кислоты к амину составило 1:1. ИК-спектр (nujol mull) показал карбонильную полосу бета-лактама 1789 см^{-1} .

Упорядник

Техред М.Келемеш

Коректор М. Самборская

Замовлення 4470

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101