

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 933391 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **933391**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
C07D501/59
C07D 501/36 (2006.01)

(22) Tekemispäivä - Ingningsdag - Filing date **29.07.1993**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **29.07.1993**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **01.02.1994**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

31.07.1992 JP 4-204965

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • Shionogi & Co. Ltd, 1-8, Doshomachi 3-chome, Chuo-ku, Osaka 541, JAPANI, (JP)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • Takahashi, Hisanori, Japan, JAPANI, (JP)

2 • Ide, Yutaka, Japan, JAPANI, (JP)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Leitzinger Oy, High Tech Center, Tammasaarenkatu 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

Triatsolyylitiometyylitio-kefalosporiini-hydrokloridi, sen kiteytetty hydraatti sekä menetelmä niiden valmistamiseksi
Triazolylitiometyltio-cefalosporin-hydroklorid, dess kristalliserad hydrat samt förfarande för deras framställning

Menetelmä valmistaa antibakteerista triatsolyylitiometyyliiokefalosporiinihydrokloridia ja sen kiteistä hydraattia - Förfarade för framställning av antibakteriell triazolyliometyyliiokefalosporinhydroklorid och dess kristallina hydrat

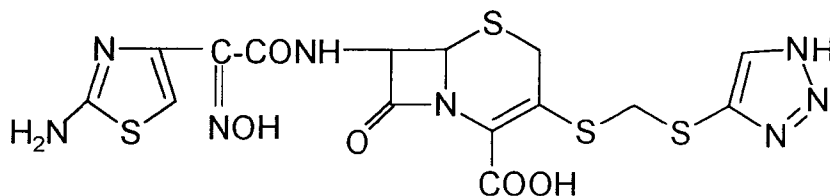
- 5 Tämä keksintö koskee menetelmää valmistaa uutta 7β-[(Z)-2-(2-amino-4-tiat-solyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-(1,2,3-triat-sol-4-yyli)tiometyyllitio-3-kefeemi-4-karboksyylihappohydrokloridia ja sen kiteistä hydraattia, joilla on voimakasta antibioottiaktiivisuutta ja ovat vähän toksisia ja farmaseuttisesti stabiileja.

10

Tämän keksinnön keksijät ovat kehittäneet ja kuvanneet oraalisesti tehokkaat kefalosporiinijohdannaiset, joissa on kefeemiytimen 3-asemassa tioalkyyli-tio-sivuketju, joka on substituoitu heterosyklisellä ryhmällä. (katso, US-patenttijul-kaisua 07/729,413, jätetty 12. heinäkuuta 1991; ja EPO-hakemusjulkaisua

- 15 0 467 647 A2). Näiden antibioottiyhdisteiden joukossa yhdisteellä, jossa on tioalkyyli-tiosivuketju, joka on substituoitu 1,2,3-triat-solyyliryhmällä, ts., 7β-[(Z)-2-(2-amino-4-tiat-solyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-(1,2,3-triat-sol-4-yyli)-tiometyyllitio-3-kefeemi-4-karboksyylihappo (sitä kutsutaan tämän jälkeen ni-mellä S-1090), joka on saatu vaaleankellertävänä jauheena, on huomattavan
- 20 voimakas antibakteriaallinen aktiivisuus, ja sen odotettiin olevan lupaava ehdo-kas antibioottiformulaatioiden aktiivisena valmistusaineena. S-1090:llä on seuraava kaava:

25



30

S-1090 ei kuitenkaan ollut riittävän stabiili formuloitavaksi lääketieteelliseksi koostumuksiksi. S-1090:n epästabiilisuuden voitiin katsoa johtuvan sen seu-raavista ominaisuuksista.

a) Yleensä S-1090 sisältää vettä hygroσκοoppisesta luonteesta johtuen. Ongelmana on, että vesipitoisuudella on taipumus vaihdella valmistusmenetelmän kuten jauhatuksen, formuloinnin ja vastaavien aikana, mistä seuraavat aktiivisen valmistusaineen pitoisuuden vaihtelut S-1090:tä sisältävissä farmaseutissa koostumuksissa. Tämä voi aiheuttaa laatukontrolliongelman ja tehdä tuotteen epäluotettavaksi laadun ylläpidon, aktiivisen valmistusaineen pitoisuuden ja tuotteiden tuotteiden käsittelyn suhteen.

b) Tavallisella menetelmällä valmistettu S-1090 on amorfista jauhetta, eikä se ole riittävän vesiliukoista vedestä uudelleenkiteytettäväksi, mikä tekee S-1090:n amorfisen jauheen sisältämien kontaminoivien aineiden poistamisen vaikeaksi.

c) Jopa kuivattu S-1090 sisältää jäännösluotinta, jonka poistaminen on vaikeaa farmaseuttisesti hyväksyttävässä laajuudessa.

Keksinnön keksijät ovat suorittaneet perinpohjaisen tutkimuksen saadakseen S-1090:n kliinisesti edullinen johdannaisia, jotka ovat farmaseuttisesti stabiileja ja sisältävät vain vähän tai mitättömän määrän kontaminoivaa liuotinta, ja ovat keksineet, että S-1090-hydrokloridilla ja sen kiteisellä hydraatilla on halutut ominaisuudet kuten alhainen toksisuus, hyvä liukoisuus veteen, farmaseuttinen stabiilisuus ja voimakas antibakteriaalinen aktiivisuus.

Siten tämä keksintö aikaansaa S-1090-hydrokloridin ja sen kiteisen hydraatin. Vimeksi mainitulla on röntgensädediffraktiokuvio, joka esitetään seuraavassa taulukossa 1 ja oheisessa kuviossa 1, ja differentiaalipyyhkäisykalorimetria-käyrä, joka esitetään oheisessa kuviossa 2.

Taulukko 1

	2θ intensiteetti		2θ intensiteetti		2θ intensiteetti		2θ intensiteetti	
	6,24	164	22,04	84	0,30	269	38,44	150
5	10,50	117	22,54	57	30,50	405	39,20	133
	10,94	1549	23,16	1461	30,74	271	39,96	214
	12,22	997	23,74	379	31,04	74	43,06	222
	12,54	687	24,32	432	31,80	317	44,24	104
	14,10	1057	24,54	504	31,92	347	45,02	81
10	16,38	209	25,30	259	32,56	58	45,38	68
	17,90	155	25,94	521	32,98	105	45,68	94
	18,74	381	26,14	947	33,36	458	47,20	63
	18,94	462	26,44	422	33,76	231	48,18	65
	20,04	160	27,46	362	34,44	99	55,54	67
15	20,74	217	28,02	204	35,52	119		
	21,12	2052	28,20	253	35,80	188		
	21,36	478	29,08	179	37,38	187		
	21,68	315	29,50	104	37,70	127		

- 20 mittausolosuhteet: Putki; Cu; Jännite, 40 kV; Virta, 20 mA;
näytteenottokulma 0,02°.

