

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07D477/20

C07D477/02 A61K 31/407

A61P 31/04



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01810309. X

[43] 公开日 2003 年 7 月 23 日

[11] 公开号 CN 1432016A

[22] 申请日 2001.3.30 [21] 申请号 01810309. X

[30] 优先权

[32] 2000. 3. 31 [33] JP [31] 99868/2000

[86] 国际申请 PCT/JP01/02834 2001.3.30

[87] 国际公布 WO01/72750 日 2001.10.4

[85] 进入国家阶段日期 2002.11.28

[71] 申请人 盐野义制药株式会社

地址 日本大阪府

[72] 发明人 齐藤泉 高平正行 川北敏夫

吉冈泰之

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 钟守期 庞立志

权利要求书 1 页 说明书 13 页 附图 3 页

[54] 发明名称 吡咯烷硫卡培南衍生物的新型结晶

[57] 摘要

提供稳定性优良的吡咯烷硫卡培南衍生物的新型结晶。按照本发明,提供(+)-(4R, 5S, 6S)-6-[(1R)-1-羟乙基]-4-甲基-7-氧代-3-[[(3S, 5S)-5-(氨磺酰氨基甲基)吡咯烷-3-基]硫代]-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-羧酸或其水合物的结晶,优选该结晶的粉末 X 线衍射的衍射图中,在衍射角度(2θ)=13.04、14.98、15.88、16.62、20.62、21.06、22.18、23.90、26.08、28.22、以及 28.98(度)处有主峰。

ISSN 1008-4274

吡咯烷硫卡培南衍生物的新型结晶

技术领域

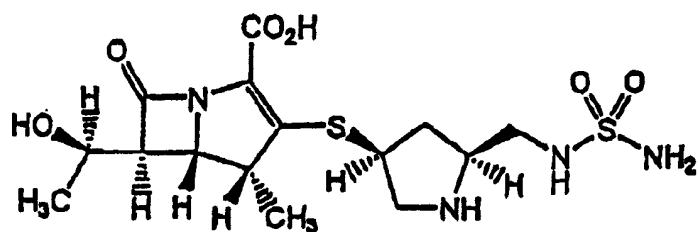
- 5 本发明涉及吡咯烷硫卡培南（ピロリジルチオカルバペネム）衍生物的新型结晶及其制备方法。

背景技术

- 10 具有下式结构的 (+) - (4R, 5S, 6S) -6- [(1R) -1-羟乙基] -4-甲基-7-氧代-3 [[(3S, 5S) -5- (氨基磺酰氨基甲基) 吡咯烷-3-基] 硫代] -1-氮杂二环 [3.2.0] 庚-2-烯-2-羧酸（以下，在本发明说明书中简称为 S-4661）是吡咯烷硫卡培南衍生物，该衍生物是可用于作抗菌剂的化合物。

（化学式 1）

15



- 20 还要说明，此化合物亦命名为“(4R, 5S, 6S) -3- [[(3S, 5S) -5- (氨基磺酰氨基甲基) 吡咯烷-3-基] 硫代] -6- [(1R) -1-羟乙基] -4-甲基-7-氧代-1-氮杂二环 [3.2.0] 庚-2-烯-2-羧酸”，或“(1R, 5S, 6S) -6- [(1R) -1-羟乙基] -2- [(3S, 5S) -5-氨基磺酰氨基甲基-1-吡咯烷-3-基] 硫代-1-甲基-1-卡巴(カルバ)-2-培南(ペネム) -3-羧酸”。

- 25 S-4661 在特开平 5-294970 号公报中已有描述，但是，特开平 5-294970 公报中仅描述了离析出非晶质 S-4661 的例子。S-4661 的非晶质固体在保存中的稳定性差，在通常的环境下长时间保存时，会产生变色、而且纯度下降的问题。因此，为了将这种 S-4661 开发为药剂、尤其是注射剂，需要有比非晶质制剂保存稳定性好的结晶性制剂。

1. (+) - (4R, 5S, 6S) -6- [(1R) -1-羟乙基] -4-甲基-7-
氧代- 3 [[(3S, 5S) -5- (氨磺酰氨基甲基) 吡咯烷-3-基] 硫代]
-1-氮杂二环 [3.2.0] 庚-2-烯-2-羧酸或其水合物的结晶, 其特征在
5 于, 该结晶的粉末 X 线衍射的衍射图中, 在衍射角度 (2θ) =13.04、
14.98、15.88、16.62、20.62、21.06、22.18、23.90、26.08、28.22、
以及 28.98 (度) 处有主峰。

2. 药剂, 其中含有权利要求 1 所述的结晶。

3. 根据权利要求 2 的药剂, 其为注射剂。

10 4. 根据权利要求 2 的药剂, 其为粉末充填制剂。

5. (+) - (4R, 5S, 6S) -6- [(1R) -1-羟乙基] -4-甲基-7-
氧代- 3 [[(3S, 5S) -5- (氨磺酰氨基甲基) 吡咯烷-3-基] 硫代]
-1-氮杂二环 [3.2.0] 庚-2-烯-2-羧酸或其水合物的结晶, 其特征在
于, 该结晶的粉末 X 线衍射的衍射图中, 在衍射角度 (2θ) =6.78、6.96、
15 15.74、17.92、21.16、23.56、以及 25.80 (度) 处有主峰。

