

PETITORIO

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

02 102450 00

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Esp: Radicacion : 02102450 00000300 Folios: 55
Fecha (ARD): 2002-11-12 17:28:22
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE :

1

☒ X

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☐

Capítulo I.

☒ X

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: SMITHKLINE BEECHAM P.L.C.

Dirección: 980 Great West Road, Brentford Middx TW8 9GS, Reno Unido

Nacionalidad o Domicilio: Britanica

Lugar de Constitución: Reino Unido

Teléfono:

Fax:

E-Mail

IDENTIFICACION

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Avda 82 No. 10-62 Piso 6

Teléfono: 634-1500

Fax: 376-2211

E-Mail: patents.bogota@bakernet.com

IDENTIFICACION

C.C.

☒ X

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

79.782.747 Btá TP 74.295

4

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: McKNIGHT JOHN; ZHANG GUO

Dirección: Clredon Road, West Sussex BN14 8 QH

Nacionalidad o Domicilio:

5 PCT (85)

Solicitud Internacional No. PCT/GB01/02025

Fecha Mayo 9, 2001

Publicación Internacional No. WO 01/87891

Fecha Noviembre 22, 2001

6 Título (54)

PROCESO PARA LA PURIFICACION DE UNA SAL DEL ACIDO CLAVULANICO.

7 Clasificación Internacional (51)

C07D 498/04 // A61K 31/407

8 Prioridad

SI

☒ X

NO

☐

(33) País de Origen

GB

GB

(32) Fecha

Mayo 13, 2000

Mayo 13, 2000

(31) Número de Solicitud

0011521.2

0011519.6

9 Comprobante de pago No. 63,157

Fecha 23-09-02

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página

10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☒ Poderes, si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen preliminar (IPEA)
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12 x 12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Búsqueda Internacional

11

FIGURA CARATERISTICA

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA:

G.C. 79.782.747 de Bta T.P. 74295



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 02 - 63,157
FECHA : SEPTIEMBRE 23 DE 2002

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 82182458 800000000
Fecha (AMD): 2002-11-12 17:28:22
Tramite : 811 PCT-PATENT 379 FASE MACI 411 PRESENTAC

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
JULIAN ANDRES VARGAS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	3135146	23/09/2002	38,825,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	
	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	378,000.00
	TOTAL :	378,000.00

SON: TRESCIENTOS SETENTA Y OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador 382 0840
Fax 350 5220
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
22 November 2001 (22.11.2001)

PCT

(10) International Publication Number
WO 01/87891 A1

- (51) International Patent Classification⁷: **C07D 498/04**
- (21) International Application Number: **PCT/GB01/02025**
- (22) International Filing Date: **9 May 2001 (09.05.2001)**
- (25) Filing Language: **English**
- (26) Publication Language: **English**
- (30) Priority Data:
0011521.2 13 May 2000 (13.05.2000) GB
0011519.6 13 May 2000 (13.05.2000) GB
- (71) Applicant (for all designated States except US):
SMITHKLINE BEECHAM P.L.C. [GB/GB]; New Horizons Court, Brentford, Middlesex TW8 9EP (GB).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): **ZHANG, Guo** [GB/GB]; GlaxoSmithKline Pharmaceuticals, Clarendon Road, Worthing, West Sussex BN14 8QH (GB).
MCKNIGHT, John [GB/GB]; GlaxoSmithKline Pharmaceuticals, Clarendon Road, Worthing, West Sussex BN14 8QH (GB).
- (74) Agent: **WALKER, Ralph, Francis;** SmithKline Beecham, Corporate Intellectual Property, Two New Horizons Court, Brentford, Middlesex TW8 9EP (GB).
- (81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
— with international search report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 01/87891 A1

(54) Title: PROCESS FOR THE PURIFICATION OF A SALT OF CLAVULANIC ACID

(57) Abstract: A process in which a salt of clavulanic acid, typically an amine salt or an alkali metal salt is exposed to conditions, particularly a pH of less than 6.0, which reduces the quantity of contaminating impurities. The process may be a washing process, a recrystallisation process or a preparative process.

P2002/000042

PROCESS FOR THE PURIFICATION OF A SALT OF CLAVULANIC ACID

This invention relates to novel processes for the preparation of salts of clavulanic acid in a more pure state.

Clavulanic acid (Z)-(2R,5R)-3-(2-Hydroxyethylidene)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid) is a β -lactamase inhibitor which is used commercially as a component of pharmaceutical formulations, usually in the form of its pharmaceutically acceptable salts, particularly potassium clavulanate^o. Clavulanic acid is produced commercially by culture of the microorganism *Streptomyces clavuligerus*, for example as described in GB 1508977.

Clavulanic acid may be extracted from the culture medium in various ways. Normally the cells of the *S. clavuligerus* are first removed from the culture medium by such methods as filtration or centrifugation before such extraction procedures are commenced. The clavulanic acid may be extracted from this clarified culture medium by solvent extraction from cold clarified culture medium adjusted to an acid pH. Whole broth extraction is also feasible. In the solvent extraction process the clavulanic acid is extracted into an organic solvent. After separation of the phases clavulanic acid is found in solution in the organic phase.

The clavulanic acid may be back extracted from the organic phase into a new aqueous phase by making use of the greater water solubility of salts of clavulanic acid with organic amines, and isolating such an amine salt from the aqueous phase. In such a process the amine salt is formed as an intermediate in the process of converting crude clavulanic acid into a pharmaceutically acceptable salt. Such a process is described in for example EP-A-0 026 044, in which a solution of impure clavulanic acid in an organic solvent is contacted with t-butylamine to form the t-butylamine salt of clavulanic acid, which is then isolated. Other similar processes are known which use other organic amines, such as tertiary octylamine (see EP-A-0 594 099 (Pharma Development)) diethylamine, tri-(lower alkyl) amines, dimethylaniline and NN'-diisopropyl-ethylenediamine. WO-A-93/25557 (SmithKline Beecham) discloses a very extensive list of amines which can be used in this way. WO-A-94/22873 (Gist Brocades) discloses use of various tertiary, tertiary diamines such as N,N,N',N'-tetramethyl-1,2-diaminoethane, N,N,N',N'-tetramethyl-1,6-diaminohexane, 1,2-dipiperidinoethane and dipiperidinomethane.

WO-A-96/20199 (Spurcourt) discloses use of diaminoethers such as bis (2-dimethylaminoethyl) ether. GB-A-2298201 (Spurcourt) discloses use of various benzhydrylamines. WO-A-96/33197 (LEK) discloses use of further amines including symmetrical N,N'-alkylethylene diamines, such as N,N'-diisopropyl-
5 ethylenediamine, N,N'-diethylene diamine, N,N'-dibenzylethylene diamine and
✓ N,N,N',N'- tetramethylene diamine. WO-A-98/21212 (Gist-Brocades) for example discloses a process in which the amines N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine, 1,3-bis(di-methylamino)-2-propanol, benzhydrylamine and bis (2-(dimethylamino) ethyl) ether are used. WO-A-98/23622 (Biochemie) discloses use of diisopropyl-
10 ethylen-diamine.

After isolation the intermediate amine salt may be converted into a pharmaceutically useful salt of clavulanic acid, particularly an alkali metal salt especially potassium clavulanate, generally by reaction of the intermediate amine salt with a salt precursor compound such as potassium 2-ethylhexanoate.

15 The fermentation process by which clavulanic acid is prepared also produces side product impurities. A number of such impurities have been identified as peaks in the HPLC trace of crude clavulanic acid, intermediate amine salts and pharmaceutically acceptable salts of clavulanic acid as prepared by conventional processes, but few have been chemically identified. One such impurity has recently
20 been identified by the present inventors as N-succinyl tyrosine.

It is desirable that as little of such impurities as possible are present in the final product pharmaceutically acceptable salt of clavulanic acid, and therefore that such impurities should be removed, either during the isolation of clavulanic acid or from the final product. For example such impurities may be removed from the
25 above-mentioned intermediate amine salt, during the step of conversion of the intermediate amine salt to the pharmaceutically acceptable salt, or from the final salt product.

Successful identification of this impurity as N-succinyl tyrosine has unexpectedly made available processes to prepare salts of clavulanic acid which are
30 contaminated by less N-succinyl tyrosine than has hitherto been possible.

The process may be a purification process in which N-succinyl tyrosine is removed from a salt of clavulanic acid contaminated with it.

6
X

Therefore the invention provides a purification process in which a salt of clavulanic acid, contaminated with or believed to be contaminated with N-succinyl tyrosine, is subjected to conditions which are selected to remove N-succinyl tyrosine. Such conditions may be chemical conditions, e.g. treatment with one or
5 more suitable reagent. Suitably the salt of clavulanic acid, contaminated or believed to be contaminated with N-succinyl tyrosine, may be subjected to such conditions by exposure to a liquid medium, e.g. an organic solvent or organic solvent-water mixture, containing such a reagent. Such a process may involve washing of the salt of clavulanic acid in a solid state with such a liquid medium, or crystallisation of
10 the salt of clavulanic acid from such a liquid medium. Alternatively the salt of clavulanic acid, contaminated or believed to be contaminated with N-succinyl tyrosine, may be exposed to a suitable reagent in solid form.

Alternatively the purification process may be a process in which a salt of clavulanic acid, contaminated or believed to be contaminated with N-succinyl
15 tyrosine, is suspended or dissolved in a liquid medium, e.g. an organic solvent or organic solvent-water mixture, and is exposed to a material which is selected to absorb N-succinyl tyrosine and thereby removes N-succinyl tyrosine from the salt.

Alternatively the process may be a preparative process in which the salt of clavulanic acid is prepared under conditions selected to minimise the formation of
20 N-succinyl tyrosine and/or its retention in the product salt of clavulanic acid. For example the salt of clavulanic acid may be prepared in a liquid medium, e.g. an organic solvent, an aqueous medium, or a mixture of an organic solvent, containing reagents which remove N-succinyl tyrosine, or subjected to chemical or physical conditions which remove N-succinyl tyrosine.

25 The salt of clavulanic acid purified or prepared in the above processes may be an amine salt of clavulanic acid, e.g. with any of the amines referred to above, especially tertiary butylamine, and this amine salt may be subsequently be converted into a final product pharmaceutically acceptable salt of clavulanic acid, such as an alkali metal salt, e.g. potassium clavulanate. Alternatively the salt may be a metal
30 salt of clavulanic acid, for example an alkali metal salt of clavulanic acid, particularly potassium clavulanate.

It has further unexpectedly been discovered that the level of impurities, such as the above-mentioned N-succinyl tyrosine, in a salt of clavulanic acid can be reduced if the salt is exposed to a selected range of pH. It is an object of this invention to use this discovery in the provision of improved processes for the preparation of such pharmaceutically acceptable salts.

According to this invention a process is provided comprising exposure of a salt of clavulanic acid to a liquid medium at a pH of less than 6.5, preferably 6.0 or less, more preferably pH 5.5 or less, more preferably pH 5.0 or less, more preferably being above pH 3.5, e.g. pH 3.5 – 5.5, typically ca. pH 4.5. The term “pH” as used herein includes the conventional usage of the term pH as the logarithm of the reciprocal of the hydrogen ion concentration. Also the term pH as used herein includes the observed pH, i.e. the pH as measured by exposing the medium to a conventional pH meter of known type, suitably calibrated by known methods. Normally the media used in the process of this invention will contain some water.