Röntgensädediffraktiotiedoissa 2θ-arvo vaihtelee riippuen kidehilan rakenteesta riippuen, ja huippuintensiteetti vaihtelee riippuen suunnasta mihin kide kehittyy, ja kiteytymisasteesta. Tekniikan tasolla on hyvin ymmärrettyä, ettei intensiteetin vaihtelu merkitse ainoastaan kidehilan rakenteen muutosta.

- 30 Keksinnön mukaisen S-1090-hydrokloridin kiteinen hydraatti on stabiili yhdistyneen veden ylläpitämiseksi, osoittaen vesipitoisuutta, joka vastaa 1 - 2 hydraattia laajoilla kuivausolosuhteiden alueella, kuten esitetään kokeellisessa osassa alla. Tyypillisesti se pysyy stabiilina kiteisenä hydraattina, jonka vesipitoisuusaste vastaa hydraattilukua noin 1,1 - noin 1,3. Vaikka siitä voidaan poistaa yhdistynyt vesi ja muuttaa vedettömään kidemuotoon kuivaamalla

alhaisessa kosteudessa ja/tai korkeassa lämpötilassa, niin tulokseksi saadut vedettömät kiteet absorboivat tehostetulle kosteudelle altistettaessa nopeasti vettä kunnes ne saavuttavat stabiilin hydraattimuodon, jonka vesipitoisuus aste vastaa hydraattilukua noin 1,2 - 1,3, tai määrätyissä olosuhteissa jopa 1,8, jopa jos ne sijoitetaan ilmakehään.

Ammattimies ymmärtää yleisesti, että triatsolyylirenkaan asema, jolla triatsolyyliryhmä, osa 3-asetasivuketjua, sitoutuu rikkiatomiin, vaihtelee "4"- ja "5"-asemien välillä riippuen vetyatomien asemasta renkaassa, ja että vain vähäiset olosuhteiden vaihtelut vaikuttavat vetyatomien sidosaseman osuuteen renkaassa, ja osuus on muutettavissa. Niinpä tässä kuvatun keksinnön tarkoituksiin tämä keksintö sisältää S-1090-hydrokloridin tai sen kiteisen hydraatin jommasa kummassa muodossa, jolloin rikkiatomiin liittynyt triatsolyylisubstituentti on triatsolyylirenkaan 4- tai 5-asemassa.

15

Kuviossa 1 esitetään S-1090-hydrokloridin kiteisen hydraatin röntgensäde diffraktiokuvio, jossa intensiteetti esitetään ordinaatalla laskettujen signaalien lukumääränä ja 2θ -arvo akselilla. Mittausolosuhteet ovat: putki, Cu; jännite, 40 kV; virta, 20 mA; ja näytteenottokulma, $0,02^\circ$.

20

Kuviossa 2 esitetään S-1090-hydrokloridin kiteisen hydraatin differentiaali-pyyhkäisykarolimetrikäyrä, jossa lämpövirta kuvataan ordinaatalla yksikössä milliwattia (mW) ja lämpötila akselilla. Kuvioista 2 ilmenee, että lämpöabsorptiota tapahtuu noin 70°C - noin 120°C :ssa maksimin ollessa noin 105°C :ssa, johtuen luultavasti keksinnön mukaisen kiteisen hydraatin sisältämän veden haihtumislämmöstä.

25

Keksinnön mukainen S-1090-hydrokloridituotteen kiteinen hydraatti on erityisen käyttökelpoinen kliinisessä käytössä, koska se sisältää vain farmaseuttisesti hyväksyttävän määrän liuotinta ja sillä on vähäinen toksisuus, ja sen laatu on stabiili.

30

Menettelytavat S-1090-hydrokloridin tai sen kiteisen hydraatin valmistamiseksi kuvataan yksityiskohtaisesti tässä alla, mitä ei millään lailla tarkoiteta keksinnön suoja-alan rajoittamiseksi.

- 5 Lähtöaineyhdiste, 7β-[(Z)-2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-(1,2,3-triatsol-4-yyli)tiometyylitio-3-kefeemi-4-karboksyylihappo, voidaan valmistaa käyttämällä mitä hyvänsä kefalosporiinikemiassa tunnetuista menetelmistä, esimerkiksi neutraloimalla S-1090:n natriumsuolaa tavalla, joka kuvataan yhdessä haetussa US-patenttihakemuksessa 07/729413 (jätetty 12. heinäkuuta 1991) (erityisesti esimerkissä 7 (5)).

- 15 S-1090:n hydrokloridi voidaan valmistaa, kuten tavanomaisesti, vain saattamalla S-1090:n reagoimaan suolahapon kanssa. S-1090-hydrokloridin kiteinen hydraatti voidaan valmistaa kiteyttämällä S-1090:tä S-1090:n vesiliuoksesta, joka on säädetty keksinnön mukaisella menetelmällä happamaan pH-arvoon suolahapolla.

- 20 S-1090:tä, joka on valmistettu aikaisemmin millä hyvänsä sopivista menetelmistä, käsitellään edullisesti noin yhdellä tai useammalla ekvivalentilla suolahappoa, edullisemmin riittävällä määrällä pH-arvon säätämiseksi arvoon noin 0,1 - 5, lämpötilassa noin 0 - 50°C, edullisesti noin 5 - 30°C ajan noin 1 - 60 min, edullisesti noin 10 - 30 min, jolloin saadaan S-1090:n hydrokloridi.

- 25 S-1090-hydrokloridin kiteinen hydraatti voidaan valmistaa kiteyttämällä S-1090:tä vesiliuoksesta tai -suspensiosta, joka on säädetty happamaan pH-arvoon suolahapolla, edullisesti siemenkiteiden raakaan S-1090-hydrokloridiin lisäämisen jälkeen. Kiteytys voidaan mukavasti suorittaa jonkin verran korkeamman suolahappokonsentraation läsnä ollessa. Erityisesti liuoksen tai suspension pH-arvo voi edullisesti olla noin 0 - noin 5, edullisemmin noin 0 - noin 3. Vaikka kiteytys voidaan suorittaa vedessä ainoana liuottimena, voi veden ja yhden tai usean muun orgaanisen liuottimen seos olla edullinen määrättyissä tapauksissa. Tällainen liuotin, jota voidaan käyttää keksinnön mukai-

sessä menetelmässä, voi olla tyypillisiä teollisuusliuottimia, esimerkiksi alempia alkoholeja, ketoneja, nitrilejä, estereitä ja vastaavia.

