



**SUOMI-FINLAND**  
(FI)

**Patentti- ja rekisterihallitus**  
**Patent- och registerstyrelsen**

**(B) (11) KUULUTUSJULKAISU**  
**UTLAGGNINGSSKRIFT**

89052

C (48) Patentti myönnetty  
Patent meddelat 10 08 1988

(51) Kv.1k.5 - Int.cl.5

C 07D 501/34, A 61K 31/545

|                                                                                             |          |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| (21) Patentihakemus - Patentansökning                                                       | 872903   |
| (22) Hakemispäivä - Ansökningsdag                                                           | 01.07.87 |
| (24) Alkupaivä - Löpdag                                                                     | 01.07.87 |
| (41) Tuljut julkiseksi - Blivit offentlig                                                   | 03.01.88 |
| (44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. -<br>Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad | 30.04.93 |
| (32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet                                                        |          |

02.07.86 JP 61-156954 P

12.09.86 JP 61-216260 P

(71) Hakija - Sökande

1. Shionogi & Co., Ltd., 5-12-4, Sagisu, Fukushima-ku, Osaka 553, Japan, (JP)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Hamashima, Yoshio, 26-20, Katsurahitsujisaru-cho, Nishikyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto, Japan, (JP)  
2. Minami, Kyoji, 720-42, Oze-cho, Ikoma-shi, Nara, Japan, (JP)  
3. Kawata, Kyoza, 1-18-5, Tsudaminami-cho, Hirakata-shi, Osaka, Japan, (JP)  
4. Sakamoto, Teruo, 11-10, Nagisasakae-machi, Hirakata-shi, Osaka, Japan, (JP)  
5. Takeda, Toyohiko, 44-8, Sumiyoshidai, Higashinada-ku, Kobe-shi, Hyogo, Japan, (JP)  
6. Suzuki, Yusuke, 5-15-15, Fuchu-cho, Izumi-shi, Osaka, Japan, (JP)  
7. Tujikawa, Masanori, 135, Nawate-cho, Kashiwara-shi, Nara, Japan, (JP)

(74) Asiamies - Ombud: Ruska & Co Oy

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Menetelmä  $7\beta$ -(Z)-2-(2-aminotiazol-4-yl)-4-karboksibut-2-enoyyliamino/-3-kefem-4-karboksylihapon kiteisen hydraatin valmistamiseksi  
Förfarande för framställning av ett kristallint hydrat av  $7\beta$ -(Z)-2-(2-aminotiazol-4-yl)-4-karboxibut-2-enoylamino/-3-cefem-4-karboxylsyra

(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

-----

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee antibakteerista lääkettä, ts.  $7\beta$ -(Z)-2-(2-aminotiazol-4-yyli)-4-karboksibut-2-enoyyliamino-3-kefeemi-4-karboksylihapoa, joka on stabiili (di- tai tri-)hydraatti-kidemuodossa. Kuvataan myös tämän aineen valmistus kuivaamalla. Edelleen kuvataan myös gelatiinikapsелеita, jotka on täytetty farmakologisesti tehokkaalla määrällä tätä hydraattia ja jotka on suljettu gelatiiniväyllä hydraatin stabilisointiseksi kliinistä käyttöä varten pitempiaikaisen varastoinnin jälkeen sekä tällaisten kapselien valmistusmenetelmää.

Ett antibakteriellt medel beskrives, nämligen  $7\beta$ -(Z)-2-(2-aminotiazol-4-yl)-4-karboxibut-2-enoylamino-3-cefem-4-karboxylsyra som är stabilt i (di- eller tri-)hydrat-kristallform. Ett förfarande för framställning av denna substans genom torkning beskrives också. Vidare beskrives också gelatinhårdkapslar fyllda med en farmakologiskt effektiv mängd av detta hydrat som är förseglade med ett band av gelatin för stabilisering av hydratet för klinisk användning efter lagring under en längre tid samt ett förfarande för framställning av sådana kapslar.

Menetelmä 7B-[(Z)-2-(2-aminotiatsol-4-yl)-4-karboksibut-2-enoyyliamino]-3-kefem-4-karboksyylimahapon kiteisen hydraatin valmistamiseksi

5 Kyseinen keksintö käsittelee stabiilia antibakteriellista  
lääkettä, joka sisältää 7B-[(Z)-2-(2-aminotiatsol-4-yl)-4-  
karboksibut-2-enoyyliamino]-3-kefem-4-karboksyylimahappoa (mer-  
kitään tämän jälkeen 7432-S). Erityisemmin keksintö käsitte-  
lee mainitun yhdisteen hydraattia ja mainittujen antibakteri-  
10 ellisten aineiden stabiilia kapselirakennetta.

Kyseinen keksintö tarjoaa stabiilin kiteisen (di- tai tri-)-  
hydraatin 7432-S, oraalisen kefalosporiinin, jota voidaan  
käyttää esim. bakteriellisten tulehdusten hoitamiseen ja tor-  
15 jumiseen.