6. 制备权利要求 5 所述结晶的方法, 其特征在于, 该方法包括
以下工序,

(A) 将 (+) - (4R, 5S, 6S) -6- [(1R) -1-羟乙基] -4-甲基
-7-氧代- 3 [[(3S, 5S) -5- (氨磺酰氨基甲基) 吡咯烷-3-基] 硫
20 代] -1-氮杂二环 [3.2.0] 庚-2-烯-2-羧酸或其水合物溶于水中的工
序, 以及

(B) 从工序 (A) 所得的水溶液中析出结晶的工序。

7. 制备权利要求 1 所述结晶的方法, 该方法包括以下工序:

(A) 将 (+) - (4R, 5S, 6S) -6- [(1R) -1-羟乙基] -4-甲基
25 -7-氧代- 3 [[(3S, 5S) -5- (氨磺酰氨基甲基) 吡咯烷-3-基] 硫
代] -1-氮杂二环 [3.2.0] 庚-2-烯-2-羧酸或其水合物溶于水中的工
序, 和

(B') 从工序 (A) 所得的水溶液中析出结晶的工序, 其中, 该析
出的结晶的粉末 X 线衍射的衍射图中, 在衍射角度 (2θ) =6.78、6.96、
30 15.74、17.92、21.16、23.56、以及 25.80 (度) 处有主峰, 以及

(C) 将工序 (B') 所得的结晶干燥的工序。

因此，为了改进 S-4661 的保存稳定性、操作性能等，对各种结晶进行了研究。由此，确认了 S-4661 的各种结晶。

例如，日本专利 2843444 号公报中公开了 S-4661 结晶的 I 型结晶和 II 型结晶。在 X 线衍射中，I 型结晶和 II 型结晶具有以下所示的特征衍射角 (2θ) 的峰：

I 型：7.32、14.72、18.62、20.42、21.1、22.18、23.88、以及 29.76 (度)

II 型：6.06、12.2、14.56、17.0、18.38、20.68、24.38、24.60、25.88、及 30.12 (度)

(X 线衍射的测定条件：CuK α 线、1.54Å (单色器)、管电压 40KV、管电流 40mA)。

然而，在本领域，仍需进一步改良 S-4661 的稳定性。

(本发明要解决的问题)

本发明要解决上述以前存在的问题，其目的是提供保存稳定性优良、操作性良好的新的结晶及其制备方法。

本发明的另一目的是提供可用于粉末充填制剂的新的结晶及其生产方法。

20 发明概述

(解决问题的方法)

(1) 按照本发明，提供 (+) - (4R, 5S, 6S) -6- [(1R) -1-羟乙基] -4-甲基-7-氧代-3 [[(3S, 5S) -5- (氯磺酰氨基甲基) 吡咯烷-3-基] 硫代] -1-氮杂二环 [3.2.0] 庚-2-烯-2-羧酸或其水合物的结晶，该化合物在其粉末 X 线衍射的衍射图中，在衍射角度 (2θ) = 13.04、14.98、15.88、16.62、20.62、21.06、22.18、23.90、26.08、28.22 和 28.98 (度) 处有主峰。

(2) 按照本发明，提供含有上述 (1) 的结晶的药剂。

(3) 在一个实施方案中，上述 (2) 的药剂为注射剂。

(4) 在另一个实施方案中，上述 (2) 的药剂为粉末充填制剂。

(5) 按照本发明，还提供 (+) - (4R, 5S, 6S) -6- [(1R) -1-羟乙基] -4-甲基-7-氧代-3 [[(3S, 5S) -5- (氯磺酰氨基甲基)

吡咯烷-3-基]硫代]-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-羧酸或其水合物的结晶,该化合物的粉末X线衍射的衍射图中,在衍射角度 $(2\theta)=6.78、6.96、15.74、17.92、21.16、23.56$ 和 25.80 (度)处有主峰。

5 (6)一方面,本发明的方法是制备上述(5)的结晶的方法,该方法包括以下工序,

(A)将(+)-(4R, 5S, 6S)-6-[(1R)-1-羟乙基]-4-甲基-7-氧代-3[[(3S, 5S)-5-(氨磺酰氨基甲基)吡咯烷-3-基]硫代]-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-羧酸溶于水中的工序,以及

10 (B)从工序(A)所得的水溶液中析出结晶的工序。

(7)另一方面,本发明的方法是制备上述(1)的结晶的方法,该方法包括以下工序,

(A)将(+)-(4R, 5S, 6S)-6-[(1R)-1-羟乙基]-4-甲基-7-氧代-3[[(3S, 5S)-5-(氨磺酰氨基甲基)吡咯烷-3-基]硫代]-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-羧酸溶于水中的工序;

15 (B')从工序(A)所得的水溶液中析出结晶的工序,其中所析出的结晶在其粉末X线衍射的衍射图中,在衍射角度 $(2\theta)=6.78、6.96、15.74、17.92、21.16、23.56、$ 和 25.80 (度)处有主峰,以及

(C)将工序(B')所得的结晶干燥的工序。

20

附图简要说明

图1是由实施例1所得的III型结晶的粉末X线测定结果。

图2是由实施例2所得的IV型结晶的粉末X线测定结果。

图3是由实施例4所得的IV型结晶的粉末X线测定结果。

25

实施本发明的最佳方案

(发明的实施方案)

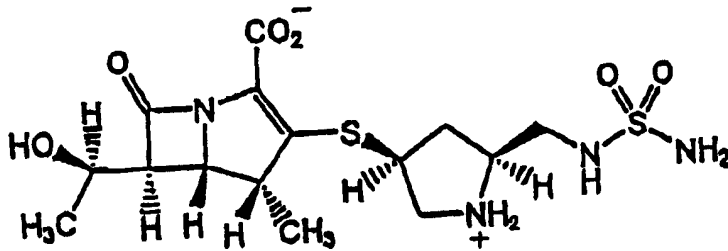
(S-4661的说明)