Treatment of the salt in this way in the process of the invention can reduce the level of one or more impurities, particularly of N-succinyl tyrosine, in the salt, or in further salts of clavulanic acid, e.g. a pharmaceutically acceptable salt, prepared from the salt.

In a first form of the process of this invention the salt may be washed with the medium, i.e. a wash medium, at a pH of less than 6.5, preferably pH 5.5 or less. The salt may be an amine salt of clavulanic acid, e.g. with any of the amines referred to above, especially tertiary butylamine, and this amine salt may be washed with the wash medium, and then optionally the amine salt may subsequently be converted into a final product pharmaceutically acceptable salt of clavulanic acid, such as an alkali metal salt, e.g. potassium clavulanate. Alternatively the salt which is washed may be a metal salt of clavulanic acid, for example an alkali metal salt of clavulanic acid, particularly potassium clavulanate.

The wash medium may be an aqueous wash medium at such a pH, e.g. acidified water or preferably a mixture of water and a water-miscible organic solvent such as a C₁₋₇ alkyl alcohol, typically containing 0.5 – 20% v:v water, at such a pH. Suitably the aqueous wash medium, e.g. water or such a mixture of

water and a water-miscible organic solvent may be acidified with a mineral acid, such as sulphuric, hydrochloric or nitric acid, or an organic e.g. carboxylic acid such as a C₁₋₇ alkanic acid such as acetic acid.

5 This first form of the process may therefore be a process in which a starting salt of clavulanic acid is provided containing one or more impurity such as N-succinyl tyrosine, and the salt is washed with the wash medium, to thereby produce a product salt of clavulanic acid in which the level of the one or more impurity is lower.

10 This first form of the process may therefore be a process in which the one or more impurity such as N-succinyl tryosine is removed from a starting salt of clavulanic acid, by washing of the starting salt of clavulanic acid with the wash medium.

In second form of the process of this invention the salt may be recrystallised from the medium at pH of less than 6.5. For example an amine salt may be
15 recrystallised from such a recrystallisation medium, then may subsequently be converted into a final product pharmaceutically acceptable salt of clavulanic acid, such as an alkali metal salt, e.g. potassium clavulanate by known methods such as those referred to above, for example reaction with potassium 2-ethyl hexanoate.

Suitably in this recrystallisation process the salt, e.g. an amine salt may be
20 dissolved in an aqueous medium, e.g. acidified water or a mixture of water and a water-miscible organic solvent such as a C₁₋₇ alkyl alcohol. Preferably the solution concentration is high, e.g. e.g. 10 – 40 % or more, but there appears to be no theoretical upper limit . The aqueous medium may initially be at the pH less than 6.5, or the pH may be adjusted when the aqueous solution has been made up, e.g.
25 the aqueous solution may then be acidified with an acid, suitably a mineral acid, such as sulphuric, hydrochloric or nitric acid, or an organic acid e.g. carboxylic acid such as a C₁₋₇ alkanic acid such as acetic acid. A preferred pH is ca. 5.5 or lower.

The salt, e.g. an amine salt, may then be isolated from the aqueous solution.
30 This may be achieved for example by crystallisation by admixing the solution, e.g. an aqueous solution, with a precipitating solvent, such as a water miscible ketone. Suitable ketones include aliphatic ketones, for example a di-C₁₋₇ alkyl ketone,

acetone being preferred. Solvates of amine clavulanate salts with such ketones are known and an amine salt may precipitate as a ketone solvate. For example the solution may be diluted with an excess, e.g. a 5 – 50 times excess of the precipitating solvent e.g. of a ketone. Cooling of the diluted solution can help to
5 improve the yield of the precipitated of crystals of the amine salt, e.g. as a solvate, which may be isolated.

This second form of the process may therefore be a process in which a starting salt of clavulanic acid is provided containing one or more impurity such as N-succinyl tyrosine, and the salt is recrystallised in the recrystallisation medium, to
10 thereby produce a product salt of clavulanic acid in which the level of the one or more impurity is lower.

This second form of the process may therefore be a process in which the one or more impurity is removed from a starting salt of clavulanic acid, by recrystallisation of the starting salt of clavulanic acid from the recrystallisation
15 medium.

A third form of the process may be a preparative process in which the salt of clavulanic acid is prepared in a liquid medium at the pH of less than 6.5. For example this third form of the process may comprise a process in which an amine salt of clavulanic salt is prepared by reacting clavulanic acid with an amine in a
20 liquid medium at a pH of less than 6.5. This third form of the process can be used to prepare amine salts of clavulanic acid containing a lower level of impurities such as N-succinyl tyrosine than occur in amine salts of clavulanic acid prepared by alternative or prior art methods.

In a preferred embodiment of this third form of the process the reaction is
25 performed in a two phase system, being an organic solvent phase containing the clavulanic acid, and an aqueous phase into which the amine salt is extracted and which is at the pH of 6.5 or lower. Suitably therefore the aqueous phase may comprise an aqueous solution or suspension of the amine, especially an aqueous solution or suspension of tertiary butylamine. The organic solvent phase is
30 preferably substantially immiscible with water, that is, although some mixing of the solvent with water may occur, over most of the phase diagram two phases are formed.

8
Z

For example a two phase system may be established, comprising an organic solvent phase containing dissolved clavulanic acid, and a separate aqueous phase, and the organic amine may be introduced into this two phase system, e.g. injected into the aqueous phase, with suitable mixing conditions e.g. agitation or turbulence, so that the amine salt is extracted into the aqueous phase as it is formed. Typically the organic phase may have a concentration of 5 – 100 g/L, for example 10 – 40 g/L in clavulanic acid, e.g. ca. 30 g/L. Suitable solvents for the organic phase include substantially water-immiscible C₁₋₇ alkyl-C₁₋₇ alkanoate esters such as ethyl acetate and tertiary butyl acetate, and di-C₁₋₇ alkyl ketones such as methylisobutyl ketone. A temperature of ca. 0 – 5°C is preferred for this reaction. Suitably the organic solvent phase may be the product of an extraction by the organic solvent of an optionally pre-purified, e.g. filtered and carbon treated, fermentation broth in which clavulanic acid has been formed.

Suitably the aqueous phase can be provided by back-extraction from the organic solvent phase by a circulating extraction loop so that a high concentration of the amine salt can be built up in the aqueous phase. The aqueous phase may be concentrated to a high concentration, e.g. 25 wt% or more e.g. by circulation of the aqueous extraction loop for a suitable time.

Generally when clavulanic acid is extracted from an aqueous broth to form such an organic extraction phase the broth is acidified to pH below 2.0. Controlled addition of the organic amine into the above-described two phase system can be used to adjust the pH of the aqueous phase, which can be monitored on-line. A preferred pH is again below 5.5.

The amine salt may then be isolated from the aqueous phase. This may be achieved for example by crystallisation by admixing the aqueous solution with a precipitating solvent, such as a water miscible ketone as described above, and this crystallisation can be performed in a manner analogous to the recrystallisation process as described above.

A fourth form of the process of the invention may be a preparative process in which a metal salt of clavulanic acid is formed as a product by a reaction between an amine salt of clavulanic acid and a metal salt precursor compound, in a liquid medium at the pH of less than 6.5. This fourth form of the process can be used to

prepare metal salts of clavulanic acid containing a lower level of impurities such as N-succinyl tyrosine than occur in metal salts of clavulanic acid prepared by alternative or prior art methods.

5 Preferred product metal salts of clavulanic acid which may be prepared in this fourth form of the process are salts of alkali metals and alkaline earth metals, particularly potassium clavulanate.

10 This fourth form of the process of the invention appears to be suitable for use with all metal salt precursor compounds which can be converted into a pharmaceutically acceptable salt of clavulanic acid by reaction with an amine salt of clavulanic acid. General classes of suitable metal salt precursor compounds include salts of alkali metal cations and alkaline earth metal cations with counter anions which include basic anions, such as hydrogen carbonate, carbonate or hydrogen phosphate, and in particular anions of weak organic carboxylic acids, such as alkanolic acids of formula $R-CO_2H$ where R is C_{1-20} alkyl, for example C_{1-8} alkyl, 15 e.g. salts of acetic, propionic and ethyl hexanoic acid, such as 2-ethyl hexanoic acid. Some examples of precursor compounds in these general classes include sodium or potassium hydrogen carbonate, potassium hydrogen phosphate and calcium carbonate. A preferred metal salt precursor compound for potassium clavulanate is potassium 2-ethylhexanoate.

20 The reaction of this fourth form of the process of this invention is preferably performed with the amine salt in solution or suspension in a mixture of a water-miscible organic solvent and water, for example a C_{1-8} alkyl alcohol or a mixture of such an alcohol with water, e.g. an isopropanol/water mixture. Suitable proportions for such a solvent : water mixture to suit particular requirements may be determined 25 experimentally, e.g. a solvent : water mixture containing 1 - 10% v:v water, e.g. ca. 1 - 5% v:v water. The amine salt may be dissolved in such a solvent which may be either at the pH of 6.0 or less, or which may be adjusted to the pH by addition of a suitable acid, e.g. a mineral acid or organic acid as above. The amine salt may suitably be present in a solution concentration 0.1 - 1.0M, e.g. ca. 0.5 M in 30 clavulanate moiety. A preferred pH is 5.5 or below, e.g. pH 5.5 - 5.0.

Although mixing of the amine salt and precursor compound in any order is encompassed by the invention, the metal salt precursor is preferably added to a

9
Z

solution of the amine salt. The precursor may be added as a solution, e.g. in an alcohol, e.g. isopropanol solution. A suitable solution concentration for this precursor compound solution is 0.5 – 3.5M, e.g. ca. 2M. Slow addition of the precursor solution is preferred, preferably with stirring and preferably being chilled
5 after the addition a temperature below ambient e.g. 0-5°C.

The metal salt of clavulanic acid product may be formed as a precipitate from solution. Precipitation of the product metal salt of clavulanic acid from solution may be encouraged by mixing the solution with a precipitating solvent, e.g. isopropanol, as described above. The solid product can be isolated from the reaction
10 medium by for example filtration and washing of the product.

In each of the above processes the pH of the medium defined above can result in reduction of the quantity of one or more impurities such as N-succinyl tyrosine in the product relative to analogous processes at higher pH.

These processes of the invention may comprise a part of an overall process
15 for preparation of potassium clavulanate from crude clavulanic acid e.g. as formed in a fermentation broth, e.g. in which an amine salt is used as an intermediate.

This overall process may involve the steps of (i) fermentation of a microorganism which produces an aqueous broth containing clavulanic acid, (ii) extraction of the clavulanic acid into an organic solvent, (iii) conversion of the
20 clavulanic acid into an amine salt of clavulanic acid, (iv) exposure of the amine salt to a pH of 6.0 or lower, particularly 5.5 or lower, (v) conversion of the amine salt to potassium clavulanate. The washing and/or recrystallisation processes of the invention may for example be applied to the salts of clavulanic acid prepared as products of either or both of steps (iii) and/or (v). The preparative processes of the
25 invention may for example be applied to either or both of preparation steps (iii) and/or (v), as described above.