Lähtöyhdistettä 7432-S, joka on käyttökelpoinen laajan kir-  
jonsa ja suuren tehokkuutensa johdosta Gram-positiivisia ja  
-negatiivisia bakteereja vastaan, kuvataan japanilaisessa  
20 patenttihakemuksessa (Kokai) 60-78 987.

Gelatiinisulkeella suojatusta kapselirakenteesta kerrotaan  
japanilaisessa käyttömallijulkaisussa ("Utility Model")  
45-20800, jossa kuvataan, miten neste täytetään ja suljetaan  
25 kapseliin.

On käynyt ilmi, että lähtöyhdiste 7432-S on epästabiili jopa  
kiteisessä muodossa ja menettää tehoaan tai muuttaa väriään  
seisottuaan pitemmän aikaa. Lukuisten kokeiden jälkeen syyksi  
30 osoittautui se, että yhdiste valmistettiin kuivaamalla alen-  
netussa paineessa fosforipentoksidin avulla tavanomaisella  
tavalla, jolloin vedetöntä ainetta tunnetusti jäi jäljelle.  
Lisätutkimukset, joissa sovellettiin eräitä tavallisia stabi-  
lisointimenetelmiä (esim. stabilisointiaineen lisäys, vedessä  
35 epästabiilien antibakteriellien aineiden kuivagranulointi,  
granulaattien kalvopinnoitus) eivät antaneet tyydyttävää tu-  
lostta antibakteriellisen aineen stabilisoimisesta. Tämän yh-  
disteen kliinistä käyttöä varten vaadittiin stabiilimpaa muo-  
toa.

Keksinnön mukaan kiteisellä 7432-S-hydraatilla on konstantti röntgensädediffraktiomalli ja korkea kemiallinen stabiliteetti.

## 5 I Hydraatti

Kyseisen keksinnön mukaisesti on yritetty löytää jokin menetelmä 7432-S:n stabiliteetin parantamiseksi ja havaittu tällöin, että kiteisellä hydraatilla, joka on valmistettu erityisolosuhteissa, on lähes sama röntgensädediffraktiomalli ja korkea kemiallinen stabiliteetti, joten pitempiaikainen varastointi käy mahdolliseksi. Tämä havainto on kyseisen keksinnön perustana. Tämä kiteinen hydraatti on kiteistä pulveria, jonka värisävy vaihtelee lievästi kellertävän valkoisesta kalpean kellertävän valkoiseen.

Kiteiden alkuaineanalyysi osoittaa, että hydraatti sisältää 2 moolia kidevettä sekä lisäksi aina yhteen mooliin asti kidevettä riippuen olosuhteista esim. kiteyttämisen ja kuivatamisen aikana.

Vesipitoisuus määrättiin Karl-Fischer-menetelmän avulla ja se sijoittui välille 7-14 %, (erityisesti 8,7-12,5 %), mikä vastaa (di -> tri)hydraattia tai näiden sekoitusta.

Ilmakehäpaineen termogrammi osoittaa, että ensimmäiset ja toiset vesimolekyylit säilyvät aina noin 140 °C asteeseen mutta että kolmas vesimolekyyli häviää 30-60 °C asteessa.

Ylläesitetyt seikat selittävät sen, että kolmas vesimolekyyli on heikosti sidoksissa kiteiseen rakenteeseen ja häviää helposti (esim. lämmön, alhaisen kosteuden tai alipaineisuuden vaikutuksesta).

Jokaisella kiteisellä hydraatilla tässä vesipitoisuusintervallissa (ts. intervallissa dihydraatista trihydraattiin) on lähes sama röntgensädediffraktiomalli kuten taulukossa 1 osoitetaan.

Taulukko 1

5 Röntgensädediffraktiomallia havainnoitiin seuraavin edellytyksin: Röntgensädeaaltopituus = 1,5418Å (kupari K $\alpha$ :Ni-suodatin) 40kV-20mA. Hilaväli d ilmaistaan yksiköllä Å. Suhteellinen voimakkuus I/I<sub>0</sub>:ssa ilmaisee prosentuaalisen voimakkuuden 20,95Å:ssa.

|    | d     | I/I <sub>0</sub> | d     | I/I <sub>0</sub> | d     | I/I <sub>0</sub> | d     | I/I <sub>0</sub> |
|----|-------|------------------|-------|------------------|-------|------------------|-------|------------------|
| 10 | 5,90  | 12               | 20,95 | 100              | 28,70 | 17               | 35,93 | 8                |
|    | 7,35  | 8                | 21,15 | 70               | 29,40 | 27               | 36,38 | 24               |
|    | 9,45  | 92               | 21,75 | 25               | 29,60 | 11               | 37,00 | 7                |
|    | 10,15 | 21               | 22,25 | 49               | 29,90 | 16               | 38,30 | 26               |
|    | 12,08 | 46               | 23,85 | 62               | 30,40 | 19               | 38,65 | 10               |
| 15 | 14,87 | 30               | 24,50 | 39               | 31,10 | 53               | 39,20 | 15               |
|    | 15,65 | 14               | 24,80 | 16               | 31,60 | 23               | 39,60 | 21               |
|    | 16,25 | 13               | 25,50 | 34               | 31,78 | 34               | 40,27 | 15               |
|    | 18,35 | 24               | 25,85 | 66               | 33,02 | 28               | 41,22 | 22               |
|    | 18,90 | 71               | 26,60 | 16               | 33,55 | 23               | 42,55 | 8                |
| 20 | 19,14 | 77               | 27,02 | 59               | 33,86 | 17               | 44,20 | 9                |
|    | 19,40 | 60               | 27,30 | 35               | 35,20 | 16               |       |                  |
|    | 20,58 | 88               | 28,35 | 54               | 35,65 | 10               |       |                  |