30 化合物(+)-(4R, 5S, 6S)-6-[(1R)-1-羟乙基]-4-甲基-7-氧代-3[[(3S, 5S)-5-(氨磺酰氨基甲基)吡咯烷-3-基]硫代]-1-氮杂二环[3.2.0]庚-2-烯-2-羧酸(S-4661)是吡咯烷硫卡培南衍生物。S-4661是可用作抗菌剂的化合物,可经口或非经口给药。该

化合物具有广谱的抗菌活性，对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都有效。

上述 S-4661 的结晶也可以是分子内盐结晶。可以认为，S-4661 的分子内盐结晶具有下式所示的甜菜碱结构。

5 (化学式 2)



这种分子内盐结晶与 Na 盐等的情况不同，由于其为不含有目的成分以外的平衡离子的纯粹的形式，所以更被优选。

10 由粉末 X 线衍射的测定结果可知，存在两种新的不同类型的 S-4661 结晶。以下将这两种类型的结晶分别称为 III 型和 IV 型。III 型和 IV 型的结晶可通过粉末 X 线衍射所得的特征峰来识别。这些结晶也可以是水合物。优选 III 型结晶为二水合物，IV 型结晶为一水合物。

每种晶型的特征主峰的衍射角度 (2θ) 如以下所示。

15 III 型：衍射角度 (2θ) = 6.78、6.96、15.74、17.92、21.16、23.56、以及 25.80 (度)。

IV 型：衍射角度 (2θ) = 13.04、14.98、15.88、16.62、20.62、21.06、22.18、23.90、26.08、28.22、以及 28.98 (度)。

20 (X 线衍射测定的条件：CuK α 线、1.54Å (单色器)、管电压 40KV、管电流 40mA)

用 X 线衍射测定本发明的结晶时，有时由于测定的仪器或测定的条件，对于所测得的峰而言会稍有测定误差。具体来说，例如， 2θ 值的测定误差有时为约 ± 0.2 ，即使使用非常精密的设备时，有时也会产生约 ± 0.1 的误差。因此，在确定每种结晶结构时，应该将此误差考虑在内。还要说明，即使考虑到 X 线衍射中的测定误差，上述的 I 型 ~ IV 型结晶的 X 线衍射的特征峰也各自完全不同。因此，采用 X 线衍射法，很容易确定本发明的结晶与其他结晶的异同。

这些 S-4661 结晶的制备是新的发现。III 型和 IV 型的结晶比以前的 I 型和 II 型的稳定性好，因此更被优选。III 型与 IV 型相比，IV 型结晶的稳定性比 III 型的更好，因此更被优选。

5 (S-4661 的合成方法)

S-4661 可以用以前的已知方法合成。例如，可以用特开平 5-294970 号公报中公开的方法合成。具体来说，例如，用 4-羟基吡咯烷-2-羧酸或其衍生物作为起始原料。通过以下工序制备吡咯烷衍生物，将 4-羟基吡咯烷-2-羧酸衍生物的 4 位的羟基转换为巯基的工序；将 2 10 位的羧基转换为羟甲基的工序；该羟甲基的羟基直接磺酰胺化或转化成氨基后氨磺酰化的工序；以及必要时将保护基 Y1 脱去的工序。以上工序的顺序可以适当地改变。必要时将由此所得的吡咯烷衍生物的吡咯烷环的 4 位脱保护即可变为 SH 基。然后，与卡巴培南（カルバペネム）衍生物反应，即可得到吡咯烷硫卡培南衍生物。

15

(结晶的制备方法)

本发明的 S-4661 的结晶可通过重结晶等方法获得。

在一个实施方案中，本发明的 III 型结晶可从水中重结晶而获得。

在另一个实施方案中，本发明的 IV 型结晶可通过将 III 型结晶干 20 燥而获得。

(III 型结晶的制备方法)

S-4661 的 III 型结晶，例如，可将由上述方法合成的 S-4661 从 25 溶液中结晶化而获得。具体来说，例如，使 S-4661 从醇、丙酮、丙烯腈、四氢呋喃等有机溶剂、水或其混合溶液中结晶化。优选单独用水作为溶剂。优选从不含无机离子的基本上为纯的水中析出结晶。这里所用的醇有甲醇、乙醇、异丙醇、异丁醇等。采用有机溶剂和水的混合溶剂时，优选其水/有机溶剂的混合比例为 1:0.5~1:100(v/v)。

为了获得 III 结晶，优选将 S-4661 溶于水、或水与上述有机溶剂 30 的混合溶剂中，制成 S-4661 溶液。该 S-4661 溶液的浓度优选为约 5~40 重量%。为了使 S-4661 的结晶从该溶液中析出，可进行冷却和/或搅拌等任何结晶操作。优选一边在约 0~10℃ 下冷却，一边搅拌溶液，由

此而获得 S-4661 的结晶。

通过晶析条件的控制,可得到单一结晶的 III 型结晶。例如,使 S-4661 从水或水/乙醇系中结晶化,即可获得 III 型结晶。优选从水中结晶化。

- 5 在此,不用晶种时,有时会析出 III 型结晶以外的结晶。例如,有时会析出 I 型结晶或 II 型结晶。因此,为了使 III 型结晶选择性地有效析出,优选采用晶种。