In the processes of this invention which involve a pharmaceutically acceptable metal salt of clavulanic acid a preferred salt is potassium clavulanate.

In the processes of this invention which involve an amine salt of clavulanic
30 acid a preferred amine salt is the tertiary butylamine salt of clavulanic acid. This can be made, in a known (see for example EP-A-0 026 044, the content of which is included herein by reference) reaction, by reaction of tertiary butylamine with

clavulanic acid, and easily isolated as an acetone solvate. Both the tertiary butylamine salt and its acetone solvate can readily be converted into pharmaceutically acceptable salts of clavulanic acid, e.g. potassium clavulanate, e.g. as disclosed in EP 0026044A. However the processes of the invention appear in principle to be applicable to all those amine salts which are known to be useable as intermediates in the conversion of clavulanic acid into a pharmaceutically acceptable salt such as potassium clavulanate. Consequently these processes of the invention appears in principle to be effective with all such amines.

Examples of such amines, and their corresponding amine salts are disclosed for example in the publications referred to above, and include for example amine poly-, e.g. di-, clavulanate salts if the amine has more than one amino- moiety. Other suitable amine salts include those referred to in the publications mentioned above, e.g. tertiary octylamine, diethylamine, tri-(lower alkyl) amines, dimethylaniline, NN'-diisopropyl-ethylenediamine, tertiary, tertiary diamines such as N,N,N',N'-tetramethyl-1,2-diaminoethane, N,N,N',N'-tetramethyl-1,6-diaminohexane, 1,2-dipiperidinoethane and dipiperidinomethane, diaminoethers such as bis (2-dimethylaminoethyl) ether, benzhydrylamines, N,N'-alkylethylene diamines, such as N,N'-diisopropylethylene diamine, N,N'-diethylene diamine, N,N'-dibenzylethylene diamine, N,N,N',N'- tetramethylene diamine, N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine, 1,3-bis(di-methylamino)-2-propanol, benzhydrylamine and bis (2-(dimethylamino) ethyl) ether, and diisopropylethylenediamine.

The present invention further provides a product amine salt of clavulanic acid being a product of any of the above-described process, particularly tertiarybutylamine clavulanate.

The present invention further provides a product pharmaceutically acceptable metal salt of clavulanic acid being a product of any of the above-described process, particularly potassium clavulanate.

These products are characterised by impurity levels, particularly of N-succinyl tyrosine, which are less than those obtainable via known processes, particularly corresponding process which are carried out in a medium with a pH above that defined.

The invention will now be described by way of example only.

Examples 1, 2 and 3 are expressed in terms of the reduction of the total quantity of impurities in the product salt of clavulanic acid, and Examples 4, 5 and 6 are expressed in terms of reduction of the specific impurity N-succinyl tyrosine.

5 Example 1: Acidification of amine salt during amine salt crystallisation.

30g tertiary-butylamine ("t-BA") clavulanate salt was dissolved in water to give a 30% pfa (i.e. calculated as "pure free acid", i.e. clavulanic acid moiety by weight : volume) solution. The pH of the solution was measured and acidified to pH 4.5 with approximately 1.1 ml of 50% sulphuric acid or concentrated nitric acid. A 5x volume of acetone was added and the mixture stirred for 15 minutes. Additional acetone was added over 20 minutes up to 35x the aqueous volume. Throughout the foregoing the amine salt solution was maintained at ambient temperature. The product t-BA salt crystallised and was chilled at 0-5°C for 60 minutes and collected by filtration. The product was washed with 600ml of acetone, prior to drying for 12 hours in vacuo. This procedure was repeated at a "natural" pH without acid addition, i.e. ca. pH 7.5. The t-BA salt obtained using these procedures was then converted into product potassium clavulanate using a known method, and levels of total impurities in the potassium clavulanate prepared using the samples of t-BA salt were measured as follows:

20

<u>Crystallisation pH of t-BA solution</u>	<u>% total impurities in potassium clavulanate (wrt clav by HPLC)</u>
Natural (pH 7.0 – 7.5)	2.03
pH4.5	0.03

25

Example 2: Preparation of amine clavulanate salt from clavulanic acid and amine under acid conditions.

100L of clavulanic acid aqueous concentrate (ca. 20-40 g/L), from filtered concentrated fermentation broth was solvent extracted at pH 1.5 into methyl isobutyl ketone ("MIBK"). The clavulanic acid rich MIBK was treated with carbon (17L) and back extracted into water which was adjusted to pH 4.5 by controlled

injection of a 50% MIBK solution of t-BA. By controlling the t-BA addition rate the pH of the aqueous phase could be set, and pH 4.5 and pH 5.4 were used in separate experiments. Once the aqueous back extraction solution had reached a suitable crystallisation concentration, a 100ml aliquot was crystallised by addition of 35 volumes of acetone and the precipitated product isolated as in Example 1 above. The subsequent crystallised amine was converted to potassium salt and analysed for total impurity levels. This was then repeated with an aqueous phase pH of 5.4. By using the pH 4.5 the level of total impurities in the potassium clavulanate was reduced by 50% relative to the level at a pH of 5.4.

Example 3. Conversion of an amine salt to potassium clavulanate.

25g of t-BA clavulanate were dissolved in a mixture of isopropanol (81ml) and distilled water (10ml), and the pH was reduced to pH 6.8 with glacial acetic acid. While stirring a further 145 ml of isopropanol was added and 59.5 ml potassium 2-ethylhexanoate (1.92N) dissolved in isopropanol added dropwise over 20 minutes. The so-formed slurry was stirred for 120 minutes in an ice-bath at 0-5°C and filtered. The potassium clavulanate cake was washed with acetone (120 ml and 200 ml) and dried in vacuo with a nitrogen bleed. Altering the volume of glacial acetic acid added varied the pH of the dissolution solution. Results indicating the effect on the amount of total impurities in the potassium clavulanate ("Kclav") and overall yield of potassium clavulanate are shown in the table below:

<u>Dissolution pH</u>	<u>% of total impurities in Kclav (wrt clay)</u>
6.8	0.87
6.5	0.92
6.0	0.63
5.5	0.57
5.0	0.13
5.0*	0.11

* The volume of water was reduced to compensate for the additional volume of acetic acid used.

The experiments described in Example 3 above were repeated using other acids than acetic acid to achieve the specified pH, for example hydrochloric acid was used with similar results.

5 Example 4: Acidification of amine salt during amine salt crystallisation.

30g tertiary-butylamine ("t-BA") clavulanate salt was dissolved in water to give a 30% pfa (i.e. calculated as "pure free acid", i.e. clavulanic acid moiety by weight : volume) solution. The pH of the solution was measured and acidified to pH 4.5 with approximately 1.1 ml of 50% sulphuric acid or concentrated nitric acid. A 5x volume of acetone was added and the mixture stirred for 15 minutes. Additional acetone was added over 20 minutes up to 35x the aqueous volume. Throughout the foregoing the amine salt solution was maintained at ambient temperature. The product t-BA salt crystallised and was chilled at 0-5°C for 60 minutes and collected by filtration. The product was washed with 600ml of acetone, prior to drying for 12 hours in vacuo. This procedure was repeated at a "natural" pH without acid addition, i.e. ca. pH 8.5. The level of N-succinyl tyrosine in the t-BA salt obtained using these procedures was then measured as follows:

<u>Crystallisation pH of t-BA solution</u>	<u>% N-succinyl tyrosine in t-BA clavulanate (wrt clav by HPLC)</u>
Natural (pH 8.5)	3.48
pH4.5	0.03

Example 5: Preparation of amine clavulanate salt from clavulanic acid and amine under acid conditions.

100L of clavulanic acid aqueous concentrate (ca. 20-40 g/L), from filtered concentrated fermentation broth was solvent extracted at pH 1.5 into methyl isobutyl ketone ("MIBK"). The clavulanic acid rich MIBK was treated with carbon (17L) and back extracted into water which was adjusted to pH 4.5 by controlled

injection of a 50% MIBK solution of t-BA. By controlling the t-BA addition rate the pH of the aqueous phase could be set, and pH 4.5 and pH 5.4 were used in separate experiments. Once the aqueous back extraction solution had reached a suitable crystallisation concentration, a 100ml aliquot was crystallised by addition of 35 volumes of acetone and the precipitated product isolated as in Example 1 above. The subsequent crystallised amine was converted to potassium salt and analysed for N-succinyl tyrosine levels. This was then repeated with an aqueous phase pH of 5.4. By using the pH 4.5 the level of N-succinyl tyrosine impurity in the potassium clavulanate was reduced 26-fold relative to the level at a pH of 5.4.

Example 6. Conversion of an amine salt to potassium clavulanate.

25g of t-BA clavulanate were dissolved in a mixture of isopropanol (81ml) and distilled water (10ml), and the pH was reduced to pH 6.8 with glacial acetic acid. While stirring a further 145 ml of isopropanol was added and 59.5 ml potassium 2-ethylhexanoate (1.92N) dissolved in isopropanol added dropwise over 20 minutes. The so-formed slurry was stirred for 120 minutes in an ice-bath at 0-5°C and filtered. The potassium clavulanate cake was washed with acetone (120 ml and 200 ml) and dried in vacuo with a nitrogen bleed. Altering the volume of glacial acetic acid added varied the pH of the dissolution solution. Results indicating the effect on the amount of N-succinyl tyrosine impurity in the potassium clavulanate ("Kclav") and overall yield of potassium clavulanate are shown in the table below:

<u>Dissolution pH</u>	<u>% of N-succinyl tyrosine in Kclav (wrt clav)</u>
6.8	0.62
6.5	0.65
6.0	0.44
5.5	0.40
5.0	0.04
5.0*	0.07

Claims:

1. A process comprising exposure of a salt of clavulanic acid to a liquid medium at a pH of less than 6.5.
5
2. A process according to claim 1 wherein the pH is 3.5 - 5.5.
3. A process according to claim 1 or 2 wherein the salt is washed with a wash medium at a pH of 6.0 or less.
10
4. A process according to claim 3 wherein the salt is an amine salt of clavulanic acid.
5. A process according to claim 4 wherein the amine salt is then subsequently
15 converted into a final product pharmaceutically acceptable salt of clavulanic acid.
6. A process according to claim 3 wherein the salt which is washed is a metal salt of clavulanic acid.
- 20 7. A process according to any one of claims 3 to 6 wherein the wash medium is a mixture of water and a water-miscible organic solvent at a pH of 6.0 or less.
8. A process according to any one of claims 3 to 7 comprising a process in which a starting salt of clavulanic acid is provided containing one or more impurity,
25 and the salt is washed with the wash medium, to thereby produce a product salt of clavulanic acid in which the level of the one or more impurity is lower.
9. A process according to any one of claims 3 to 8 comprising a process in which one or more impurity is removed from a starting salt of clavulanic acid, by
30 washing of the starting salt of clavulanic acid with the wash medium.