25 Kyseisen keksinnön mukaan sisältää kiteinen hydraatti 96-100 % (erityisesti 99,0-99,8 %) cis-geometrasta isomeeria (ts. (Z)-geometrasta isomeeria), jossa on 7-sivuketjun kaksoissidos riippumatta lähtöaineen määräsuhteesta.

30 Kyseisen keksinnön mukaan kiteisellä hydraatilla on vahva absorptionauha 1700 cm<sup>-1</sup>:ssa IR-absorptiospektrissä havainnoituna kaliumbromidilevyllä. Tätä nauhaa ei ei tavata vedettömien kiteiden tapauksessa.

Kiteisen hydraatin valmistus kuvataan seuraavassa.

(1) Yleinen kulku

5 Kiteistä hydraattia voidaan valmistaa seuraavalla menetelmäl-  
lä: lähtöaine 7432-S liuotetaan vesipitoiseen happoon ja  
liuoksen pH-arvoa kohotetaan (erityisesti pH-arvoon 1,5-5,0)  
suunnilleen huoneen lämpötilassa (erityisesti 0-70 °C) kitei-  
den erottamista varten. Tarvittaessa hämmennetään seosta ki-  
10 teytyksen loppuun saattamiseksi. Märät kiteet eroitetaan ja  
kuivataan suunnilleen huoneen lämpötilassa ja suunnilleen  
ilmakehän paineessa inertissä kaasussa, jonka suhteellinen  
kosteus ei ole alle 15 %.

15 (2) Lähtöaine

Lähtöaine voi olla märkää tai vedetöntä. Se voi olla vapaa  
yhdiste tai suola, jossa on aminoa (esim. happoadditiosuola)  
tai karboksi (esim. alkalimetallisuola). Kyseisen keksinnön  
20 mukainen menetelmä yhdessä esikäsittelyn kanssa (esim. puh-  
distaminen, isomerointi cisisomeeriksi, eristäminen) käyttä-  
mällä lähtöaineena vesiliukoista suolaa (esim. alkalimetal-  
lisuolaa, hydrokloridia) vesipitoisen happoliuoksen saamisek-  
si on tässä keksinnössä käytetty valmistusmuoto.

25

(3) Happo

Vesipitoinen happoliuos 7432-S voidaan valmistaa liettämällä  
vapaa happo tai ammoniumsuola tai liuottamalla karboksylaattisuola  
30 lähtöaineena veteen ja lisäämällä sitten happoa. Mai-  
nittu happo voi olla epäorgaanista happoa (esim. kloorivety-  
happo, rikkihappo, fosforihappo), karboksihappoa (esim. etik-  
kahappo, omenahappo, fumaarihappo, sitruunahappo), sulfoni-  
happoa (esim. metaanisulfonihappo, etaanisulfonihappo, tolu-  
35 eenisulfonihappo), hapanta suolaa (esim. dimetyyliaminihydro-  
kloridi, 7432-S-sulfaatti) tai samankaltainen hydrofiilinen  
happo, joka voi hapottaa lähtöaineen vesipitoisen liuoksen.  
Lähinnä voidaan käyttää n. 0-20 (erityisesti 1-10) hapon  
moläärisiä ekvivalentteja.

#### (4) Yhteisvaikutteiset liuotinaineet

5 Vesipitoinen liuos voi sisältää 0-70 % veteen sekoittuvaa orgaanista liuotusainetta, esim. jotain alkoholia (esim. metanoli, etanoli, isopropanoli, t-butanoli, metoksietanoli), amidia (esim. dimetyyliformamidi), nitriliä (esim. asetonitriili), sulfoksidia (esim. dimetyylisulfoksidi), eetteriä (esim. dioksaani, tetrahydrofuraani, dimetoksietaani), ketonia (esim. asetoni, metyylietyyliketoni) tai vastaavia yhteisvaikutteisina liuotinaineina.

#### (5) Konsentraatio

15 Lähtöaineen konsentraatio vesipitoiseen happoliuokseen voi lähinnä tapahtua välillä 2,0-15,0 % (erityisesti 3,0-5,0 %).