从溶液中结晶化后,根据需要 will 结晶干燥。干燥的方法可采用现有已知的方法。例如,可采用使用吸气器等的减压下的干燥法。具体的干燥条件 10 是,例如,温度优选为 10℃~50℃、较优选为 15℃~40℃、更优选为室温。压力方面,例如,优选为 10~300 mmHg、较优选为 0~100 mmHg、更优选为 0~50 mmHg、特别优选为 10~40 mmHg。干燥时间,例如,优选为 1 分钟~1 小时、较优选为 2~30 分钟、更优选为 5~20 分钟。

- 15 III 型结晶的含水量不一定为恒量,而是取决于干燥条件、保存条件,但优选是二水合物。结晶中的有机溶剂含量不是恒定的,它根据所用的结晶化方法、干燥条件等的不同而异。

与其它 20 的结晶一样,III 型结晶适合于用作医药制剂的材料。如以下所述,用 III 型结晶作为中间体时,可以容易地制造出 IV 型结晶,因此,III 型结晶用作制备 IV 型结晶的中间体是非常有效的。

(IV 型结晶的制备方法)

25 优选通过将上述 III 型结晶干燥的方法来获得 IV 型结晶。干燥的方法可采用现有已知的方法。优选在加热并减压下干燥。具体而言,例如,温度优选为 20℃~100℃、较优选为 30℃~70℃、更优选为 40℃~60℃。压力方面,例如,优选为 0~100 mmHg、较优选为 0~30 mmHg、更优选为 0~20 mmHg、特别优选为 0~10 mmHg。干燥时间,例如,优选为 1~20 小时、较优选为 2~15 小时、更优选为 5~10 小时。

30 IV 型结晶的含水量不一定为恒量,而是取决于干燥条件、保存条件,优选是一水合物。结晶中的有机溶剂含量不是恒定的,它根据所用的结晶化方法、干燥条件等的不同而异。还要说明,IV 型结晶优选通过将二水合物的 III 型结晶干燥,分离出作为一水合物的 IV 型结晶。

由此,根据本发明,可获得保存稳定性优良、工业上利用价值高的

S-4661 结晶。

(含有本发明结晶的药剂)

本发明的结晶可作为制剂，用于以前采用吡咯烷硫卡培南衍生物的任何一种药剂的用途中。特别是可用作抗菌剂。

本发明的制剂可以是分别单独采用上述两种结晶即 III 型结晶和 IV 型结晶的制剂，也可以含有该两种结晶的混合物。本发明的制剂为含有该两种结晶的混合物时，各种结晶的混合比例可以是任意的。就保存稳定性而言，IV 型结晶优于 III 型结晶，因此，优选采用 IV 型结晶。

将含有本发明结晶的组成物作为抗菌剂给药时，给药的方式是经口或非经口给药。给药的方式有注射剂（静脉注射、肌肉注射、点滴、皮下注射用安瓿剂、药水瓶剂、液剂、悬浊剂等）、外用剂、局部给药剂（滴耳剂、滴鼻剂、滴眼剂、软膏剂、乳剂、喷剂、栓剂等）、经口给药剂等。特别是注射剂，可以用含本发明结晶的粉末填充制剂或冷冻干燥制剂来制备。

根据给药的形式，上述的制剂也可适当地含有赋形剂、助剂、稳定剂、浸润剂、乳化剂、其它的添加剂等。这些物质必需是制剂学上和药理学上可用的、而且对吡咯烷硫卡培南衍生物无影响的物质。例如，经口制剂可含有乳糖、硬脂酸、硬脂酸镁、白土、蔗糖、玉米淀粉、滑石、明胶、琼脂、果胶、落花生油、橄榄油、可可脂、乙二醇、酒石酸、柠檬酸、富马酸等。非经口制剂可含有溶剂（醇、缓冲剂、油酸甲酯、水等）、缓冲剂、分散剂、助溶剂、稳定剂（对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸乙酯、山梨酸等）、吸收促进剂（甘油单或二辛酸酯）、抗氧化剂、芳香剂、镇痛剂、悬浊剂、副作用抑制剂、作用增强物质（吸收排泄调节剂、酶分解抑制剂、 β -内酰胺酶抑制剂、其它抗菌剂等）等。

本发明的吡咯烷硫卡培南衍生物结晶的剂量根据患者的年龄、疾病的类型及状态、所使用的化合物的种类等而异。一般来说，施给患者的日剂量为 1mg/个患者（外用）以及约 4000mg/个患者（静注），根据需要，给药量也可大于上述的量。为了治疗感染病，可用本发明的结晶按每次剂量为，例如，1mg（外用）、每日数次给药；以及 1000mg

(静注)、每日 2~4 次左右给药。

用本发明的吡咯烷硫卡培南衍生物结晶作为抗菌剂时，其对象菌可以是以往的吡咯烷硫卡培南衍生物的任何对象菌。该衍生物对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌呈现出强抗菌力。

5

(实施例)

(实施例 1)

(III 型结晶的制备方法)

将粗 S-4661 (20.0g) 加入离子交换水 (360ml) 中，在约 50℃
10 ~ 55℃ 下加热溶解，将此溶液维持在 50℃ 以上，并使其通过涂有活性炭 (600mg) 的过滤器过滤。将滤液冷却至 15~20℃ 后，投入 III 型结晶的晶种 (20mg)，搅拌约 120 分钟，使结晶析出，再冷却至 0~5℃ 熟化 2 小时。将异丙醇 (200ml) 在约 1 小时内倒入其中，然后在 0~5℃ 下熟化 2 小时，并在同样的温度下继续晶析熟化 1 夜，然后滤出结
15 晶。所得的结晶用 80% 的异丙醇水 (40ml) 洗净后，用使用自来水的吸气器在室温下减压 (20~30mmHg) 干燥约 10 分钟，即得到 S-4661 III 型结晶 (18.1g, 回收率 90.5%)。