5 Kiteytys suoritetaan yleensä lämpötilassa välillä noin 0 - noin 90°C, edullisesti noin 30 - noin 50°C. Näissä olosuhteissa kideäiset tuotteet saostuvat ajassa noin 10 min - noin 20 tuntia, edullisesti noin 1 - noin 6 tuntia, vaikka saostumisen loppuun etenemiseen vaadittu aika vaihtelee liuottimen ainesosista riip-
puen.

10 Tulokseksi saatu S-1090-hydrokloridi tai sen kiteinen hydraatti voidaan kuivata käyttämällä tavanomaisia olosuhteita kuten korotettua -, huoneen- tai alennettua lämpötilaa; korotettua -, ilmakehän- tai alennettua painetta; paineistettua ilmaa, jolloin mainittu ilma on mahdollisesti lämmitetty; kuivausainetta kosteuden poistamiseksi; ja/tai leijupetikuivausta. Olisi huomautettava, että kiteisen
15 hydraattituotteen tapauksessa on valittava sopivat kuivausolosuhteet, ettei molekyyli menetä vettä. Kuten edellä mainittiin, vedetön S-1090-hydrokloridi voidaan muuttaa kiteiseksi hydraattituotteeksi veden uudelleenabsorptiolla vain sijoittamalla sen sopiviin korotetun kosteuden olosuhteisiin, esimerkiksi lämpötilaan välillä noin 10 - 30°C ja kosteuteen välillä noin 50 - 90 % riittäväksi
20 ajaksi veden uudelleenabsorption aikaansaamiseksi.

Tulokseksi saatu S-1090-hydrokloridi tai S-1090-hydrokloridin kiteinen hydraatti säilyttää liittyneen veden erilaisissa olosuhteissa, kuten taulukossa 2 alla esitetään, mikä osoittaa, että keksinnön mukaiset S-1090-johdannaiset ovat
25 riittävän stabiileja formuloitavaksi farmaseuttisiksi koostumuksiksi ja antavat lopulliselle tuotteelle luotettavan laadun.

S-1090-hydrokloridi tai sen kiteinen hydraatti, annettaessa kohteelle, voi muuttua samaksi aktiiviseksi muodoksi kuin alkuperäinen S-1090 in vivo ja aikaan-
30 saada voimakkaan antibakteriaalisen aktiivisuuden, kuten kokeellisesti esitetään US-patenttihakemuksessa 07/729,413. Siten in vitro-testillä S-1090 osoit-
tautui tehokkaaksi gram-positiivisilla bakteereilla, esimerkiksi Staphylococcus aureus ja Streptococcus pyogenes, samoin kuin gram-negatiivisilla bakteereil-

la, esimerkiksi *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae* ja *Morganella morganii*. S-1090 on erityisen tehokas gram-negatiivisilla bakteereilla arvioitaessa *Escherichia coli* 7437:llä ja *Enterobacter cloacae* SR233:llä.

Arvioitiin myös S-1090:n absorptiionopeus in vivo annon jälkeen antamalla sitä oraalisesti hiirille ja mittaamalla tason veressä. Tulos osoitti S-1090:n korkean veritason oraalisen annon jälkeen, osoittaen erinomaisen absorptiionopeuden.

10

Sen vuoksi S-1090-hydrokloridilla ja keksinnön mukaisella S-1090-hydrokloridin kiteisellä hydraatilla on oltava voimakas antibakteriaalinen aktiivisuus, ja se on käyttökelpoinen oraaliseen antoon.

15 Oraaliseen antoon S-1090-hydrokloridi tai sen kiteinen hydraatti voidaan formuloida vakioformulaatioihin kuten kapselit, tabletit, rakeet, jauheet ja suspensiot yhdessä farmaseuttisesti hyväksyttävien väliaineiden, laimennusaineiden tai täyteaineiden kanssa. Parenteraaliseen antoon S-1090-hydrokloridi tai sen kiteinen hydraatti formuloidaan esimerkiksi, ihonalaisesti, lihaksensisäisesti, laskimonsisäisesti tai vatsaontelon sisäisesti injisoitaviksi liuoksiksi tai suspensioiksi. Lisäksi keksinnön mukainen yhdiste voidaan formuloida pesunesteeksi, peräpuikoksi, linimentiksi ja vastaaviksi. S-1090-hydrokloridin tai sen kiteisen hydraatin sopiva päivittäisannos voi olla välillä noin 10 ja noin 4000 mg, edullisesti noin 100 mg ja noin 2000 mg oraaliseen antoon, ja noin 10 mg ja noin 25 4000 mg, edullisesti noin 50 mg ja noin 2000 mg parenteraaliseen antoon.

Seuraavat esimerkit esitetään tämän keksinnön edelleen kuvaamiseksi, eikä niitä ole tarkoitettu sitä rajoittaviksi.

30 Kaikella seuraavissa esimerkeissä valmistetulla S-1090-hydrokloridin kiteisellä hydraatilla nähtiin samat kuvioissa 1 ja 2 esitetyt röntgensädediffraktiokuviot ja differentiaalipyökkäisykarolimetrikäyrä, vastaavasti, saman kiderakenteen vuoksi.

Valmistusmenetelmä 1

7β-[(Z)-2-(2-t-Butoksikarbonyyliamino-4-tiatsolyyli)-2-trityylioksi-iminoaset-
amido]-3-(1,2,3-triatsol-4-yyli)- tiometyyllitio-3-kefem-4-karboksylaattidifenyyli-
 5 metyyliesteri

Otsikkoyhdisteen valmistus suoritettiin samalla tavoin kuin on kuvattu US-patenttijulkaisussa no. 07/729,413 (jätetty 12. kesäkuuta 1991).