#### (6) Neutralisaatio

20 Emästä (kiinteä aine tai neste), joka voi neutralisoida vesipitoisen happoliuoksen etukäteen määrättyyn pH-arvoon, voidaan käyttää säätämään vesipitoinen happoliuos huoneen lämpötilassa (n. 0-70 °C, erityisesti 10-50 °C) suunnilleen isoelektriseen pisteeseen (pH noin 1,5-5,0, erityisesti 2,0-3,5). Happoliuoksen voi vaihtoehtoisesti laimentaa vedellä, jotta pH-arvo nousisi riittävästi hydraatin erottamista varten. Sopiva emäs sisältää orgaanisia emäksiä (esim. trietyylaminia) ja epäorgaanisia emäksiä (esim. ammoniumhydroksidi, natriumhydroksidi, kaliumhydroksidi, natriumkarbonaatti, kaliumkarbonaatti, natriumvetykarbonaatti, kaliumvetykarbonaatti), joista vesiliukoiset ovat yksinkertaisia käsitellä, vaikkakaan näihin ei olla rajoitettu. Veteen liukenematonta emästä (esim. anionivaihdinhartsit) voidaan myös käyttää tähän tarkoitukseen.

## 7) Kristallisaatio

Kiteiden eristämistä ja kypsyttämistä varten jatketaan eristettävien kiteiden suspension hämmentämistä lähinnä 10 minuutista 50 tuntiin 0-70 °C:ssa (erityisesti 5-35 °C:ssa).

## (8) Kuivaus

Kuivaus suoritetaan lähinnä miedoissa kuivausolosuhteissa (esim. paikallinen kuivaus, läpivirtauskuivaus, kiertokuivaus tai leijuarinakuivaus) inertillä kaasulla (esim. ilma, typpi, hiilidioksidi) suhteellisessa kosteudessa (ei alle 15 %) suunnilleen huonelämpötilassa (esim. 0-60 °C) ilmankehäpaineessa, joka riippuu hämmentämis- ja pulverivirtausolosuhteista.

Laboratorioasteikossa on tehty seuraavat havainnot: esim. tapauksessa, missä kuivaus tapahtuu suljetussa astiassa ilmankehäpaineessa, saavuttaa vesipitoisuus ensimmäisen kohopinta-arvon, mikä vastaa dihydraattia ilmassa, jonka suhteellinen kosteus on 15-50 % (erityisesti 20-30 %) 25-60 °C:ssa 1-8 tunnin aikana, ja toisen kohopinta-arvon, joka vastaa trihydraattia ilmassa, jonka suhteellinen kosteus on 45 % tai enemmän (erityisesti 50-80 %) 25-60 °C:ssa (erityisesti 10-25 °C) 1-8 tunnin aikana.

Tapauksessa, jossa käytetään läpivirtaus- tai kiertokuivausta, saadaan tuote, joka vastaa dihydraattia pääasiallisena ainesosanaan. Tämä riippuu hämmentämis- ja pulverivirtausolosuhteista, esim. lämpövirtauskuivaus ilmassa, jonka suhteellinen kosteus on 15-60 % lämpötilassa 25-40 °C kääntöpiisteeseen saakka aikaan nähden kontra poistoilman lämpökäyrä tai aika kontra poistoilman kosteuskäyrä (n. 2-10 tuntia, kun lähtöaine sisältää 30-60 % vettä).

Tapauksessa, jossa käytetään leijuarinakuivausta, saadaan - riippuen ilmavirtausolosuhteista, esim. kuivaus ilmassa, jonka suhteellinen kosteus on 50-60 % lämpötilassa 10-35 °C (erityisesti 20-32 °C), kunnes saavutetaan ensimmäinen kään-

nepiste aikaan nähden kontra poistoilmalämpö tai aika kontra poistoilman kosteuden kosteuskäyrä (n. 1 tunti, kun lähtöaine sisältää 30-60 % vettä) - tuote, joka vastaa trihydraattia, ja vastaavasti, kunnes saavutetaan samojen käyrien toinen käännepiste (n. 1,5 tuntia, kun lähtömateriaali sisältää 30-60 % vettä), tuote, joka vastaa dihydraattia pääainesosana. Laajemmassa tuotannossa voidaan soveltaa mielellään kiertokuivausta, läpivirtauskuivausta ja leijuarinakuivausta.

10 Tyypillisessä leijuarinakuivaustapauksessa saadaan - riippuen ilman virtausnopeudesta per painoyksikkö märkiä kiteitä, tai muista olosuhteista - ilma-kuivauksella, jossa suhteellinen kosteus on 20-80 % (erityisesti 50-60 %) 10-60 °C:ssa (erityisesti 20-30 °C:ssa) ensimmäiseen käännepisteeseen saakka  
15 aikaan nähden kontra poistoilman lämpö tai aika kontra poistoilman kosteuskäyrä (n. 1-5 tuntia, kun lähtömateriaali sisältää 30-60 % vettä) - kiteistä trihydraattia ja vastavasti toiseen käännepisteeseen (n. 3-7 tuntia, kun lähtöaine sisältää 30-60 % vettä) kiteistä dihydraattia pääainesosana.