10. A process according to claim 1 or 2 wherein the salt of clavulanic acid is recrystallised from a recrystallisation medium at pH of 6.0 or less.
11. A process according to claim 10 wherein the salt of clavulanic acid is an amine salt of clavulanic acid.
12. A process according to claim 11 wherein the amine salt is then subsequently converted into a final product pharmaceutically acceptable salt of clavulanic acid.
13. A process according to claim 10, 11 or 12 wherein the salt is dissolved in an aqueous medium at the pH 6.0 or less, or subsequently adjusted the pH 6.0 or less, then the salt is isolated from the aqueous solution by crystallisation by admixing the solution with a precipitating solvent.
14. A process according to any one of claims 10 to 13 comprising a process in which a starting salt of clavulanic acid is provided containing one or more impurity, and the salt is recrystallised from the recrystallisation medium, to thereby produce a product salt of clavulanic acid in which the level of the one or more impurity is lower.
15. A process according to any one of claims 10 to 14 comprising a process in which one or more impurity is removed from a starting salt of clavulanic acid, by recrystallisation of the starting salt of clavulanic acid from the recrystallisation medium.
16. A process according to claim 1 or 2, comprising a preparative process in which the salt of clavulanic acid is prepared in a liquid medium at a pH of 6.0 or lower.
17. A process according to claim 16 comprising preparation of an amine salt of clavulanic salt by reacting clavulanic acid with an amine in a liquid medium at a pH of 6.0 or lower.

18. A process according to claim 18 performed in a two phase system, being an organic solvent phase containing the clavulanic acid, and an aqueous phase into which the amine salt is extracted and which is at the pH of 6.0 or lower.
- 5
19. A process according to claim 1 or 2, comprising a preparative process in which a metal salt of clavulanic acid is formed as a product by a reaction between an amine salt of clavulanic acid and a metal salt precursor compound, in a liquid medium at the pH of 6.0 or lower.
- 10
20. A process according to claim 19 in which potassium clavulanate is prepared.
21. A process according to claim 19 or 20 performed with the amine salt in solution in a mixture of a water-miscible organic solvent and water either at the pH of 6.0 or less, or subsequently adjusted to this pH and the metal salt precursor is added to this solution of the amine salt.
- 15
22. A process according to any one of the preceding claims, being part of an overall process for preparation of potassium clavulanate from crude clavulanic acid as formed in a fermentation broth.
- 20
23. A process according to claim 22 involving the steps of (i) fermentation of a microorganism which produces an aqueous broth containing clavulanic acid, (ii) extraction of the clavulanic acid into an organic solvent, (iii) conversion of the clavulanic acid into an amine salt of clavulanic acid, (iv) exposure of the amine salt to a pH of 6.0 or lower, particularly 5.5 or lower, (v) conversion of the amine salt to potassium clavulanate.
- 25
24. A product amine salt of clavulanic acid being a product of a process according to any one of claims 1 to 18.
- 30

25. Potassium clavulanate being a product of a process according to any one of claims 1 to 3 or 19 to 23.

26. A process according to any one of claims 8, 9, 14 or 15 wherein one of the said one or more impurity is N-succinyl tyrosine.

27. A purification process in which a salt of clavulanic acid, containing or believed to be contaminated with N-succinyl tyrosine, is subjected to conditions which remove N-succinyl tyrosine.

10

28. A purification process according to claim 27 wherein the salt is exposed to a liquid medium containing a reagent which destroys N-succinyl tyrosine.

29. A purification process according to claim 27 wherein the salt is exposed to a reagent which destroys N-succinyl tyrosine, incorporated into or adsorbed onto a solid substrate.

15

30. A purification process in which a salt of clavulanic acid, containing or believed to be contaminated with N-succinyl tyrosine, is suspended or dissolved in a liquid medium and is exposed to a material which absorbs N-succinyl tyrosine and thereby removes N-succinyl tyrosine from the salt.

20

31. A preparative process in which a salt of clavulanic acid is prepared under conditions selected to minimise the formation of N-succinyl tyrosine and/or its retention in the product salt of clavulanic acid.

25

32. A process according to claim 31 wherein the salt of clavulanic acid is prepared in a liquid medium containing reagents which remove N-succinyl tyrosine, or at chemical or physical conditions which remove N-succinyl tyrosine.

30

PROCESO PARA LA PURIFICACIÓN DE UNA SAL DEL ÁCIDO CLAVULÁNICO

5 Este invento se relaciona con procesos novedosos para la preparación de sales del ácido clavulánico en un estado más puro.

El ácido clavulánico (ácido (Z)-(2R,5R)-3-(2-hidroxietilideno)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]heptano-2-carboxílico) es un inhibidor de β -lactamasa el cual se utiliza comercialmente como un componente de formulaciones farmacéuticas, usualmente en la forma de sus sales farmacéuticamente aceptables, particularmente clavulanato de potasio. El ácido clavulánico es producido comercialmente mediante el cultivo del microorganismo *Streptomyces clavuligerus*, por ejemplo, como se describió en la GB 1508977.

El ácido clavulánico se puede extraer del medio de cultivo en varias formas. Normalmente, las células de *S. clavuligerus* se remueven primero del medio de cultivo mediante métodos tales como filtración o centrifugación antes de comenzar los procedimientos de extracción. El ácido clavulánico se puede extraer desde este medio de cultivo clarificado mediante extracción por solvente a partir del medio de cultivo clarificado frío ajustado a un pH ácido. También es factible la extracción del caldo completo. En el proceso de extracción por solvente, el ácido clavulánico es extraído en un solvente orgánico. Después de la separación de las fases, el ácido clavulánico se encuentra en solución en la fase orgánica.

El ácido clavulánico se puede retroextraer de la fase orgánica en una nueva fase acuosa utilizando la mayor

~~Z~~

solubilidad en agua de las sales del ácido clavulánico con aminas orgánicas, y aislando tal sal de amina de la fase acuosa. En tal proceso, la sal de amina se forma como un intermedio en el proceso de conversión del ácido clavulánico

5 crudo en una sal farmacéuticamente aceptable. Tal proceso es descrito, por ejemplo, en la EP-A-0 026 044, en el cual una solución del ácido clavulánico impuro en un solvente orgánico entra en contacto con t-butilamina para formar la sal de t-butilamina del ácido clavulánico, la cual es luego aislada.

10 Se conocen otros procesos similares los cuales utilizan otras aminas orgánicas, tales como la octilamina terciaria (ver EP-A-0 594 099 (Pharma Development), dietilamina, tri-(alquilo menor) aminas, dimetilanilina y NN'-diisopropil-etilendiamina. La WO-A-93/25557 (SmithKline Beecham) divulga

15 una lista muy completa de aminas que se pueden utilizar en esta forma. La WO-A-94/22873 (Gist Brocades) divulga el uso de varias diaminas terciarias tales como N,N,N',N'-tetrametil-1,2-diaminoetano, N,N,N',N'-tetrametil-1,6-diaminohexano, 1,2-piperidinoetano y dipiperidinometano. La

20 WO-A-96-/20199 (Spurcourt) divulga el uso de diaminoéteres tales como el bis(2-dimetilaminoetil)éter. La GB-A-2298201 (Spurcourt) divulga el uso de varias benzhidrilaminas. La WO-A-96/33197 (LEK) divulga el uso de aminas adicionales incluyendo las N,N'-alquiletileno diaminas simétricas, tales

25 como N,N'-diisopropil-etilendiamina, N,N'-dietileno diamina, N,N'-dibenciletileno diamina y N,N,N',N'-tetrametilenodiamina. La WO-A-98/21212 (Bist Brocades) por ejemplo divulga un proceso en el cual se utilizan aminas como la

30 N,N,N',N'-tetrametiletilendiamina, 1,3-bis(di-metilamino)-2-propanol, benzhidrilamina y bis (2-(metilamino)etil)éter. La WO-A-98/23622 (Biochemie) divulga el uso de la diisopropiletilendiamina.

Después de aislar, la sal de amina intermedia se puede convertir en una sal farmacéuticamente útil del ácido clavulánico, particularmente una sal metálica alcalina, especialmente clavulanato de potasio, generalmente mediante la reacción de la sal de amina intermedia con un compuesto precursor de sal, tal como el 2-etilhexanoato de potasio.

El proceso de fermentación mediante el cual se prepara el ácido clavulánico también produce impurezas de subproductos. Se ha identificado un número de tales impurezas como picos en el rastreo de la HPLC del ácido clavulánico crudo, sales de amina intermedias y sales farmacéuticamente aceptables del ácido clavulánico preparadas mediante procesos convencionales, pero pocas se han identificado químicamente. Una de estas impurezas ha sido identificada recientemente como tirosina de N-succinilo.

Se prefiere que la sal farmacéuticamente aceptable del producto final del ácido clavulánico tenga tan pocas impurezas como sea posible, y por lo tanto tales impurezas deben ser removidas, ya sea durante la separación del ácido clavulánico o del producto final. Por ejemplo, tales impurezas se pueden remover de la sal de amina intermedia anteriormente mencionada, durante el paso de conversión de la sal de amina intermedia a la sal farmacéuticamente aceptable o del producto de sal final.

La identificación exitosa de esta impureza, como la tirosina de N-succinilo, inesperadamente ha hecho disponibles procesos para preparar sales del ácido clavulánico las cuales están contaminadas con menos Tirosina de N-succinilo que hasta la fecha había sido posible.

El proceso puede ser un proceso de purificación en el cual la tirosina de N-succinilo es removida de la sal del ácido clavulánico contaminada con ésta.

Por lo tanto, el invento suministra un proceso de purificación en el cual una sal del ácido clavulánico, contaminada o considerada contaminada con tirosina de N-succinilo es sometida a condiciones las cuales son

5 seleccionadas para remover la tirosina de N-succinilo. Tales condiciones pueden ser condiciones químicas, como por ejemplo un tratamiento con uno o más reactivos apropiados. De manera apropiada, la sal del ácido clavulánico contaminada o considerada contaminada con tirosina de N-succinilo, se puede
10 someter a tales condiciones mediante exposición a un medio líquido, como por ejemplo un solvente orgánico o mezcla solvente-agua orgánica que contenga tal reactivo. Tal proceso puede involucrar el lavado de la sal del ácido clavulánico en estado sólido con tal medio líquido, o
15 cristalización de la sal del ácido clavulánico a partir de tal medio líquido. Alternativamente, la sal del ácido clavulánico contaminada o considerada contaminada con tirosina de N-succinilo, puede ser expuesta a un reactivo apropiado en forma sólida.

20 Alternativamente, el proceso de purificación puede ser un proceso en el cual una sal del ácido clavulánico, contaminada o considerada contaminada con tirosina de N-succinilo, es suspendida o disuelta en un medio líquido, como por ejemplo un solvente orgánico o mezcla solvente-agua
25 orgánica, y expuesta a un material el cual es seleccionado para absorber tirosina de N-succinilo removiendo así la tirosina de N-succinilo de la sal.