- 10 Liuokseen, jossa on 4-asetyylitiometyyllitio-1,2,3-triatsolia (11,50 g, 61 mM) dimetyyliformamidissa (300 ml) lisätään tipoittain liuos, jossa on natriummetoksidi (1,28N, 94 ml) metanolissa -60 - -50°C:ssa. Sekoitetaan 20 minuuttia, minkä jälkeen liuos, jossa on 7β-[(Z)-2-(2-t-butoksikarbonyyliamino-4-tiatsolyyli)-2-trityylioksi-iminoasetamido]-3-metaanisulfonyylioksi-3-kefem-4-karboksyyli-
- 15 happodifenyyli-metyyliesteriä (48,55 g, 50 mM) dimetyyliformamidissa (190 ml) lisätään tipoittain seokseen yli 7 minuuttia samassa lämpötilassa. 50 minuutin kuluttua reaktioseos laimennetaan etikkahapolla (10 ml) ja vedellä (2 l) ja uutetaan etyyliasetaatilla. Uute pestään kyllästetyllä suolaliuoksella, kuivataan natriumsulfaatilla ja väkevöidään alipaineessa. Jäännös kiteytetään tolueenista
- 20 ja uudelleenkiteytetään etyyliasetaatti-tolueeniseoksesta, jolloin saadaan 7β-[(Z)-2-(2-t-butoksikarbonyyliamino-4-tiatsolyyli)-2-trityylioksi-imino-asetamido]-3-(1,2,3-triatsol-4-yyli)tiometyyllitio-3-kefem-4-karboksyylihappodifenyyli-metyyliesteriä värittöminä kiteinä (29,14 g).
- Saanto: 57 %.
- 25 sp.: 190-200°C (haj.)

NMR δ (CDCl₃-CD₃OD) ppm: 1,53 (s, 9H), 3,45, 3,63 (ABq, J=17,2Hz, 2H), 4,12, 4,15 (ABq, J=14,2Hz, 2H), 5,08 (d, J=5Hz, 1H), 5,88 (d, J=5Hz, 1H), 6,98 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 7,2-7,5 (m, 25H), 7,60 (s, 1H).

- 30 IR (KBr) cm⁻¹: 3390, 3210, 1800, 1725, 1688, 1555, 1495, 1449, 1375, 1275, 1245, 1225, 1155.

Esimerkki 1S-1090-Hydrokloridi5 1) S-1090-Hydrokloridi

7β-[(Z)-2-(2-t-Butoksikarbonyyliamino-4-tiatsolyyli)-2-trityylioksi-iminoaset-
amido]-3-(1,2,3-triatsol-4-yyli)tiometyyllitio-3-kefem-4-karboksylaattidifenyyli-
metyyliesteriä (26,0 g) suspentoidaan seoksessa, jossa on 270 ml dikloorime-
10 taania ja 51 ml anisolia. Suspensioon lisätään tipoittain liuos, jossa on 17,0 g
alumiinikloridia 60 ml:ssa anisolia 0 - 5°C:ssa sekoittaen ja seosta sekoitetaan
1 h ja 50 min. Reaktioseos, joka sisältää saatua S-1090:tä kaadetaan seok-
seen, jossa on 220 ml metanolia, 114 ml vettä ja 29,8 g 36 % suolahappoa,
0 - 2Hyd, 15°C:ssa sekoittaen. Vesikerros, joka sisältää saatua S-1090-hydro-
15 kloridia erotetaan ja pestään kahdesti 100 ml:lla dikloorimetaania. Liuokseen
lisätään 30 mg raa'an S-1090-hydrokloridin kiteitä, sekoitetaan 1,5 tuntia
20 - 28°C:ssa ja väkevöidään alipaineessa noin 150 ml:aan. Saadut kiteiset
saostumat otetaan talteen ja pestään 260 ml:lla vettä, jolloin saadaan 24,5 g
S-1090-hydrokloridia.

20

2) S-1090-Hydrokloridin hydraatti

Edellä kohdassa 1) valmistettua S-1090-hydrokloridia suspentoidaan
228 ml:ssa vettä, johon lisätään tipoittain 46 g 4 % natriumhydroksidin vesiliu-
25 osta, jolloin saadaan liuos. Liuosta käsitellään 1,5 g:lla aktiivihiehtä. Seos suo-
datetaan ja saostumat pestään 20 ml:lla vettä. Suodos ja pesunesteet, jotka
kummatkin sisältävät S-1090:n natriumsuolaa yhdistetään ja pH säädetään
arvoon 2 lisäämällä tipoittain 4N HCl:a 5 - 10°C:ssa sekoittaen. Happamaan
liuokseen lisätään 50 mg kiteitä ja seoksen pH säädetään arvoon 1 lisäämällä
30 tipoittain 4 N HCl:a yli 6 tunnin ajan (lisätyn 4N HCl:n kokonaismäärä = 63 g).
Kun seosta sekoitetaan 16 tuntia 60°C:ssa ja jäähdytetään 0°C:ssa, kiteiset
tuotteet saostuvat ja ne otetaan talteen suodattamalla, pestään 160 ml:lla vettä
ja kuivataan, jolloin saadaan 11,0 g S-1090-hydrokloridin hydraattia vaalean

ruskeana jauheena, sp.: 177,6 - 181,0°C (haj.). Kuivausprosessi suoritettiin fluidisoivalla kuivauslaitteella (305^P FBD 68 L) 2 tuntia käyttämällä seuraavia olosuhteita: ilman lämpötila 20°C; ja ilman virtausnopeus 1200 cm³/min.

5 Esimerkki 2

S-1090-Hydrokloridin kiteinen hydraatti

- Edellisessä esimerkissä 1, kohdassa 1) valmistettua S-1090- hydrokloridia
- 10 (10,7 g) liuotetaan 128 ml:aan vettä ja 20 ml:aan 1N natriumhydroksidin vesi-
liuosta ja saadun liuoksen pH säädetään arvoon 4 suolahapolla. Sitten liuoksen
pH säädetään arvoon 0,5 lisäämällä 5 % suolahappoa yli yhden tunnin ajan.
Kun seosta sekoitetaan 1 - 5 tuntia 40°C:ssa ja jäähdytetään 5 - 10°C:een,
kiteinen tuote saostuu. Kiteet otetaan talteen suodattamalla, pestään 70 ml:lla
- 15 vettä ja kuivataan, jolloin saadaan 5,0 g S-1090-hydrokloridin kiteistä hydraattia
valkoisena kiteisenä jauheena. Kuivausprosessia suoritettiin viiden tunnin ajan
esimerkissä 1 kuvatun menetelmän mukaisesti käyttämällä seuraava olosuhtei-
ta: ilman lämpötila 30°C; ja ilman virtausnopeus 400 cm³/min.