20 Kuivaus korkeammassa lämpötilassa kuin n. 60 °C, kun mukana on jokin kuivausaine, alipaineessa tai muissa vastaavissa vaikeissa olosuhteissa, alentaa kideveden vähempään kuin 2, mikä tekee tuotteesta epästabiilin (esim. kuivaus alle 0,01 mmHg kalsiumkloridilla 25-28 °C:ssa alentaa vesipitoisuutta  
25 määrään 1,5-4,8 % kolmessa tunnissa; kuivaus kiertävässä kuivassa tyypessä 25 °C-lämpötilassa laskee 30 minuutissa vesipitoisuuden 1,08 prosenttiin).

30 Kyseisen keksinnön mukaisen kiteisen hydraatin stabiliteetti varmistettiin kiihdytystestillä, joka näyttää 97,8 % tehon säilymisen kuukauden kuluttua verrattuna vedettömän aineen arvoon (73,6 %).

35 Tässä keksinnössä esitetyn kiteisen hydraatin farmakologisesti tehokasta määrää voidaan käyttää oraalisessa rakennemuodossa (erityisesti kapselit, granulaatit, tabletit) bakteerellisten tulehdusten ehkäisyyn tai hoitoon. Kiteistä hyd-

raatia voidaan vaihtoehtoisesti varastoida myöhempää lisäkä-sittelyä varten.

Seuraavat esimerkit ja kokeet valaisevat kyseistä keksintöä. Niitä ei kuitenkaan pidä ymmärtää kyseisen keksinnön laajuutta rajoittavina. Vesipitoisuus määrättiin Karl-Fischer-menetelmän avulla.

## I Hydraatti

### Esimerkki 1

Raaka 7432-S-liuos (25 g) 6N kloorivetyhapossa (75 ml) saiseistä 1 tunnin ajan 15-20 °C:ssa hydrokloridin erottamista varten. Kiteet otettiin talteen suodattamalla, pestiin asetoninitriilillä (75 ml), joka sisälsi 1 pisaran konsentroitua kloorivetyhappoa ja kuivattiin, mikä antoi tulokseksi kiteisen 7432-S-hydrokloridimonohydraatin (18 g).

Tämä monohydraattiliuos (1,0 g) 3N hiilivetyhapossa (4 ml) tarkennettiin arvoon pH 1,5 lisäämällä vettä (30 ml) ja emästä ja hämmennettiin 2,5 tunnin ajan 25-45 °C:ssa. Separoitavat kiteet otettiin talteen suodattamalla ja pestiin vedellä. Kiteet kuivattiin kierto-kuivauksella 5 tunnin ajan 10 °C:ssa, mikä antoi tulokseksi kiteisen 7432-S-hydraatin (0,7 g), jonka vesipitoisuus oli 10,2 %. Geometristen isomeerien suhde (cis/trans) = 98,8 : 0,2.

### Esimerkki 2

Raaka kiteinen 7432-S (1,17 g) lietettiin t-butanoli- (3 ml) ja asetonitriili (3 ml)-seoksessa. Tähän suspensioon lisättiin 35 % kloorivetyhappoa (1 ml; 5 mooliekvivalenttia) niin että saatiin liuos. Tämä liuos laimennettiin sekoittamalla t-butanolia (3 ml), asetoninitriiliä (9 ml) ja vettä (5 ml), tarkennettiin arvoon pH 2,3 trietyylamiinilla ja hämmennettiin 3 tuntia 30-35 °C:ssa. Separoitavat kiteet otettiin talteen, pestiin asetoninitriilin, t-butanolin ja veden seoksella (2:1:1; 5 ml) ja vedellä (10 ml) ja kuivattiin läpi-

virtauskuivauksella 2 tunnin ajan 25-30 °C:ssa, mikä antoi tulokseksi kiteisen hydraatin (1,06 g), jonka vesipitoisuus oli 8,75 %. Geometrysten isomerien suhde oli (cis/trans) 99,2 : 0,8.

5

### Esimerkki 3

10 Raakaan kiteiseen 7432-S-suspensioon (1,0 g) vesi- (8 ml) ja asetoninitriili- (1 ml) seoksessa lisättiin natriumvetykarbonaattia (0,41 g; 2 mooliekvivalenttia), mikä antoi tulokseksi kirkkaan liuoksen. Tämä liuos laimennettiin metanolilla (6 ml), käsiteltiin aktiivisella hiilellä (0,1 g), hämmennettiin huoneen lämpötilassa 10 minuuttia ja suodatettiin aktiivisen hiilen poistamista varten. Suodate hapotettiin 6N kloorivetyhapolla (1,62 ml; 4,5 mooliekvivalenttia) ja kaadettiin 15 vesi- (3,4 ml) ja asetoninitriili- (5 ml) seokseen. Seos tarkennettiin 30 % kaliumkarbonaatilla arvoon pH 2,3, hämmennettiin tunnin ajan 40 °C:ssa ja 1,5 tunnin ajan 20-25 °C:ssa.

