

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 901 198**

51 Int. Cl.:

C07D 471/08 (2006.01)
A61K 31/43 (2006.01)
A61K 31/439 (2006.01)
A61K 31/545 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
C07B 61/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.10.2014** **E 17195437 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.11.2021** **EP 3299370**

54 Título: **Formas cristalinas de derivado de diazabicyclooctano y procedimiento de producción de las mismas**

30 Prioridad:

08.10.2013 JP 2013211242

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.03.2022

73 Titular/es:

MEIJI SEIKA PHARMA CO., LTD. (100.0%)
4-16, Kyobashi 2-chome Chuo-ku
Tokyo 104-8002, JP

72 Inventor/es:

ABE, TAKAO;
FURUUCHI, TAKESHI;
SAKAMAKI, YOSHIAKI;
MITSUHASHI, NAKAKO y
SAITO, YUMIKO

74 Agente/Representante:

BERTRÁN VALLS, Silvia

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 901 198 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Formas cristalinas de derivado de diazabicyclooctano y procedimiento de producción de las mismas

5 **Campo técnico**

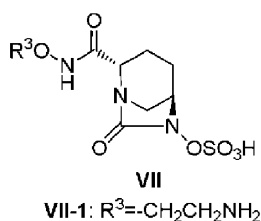
La presente invención se refiere a formas cristalinas de un derivado de diazabicyclooctano de fórmula (VII-1) y a un procedimiento para producirlas.

10 **Antecedentes de la técnica**

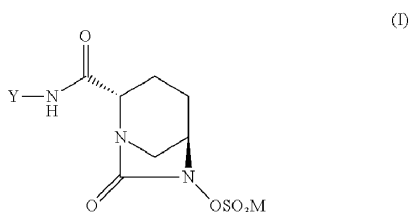
El documento JP-B-4515704 indica un nuevo compuesto heterocíclico, un procedimiento de producción del mismo y el uso del mismo como un agente farmacéutico, y divulga como ejemplo de un compuesto típico del mismo trans-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo [3.2.1]octano-2-carboxamida de sodio (NXL 104). Los procedimientos de producción de un derivado de piperidina específico como producto intermedio también se indican en los documentos JP-A-2010-138206 y JP-A-2010-53914 7, mientras que un procedimiento de producción de NXL104 y formas cristalinas del mismo se divulga en el documento WO 2011/042560.

Además, el documento JP-B-5038509 indica (2S,5R)-7-oxo-N-(piperidin-4-il)-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (MK7655), mientras que un procedimiento de producción de un derivado de piperidina específico y MK7655 se divulgan en los documentos JP-A-2011-207900 y WO 2010/126820.

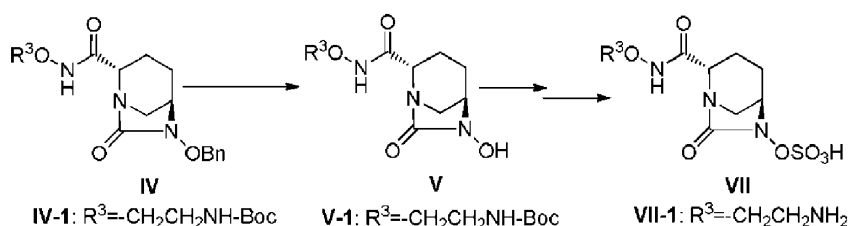
Los inventores de la presente invención también divulgaron un nuevo derivado de diazabicyclooctano de fórmula (VII) en el documento JP-A-2012-122603, en el que R^3 es el mismo que se describirá posteriormente:



El documento US-A-2013/224445 divulga compuestos de fórmula (I):



en la que M es H o un catión formador de sal farmacéuticamente aceptable; Y es OR^1 o NR^2R^3 y R^1 - R^3 pueden tener muchos significados alternativos. También se menciona el presente compuesto (VII-1). Las formas cristalinas no se tratan en este documento.

35 **Sumario de la invención****Problemas que van a resolverse mediante la invención**40 **Esquema 1**

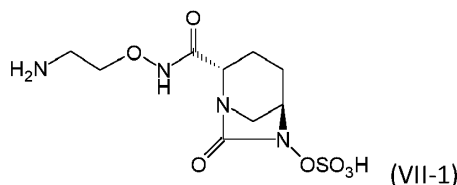
En las fórmulas anteriores, R^3 es heterocíclico o alquilo C_{1-6} , y puede modificarse con 0-5 grupos, R^4 seleccionado de alquilo C_{1-6} , heterocíclico, $R^5(R^6)N$ - (R^5 y R^6 son H o alquilo C_{1-6} o juntos forman un heterocíclico) y un grupo protector. OBn es benciloxilo y Boc es terc-butoxicarbonilo.