所得结晶的粉末 X 线测定结果示于图 1 中。就所得的结晶而言，粉末 X 线衍射的衍射图中，在衍射角度 (2θ) = 6.78、6.96、15.74、
20 17.92、21.16、23.56、以及 25.80 (度) 处有主峰。此外，在衍射角度 (2θ) = 11.56、11.74、13.38、14.90、16.88、18.92、19.82、22.18、23.02、24.96、25.32、26.52、27.66、28.40、29.70、31.26、33.00、34.40、39.46、以及 39.70 (度) 处有较低的峰。

元素分析: 就 $C_{15}H_{24}N_4O_6S_2 \cdot 2H_2O$ 而言

25 理论值: C 39.46、H 6.18、N 12.27、S 14.05

实测值: C 39.53、H 6.14、N 12.40、S 14.06

含水率

理论值 (二水合物): 7.89%

卡尔·费歇尔水分计 (KF) 测定值: 7.74%

30 熔点: 173℃ (分解)。

(实施例 2)

(IV 型结晶的制备方法)

将上述实施例 1 所得的 III 型结晶 (5.0g) 铺展在玻璃培养皿上, 在 50℃、减压 (0~5mmHg) 下静置约 7 小时使其干燥, 即可得到 IV 型结晶 (4.8g, 回收率 96.0%)。所得结晶的粉末 X 线测定结果示于图 2 中。所得结晶的粉末 X 线衍射的衍射图中, 在衍射角度 (2θ) =13.04、14.98、15.88、16.62、20.62、21.06、22.18、23.90、26.08、28.22、以及 28.98 (度) 处有主峰。此外, 在衍射角度 (2θ) =23.42、24.20、24.46、27.54、31.70、34.14、34.36、34.92、39.82、以及 45.24 (度) 处有比较低的峰。

元素分析: 就 $C_{15}H_{24}N_4O_6S_2 \cdot H_2O$ 而言

10 理论值: C41.08、H 5.98、N 12.78、S 14.62

实测值: C41.01、H 5.92、N 12.83、S 14.56

含水率

理论值 (一水合物): 4.11%

卡尔·费歇尔水分计 (KF) 测定值: 4.28%

15 熔点: 173℃ (分解)。

(实施例 3)

(III 型结晶制备的重复性)

为了确认上述实施例 1 的重复性, 进行重复试验。

20 所得的 III 型结晶的粉末 X 线衍射的衍射图中, 在衍射角度 (2θ) =6.62、13.04、15.44、16.58、17.64、20.88、23.26、25.02、以及 25.52 (度) 处有主峰。

(实施例 4)

25 (IV 型结晶制备的重复性)

为了确认上述实施例 2 的重复性, 进行重复试验。

用上述实施例 3 所得的 III 型结晶, 按照上述实施例 2 的方法, 制备成 IV 型结晶。所得结晶的粉末 X 线测定结果示于图 3 中。

30 所得的 IV 型结晶的粉末 X 线衍射的衍射图中, 在衍射角度 (2θ) =12.90、15.74、16.48、23.78、以及 25.92 (度) 处有主峰。

元素分析: 就 $C_{15}H_{24}N_4O_6S_2 \cdot H_2O$ 而言

理论值: C41.08、H 5.98、N 12.78、S 14.62

实测值: C41.93、H 6.03、N 13.02、S 14.52

含水率

理论值(一水合物):4.11%

卡尔·费歇尔水分计(KF)测定值:4.3%

5

(稳定性评价)

对由此所得的本发明结晶的保存稳定性进行了评价。由其结果可知,与现有的I型结晶或II型结晶相比,本发明的III型结晶的贮藏稳定性优良;而IV型结晶的贮藏稳定性更优良。

10 以下具体说明本发明的结晶的稳定性与现有的结晶(II型结晶)比较、评价的结果。

对S-4661的II型结晶(现有的结晶)和上述实施例4所得的IV型结晶的稳定性进行了比较。

首先,就试验方法进行说明。

15 保存条件为40℃ 75%RH。保存期间为1周、2周和1个月。在此保存期间,样品置于敞开的皿中保存。

对上述保存后的样品进行水分和效价的测定。

20 水分方面,按照日本抗生物质基准一般试验法 含湿度试验法 II 水分定量法进行试验。但用卡尔·费歇尔用的甲酰胺-甲醇混合液 II 作为溶剂。

25 效价试验用以下方法进行。精确称取实施例4所得的IV型结晶、和II型结晶以及S-4661的标准品各约0.025g。将样品分别溶于水中,准确至100ml。每种溶液准确量取10ml,各自准确加入5ml内标准溶液。采用乙酰氨基苯水溶液(浓度为1/20000:20000ml水溶液中含有1g乙酰氨基苯的浓度)作为内标准溶液。然后,分别加入水至50ml。由IV型结晶或II型结晶制备的溶液作为样品溶液。由S-4661的标准品制备的溶液用作标准溶液。分别取样品溶液和标准溶液各10 μ l,按下述条件,用液体色谱法进行试验。对于样品溶液,求出S-4661的峰面积与内标准物质峰面积的比 Q_T 。对于标准溶液,求出S-4661的峰面积与内标准物质峰面积的比 Q_S 。

30

操作条件

检测器:紫外吸收光度计(测定波长:240nm)

柱:内径约 4.6mm、长度约 15cm 的不锈钢管中,填入 5 μ m 的液相色谱法用的十八烷基硅烷化硅胶 (L-column ODS)