20 Separoitavat kiteet otettiin talteen, pestiin seoksella metanolia asetoninitriiliä ja vettä (1:1:2; 5 ml), vettä (20 ml) ja metanolia (5 ml) vuoronperään ja kuivattiin läpivirtauskuivauksella 20-25 °C:ssa 1,5 tunnin ajan, mikä antoi tulokseksi kiteisen hydraatin (0,876 g), jonka vesipitoisuus oli 9,35 %. Geometrysten isomerien suhde (cis/trans) oli 25 99,6 : 0,4.

### Esimerkki 4

30 Natriumvetykarbonaattiliuokseen (1,848 g; 3 mooliekvivalenttia) vedessä (42 ml) lisättiin raaka kiteinen 7432-S (4,66 g). Liuosta käsiteltiin asetoninitriilillä (19 ml), aktiivisella aluminiumoksidilla (2,34 g) ja aktiivisella hiilellä (0,466 g), hämmennettiin 15-20 °C:ssa 30 minuuttia ja suodatettiin aktiivisen hiilen ja aluminiumoksidin poistamiseksi. 35 Suodate kaadettiin seokseen asetoninitriiliä (37 ml), 62 % rikkihappoa (3,95 g) ja vettä (28 ml). Seos laimennettiin vesipitoisella 30 % kaliumkarbonaatilla (jotta pH-arvoksi saatiin 3,0), 20-25 °C:ssa, ja hämmennettiin 30 minuutin ajan

samassa lämpötilassa. Separoitavat kiteet otettiin talteen suodattamalla ja kuivattiin kiertokuivauksella 20-25 °C:ssa 2-3 tunnin ajan, mikä antoi tulokseksi kiteisen hydraatin (4,384 g), jonka vesipitoisuus oli 12,2 %. Geometrysten isomerien suhde (cis/trans) oli 99,6 : 0,4

Samankaltaisissa olosuhteissa käsiteltiin 7432-S-liuos (1,0 g) vesipitoisessa natriumvetykarbonaatissa (12 ml) aktiivisella aluminiumoksidilla ja aktiivisella hiilellä. Liuos laimennettiin ja hapotettiin liuosaineella (vesi, isopropanoli tai asetonitriili; (6ml) ja 85 % fosforihapolla (8 mooliekvivalenttia) vuoronperään, minkä jälkeen pH tarkennettiin arvoon 3,0 vesipitoisella 30 % kaliumkarbonaatilla 20-25 °C:ssa ja hämmennettiin samassa lämpötilassa 30 min. Separoitavat kiteet otettiin talteen suodattamalla ja kuivattiin läpivirtauskuivauksella 20-25 °C:ssa 2-3 tunnin ajan, mikä antoi tulokseksi kiteisen hydraatin (n. 0,90 g), jonka vesipitoisuus oli 11,0 %. Geometrysten isomerien suhde (cis/trans) oli 99,2 -> 99,7 / 0,8 -> 0,3.

Samoin edellytyksin mutta korvaamalla fosforihappo metanisolifonihapolla (4 mooliekvivalenttia) muodostui kiteinen hydraatti (0,879 g). Vesipitoisuus: 11,4 %. Geometrysten isomerien suhde (cis/trans) = 99,6 / 0,4.

#### Esimerkki 5

Raakaan kiteiseen 7432-S-suspensioon (2 g) dimetoksietaanin (18 ml) ja etanolin (2,0 ml) seoksessa lisättiin 6N kloorivetyhappoa (0,89 ml ; 1,3 mooliekvivalenttia) 2-5 °C:ssa ja seosta hämmennettiin samassa lämpötilassa 2 tuntia. Separoitavat hydrokloridikiteet otettiin talteen suodattamalla, pestiin seoksella (10 ml) dimetoksietaanin ja etanolia (9:1) ja asetonitriilillä (10 ml) ja kuivattiin 25-30 °C:ssa, mikä antoi tulokseksi hydrokloridia (1,878 g).

Tämä hydrokloridisuspensio (1,0 g) metanolin (6 ml) ja veden (5 ml) seoksessa liuotettiin lisäämällä natriumvetykarbonaattia (0,61 g; 3 mooliekvivalenttia), niin että saatiin liuos.

Tähän liuokseen lisättiin aktiivista hiiltä (0,1 g), koko seosta hämmennettiin 25-30 °C:ssa 10 minuuttia ja suodatettiin aktiivisen hiilen poistamiseksi. Suodate kaadettiin seokseen 35 % kloorivetyhappoa (1,01 ml; 4 mooliekvivalenttia), vettä (3 ml) ja asetoninitriiliä (6 ml), sen pH-arvo tarkennettiin arvoon 3,0 vesipitoisella 30 % kaliumkarbonaatilla ja koko seosta hämmennettiin 25-30 °C:ssa 30 minuuttia ja 5-7 °C:ssa 1 tunnin ajan. Separoitavat kiteet otettiin talteen suodattamalla, pestiin etanolilla (5 ml) ja vedellä (10 ml) vuoronperään ja kuivattiin läpivirtauskuivauksella 20-25 °C:ssa 2 tuntia, mikä antoi tulokseksi kiteisen hydraatin (0,82 g), jonka vesipitoisuus oli 10,6 %. Geometrysten isomerien suhde (cis/trans) oli 99,5 : 0,5.