Alternativamente, el proceso puede ser un proceso preparativo en el cual la sal del ácido clavulánico es
30 preparada bajo condiciones seleccionadas para minimizar la formación de tirosina de N-succinilo y/o su retención en la sal de producto del ácido clavulánico. Por ejemplo, la sal

del ácido clavulánico se puede preparar en un medio líquido, como por ejemplo un solvente orgánico, un medio acuoso, o una mezcla de un solvente orgánico, que contienen reactivos que remueven la tirosina de N-succinilo, o puede ser sometida a condiciones químicas o físicas que remuevan la tirosina de N-succinilo.

La sal del ácido clavulánico purificada o preparada en los anteriores procesos puede ser una sal de amina del ácido clavulánico, como por ejemplo cualquiera de las aminas citadas anteriormente, especialmente t-butilamina, y esta sal de amina puede ser subsecuentemente convertida en una sal farmacéuticamente aceptable de producto final del ácido clavulánico, tal como una sal de metal alcalino, como por ejemplo el clavulanato de potasio. Alternativamente, la sal puede ser una sal metálica del ácido clavulánico, por ejemplo una sal de metal alcalino del ácido clavulánico, particularmente el clavulanato de potasio.

Inesperadamente se ha descubierto además que el nivel de impurezas, tal como la tirosina de N-succinilo anteriormente mencionada, en una sal del ácido clavulánico se puede reducir si la sal es expuesta a un rango seleccionado de pH. Un objetivo de este invento es utilizar este descubrimiento en el aprovisionamiento de procesos mejorados para la preparación de tales sales farmacéuticamente aceptables.

Según este invento se suministra un proceso que comprende la exposición de una sal del ácido clavulánico a un medio líquido con un pH menor a 6.5, preferiblemente 6.0 o menor, más preferiblemente a un pH de 5.5 o menor, más preferiblemente un pH de 5.0 o menor, más preferiblemente un pH mayor a 3.5, como por ejemplo un pH 3.5-5.5, típicamente un pH de 4.5. El término "pH", como se utiliza en la presente, incluye el uso convencional del término pH como el

20
27
logaritmo del número recíproco de la concentración de iones de hidrógeno. El término "pH", como se utiliza en la presente, incluye el pH observado, es decir, el pH medido mediante la exposición del medio a un medidor de pH

5 convencional de tipo conocido, apropiadamente calibrado mediante métodos conocidos. Normalmente, los medios utilizados en el proceso de este invento contendrán cierta cantidad de agua.

10 El tratamiento de la sal de esta manera en el proceso del invento puede reducir el nivel de una o más impurezas, particularmente de tirosina de N-succinilo, en la sal o en sales adicionales del ácido clavulánico, como por ejemplo una sal farmacéuticamente aceptable preparada a partir de la sal.

15 En una primera forma del proceso de este invento, la sal puede ser lavada con el medio, es decir, un medio de lavado a un pH menor a 6.5, preferiblemente a un pH de 5.5 o menor. La sal puede ser una sal de amina del ácido clavulánico, como por ejemplo cualquiera de las aminas citadas anteriormente, especialmente t-butilamina, y esta sal de amina puede ser
20 lavada con el medio de lavado, y luego, de manera opcional, la sal de amina se puede subsecuentemente convertir en una sal farmacéuticamente aceptable de producto final del ácido clavulánico, tal como una sal de metal alcalino, como por ejemplo el clavulanato de potasio. Alternativamente, la sal,
25 la cual es lavada, puede ser una sal de metal del ácido clavulánico, por ejemplo una sal de metal alcalino del ácido clavulánico, particularmente el clavulanato de potasio.

El medio de lavado puede ser cualquier medio de lavado acuoso con tal pH, como por ejemplo agua acidificada o
30 preferiblemente una mezcla de agua y un solvente orgánico miscible en agua tal como el alcohol de C1-7 alquilo, el cual típicamente contiene entre 0.5-20% v:v de agua, a tal pH. El

medio de lavado acuoso apropiado, como por ejemplo agua o tal
mezcla de agua y un solvente orgánico miscible en agua, puede
ser acidificado con ácido mineral, tal como el ácido
sulfúrico, clorhídrico o nítrico, o un ácido orgánico como
5 por ejemplo el ácido carboxílico o un ácido C1-7 alcanóico
como el ácido acético.

Por lo tanto esta primera forma del proceso puede ser un
proceso en el cual una sal de inicio del ácido clavulánico es
suministrada conteniendo una o más impurezas tal como
10 tirosina de N-succinilo, y la sal es lavada con el medio de
lavado, para producir de esta forma una sal de producto del
ácido clavulánico en la cual el nivel de una o más impurezas
es mínimo.

Por lo tanto, esta primera forma del proceso puede ser
15 un proceso en el cual una o más impurezas tal como tirosina
de N-succinilo es removida de la sal de inicio del ácido
clavulánico, lavando la sal de inicio del ácido clavulánico
con el medio de lavado.

En la segunda forma del proceso de este invento la sal
20 puede ser recrystalizada a partir del medio a un pH menor a
6.5. Por ejemplo, una sal de amina puede ser recrystalizada
desde tal medio de recrystalización, luego puede ser
subsecuentemente convertida en una sal farmacéuticamente
aceptable de producto final del ácido clavulánico, tal como
25 una sal de metal alcalino, como por ejemplo clavulanato de
potasio mediante métodos conocidos tales como aquellos
citados anteriormente, como por ejemplo la reacción con 2-
etil-hexanoato de potasio.

De manera apropiada, en este proceso de
30 recrystalización, la sal, como por ejemplo una sal de amina,
puede ser disuelta en un medio acuoso, como por ejemplo agua
acidificada o una mezcla de agua y un solvente orgánico

miscible en agua tal como un alcohol de C1-7 alquilo.

Preferiblemente, la concentración de solución es alta, por ejemplo entre 10 y 40% o más, pero no parece haber un límite superior teórico. El medio acuoso puede inicialmente tener

5 un pH menor a 6.5, o el pH puede ser ajustado cuando la solución acuosa se haya preparado; por ejemplo, la solución acuosa puede ser acidificada con un ácido, apropiadamente un ácido mineral, tal como el ácido sulfúrico, clorhídrico o nítrico, un ácido orgánico como el ácido carboxílico, o un
10 ácido alcanóico C1-7 tal como el ácido acético. Se prefiere un pH de aproximadamente 5.5 o menor.

La sal, como por ejemplo una sal de amina, puede ser luego aislada de la solución acuosa. Esto se puede lograr, por ejemplo, mediante cristalización al mezclar la solución,
15 como por ejemplo una solución acuosa, con un solvente precipitante, tal como una cetona miscible en agua. Las cetonas apropiadas incluyen cetonas alifáticas, como por ejemplo di-C1-7 alquil cetona, siendo la acetona la preferida. Los solvatos de sales de clavulanato de amina con
20 tales cetonas son conocidos y una sal de amina se puede precipitar como un solvato de cetona. Por ejemplo, la solución se puede diluir con un exceso, por ejemplo, exceso entre 5-50 veces el solvente precipitante, como por ejemplo de una cetona. El enfriamiento de la solución diluida puede
25 ayudar a mejorar el rendimiento de la precipitación de cristales de la sal de amina; por ejemplo, como un solvato, el cual puede ser aislado.

Esta segunda forma del proceso por lo tanto, puede ser un proceso en el cual una sal de inicio del ácido clavulánico
30 es suministrada la cual contiene una o más impurezas tal como la tirosina de N-succinilo, y la sal es recrystalizada en el medio de recrystalización, produciendo así una sal de

producto del ácido clavulánico en la cual el nivel de una o más impurezas es menor.

Esta segunda forma del proceso por lo tanto puede ser un proceso en el cual una o más impurezas son retiradas de una sal de inicio del ácido clavulánico, mediante
5 recristalización de la sal de inicio del ácido clavulánico desde el medio de recristalización.

Una tercera forma del proceso puede ser un proceso preparativo en el cual la sal del ácido clavulánico es
10 preparada en un medio líquido a un pH menor a 6.5. Por ejemplo, esta tercera forma del proceso puede comprender un proceso en el cual una sal de amina del ácido clavulánico es preparada haciendo reaccionar el ácido clavulánico con una amina en un medio líquido a un pH menor a 6.5. Esta tercera
15 forma del proceso puede ser utilizada para preparar sales de amina del ácido clavulánico que contengan un nivel inferior de impurezas tal como la tirosina de N-succinilo que ocurren en sales de amina del ácido clavulánico preparadas mediante métodos alternativos o del estado de la técnica anterior.

20 En una realización preferida de esta tercera forma del proceso, la reacción es realizada en un sistema de dos fases, con una fase solvente orgánica conteniendo el ácido clavulánico, y una fase acuosa en la cual la sal de amina es extraída y la cual tiene un pH de 6.5 o menor. Por lo tanto,
25 la fase acuosa puede comprender una solución acuosa o suspensión de la amina, especialmente una solución acuosa o suspensión de t-butilamina. La fase solvente orgánica preferiblemente es sustancialmente no miscible en agua, es decir, aunque puede ocurrir cierto mezclado de solvente con
30 agua, se forman dos fases sobre la mayor parte del diagrama de fase.

Por ejemplo, se puede establecer un sistema de dos

~~X~~

fases, comprendiendo una fase solvente orgánica que contiene el ácido clavulánico disuelto, y una fase acuosa separada, y la amina orgánica puede ser introducida en este sistema de dos fases, por ejemplo, inyectada en la fase acuosa, en

5 condiciones apropiadas de mezclado, como por ejemplo mediante agitación o turbulencia, de manera que la sal de amina es extraída en la fase acuosa a medida que es formada.

Típicamente, la fase acuosa puede tener una concentración de 5-100 g/L, por ejemplo 10-40 g/L de ácido clavulánico, por
10 ejemplo, aproximadamente, 30 g/L. Solventes apropiados para la fase orgánica incluyen ésteres de C1-7-alquil-C1-7 alcanoato sustancialmente no miscibles en agua, tal como el acetato de etilo y acetato de t-butilo, y di-C1-7 alquil cetonas tal como la metilisobutilcetona. Se prefiere una
15 temperatura de aproximadamente 0 a 5°C para esta reacción.

Apropiadamente, la fase solvente orgánica puede ser el producto de una extracción mediante el solvente orgánico de un caldo de fermentación opcionalmente pre-purificado, por ejemplo, filtrado y tratado con carbón en el cual el ácido
20 clavulánico se ha formado.

Apropiadamente, la fase acuosa puede ser suministrada mediante retroextracción desde la fase solvente orgánica mediante un ciclo de extracción circulante de manera que una alta concentración de la sal de amina se pueda acumular en la
25 fase acuosa. La fase acuosa se puede concentrar a una alta concentración, como por ejemplo un 25% por peso o más; por ejemplo, mediante la circulación del ciclo de extracción durante un tiempo apropiado.

Generalmente, cuando el ácido clavulánico es extraído de
30 un caldo acuoso para formar tal fase de extracción orgánica, el caldo es acidificado a un pH menor a 2.0. La adición controlada de la amina orgánica en el sistema de dos fases

anteriormente descrito se puede utilizar para ajustar el pH de la fase acuosa, el cual puede ser monitoreado en línea. Un pH preferido nuevamente está por debajo de 5.5.