柱温度:25℃左右的恒定温度

5 流动相:pH 5.8 的 2mmol/L 磷酸盐缓冲液/丙烯腈混合溶液 (191:9)

流量:S-4661 的保留时间调节为约 8~9 分钟 (每分钟约 1ml)。

柱的选择:选用用 10 μ l 标准溶液在上述条件下操作时,按 S-4661、内标准物质的顺序洗脱、分离速度为 3 以上的柱。

按以下计算式计算效价。

10 每 1mg IV 型结晶或 II 型结晶的效价 (μ g/mg) =

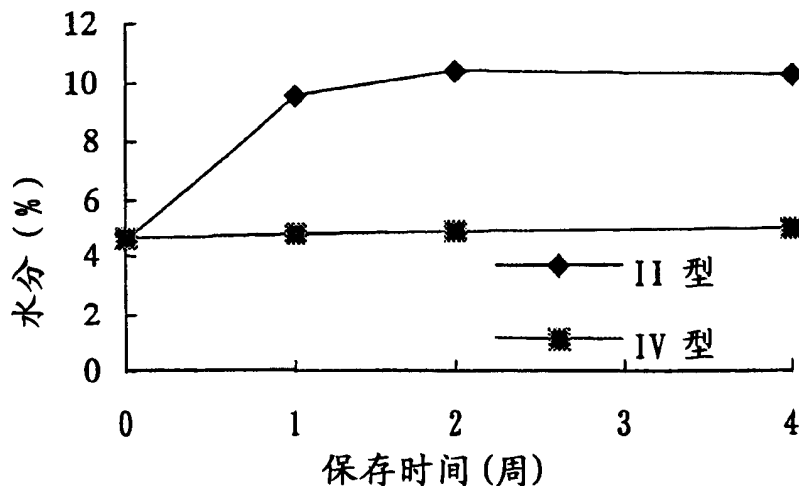
$$\frac{Q_T}{Q_S} \times \frac{\text{S-4661 的标准品的称取量 (效价)}}{\text{换算为结晶的脱水物的称取量 (mg)}} \times 1000$$

所得的试验结果如下所示。

水分测定结果

保存时间	II 型	IV 型
初期	4.56	4.62
1 周	9.51	4.79
2 周	10.36	4.89
1 个月	10.31	4.99

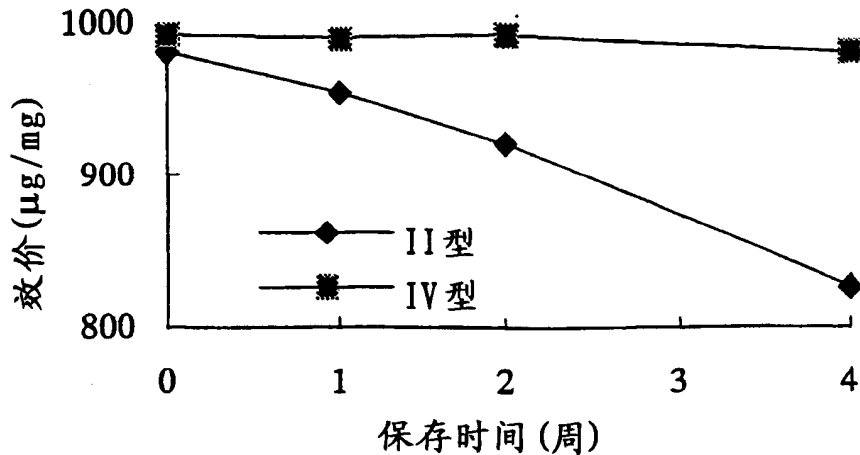
15



已知，II型结晶的水分会随着时间的推移而增加，约2周之后，水分达到一定值（约10%）。而IV型结晶可长期地基本上保持初期的水分量。因此，可以确认，II型结晶是吸湿的，而IV型结晶几乎不吸湿。

5 效价测定结果 单位 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)

保存时间	II型	IV型
1周	983.2	993.3
2周	956.2	990.8
1个月	923.0	992.4
	826.4	981.5



可以确认，II型结晶的效价会随着时间的推移而降低，而IV型结晶则没有大的变化。

10 从水分测定的结果可知，由于II型有吸湿性，在称取时，必需在干燥室内进行操作。而且，其他的操作过程也必需在恒湿的状况下进行。而另一方面，IV型结晶在40℃、75%RH的环境下亦未见有吸湿的现象，因此可以省去上述的操作。此外，从其他的试验结果也可表明IV型结晶比II型结晶稳定。

15

(制剂的评价)

对采用本发明结晶的制剂按照以下所述作评价。将250mg的IV型结晶溶于100ml的生理盐水中，制成注射剂，对该注射剂进行药效评价，可证实其药效与现有的I型结晶和II型结晶相同。

工业上的应用可能性

(发明的效果)