20 Esimerkki 3

S-1090-Hydrokloridin kiteinen hydraatti

- Edellä esimerkissä 1, kohdassa 1) valmistettua S-1090-hydrokloridia (51 g)
- 25 liuotetaan 200 ml:aan vettä ja 72 ml:aan 1N natriumhydroksidin vesiliuosta
jäissä jäähdyttäen, jolloin saadaan vesiliuos, jonka pH on 6,2. Liuosta käsitel-
lään aktiivihieillä, ja saostumat erotetaan suodattamalla ja pestään
200 ml:lla vettä. Suodos ja pesunesteet yhdistetään ja 400 ml 6N HCl:a ja
50 mg siemenkiteitä lisätään siihen. Kun liuosta sekoitetaan 40°C:ssa, kiteiset
- 30 tuotteet saostuu. Kiteet otetaan talteen suodattamalla, pestään vedellä ja
kuivataan, jolloin saadaan 16,7 g S-1090-hydrokloridin kiteistä hydraattia
valkoisena kiteisenä jauheena. Kuivausprosessia suoritettiin yhden tunnin ajan

esimerkissä 1 kuvatun menetelmän mukaisesti käyttämällä seuraavia olosuhteita: ilman lämpötila 40°C; ja ilman virtanopeus 1200 cm³/min.

Esimerkki 4

5

S-1090-Hydrokloridin kiteinen hydraatti

Edellä esimerkissä 1, kohdassa 1) valmistettua S-1090-hydrokloridia (25,8 g) liuotetaan 190 ml:aan vettä ja 46 g:aan 4 % natriumhydroksidin vesiliuosta.

- 10 Liuoksen pH säädetään arvoon 4,3, 1 g:lla 20 % suolahappoa ja kaadetaan seokseen, jossa on 148 ml 36 % suolahappoa ja 128 ml vettä sekoittaen 40°C:ssa yli 40 minuuttia, samalla 10 minuuttia kaatamisen alkamisesta lisätään siemenkiteitä. Saostumat otetaan talteen suodattamalla, pestään 130 ml:lla vettä ja kuivataan, jolloin saadaan 11,0 g S-1090-hydrokloridin kiteistä
- 15 hydraattia.
sp.: 178,1 - 181,2°C (haj.)

Esimerkki 5

20 S-1090-Hydrokloridin kiteinen hydraatti

Edellä esimerkissä 1, kohdassa 2) valmistettua S-1090:n natriumsuolaa (28,7 g) liuotetaan 296 ml:aan vettä. Liuoksen pH säädetään arvoon 5 lisäämällä tipoitain 4N HCl:a 5 - 10°C:ssa sekoittaen. Liuos kaadetaan heti seokseen, jossa on 164 g 36 % suolahappoa ja 284 ml vettä sekoittaen 15°C:ssa.

25 Liuokseen lisätään 50 mg kiteitä ja saostumat otetaan talteen suodattamalla, pestään 145 ml:lla vettä ja kuivataan, jolloin saadaan 12,2 g S-1090-hydrokloridin kiteistä hydraattia valkoisena kiteisenä jauheena.

Esimerkki 6S-1090-Hydrokloridin kiteinen hydraatti

- 5 Edellä esimerkissä 1, kohdassa 2) valmistettua S-1090:n natriumsuolaa (15,2 g) liuotetaan 157 ml:aan vettä. Liuokseen lisätään 36 % suolahappoa, jolloin saadaan vesiliuos, jonka pH on 2. Liuos kaadetaan seokseen, jossa on 187 g 36 % suolahappoa ja 50 ml vettä yli 4 minuutin ajan jäissä jäähdyttäen. Kun liuoksen annetaan seistä yhden tunnin ajan jäissä jäähdyttäen, kiteiset
- 10 tuotteet saostuvat ja ne otetaan talteen suodattamalla, pestään 75 ml:lla vettä ja kuivataan, jolloin saadaan 6,6 g S-1090-hydrokloridin kiteistä hydraattia valkoisena kiteisenä jauheena.

Esimerkki 7

15

S-1090-Hydrokloridin kiteinen hydraatti

- Edellä esimerkissä 1, kohdassa 1) valmistettua S-1090-hydrokloridia (5 g) liuotetaan seokseen, jossa on 20 ml metanolia, 4 ml vettä ja 0,3 ml 6N HCl:a.
- 20 Liuokseen lisätään 10 mg kiteitä ja väkevöidään alipaineessa 32 g:n painoon. Kiteiset saostumat otetaan talteen suodattamalla, pestään vedellä ja kuivataan, jolloin saadaan 3,0 g S-1090-hydrokloridin kiteistä hydraattia valkoisena kiteisenä jauheena.

25 Esimerkki 8S-1090-Hydrokloridin kiteinen hydraatti

- Edellä esimerkissä 1, kohdassa 1) valmistettua S-1090-hydrokloridia (5 g) liuotetaan 15 ml:aan metanolia. Liuos lisätään tipoittain 100 ml:aan 1N suolahappoa 40°C:ssa. Kiteiset saostumat otetaan talteen suodattamalla, pestään vedellä ja kuivataan, jolloin saadaan 4,6 g S-1090- hydrokloridin kiteistä hydraattia valkoisena kiteisenä jauheena.
- 30

Esimerkki 9S-1090-Hydrokloridin kiteinen hydraatti

- 5 Edellä esimerkissä 1, kohdassa 1) valmistettua S-1090-hydrokloridia (8 g) liuotetaan seokseen, jossa on 130 ml etanolia, 50 ml vettä ja 4 ml 6N HCl:a. Liuokseen lisätään 10 mg kiteitä ja väkevöidään alipaineessa 105 g:n painoon. Kiteiset saostumat otetaan talteen suodattamalla, pestään vedellä ja kuivataan, jolloin saadaan 5,9 g S-1090-hydrokloridin kiteistä hydraattia valkoisena
- 10 kiteisenä jauheena.

Esimerkki 10S-1090-Hydrokloridin kiteinen hydraatti

- 15 Edellä esimerkissä 1, kohdassa 1) valmistettua S-1090-hydrokloridia (5 g) liuotetaan 100 ml:aan seosta, jossa on etanoli/vettä (1:1). Liuos lisätään tipoit-
tain 100 ml:aan 1N suolahappoa 40°C:ssa. Kiteiset saostumat otetaan talteen suodattamalla, pestään vedellä ja kuivataan, jolloin saadaan 4,5 g S-1090-
- 20 hydrokloridin kiteistä hydraattia valkoisena kiteisenä jauheena.