28

La sal de amina puede luego ser aislada de la fase acuosa. Esto se puede lograr, por ejemplo, mediante cristalización al mezclar la solución acuosa con un solvente precipitante, tal como una cetona miscible en agua como se describió anteriormente, y esta cristalización se puede realizar de manera análoga al proceso de recristalización descrito anteriormente.

Una cuarta forma del proceso del invento puede ser un proceso preparativo en el cual una sal de metal del ácido clavulánico es formada como un producto, mediante la reacción entre una sal de amina del ácido clavulánico y un compuesto precursor de la sal metálica, en un medio líquido a un pH menor a 6.5. Esta cuarta forma del proceso se puede utilizar para preparar sales metálicas del ácido clavulánico que contengan un nivel menor de impurezas tal como la tirosina de N-succinilo en comparación con las ocurridas en sales de metal del ácido clavulánico preparadas mediante métodos alternativos o del estado de la técnica anterior.

Las sales metálicas de producto preferidas del ácido clavulánico, las cuales se pueden preparar en esta cuarta forma del proceso, son sales de metales alcalinos y metales alcalinotérreos, particularmente el clavulanato de potasio.

Esta cuarta forma del proceso del invento parece ser apropiada para utilizarse con todos los compuestos precursores de sales metálicas los cuales se pueden convertir en una sal farmacéuticamente aceptable del ácido clavulánico mediante reacción con una sal de amina del ácido clavulánico. Las clases generales de compuestos precursores de sales metálicas apropiadas incluyen sales de cationes de metales

alcalinos y cationes de metales alcalinotérreos con
contraaniones los cuales incluyen aniones básicos, tales como
el carbonato de hidrógeno, carbonato o fosfato de hidrógeno,
y en particular, aniones de ácidos carboxílicos orgánicos
5 débiles, tales como los ácidos alcanóicos de la fórmula R-
CO₂H donde R es C1-20 alquilo, por ejemplo el C1-8 alquilo,
como por ejemplo sales del ácido acético, propiónico y etil-
hexanóico, tales como el ácido 2-etil-hexanóico. Algunos
ejemplos de compuestos precursores en estas clases generales
10 incluyen, carbonato de hidrógeno sódico o potásico, fosfato
de hidrógeno potásico y carbonato de calcio. Un compuesto
precursor de sal metálica preferido para el clavulanato de
potasio es el 2-etilhexanoato de potasio.

La reacción de esta cuarta forma del proceso de este
15 invento, es preferiblemente realizada con la sal de amina en
solución o suspensión en una mezcla de agua y un solvente
orgánico miscible en agua, como por ejemplo un alcohol de C1-
8 alquilo o una mezcla de tal alcohol con agua, como por
ejemplo una mezcla de isopropanol y agua. Las proporciones
20 apropiadas para tal mezcla solvente : agua para adaptarse a
requerimientos particulares, se pueden determinar
experimentalmente, por ejemplo, una mezcla de solvente : agua
que contiene entre 1 -10% v:v de agua; por ejemplo,
aproximadamente entre 1 - 5% v:v de agua. La sal de amina se
25 puede disolver en tal solvente el cual puede tener un pH de
6.0 o menor, o se puede ajustar el pH mediante adición de un
ácido apropiado, como por ejemplo un ácido mineral o ácido
orgánico como descrito anteriormente. La sal de amina puede
apropiadamente estar presente en una concentración de
30 solución entre 0.1 - 1.0M, por ejemplo. aproximadamente 0.5 M
en fracción de clavulanato. Un pH preferido es de 5.5 o
menor, por ejemplo un pH entre 5.5 y 5.0.

Aunque mezclar la sal de amina y el compuesto precursor en cualquier orden está contemplado por el invento, el precursor de sal metálica preferiblemente se agrega a una solución de la sal de amina. El precursor se puede agregar
5 como una solución, como por ejemplo en un alcohol; por ejemplo, una solución de isopropanol. Una concentración de solución apropiada para esta solución de compuesto precursor oscila entre 0.5 y 3.5M, por ejemplo, aproximadamente 2M. Se prefiere la adición lenta de la solución de precursor,
10 preferiblemente con agitación y preferiblemente enfriada después de la adición a una temperatura por debajo de la temperatura ambiente, por ejemplo entre 0 y 5°C.

La sal de metal de producto del ácido clavulánico se puede formar como un precipitado a partir de la solución. La
15 precipitación de la sal de metal de producto del ácido clavulánico a partir de la solución puede ser promovida mezclando la solución con un solvente precipitante, como por ejemplo el isopropanol, como se describió anteriormente. El producto sólido se puede aislar del medio de reacción por
20 ejemplo mediante filtración y lavado del producto.

En cada uno de los anteriores procesos, el pH del medio definido anteriormente puede resultar en la reducción de la cantidad de una o más impurezas tal como la tirosina de N-succinilo en el producto con relación a los procesos análogos
25 con pH superior.

Estos procesos del invento pueden comprender una parte de un proceso general para la preparación de clavulanato de potasio a partir del ácido clavulánico crudo, por ejemplo como aquel que se forma en un caldo de fermentación, en el
30 cual una sal de amina se utiliza como un intermedio.

Este proceso general puede involucrar los pasos de (i) fermentación de un microorganismo el cual produce un caldo

20
X

acuoso que contiene ácido clavulánico, (ii) extracción del ácido clavulánico en un solvente orgánico, (iii) conversión del ácido clavulánico en sal de amina del ácido clavulánico, (iv) exposición de la sal de amina a un pH de 6.0 o menor, 5 particularmente 5.5 o menor, (v) conversión de la sal de amina en clavulanato de potasio. Los procesos de lavado y/o recristalización del invento pueden, por ejemplo, ser aplicados a las sales del ácido clavulánico preparadas como productos de uno u otro o ambos pasos (iii) y/o (v). Los 10 procesos preparativos del invento, por ejemplo, se pueden aplicar a cualquiera o ambos pasos de preparación (iii) y/o (v), como se describió anteriormente.

En los procesos de este invento, los cuales involucran una sal metálica farmacéuticamente aceptable del ácido 15 clavulánico, una sal preferida es el clavulanato de potasio. Esta sal se puede preparar en una reacción conocida (ver por ejemplo la EP-A-0-026 044, incluida en la presente como referencia), mediante reacción de t-butilamina con el ácido clavulánico, y fácilmente aislado como solvato de acetona. 20 Tanto la sal de t-butilamina como su solvato de acetona pueden ser fácilmente convertidos en sales farmacéuticamente aceptables del ácido clavulánico, por ejemplo el clavulanato de potasio, como se divulga en la EP 0026044A. Sin embargo, los procesos del invento parecen, en principio, ser 25 aplicables a todas aquellas sales de amina las cuales son conocidas por ser utilizables como intermedios en la conversión del ácido clavulánico en una sal farmacéuticamente aceptable, tal como el clavulanato de potasio. Consecuentemente, estos procesos del invento parecen, en 30 principio, ser efectivos con todas estas aminas.

Ejemplos de tales aminas, y las correspondientes sales de amina son divulgadas, por ejemplo, en las publicaciones

24

citadas anteriormente, e incluyen, por ejemplo, sales de policlavulanato (por ejemplo, di-) amina, si la amina tiene más de una fracción de amina. Otras sales de amina apropiadas, incluyen aquellas citadas en las publicaciones

- 5 mencionadas anteriormente, como por ejemplo la t-octilamina, dietilamina, tri-(alquilo menor)aminas, dimetilanilina, N,N'-diisopropil-etilendiamina, diaminas terciarias tales como N,N,N',N'-tetrametil-1,2-diaminoetano, N,N,N',N'-tetrametil-1,6-diaminohexano, 1,2-dipepiridinoetano y
- 10 dipiperidinometano, diaminoéteres tales como bis (2-dimetilaminoetil)éter, benzhidrilaminas, N,N'-alquiletileno-diaminas, tales como N,N'-diisopropiletileno diamina, N,N'-dietileno- diamina, N,N'-dibenciletileno diamina, N,N,N',N'-tetrametileno diamina, N,N,N',N'-tetrametiletileno diamina,
- 15 1,3-bis(di-metilamino)-2-propanol, benzhidrilamina y bis(2-di-metilamino)etil)éter, y diisopropiletileno diamina.

- El presente invento además suministra una sal de amina producto del ácido clavulánico como producto de cualquiera de los procesos anteriormente descritos, particularmente el
- 20 clavulanato de t-butilamina.

El presente invento además suministra una sal metálica farmacéuticamente aceptable de producto del ácido clavulánico como un producto de cualquiera de los procesos anteriormente descritos, particularmente el clavulanato de potasio.

- 25 Estos productos se caracterizan por niveles de impureza, particularmente de la tirosina de N-succinilo, los cuales son menores que aquellos obtenidos a través de procesos conocidos, particularmente procesos correspondientes los cuales son llevados a cabo en un medio a un pH superior al
- 30 definido.

El invento ahora será descrito por medio de ejemplo solamente.

30
27

Los ejemplos 1, 2 y 3 son expresados en términos de la reducción de la cantidad total de impurezas en la sal de producto del ácido clavulánico, y los Ejemplos 4, 5 y 6 son expresados en términos de la reducción de la impureza específica de tirosina de N-succinilo.

Ejemplo 1: acidificación de sal de amina durante cristalización de sal de amina.

30 g de sal de clavulanato de t-butilamina ("t-BA") se disolvió en agua para obtener una solución de pfa (*pure free acid*, en inglés) al 30% (es decir calculado como "ácido libre puro", es decir fracción de ácido clavulánico por peso:volumen). El pH de la solución fue medido y acidificado para lograr un pH de 4.5 con aproximadamente 1.1 ml de ácido sulfúrico al 50% o ácido nítrico concentrado. Se agregó un volumen 5x de acetona y la mezcla se agitó durante 15 minutos. Se agregó acetona adicional durante 20 minutos hasta lograr 35x el volumen acuoso. Durante todo el proceso, la solución de sal de amina se mantuvo a temperatura ambiente.

La sal de t-BA de producto se cristalizó y se enfrió a 5°C durante 60 minutos y se recolectó por filtración. El producto fue lavado con 600ml de acetona, antes del secado durante 12 horas al vacío. Este procedimiento se repitió con pH "natural" sin adición de ácido, es decir, aproximadamente un pH de 7.5. La sal de t-BA obtenida utilizando estos procedimientos fue luego convertida en clavulanato de potasio de producto utilizando un método conocido, y los niveles de impurezas totales en el clavulanato de potasio preparado utilizando las muestras de la sal t-BA se midieron como sigue:

<u>pH de Cristalización de</u>	<u>Porcentaje de Impurezas</u>
--------------------------------	--------------------------------

<u>solución de t-BA</u>	<u>Totales en clavulanato de potasio</u>
pH Natural (pH 7.0 - 7.5)	2.03
pH 4.5	0.03

Ejemplo 2: Preparación de sal de clavulanato de amina a partir del ácido clavulánico y amina bajo condiciones ácidas.