根据本发明，提供了保存稳定性优良的新的结晶及其制备方法。

- 5 根据本发明，还提供了可用于粉末充填制剂中的新的结晶及其制备方法。

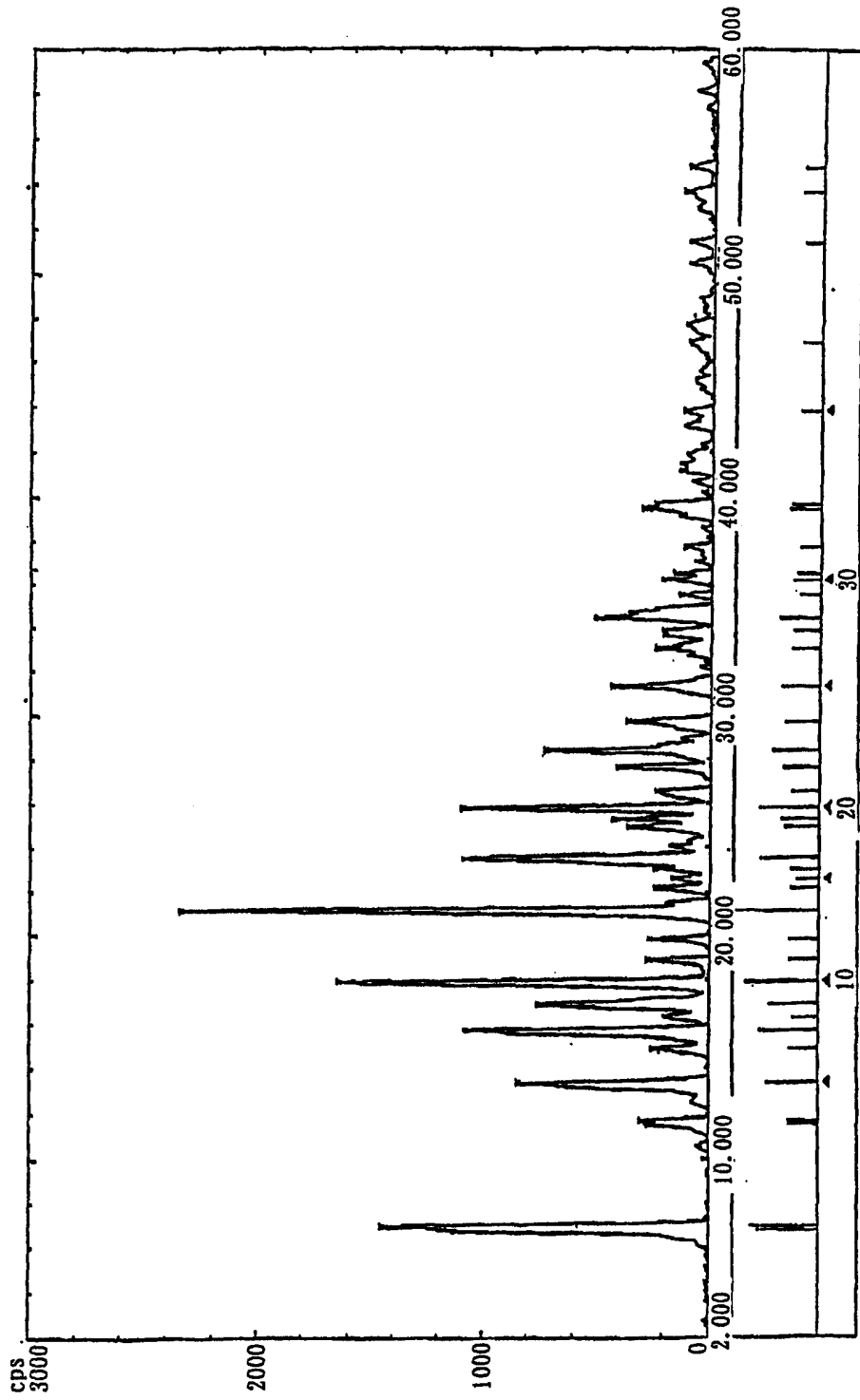