Esimerkki 11S-1090-Hydrokloridin kiteinen hydraatti

- 25 Edellä esimerkissä 1, kohdassa 1) valmistettua S-1090-hydrokloridia (5 g) liuotetaan seokseen, jossa on 20 ml metanolia ja 0,2 ml 6N HCl:a. Liuos väke-
vöidään alipaineessa 10,5 g:n painoon. Jäännökseen lisätään 5 ml etanolia ja 10 mg siemenkiteitä. Kiteiset saostumat otetaan talteen suodattamalla, pes-
tään vedellä ja kuivataan, jolloin saadaan 2,5 g S-1090-hydrokloridin kiteistä
- 30 hydraattia valkoisena kiteisenä jauheena.

Esimerkki 12S-1090-Hydrokloridin kiteinen hydraatti

- 5 Edellä esimerkissä 1, kohdassa 1) valmistettua S-1090 hydrokloridia (5 g) liuotetaan seokseen, jossa on 30 ml metanolia, 30 ml isopropanolia ja 0,5 ml 6N HCl:a. Liuokseen lisätään 10 mg siemenkiteitä ja saadut kiteiset saostumat otetaan talteen suodattamalla, pestään vedellä ja kuivataan, jolloin saadaan 1,9 g S-1090-hydrokloridin kiteistä hydraattia valkoisena kiteisenä jauheena.

10

Esimerkki 13S-1090-Hydrokloridin kiteinen hydraatti

- 15 Edellä esimerkissä 1, kohdassa 1) valmistettua S-1090-hydrokloridia (5 g) liuotetaan seokseen, jossa on 160 ml asetonia, 36 ml vettä ja 10 ml 3N HCl:a. Liuokseen lisätään 10 mg siemenkiteitä ja väkevöidään alipaineessa 85 g:n painoon. Saadut kiteiset saostumat otetaan talteen suodattamalla, pestään vedellä ja kuivataan, jolloin saadaan 0,9 g S-1090-hydrokloridin kiteistä hydraattia valkoisena kiteisenä jauheena.

20

Esimerkki 14S-1090-Hydrokloridin kiteinen hydraatti

25

- Edellä esimerkissä 1, kohdassa 1) valmistettua S-1090-hydrokloridia (5 g) liuotetaan seokseen, jossa on 20 ml metanolia, 80 ml metyylietyyliketonia ja 2 ml 6N suolahappoa. Lisätään 10 mg siemenkiteitä, minkä jälkeen liuos väkevöidään alipaineessa 62 g:n painoon. Jäännökseen lisätään 4 ml metanolia ja 10 mg siemenkiteitä. Saadut kiteiset saostumat otetaan talteen suodattamalla, pestään vedellä ja kuivataan, jolloin saadaan 4,4 g S-1090-hydrokloridin kiteistä hydraattia valkoisena kiteisenä jauheena.

30

Esimerkki 15S-1090-Hydrokloridin kiteinen hydraatti

- 5 Edellä esimerkissä 1, kohdassa 1) valmistettua S-1090-hydrokloridia (5 g) liuotetaan seokseen, jossa on 20 ml metanolia, 30 ml asetonitriiliä ja 0,5 ml 6N suolahappoa. Lisätään 10 mg siemenkiteitä, minkä jälkeen liuos väkevöidään alipaineessa 40 g:n painoon. Saadut kiteiset saostumat otetaan talteen suodattamalla, pestään vedellä ja kuivataan, jolloin saadaan 2,0 g S-1090-hydro-
- 10 kloridin kiteistä hydraattia valkoisena kiteisenä jauheena.

Esimerkki 16S-1090-Hydrokloridin kiteinen hydraatti

15

- Edellä esimerkissä 1, kohdassa 1) valmistettua S-1090-hydrokloridia (5 g) liuotetaan seokseen, jossa on 20 ml metanolia, 20 ml etyyliasetaattia ja 0,5 ml 6N suolahappoa. Lisätään 10 mg siemenkiteitä, minkä jälkeen liuos väkevöidään alipaineessa 30 g:n painoon. Saadut kiteiset saostumat otetaan talteen suodattamalla, pestään vedellä ja kuivataan, jolloin saadaan 3,5 g S-1090-hydrokloridin kiteistä hydraattia valkoisena kiteisenä jauheena.
- 20

Koe 1

- 25 S-1090-hydrokloridin ja sen kiteisen hydraatin stabiilisuus

- S-1090-hydrokloridin ja sen esimerkeissä valmistetun kiteisen hydraatin stabiilisuus arvioitiin nopeutetussa stabiilisuustestissä määrätyissä olosuhteissa, ts., korotetussa lämpötilassa, kosteudessa tai valossa. Siten vapaata S-1090-amiinia, S-1090-hydrokloridia ja S-1090-hydrokloridin kiteistä hydraattia sijoitettiin alla taulukossa 2 esitettyihin olosuhteisiin, ja arvioitiin tiitterin ja värin muutos 0,5 ja 1 kuukauden kuluttua alusta. Tulokset esitetään taulukossa 2,
- 30

jossa tiitteri esitetään 0,5 ja 1 kuukauden kuluttua testin alusta lähtien jäljellä olevan tiitterin %-osuus.

- Kuten taulukosta 2 voidaan nähdä, S-1090-hydrokloridilla ja sen kiteisellä hydraatilla on vapaaseen S-1090-amiiniin verrattuna parantunut stabiilisuus jäljellä olevalla tiitterillä ja värillä määritettynä, osoittaen, että keksinnön mukaiset S-1090-johdannaiset ovat laadultaan farmaseuttisesti stabiileja, sisältäen kontaminaationa vain pienen määrän liuotinta, ja ovat käyttökelpoisia kliinisesti tehokkaiden formulaatioiden valmistuksessa. Nämä edulliset ominaispiirteet ovat merkittäviä lääketieteen alalla, jossa lääkkeissä olevia kontaminoivia aineita on vältettävä.

Taulukko 2
Nopeutettu stabiilisuustesti

	Aika	50°C,	40°C,	teholamppu
Näyte	kk	suljettu	hum.75-%	(10 000 lux)
S-1090	0,5	81,91, ft	78,75, ft	87,83, lb
vapaa amiini	1,0	67,62, ft	64,25, ft	79,98, lb
Hydrokloridi	0,5	83,22, lb	95,23, ft	87,64, ft
jauhe	1,0	82,48, lb	89,86, ft	84,44, ft
Kiteinen	0,5	100,00, wt	100,00, wt	97,53, py
hydraatti	1,0	99,96, wt	98,38, wt	95,51, py

Lyhennykset: hum, kosteus; ft, kellertävän vaaleanpunainen; lb, vaalean ruskea; py, vaalean keltainen ja wt, valkoinen.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä valmistaa antibakteerista 7β-[(Z)-2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-(1,2,3-triatsol-4-yyli)tiometyyli-3-kefem-4-karboksyylihappohydrokloridia, **tunnettu siitä**, että saatetaan 7β-[(Z)-2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-(1,2,3-triatsol-4-yyli)tiometyyli-3-kefem-4-karboksyylihappo reagoimaan suolahapon kanssa.