Durante el transcurso del examen de industrialización de (2S,5R)-N-(2-aminoetoxy)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida de fórmula (VII) mencionada anteriormente (denominada compuesto (VII) a continuación en el presente documento), particularmente fórmula (VII-1) (denominada compuesto (VII-1) a continuación en el presente documento), se indicaron diversos problemas que se relacionan con la producción, incluyendo la necesidad de proporcionar el compuesto en una forma cristalina estable debido a la dificultad de manejo durante la producción del principio activo farmacéutico (API) amorfo, particularmente el producto liofilizado, y la dificultad para asegurar su estabilidad. En particular, la etapa de aislamiento y ajuste del pH del compuesto bruto de fórmula (VII-1-CR) (compuesto (VII-1-CR en lo siguiente) que contiene ácido para la cristalización del compuesto de fórmula (VII-1) era extremadamente difícil debido a factores complejos en los efectos de la inestabilidad y la alta solubilidad del compuesto, productos de descomposición y contaminantes.

Medios para resolver los problemas

Los inventores realizaron estudios detallados sobre el procedimiento para producir el compuesto de fórmula (VII), así como un procedimiento para producir formas cristalinas muy estables.

Concretamente, la presente invención se refiere a una forma cristalina de un compuesto de fórmula (VII-1):



que es

(i) una forma cristalina I que tiene picos característicos que aparecen en el espaciado reticular (d) de 7,34, 5,66, 5,53, 5,30, 5,02, 4,66, 4,37, 4,28, 4,06, 3,68, 3,62, 3,47, 3,36, 3,30, 3,16, 3,11, 3,03, 2,99 y 2,50 Å en el patrón de difracción de rayos X de polvo;

(ii) una forma cristalina II que tiene picos característicos que aparecen en el espaciado reticular (d) de 9,46, 5,62, 5,23, 5,10, 5,00, 4,91, 4,67, 4,45, 4,29, 3,96, 3,78, 3,71, 3,52, 3,24, 3,18, 3,10, 3,02, 2,88, 2,81, 2,77, 2,67, 2,50 y 2,45 Å en el patrón de difracción de rayos X de polvo;

(iii) una forma cristalina III que tiene picos característicos que aparecen en el espaciado reticular (d) de 8,32, 6,10, 5,98, 5,51, 5,16, 5,07, 4,85, 4,70, 4,61, 4,35, 4,20, 4,06, 4,00, 3,95, 3,77, 3,73, 3,65, 3,42, 3,39, 3,36, 3,26, 3,23, 3,13, 3,09, 2,99, 2,81 y 2,52 Å en el patrón de difracción de rayos X de polvo; o

(iv) una forma cristalina IV que tiene picos característicos que aparecen en el espaciado reticular (d) de 7,88, 6,41, 5,20, 4,67, 4,50, 4,02, 3,81, 3,75, 3,70, 3,62, 3,38, 3,23, 3,20, y 2,74 Å en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Además, la presente invención proporciona un procedimiento para producir las formas cristalinas I-IV de fórmula (VII-1), seleccionado de

(i) producir la forma cristalina I mediante un método que comprende ajustar la temperatura de una disolución del compuesto de fórmula (VII-1) entre 20-25°C, sembrar con una forma cristalina I y agitar, seguido de añadir además isopropanol;

(ii) producir la forma cristalina II mediante un método que comprende ajustar la temperatura de una disolución del compuesto de fórmula (VII-1) entre 10-15°C, añadir isopropanol y agitar;

(iii) producir la forma cristalina III mediante un método que comprende ajustar la temperatura de una disolución del compuesto de fórmula (VII-1) entre 20-25°C, sembrar con una forma cristalina III, añadir isopropanol y agitar; y

(iv) producir la forma cristalina IV mediante un método que comprende

- ajustar la temperatura de una disolución del compuesto de fórmula (VII-1) entre 20-25°C, añadir metanol y agitar; o

- agitar la forma cristalina I, II o III en metanol, etanol o isopropanol.