图 1

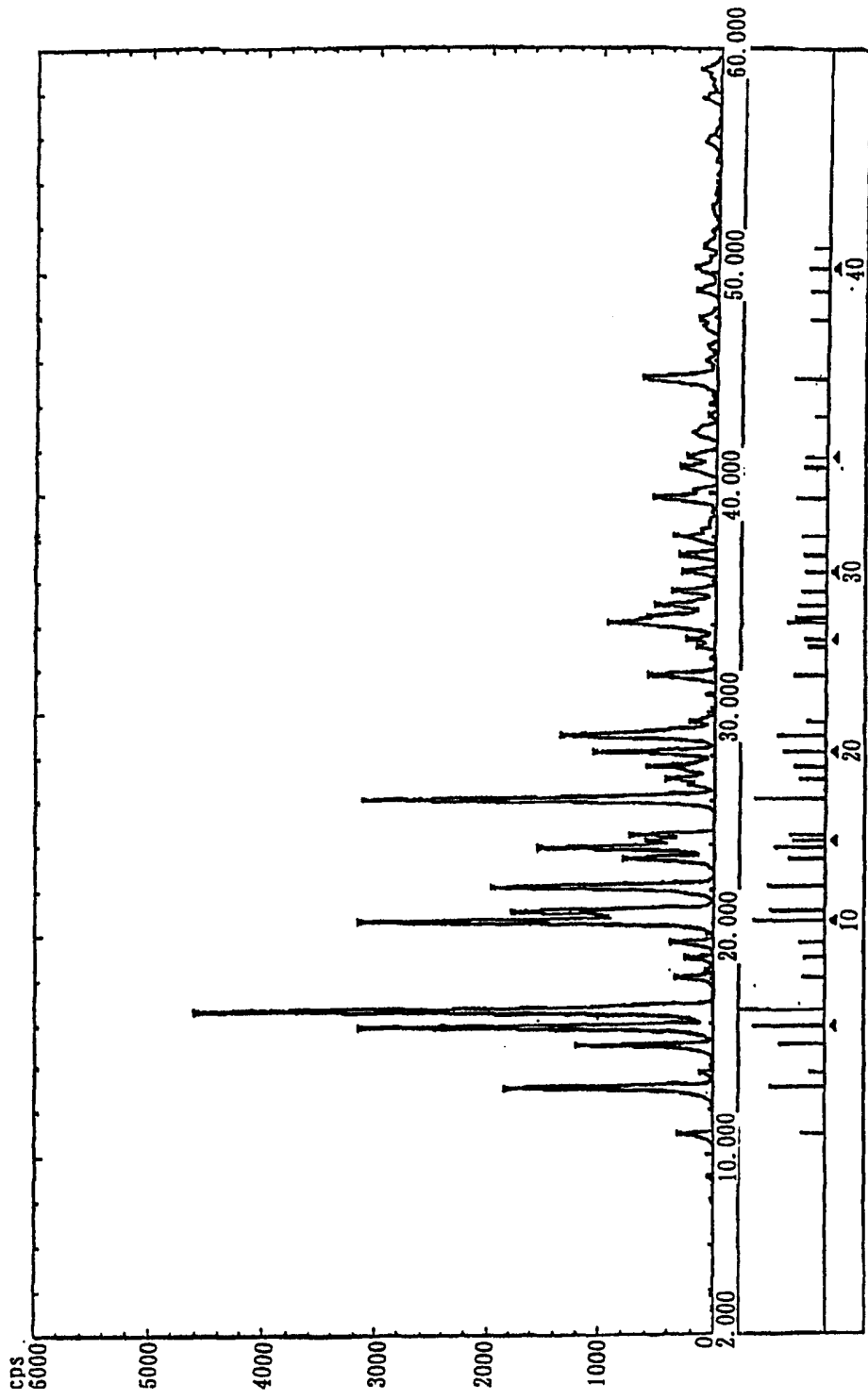


图 2

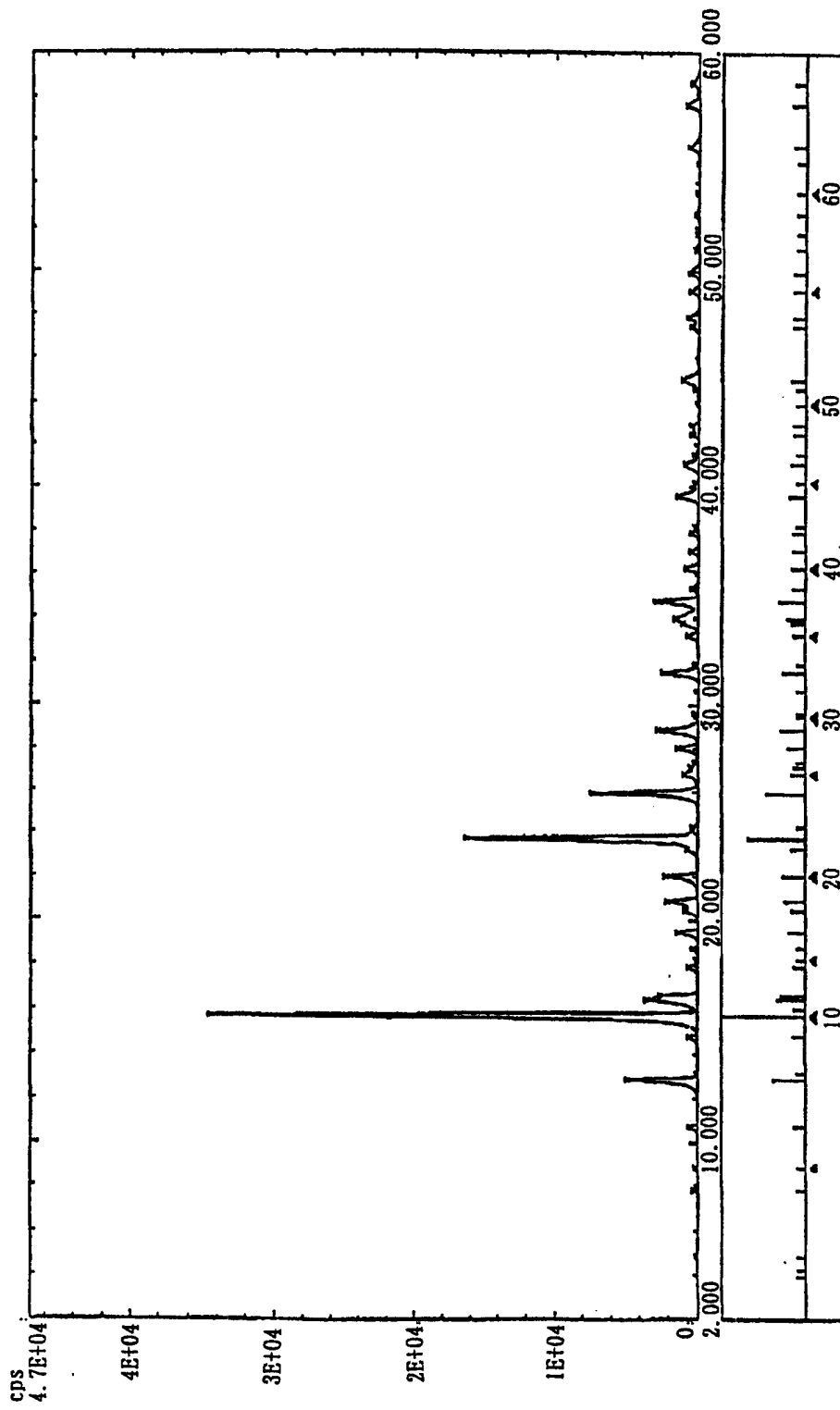


图 3