#### 15 Esimerkki 6

Natriumvetykarbonaattiliuokseen (1,3 g; 2,2 mooliekvivalenttia vedessä (18 ml) lisättiin raakaa kiteistä 7432-S (3,0 g). Liuosta käsiteltiin aktiivisella aluminiumoksidilla (1,5 g) ja aktiivisella hiilellä (0,3 g), hämmennettiin 20-25 °C:ssa 30 minuuttia ja suodatettiin aktiivisen hiilen ja aluminiumoksidin poistamiseksi. Suodate kaadettiin seokseen omenahappoa (10 mooliekvivalenttia), (17 ml) ja asetoninitriiliä (36 ml). Seos neutralisoitiin vesipitoisella 30 % kaliumkarbonaatilla 20-25 °C:ssa, jotta pH-arvoksi saatiin 3,0, ja hämmennettiin 30 minuuttia samassa lämpötilassa. Separoitavat kiteet otettiin talteen suodattamalla ja kuivattiin kiertokuivauksella 20-30 °C:ssa 2 tunnin ajan, mikä antoi tulokseksi kiteisen hydraatin (2,665 g), jonka vesipitoisuus oli 11,7 %. Geometrysten isomerien suhde (cis/trans) oli 99,1 : 0,9.

Samoin edellytyksin mutta korvaamalla omenahappo fumarihapolla (10 mooliekvivalenttia) muodostui kiteistä hydraattia, jonka vesipitoisuus oli 10,1 %.

Samankaltaisesti käsiteltiin 7432-S-liuosta (1,0 g) vesipitoisessa natriumvetykarbonaatissa aktiivisella aluminiumoksidilla ja aktiivisella hiilellä. Liuos sekoitettiin liuokseen muurahaishappoa (4 mooliekvivalenttia) vesipitoisessa aseto-

ninitriilissä. Seosta käsiteltiin kuten edellä ja tulokseksi saatiin kiteinen hydraatti (0,925 g), jonka vesipitoisuus oli 12,7 %. Geometrinen isomerien suhde (cis/trans) oli 99,8 : 0,2. Mainittua määrää muurahaishappoa voidaan lisätä 75 mooliekvivalenttiin, jolloin saadaan sama kiteinen hydraatti.

#### Esimerkki 7

7432-S-hydraattinäyte (1 g), joka oli valmistettu esimerkissä 3 esitetyn menetelmän mukaan, sijoitettiin tiiviisti suljettuun astiaan, jonka suhteellinen kosteus oli 0 %, 12 %, 20 %, 44 %, 57 % tai 75 % (saatu valitsemalla sopiva märkäkuivauskeino), ja pidettiin 6 tuntia huoneen lämpötilassa. Sen jälkeen määrättiin Karl-Fischer-menetelmällä jokaiselle näytteelle vesipitoisuus, mikä antoi tulokseksi arvot 1,05 %, 5,83 %, 8,54 %, 11,21 %, 12,19 % tai 12,21 %.

Arvot osoittavat, että pääkomponentit ovat dihydraatti (arvioitu vesipitoisuus 8,07 %), kun suhteellinen kosteus on 20 % ja trihydraatti, kun suhteellinen kosteus on yli 44 %. Kun tätä kuivausta jatkettiin vielä 30 tuntia, väheni vesipitoisuus 6-30 tunnin aikana vähemmän kuin 0,2 % tapauksessa, jossa suhteellinen kosteus oli yli 20 %.

#### Esimerkki 8

7432-S-näyte (1 g), joka oli valmistettu esimerkissä 3 esitetyn menetelmän mukaan, sijoitettiin tiiviisti suljettuun astiaan, jonka suhteellinen kosteus oli 20 %, 44 %, 57 % tai 75 % (saatu valitsemalla sopiva märkäkuivauskeino) ja pidettiin 40 °C:ssa kuukauden ajan. Sen jälkeen määrättiin Karl-Fischer-menetelmällä jokaiselle näytteelle vesipitoisuus, mikä antoi tulokseksi arvot 7,92 %, 10,69 %, 11,73 % tai 12,4 %. Vesipitoisuus pieneni aikavälillä 30 tunnista yhteen kuukauteen vähemmän kuin 0,5 %, mikä osoittaa stabiilia vesipitoisuutta.

Hydraattien säilytyskokeetKoe 1

- 5 Edellä mainitun näytteen 7432-S an-, mono-, di- ja trihydraattia säilytettiin 1 kk ajan ja sen jälkeen määritettiin jäljellä oleva 7432-S-määrä. Tulokset käyvät ilmi oheisesta taulukosta 2.