100L de concentrado acuoso de ácido clavulánico (20-40 g/L) proveniente del caldo de fermentación concentrado filtrado fue extraído por solvente a un pH de 1.5 en metilisobutilcetona ("MIBK"). La MIBK rica en ácido clavulánico fue tratada con carbón (17L) y retroextraída en agua la cual se ajustó a un pH de 4.5 mediante inyección controlada de una solución de MIBK al 50% de t-BA. Al controlar la tasa de adición de t-BA, se modificó el pH de la fase acuosa, y un pH de 4.5 y un pH de 5.4 se utilizaron en experimentos separados. Una vez que la solución de retroextracción acuosa alcanzó una concentración de cristalización apropiada, se cristalizó una alícuota de 100 ml mediante adición de 35 volúmenes de acetona y el producto precipitado se aisló como en el Ejemplo 1 anterior. La subsecuente amina cristalizada se convirtió en sal de potasio y se analizaron los niveles de impurezas totales. Esto se repitió luego a un pH de fase acuosa de 5.4. Utilizando un pH de 4.5, el nivel de impurezas totales en el clavulanato de potasio se redujo en 50% con relación al nivel con pH de 5.4.

Ejemplo 3. Conversión de una sal de amina en clavulanato de potasio.

25g de clavulanato de t-BA se disolvió en una mezcla de isopropanol (81ml) y agua destilada (10ml), y el pH se redujo



a 6.8 con ácido acético glacial. Con agitación se agregó 145 ml de isopropanol y 59.5 ml de 2-etilbexanoato de potasio (1.92N) disuelto en isopropanol por goteo durante 20 minutos. La pasta aguada formada fue agitada durante 120 minutos en un
5 baño de hielo a 0-5°C y filtrada. La torta de clavulanato de potasio fue lavada con acetona (120 ml y 200 ml) y secada al vacío con un drenaje de nitrógeno. Alterando el volumen del ácido acético glacial agregado, se varió el pH de la
10 solución. Los resultados que indican el efecto sobre la cantidad de impurezas totales en el clavulanato de potasio ("Kclav") y rendimiento total de clavulanato de potasio son mostrados en la siguiente tabla.

<u>pH de disolución</u>	<u>% de impurezas totales en Kclav</u>
6.8	0.87
6.5	0.92
6.0	0.63
5.5	0.57
5.0	0.13
5.0*	0.11

15 * El volumen de agua se redujo para compensar el volumen adicional de ácido acético utilizado.

Los experimentos descritos en el Ejemplo 3 anterior fueron repetidos utilizando otros ácidos diferentes al ácido acético para lograr el pH especificado; por ejemplo se
20 utilizó ácido clorhídrico con resultados similares.

Ejemplo 4: Acidificación de sal de amina durante cristalización de sal de amina.

30 g de sal de clavulanato de t-butilamina ("t-BA") se

X

disolvió en agua para obtener una solución de pfa (*pure free acid*, en inglés) al 30% (es decir calculado como "ácido libre puro", es decir fracción de ácido clavulánico por

peso:volumen). El pH de la solución fue medido y acidificado para lograr un pH de 4.5 con aproximadamente 1.1 ml de ácido sulfúrico al 50% o ácido nítrico concentrado. Se agregó un volumen 5x de acetona y la mezcla se agitó durante 15 minutos.

Se agregó acetona adicional durante 20 minutos hasta lograr 35x el volumen acuoso. Durante todo el proceso, la solución de sal de amina se mantuvo a temperatura ambiente.

La sal de t-BA de producto se cristalizó y se enfrió a 5°C durante 60 minutos y se recolectó por filtración. El producto fue lavado con 600ml de acetona, antes del secado durante 12 horas al vacío. Este procedimiento se repitió con pH

"natural" sin adición de ácido, es decir, aproximadamente un pH de 8.5. El nivel de tirosina de N-succinilo en la sal de t-BA obtenida utilizando estos procesos se midieron como sigue:

<u>pH de Cristalización de solución de t-BA</u>	<u>% de tirosina de N-succinilo en clavulanato de t-BA</u>
pH Natural (pH 8.5)	3.48
pH 4.5	0.03

Ejemplo 5: Preparación de sal de clavulanato de amina a partir del ácido clavulánico y amina bajo condiciones ácidas.

100L de concentrado acuoso de ácido clavulánico (20-40 g/L) proveniente del caldo de fermentación concentrado filtrado fue extraído por solvente a un pH de 1.5 en metilisobutilcetona ("MIBK"). La MIBK rica en ácido clavulánico fue tratada con carbón (17L) y retroextraída en agua la cual se ajustó a un pH de 4.5 mediante inyección controlada de una solución de MIBK al 50% de t-BA. Al

~~34~~

controlar la tasa de adición de t-BA, se modificó el pH de la fase acuosa, y un pH de 4.5 y un pH de 5.4 se utilizaron en experimentos separados. Una vez que la solución de retroextracción acuosa alcanzó una concentración de

5 cristalización apropiada, se cristalizó una alícuota de 100 ml mediante adición de 35 volúmenes de acetona y el producto precipitado se aisló como en el Ejemplo 1 anterior. La subsecuente amina cristalizada se convirtió en sal de potasio y se analizaron los niveles de tirosina de N-succinilo. Esto
10 se repitió luego a un pH de fase acuosa de 5.4. Utilizando un pH de 4.5, el nivel de tirosina de N-succinilo en el clavulanato de potasio se redujo 26 veces con relación al nivel a pH de 5.4.

15 **Ejemplo 6. Conversión de una sal de amina en clavulanato de potasio**

25g de clavulanato de t-BA se disolvió en una mezcla de isopropanol (81ml) y agua destilada (10ml), y el pH se redujo a 6.8 con ácido acético glacial. Con agitación se agregó
20 145 ml de isopropanol y 59.5 ml de 2-etilbexanoato de potasio (1.92N) disuelto en isopropanol por goteo durante 20 minutos. La pasta aguada formada fue agitada durante 120 minutos en un baño de hielo a 0-5°C y filtrada. La torta de clavulanato de potasio fue lavada con acetona (120 ml y 200 ml) y secada al
25 vacío con un drenaje de nitrógeno. Alterando el volumen del ácido acético glacial agregado, se varió el pH de la solución. Los resultados que indican el efecto sobre la cantidad de impureza de tirosina de N-succinilo en el clavulanato de potasio ("Kclav") y rendimiento total de
30 clavulanato de potasio son mostrados en la siguiente tabla.

35

<u>pH de disolución</u>	<u>% de tirosina de N-succinilo en Kclav</u>
6.8	0.62
6.5	0.65
6.0	0.44
5.5	0.40
5.0	0.04
5.0*	0.07

* El volumen de agua se redujo para compensar el volumen adicional de ácido acético utilizado.

Los experimentos descritos en el Ejemplo 6 anterior
 5 fueron repetidos utilizando otros ácidos diferentes al ácido acético para lograr el pH especificado; por ejemplo se utilizó ácido clorhídrico con resultados similares.

57

Reivindicaciones:

1. Un proceso que comprende la exposición de una sal del ácido clavulánico a un medio líquido con un pH menor a 6.5.
- 5 2. Un proceso según la reivindicación 1 en donde el pH está entre 3.5 - 5.5.
3. Un proceso según la reivindicación 1 o 2, en donde la sal es lavada con un medio de lavado a un pH de 6.0 o menor.
- 10 4. Un proceso según la reivindicación 3, en donde la sal es una sal de amina del ácido clavulánico.
- 15 5. Un proceso según la reivindicación 4, en donde la sal de amina es luego subsecuentemente convertida en una sal farmacéuticamente aceptable de producto final del ácido clavulánico.
- 20 6. Un proceso según la reivindicación 3, en donde la sal la cual es lavada es una sal de metal del ácido clavulánico.
- 25 7. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, en donde el medio de lavado es una mezcla de agua y un solvente orgánico miscible en agua a un pH de 6.0 o menor.
8. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 7, el cual comprende un proceso en el cual una sal de inicio del ácido clavulánico es suministrada conteniendo una o más impurezas, y la sal es lavada con el medio de lavado para producir de esta manera una sal de producto del ácido clavulánico en la cual el nivel de una o más impurezas es
- 30

menor.

37
8

9. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 8, el cual comprende un proceso en el cual una o más impurezas
5 es removida de la sal de inicio del ácido clavulánico mediante un lavado de la sal de inicio del ácido clavulánico con el medio de lavado.

10. Un proceso según la reivindicación 1 o 2, en donde la sal
10 del ácido clavulánico es recrystalizada a partir de un medio de recrystalización a un pH de 6.0 o menor.

11. Un proceso según la reivindicación 10, en donde la sal
del ácido clavulánico es una sal de amina del ácido
15 clavulánico.

12. Un proceso según la reivindicación 11, en donde la sal de amina es luego subsecuentemente convertida en una sal farmacéuticamente aceptable de producto final del ácido
20 clavulánico.

13. Un proceso según la reivindicación 10, 11 o 12, en donde la sal es disuelta en un medio acuoso a un pH de 6.0 o menor, o subsecuentemente ajustada a un pH 6.0 o menor, luego la sal
25 es aislada de la solución acuosa mediante cristalización al mezclar la solución con un solvente precipitante.

14. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, el cual comprende un proceso en el cual una sal de inicio
30 del ácido clavulánico es suministrada conteniendo una o más impurezas, y la sal es recrystalizada a partir del medio de recrystalización, para producir de esta manera una sal de

38
X

producto del ácido clavulánico en la cual el nivel de una o más impurezas es menor.

- 15 15. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 14, el cual comprende un proceso en el cual una o más impurezas son removidas de la sal de inicio del ácido clavulánico mediante recristalización de la sal de inicio del ácido clavulánico a partir del medio de recristalización.
- 10 16. Un proceso según la reivindicación 1 o 2, el cual comprende un proceso preparativo en el cual la sal del ácido clavulánico es preparada en un medio líquido a un pH de 6.0 o menor.
- 15 17. Un proceso según la reivindicación 16, que comprende la preparación de una sal de amina del ácido clavulánico mediante la reacción del ácido clavulánico con una amina en un medio líquido con pH de 6.0 o menor.
- 20 18. Un proceso según la reivindicación 18, realizado en un sistema de dos fases, con una fase solvente orgánica que contiene el ácido clavulánico, y una fase acuosa en la cual la sal de amina es extraída y la cual tiene un pH de 6.0 o menor.
- 25 19. Un proceso según la reivindicación 1 o 2, el cual comprende un proceso preparativo en el cual una sal de metal del ácido clavulánico es formada como producto mediante una reacción entre una sal de amina del ácido clavulánico y un compuesto precursor de sal metálica, en un medio líquido a un pH 6.0 o menor.
- 30

~~27~~

20. Un proceso según la reivindicación 19, en el cual se prepara clavulanato de potasio.

5 21. Un proceso según la reivindicación 19 o 20, realizado con la sal de amina en solución en una mezcla de agua y un solvente orgánico miscible en agua bien sea a un pH de 6.0 o menor, o subsecuentemente ajustada a este pH, y el precursor de sal metálica es agregado a esta solución de la sal de amina.

10

22. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, como parte de un proceso general para la preparación de clavulanato de potasio a partir de ácido clavulánico crudo formado en un caldo de fermentación.