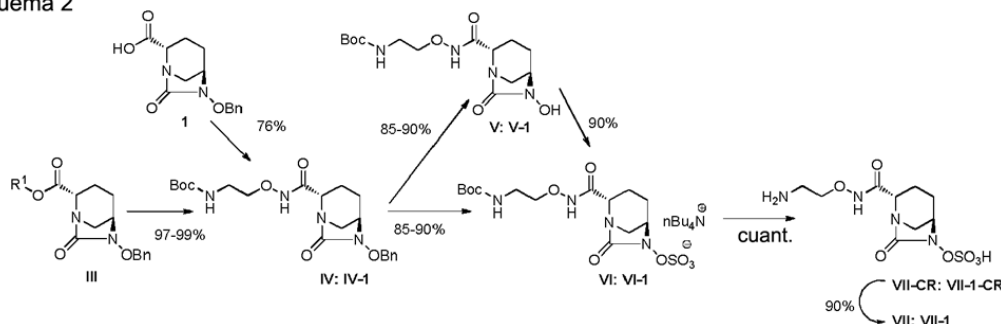
Además, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende la forma cristalina I, la forma cristalina II, la forma cristalina III, la forma cristalina IV, o una mezcla de las mismas, del compuesto de fórmula (VII-1) y opcionalmente un portador farmacéuticamente aceptable.

Realizaciones preferidas de la invención son tal como se definen en las reivindicaciones dependientes adjuntas y/o en la siguiente descripción detallada.

Efectos de la invención

Según la serie de procedimientos de producción de la presente invención, las formas cristalinas del compuesto (VII-1) y formas cristalinas del mismo que tienen una estabilidad favorable, pueden producirse con buena reproducibilidad y alto rendimiento.

Esquema 2



Aunque existían factores que alteraron directamente la cristalización del compuesto (VII) y que se produjeron a partir de la descomposición del compuesto (VII) durante el ajuste de pH y de trasladar los productos degradados en una serie de etapas a la siguiente etapa, la descomposición del compuesto (VII) se controla completamente, y puede obtenerse una disolución con alta pureza del compuesto (VII) que puede cristalizarse con alto rendimiento empleando procedimientos para producir un compuesto de fórmula (VI) (compuesto (VI) en lo siguiente) y un compuesto (VII-CR) establecidos en la presente invención, y empleando adicionalmente una serie de etapas para el aislamiento, neutralización y desalación del compuesto (VII-CR) que contiene un ácido.

Un compuesto representado por la fórmula (III) mencionada anteriormente (compuesto (III) en lo siguiente), particularmente un compuesto en el que R¹ es 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo, 1,3-dioxo-3a,4,7,7a-tetrahidro-1H-isindol-2(3H)-ilo, 1,3-dioxohexahidro-1H-isindol-2(3H)-ilo o 3,5-dioxo-4-azatriciclo[5.2.1.0^{2,6}]dec-8-en-4-ilo, proporciona un compuesto representado por la fórmula (IV) con mayor pureza y mayor rendimiento en comparación con el sintetizado a partir de la fórmula (1) mencionada anteriormente.

Aunque el rendimiento de un compuesto de la fórmula (V) mencionada anteriormente (compuesto (V) en lo siguiente) que es inestable en una disolución tendió a disminuir acompañando a un aumento de la escala de producción, la formación de productos descompuestos durante la concentración de un compuesto (V), disminuye en el rendimiento provocado por la pérdida de aislamiento, y la contaminación por productos sobre-reaccionados en la etapa de sulfatación se evitaron derivando un compuesto (VI) de un compuesto de fórmula (IV) (compuesto (IV) en lo siguiente) mediante o bien una reacción en una sola etapa o bien secuencial. Aunque un disolvente a base de alcohol es superior al de la reacción de desbencilación del compuesto (IV), el complejo trióxido de azufre-piridina, que se usa normalmente en la etapa de sulfatación posterior, se desactiva en disolventes a base de alcohol y, por tanto, no puede aplicarse. El complejo trióxido de azufre-piridina encontrado en la presente invención presenta una estabilidad superior en disolventes a base de alcohol y permite que la reacción de sulfatación se lleve a cabo en una sola etapa o secuencialmente.

En la etapa para producir el compuesto (VII-CR), puede producirse un compuesto (VII-CR) con reproducibilidad favorable en forma de un sólido de fácil manejo que tiene baja higroscopicidad y pocos productos descompuestos que precipitan con un disolvente deficiente tal como un disolvente a base de éster o un disolvente a base de éter que tiene baja higroscopicidad, acetato de etilo particularmente versátil, a la disolución de reacción. La razón de contaminación de los componentes de ácido que tiene un efecto sobre la etapa de neutralización puede controlarse dentro del intervalo admisible para etapa posterior del 10-30% en moles lavando un sólido húmedo, haciendo posible así mantener un alto nivel de pureza y demostrar una razón de área de HPLC de 99% o más.