10

Taulukko 2

15

| 7432-S                            | Anhydraatti | Mono-hydraatti | Dihydraatti | Tri-hydraatti |
|-----------------------------------|-------------|----------------|-------------|---------------|
| Jäljellä 1 kk säilytyksen jälkeen | < 85 %      | 93 %           | 98 %        | 97 %          |

Patenttivaatimus

1. Menetelmä  $7\beta$ -[(Z)-2-(2-aminotiatsol-4-yl)-4-karboksibut-2-enoyyliamino]-3-kefem-4-karboksyylihapon kiteisen hydraatin valmistamiseksi, jolla on seuraava röntgensädediffraktiomalli:

| d     | I/I <sub>0</sub> | d     | I/I <sub>0</sub> | d     | I/I <sub>0</sub> | d     | I/I <sub>0</sub> |
|-------|------------------|-------|------------------|-------|------------------|-------|------------------|
| 5,90  | 12               | 20,95 | 100              | 28,70 | 17               | 35,93 | 8                |
| 7,35  | 8                | 21,15 | 70               | 29,40 | 27               | 36,38 | 24               |
| 9,45  | 92               | 21,75 | 25               | 29,60 | 11               | 37,00 | 7                |
| 10,15 | 21               | 22,25 | 49               | 29,90 | 16               | 38,30 | 26               |
| 12,08 | 46               | 23,85 | 62               | 30,40 | 19               | 38,65 | 10               |
| 14,87 | 30               | 24,50 | 39               | 31,10 | 53               | 39,20 | 15               |
| 15,65 | 14               | 24,80 | 16               | 31,60 | 23               | 39,60 | 21               |
| 16,25 | 13               | 25,50 | 34               | 31,78 | 34               | 40,27 | 15               |
| 18,35 | 24               | 25,85 | 66               | 33,02 | 28               | 41,22 | 22               |
| 18,90 | 71               | 26,60 | 16               | 33,55 | 23               | 42,55 | 8                |
| 19,14 | 77               | 27,02 | 59               | 33,86 | 17               | 44,20 | 9                |
| 19,40 | 60               | 27,30 | 35               | 35,20 | 16               |       |                  |
| 20,58 | 88               | 28,35 | 54               | 35,65 | 10               |       |                  |

tunnettu siitä, että valmistetaan  $7\beta$ -[(Z)-2-(2-aminotiatsol-4-yl)-4-karboksibut-2-enoyyliamino]-3-kefem-4-karboksyylihapon merkkiä kiteitä kohottamalla yhdisteen vesipitoisen happoliuoksen pH-arvoa niin, että kiteytys tapahtuu, sekä kypsyttämällä kiteet, ja sen jälkeen kuivataan kiteitä 0-60 °C:ssa inertissä kaasussa vähintään 15 %:n suhteellisessa kosteudessa.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av ett kristallint hydrat av 7 $\beta$ -[(Z)-2-(2-aminotiazol-4-yl)-4-karboxibut-2-enoylamino]-3-cefem-4-karboxylsyra uppvisande följande röntgenstrålediffraktionsmönster:

| d     | I/I <sub>0</sub> | d     | I/I <sub>0</sub> | d     | I/I <sub>0</sub> | d     | I/I <sub>0</sub> |
|-------|------------------|-------|------------------|-------|------------------|-------|------------------|
| 5,90  | 12               | 20,95 | 100              | 28,70 | 17               | 35,93 | 8                |
| 7,35  | 8                | 21,15 | 70               | 29,40 | 27               | 36,38 | 24               |
| 9,45  | 92               | 21,75 | 25               | 29,60 | 11               | 37,00 | 7                |
| 10,15 | 21               | 22,25 | 49               | 29,90 | 16               | 38,30 | 26               |
| 12,08 | 46               | 23,85 | 62               | 30,40 | 19               | 38,65 | 10               |
| 14,87 | 30               | 24,50 | 39               | 31,10 | 53               | 39,20 | 15               |
| 15,65 | 14               | 24,80 | 16               | 31,60 | 23               | 39,60 | 21               |
| 16,25 | 13               | 25,50 | 34               | 31,78 | 34               | 40,27 | 15               |
| 18,35 | 24               | 25,85 | 66               | 33,02 | 28               | 41,22 | 22               |
| 18,90 | 71               | 26,60 | 16               | 33,55 | 23               | 42,55 | 8                |
| 19,14 | 77               | 27,02 | 59               | 33,86 | 17               | 44,20 | 9                |
| 19,40 | 60               | 27,30 | 35               | 35,20 | 16               |       |                  |
| 20,58 | 88               | 28,35 | 54               | 35,65 | 10               |       |                  |

kännetecknat av, våta kristaller av 7 $\beta$ -[(Z)-2-(2-aminotiazol-4-yl)-4-karboxibut-2-enoylamino]-3-cefem-4-karboxylsyra framställs genom höjning av pH för en vattenhaltig syralösning av föreningen så att kristallisation åstadkommes och genom mognande av kristallerna och att kristallerna därefter torkas vid 0-60 °C vid en relativ fuktighet av minst 15 %.