15

23. Un proceso según la reivindicación 22, el cual que involucra los pasos de (i) fermentación de un microorganismo el cual produce un caldo acuoso que contiene ácido clavulánico, (ii) extracción del ácido clavulánico en un
20 solvente orgánico, (iii) conversión del ácido clavulánico en una sal de amina del ácido clavulánico, (iv) exposición de la sal de amina a un pH de 6.0 o menor, particularmente 5.5 o menor, (v) conversión de la sal de amina en clavulanato de potasio.

25

24. Una sal de amina producto del ácido clavulánico como producto de un proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18.

30

25. Clavulanato de potasio como un producto de un proceso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o 19 a 23.

26. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones 8, 9, 14, o 15 donde una de tales impurezas es la tirosina de N-succinilo.

40
~~32~~

5 27. Un proceso de purificación en el cual una sal del ácido clavulánico que contiene o se considera contaminada con tirosina de N-succinilo, es sometida a condiciones las cuales remueven la tirosina de N-succinilo.

10 28. Un proceso de purificación según la reivindicación 27, en donde la sal es expuesta a un medio líquido que contiene un reactivo el cual destruye la tirosina de N-succinilo.

15 29. Un proceso de purificación según la reivindicación 27, en donde la sal es expuesta a un reactivo el cual destruye la tirosina de N-succinilo, incorporado o absorbido sobre un sustrato sólido.

20 30. Un proceso de purificación en el cual la sal del ácido clavulánico, que contiene o se considera contaminada con tirosina de N-succinilo es suspendida o disuelta en un medio líquido y es expuesta a un material el cual absorbe la tirosina de N-succinilo y por lo tanto remueve la tirosina de N-succinilo de la sal.

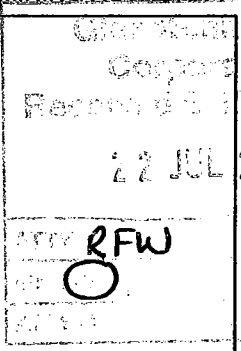
25 31. Un proceso preparativo en el cual una sal del ácido clavulánico es preparada bajo condiciones seleccionadas para minimizar la formación de tirosina de N-succinilo y/o su retención en la sal de producto del ácido clavulánico.

30 32. Un proceso según la reivindicación 31, en donde la sal del ácido clavulánico es preparada en un medio líquido que

PATENT COOPERATION TREATY

42
92

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

To: WALKER, Ralph Francis SMITHKLINE BEECHAM Corporate Intellectual Property (CN9.25.1) 980 Great West Road Brentford Middlesex TW8 9GS GRANDE BRETAGNE		PCT NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF THE INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT (PCT Rule 71.1)		
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 60%; padding: 2px 5px;">Date of mailing (day/month/year)</td> <td style="width: 40%; padding: 2px 5px;">19.07.2002</td> </tr> </table>			Date of mailing (day/month/year)	19.07.2002
Date of mailing (day/month/year)	19.07.2002			

Applicant's or agent's file reference RFW/P32575	IMPORTANT NOTIFICATION	
International application No. PCT/GB01/02025	International filing date (day/month/year) 09/05/2001	Priority date (day/month/year) 13/05/2000
Applicant SMITHKLINE BEECHAM P.L.C. et al.		

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary examination report and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.

4. REMINDER

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

For the purpose of deciding whether the claimed invention is patentable or not, the elected Offices may apply criteria additional to or different from the criteria on which the international preliminary examination report is based (see Articles 27(5), 33(5)). Additional criteria may include e.g. exemptions from patentability and the requirements of enabling disclosure and of clarity and support of claims.

Name and mailing address of the IPEA/  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Authorized officer MORANCHO, N Tel. +49 89 2399-2718
--	---



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference RFW/P32575	FOR FURTHER ACTION		See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
International application No. PCT/GB01/02025	International filing date (day/month/year) 09/05/2001	Priority date (day/month/year) 13/05/2000	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07D498/04			
Applicant SMITHKLINE BEECHAM P.L.C. et al.			

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

- ☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 18 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 25/10/2001	Date of completion of this report 19.07.2002
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Authorized officer Fritz, M Telephone No. +49 89 2399 2792 

44
45

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No. PCT/GB01/02025

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17):*

Description, pages:

1-14 as received on 25/06/2002 with letter of 24/06/2002

Claims, No.:

1-27 as received on 25/06/2002 with letter of 24/06/2002

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item. 3A

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
- ☐ the claims, Nos.:
- ☐ the drawings, sheets:

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)):

4T

7

25

is

- 2

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/GB01/02025

47
5

Re Item III

Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

Due to the absence of a search report, no opinion will be formulated with respect to novelty, inventive step and industrial applicability of the subject-matter of claims 22-27 (which are derived from claims 27-32 as originally filed).

Re Item V

Reasoned statement under Rule 66.2(a)(ii) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

- D1: WO 98 42858 A (CARDOSO JOAQUIM P ;CIPAN COMP IND PROD (PT)) 1 October 1998 (1998-10-01)
D2: EP-A-0 594 099 (PHARMA DEV LTD) 27 April 1994 (1994-04-27) cited in the application
D3: WO 98 23622 A (RENZL ALOIS ;SUMMER HARALD (AT); WAGNER HELMUT (AT); BIOCHEMIE GMB) 4 June 1998 (1998-06-04) cited in the application
D4: GB 1 508 977
D4: WO 98 21212 A (DEN HEUVEL ANTONIUS VAN ;BOOIJ JOHANNES (NL); GIST BROCADES BV (NL) 22 May 1998 (1998-05-22)

The present application relates to processes for the purification of salts of clavulanic acid (claims 1-21 and 22-27).

The purification of a salt of clavulanic acid by treatment thereof with an acid is disclosed in D1 (ex. 8-11) as well as in D2 (claim 1, ex. 1).

The process according to claim 1 of the present case is carried out at a pH of less than 6, while the reactions disclosed in ex. 8 and 10 of D1 are carried out at a pH of "around 6,5".

Salts of clavulanic acid are disclosed in e.g. D3 (ex. 4,5; octylamine salt) or D4 (ex. 7,8; potassium salt).

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/GB01/02025

48
2

The novelty of claims 1-21 can thus be acknowledged (Art. 33(2) PCT).

The problem of the present application was to provide a further purification process for a salt of clavulanic acid.

It has been disclosed in the present application that the essential feature of the process described therein is the treatment of an impure salt of clavulanic acid in a medium wherein a special pH range is maintained which is between the ranges disclosed in D1 and D2 (either pH 6.5, cf. ex. 8,10 of D1 or a pH, where only the free clavulanic acid is present; cf. ex. 9,11 of D1 and ex. 1 of D2).

Furthermore it was demonstrated in the description that the level of impurities can considerably be decreased when the pH is in this special chosen range; as this could not be expected, an inventive step in the sense of Article 33(3) PCT can be acknowledged for the subject-matter of claims 1-21.

Finally the following objection is raised:

The description was not adapted to the amended claims as requested by Article 6 PCT.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

onal Application No
PCT/GB 01/02025

49
75

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07D498/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 42858 A (CARDOSO JOAQUIM P ; CIPAN COMP IND PROD (PT)) 1 October 1998 (1998-10-01) examples 8-11	1-23,26
X	EP 0 594 099 A (PHARMA DEV LTD) 27 April 1994 (1994-04-27) cited in the application claim 1; example 1	1-24,26
X	WO 98 23622 A (RENZL ALOIS ; SUMMER HARALD (AT); WAGNER HELMUT (AT); BIOCHEMIE GMB) 4 June 1998 (1998-06-04) cited in the application examples 4,5	24
	— / —	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

1 August 2001

Date of mailing of the international search report

10/08/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fritz, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/GB 01/02025

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 21212 A (DEN HEUVEL ANTONIUS VAN ;BOOIJ JOHANNES (NL); GIST BROCADES BV (NL) 22 May 1998 (1998-05-22) examples 7,8	25

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 27-32

Claims 27-32 relate to a method of removing the impurity N-succinyl tyrosine from a salt of clavulanic acid; it is however not disclosed, how this is actually done. By consequence the subject-matter of these claims do not fulfil the requirements of Articles 5 and 6 PCT, and a meaningful search with regard to novelty, inventive step and industrial applicability cannot be carried out.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

In tional Application No

PCT/GB 01/02025

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9842858 A	01-10-1998	EP 0867515 A	30-09-1998
		AU 7038998 A	20-10-1998
		AT 187498 T	15-12-1999
		DE 69700903 D	13-01-2000
		DE 69700903 T	06-07-2000
		DK 867515 T	13-06-2000
		ES 2142641 T	16-04-2000
		GR 3032882 T	31-07-2000
		PT 867515 T	31-05-2000
		ZA 9802437 A	28-09-1998
EP 0594099 A	27-04-1994	AT 167677 T	15-07-1998
		AU 669212 B	30-05-1996
		AU 4900893 A	05-05-1994
		CA 2107928 A	22-04-1994
		CZ 9302211 A	18-05-1994
		DE 69319296 D	30-07-1998
		DE 69319296 T	05-11-1998
		DK 594099 T	15-02-1999
		ES 2118870 T	01-10-1998
		GR 3027699 T	30-11-1998
		HU 66020 A	29-08-1994
		JP 6197782 A	19-07-1994
		KR 200239 B	15-06-1999
		NZ 248917 A	28-08-1995
		PL 300747 A	16-05-1994
		SI 9300556 A	30-06-1994
		ZA 9307638 A	05-05-1994
WO 9823622 A	04-06-1998	AT 404728 B	25-02-1999
		AT 206296 A	15-06-1998
		AU 5556298 A	22-06-1998
		EP 0941229 A	15-09-1999
WO 9821212 A	22-05-1998	AU 5551698 A	03-06-1998
		BR 9713339 A	09-05-2000
		CN 1238776 A	15-12-1999
		EP 0937084 A	25-08-1999
		NO 992225 A	07-05-1999
		PL 333247 A	22-11-1999
		TR 9901631 T	21-09-1999

5657
56

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILITACION DEL TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION	()	()
MODELO DE UTILIDAD	()	()
- Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
- Descripción de la invención.	()	()
- Dibujos de se estos pertinentes.	()	()
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()

COMPLETA () **INCOMPLETA** ()

DISEÑO INDUSTRIAL ()

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	()	()
Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()

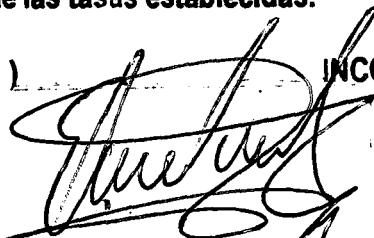
COMPLETA () **INCOMPLETA** ()

ESQUEMA DE TRAZADO ()

- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
Representación gráfica del esquema de trazado	()	()
Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()

COMPLETA () **INCOMPLETA** ()

Firma responsable:



SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Fecha:

Radicación : 02102450 00000000

Folios: 55

Fecha (AND): 2002-11-12 17:28:22

Trámite : 011 PCT-PATENT 373 FASE NACI 411 PRESENTAC