2. Menetelmä valmistaa antibakteerista 7β-[(Z)-2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydroksi-iminoasetamido]-3-(1,2,3-triatsol-4-yyli)-tiometyyli-3-kefem-4-karboksyylihappohydrokloridin kiteistä hydraattia, jolla on seuraavanlainen röntgensädediffraktiokuvio:

	<u>2θ intensiteetti</u>		<u>2θ intensiteetti</u>		<u>2θ intensiteetti</u>		<u>2θ intensiteetti</u>	
15	6,24	164	22,04	84	0,30	269	38,44	150
	10,50	117	22,54	57	30,50	405	39,20	133
	10,94	1549	23,16	1461	30,74	271	39,96	214
	12,22	997	23,74	379	31,04	74	43,06	222
	12,54	687	24,32	432	31,80	317	44,24	104
20	14,10	1057	24,54	504	31,92	347	45,02	81
	16,38	209	25,30	259	32,56	58	45,38	68
	17,90	155	25,94	521	32,98	105	45,68	94
	18,74	381	26,14	947	33,36	458	47,20	63
	18,94	462	26,44	422	33,76	231	48,18	65
25	20,04	160	27,46	362	34,44	99	55,54	67
	20,74	217	28,02	204	35,52	119		
	21,12	2052	28,20	253	35,80	188		
	21,36	478	29,08	179	37,38	187		
	21,68	315	29,50	104	37,70	127		

30

mittausolosuhteet: putki; Cu; jännite, 40 kV; virta, 20 mA; näytteenottokulma 0,02°, **tunnettu siitä**, että kiteytetään 7β-[(Z)-2-(2-amino-4-tiatsolyyli)-2-hydr-

oksi-iminoasetamido]-3-(1,2,3-triaatsol-4-yyli)tiometyylitio-3-kefem-4-karboksyylihappona suolahapon vesiliuoksesta.

3. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistettu hydraatti sisältää vettä, joka vastaa hydraattilukua 1 - 2.

4. Patenttivaatimuksen 2 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että mainitun suolahapon vesiliuoksen pH on välillä 0 ja 5.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av antibakteriell 7β-[(Z)-2-(2-amino-4-tiazolyl)-2-hydroxi-iminoacetamido]-3-(1,2,3-triazol-4-yl)tiometyltio-3-kefem-4-karboxylsyrahydroklorid, **kännetecknat** därav, att 7β-[(Z)-2-(2-amino-4-tiazolyl)-2-hydroxi-iminoasetamido]-3-(1,2,3-triazol-4-yl)tiometyltio-3-kefem-4-karboxylsyra omsätts med saltsyra .

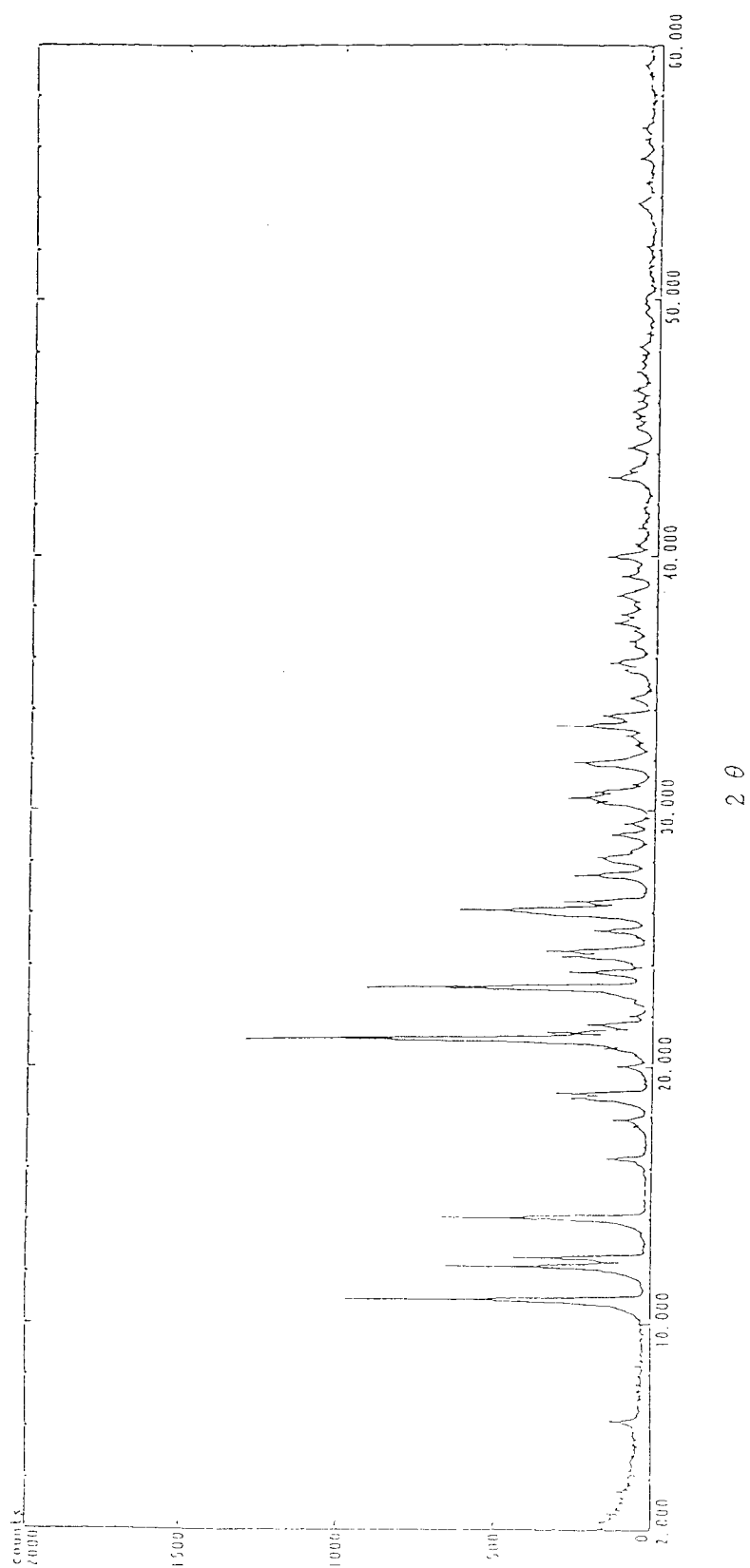
2. Förfarande för framställning av antibakteriell 7β-[(Z)-2-(2-amino-4-tiazolyl)-2-hydroxi-iminoacetamido]-3-(1,2,3-triazol-4-yl)-tiometyltio-3-kefem-4-karboxylsyrahydroklorids kristallina hydrat med följande röntgenstrålediffraktionsbild:

	<u>2θ intensitet</u>		<u>2θ intensitet</u>		<u>2θ intensitet</u>		<u>2θ intensitet</u>	
	6,24	164	22,04	84	0,30	269	38,44	150
15	10,50	117	22,54	57	30,50	405	39,20	133
	10,94	1549	23,16	1461	30,74	271	39,96	214
	12,22	997	23,74	379	31,04	74	43,06	222
	12,54	687	24,32	432	31,80	317	44,24	104
	14,10	1057	24,54	504	31,92	347	45,02	81
20	16,38	209	25,30	259	32,56	58	45,38	68
	17,90	155	25,94	521	32,98	105	45,68	94
	18,74	381	26,14	947	33,36	458	47,20	63
	18,94	462	26,44	422	33,76	231	48,18	65
	20,04	160	27,46	362	34,44	99	55,54	67
25	20,74	217	28,02	204	35,52	119		
	21,12	2052	28,20	253	35,80	188		
	21,36	478	29,08	179	37,38	187		
	21,68	315	29,50	104	37,70	127		

30 mätresultaten: rör; Cu; spänning: 40 kV; ström, 20 mA; provtagningsvinkel 0,02°, **kännetecknat** därav, att 7β-[(Z)-2-(2-amino-4-tiazolyl)-2-hydroxi-iminoacetamido]-3-(1,2,3-triazol-4-yl)tiometyltio-3-kefem-4-karboxylsyran kristalliseras ur en vattenlösning.

3. Förfarande enligt patentkravet 2, **kännetecknat** därav, att det framställda hydratat innehåller vatten, som motsvarar hydrattalet 1 - 2.
4. Förfarande enligt patentkravet 2, **kännetecknat** därav, att nämnda saltsy-
5 rans vattenlösnings pH är mellan 0 och 5.

S-1090-hydrokloridin kiteisen hydraatin röntgendiffraktiokäyrä



20

S-1090-hydrokloridin kiteisen hydraatin
differentiaalipyyhkäisykalorimetrikäyrä

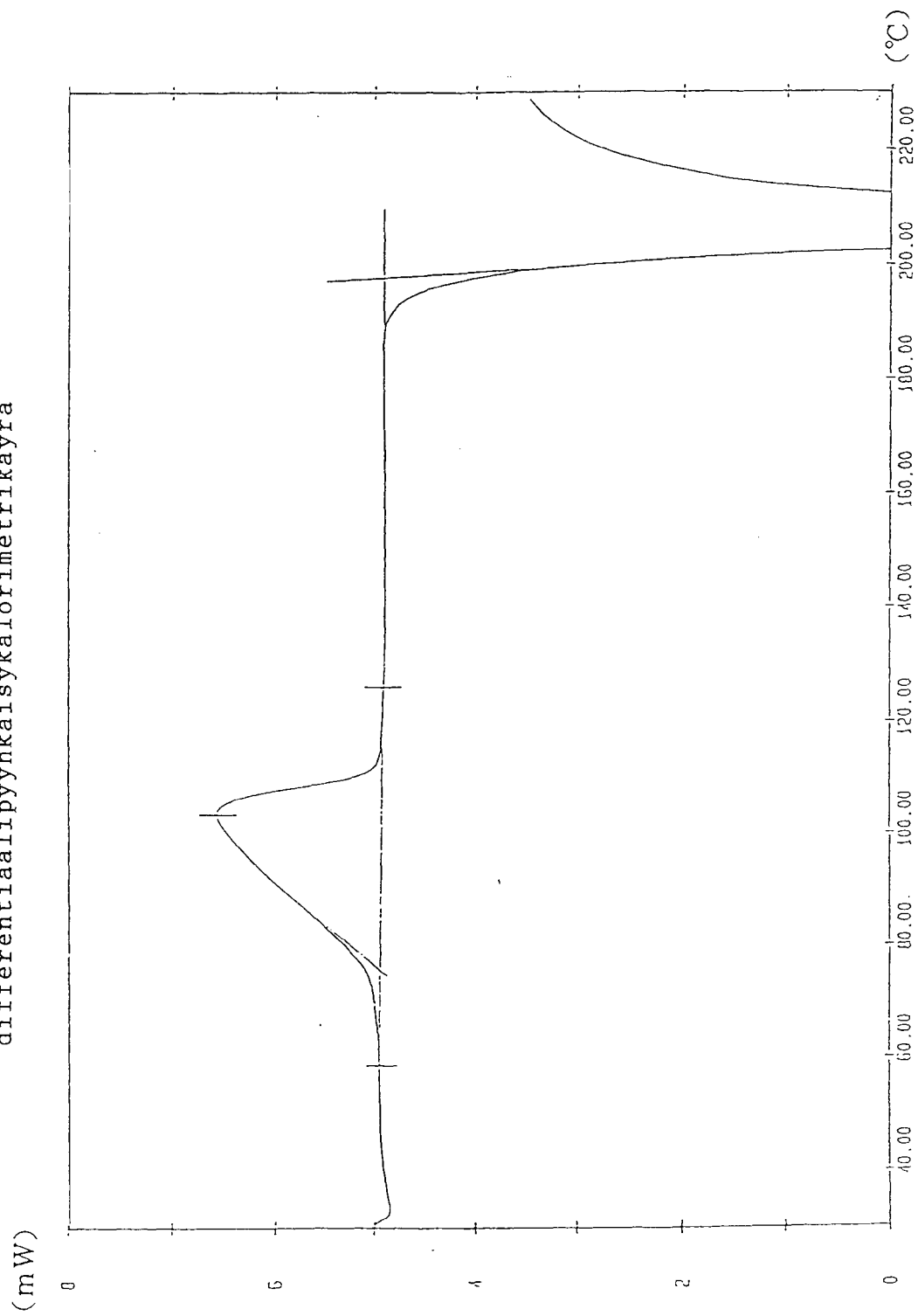


FIG. 2