La transformación de los cristales en el polimorfismo del compuesto (VII-1) obtenido en la presente invención no se observa en una prueba de estabilidad llevada a cabo a 40°C en estado sólido o en la agitación de la suspensión en un disolvente acuoso durante mucho tiempo. Cuando la forma cristalina III del compuesto (VII-1) se sometió a un experimento de DRX-DSC, se calentó hasta 160°C al 60% de HR, y luego se dejó enfriar reposando hasta 63°C, la forma cristalina cambió a una forma cristalina anhidra desde por encima de aproximadamente 145°C, y luego volvió a la forma cristalina III por debajo de aproximadamente 90°C después de enfriarse. Basándose en estos hallazgos, una forma cristalina de un compuesto (VII-1), particularmente la forma cristalina III constituye una forma estable en condiciones habituales.

Quando los cambios a lo largo del tiempo del contenido de agua, se compararon simultáneamente cantidades totales de sustancias relacionadas y contenido de la forma amorfa y las formas cristalinas I, II, III y IV del compuesto (VII-1) en condiciones de 40°C (75% de HR), tal como se muestra en la siguiente tabla 1, al contrario que la cantidad total de sustancias relacionadas de la forma amorfa que es del 0,5% al comienzo del experimento, la cantidad aumentó posteriormente de manera considerable al, 6,6% después de 1 mes y al 12,3% después de 3 meses, y también al contrario que el contenido que es del 99,4% al comienzo, disminuyó al 93,3% después de 1 mes y al 87,5% después de 3 meses. Por otro lado, al contrario que las cantidades totales de sustancias relacionadas de las formas cristalinas I, II, III y IV que son del 0,0-0,1% al comienzo del experimento, las cantidades no cambian demostrando el 0,0% después de 1 mes y el 0,0-0,5% después 3 meses, y también al contrario que el contenido que es del 99,8-99,9% al comienzo del experimento, permanecieron sin cambios y estables, demostrando el 99,8-100,0% después de 1 mes y el 99,3-99,9% después de 3 meses, y también al contrario que el contenido de agua de las formas cristalinas I, II, III y IV que es del 5,3-5,7% y el 0,1% al comienzo del experimento, permaneció sin cambios y estable, demostrando el 5,5-5,9% y el 0,1% después de 3 meses y 1 mes.

[Tabla 1]

Condiciones de almacenamiento: 40°C/75% de HR, recipiente hermético

Forma cristalina	Al comienzo			1 mes			3 meses		
	Contenido de agua (%)	Cantidad total de sustancias relacionadas (%)	Contenido (%)	Contenido de agua (%)	Cantidad total de sustancias relacionadas (%)	Contenido (%)	Contenido de agua (%)	Cantidad total de sustancias relacionadas (%)	Contenido (%)
Forma amorfa	1,3	0,5	99,4	3,3	6,6	93,3	3,8	12,3	87,5
Forma cristalina I	5,4	0,1	99,9	5,4	0,0	99,9	5,6	0,1	99,8
Forma cristalina II	5,7	0,1	99,8	5,6	0,0	99,8	5,9	0,5	99,3
Forma cristalina III	5,3	0,0	99,9	5,3	0,0	100,0	5,5	0,0	99,9
Forma cristalina IV	0,1	0,0	99,9	0,1	0,0	99,8	NT	NT	NT

Además, cuando se observó la estabilidad de contacto de la forma cristalina III en un recipiente de envasado de fármacos a granel a lo largo del tiempo, tal como se muestra en la tabla 2 y la tabla 3, al contrario que el contenido, la cantidad total de sustancias relacionadas y el contenido de agua al comienzo del experimento que es del 99,9%, el 0,09% y el 5,20%, respectivamente, después de 3 meses a 40°C (75% de HR), los valores fueron del 99,9%, el 0,06% y el 5,29%, respectivamente, y después de 1 mes a 60°C, los valores fueron del 99,9%, el 0,04% y el 5,08%, respectivamente, lo que demuestra que los cristales no cambiaron y permanecieron estables.

[Tabla 2]

Envase interior: una bolsa de polietileno de baja densidad, abrazadera de nailon

Envase exterior: una bolsa laminada de aluminio, termosellada

Condiciones de almacenamiento: 40°C/75% de HR

Parámetros de la prueba	Al comienzo	1 mes	2 meses	3 meses
Cantidad total de sustancias relacionadas (%)	0,09	0,07	0,04	0,06
Contenido de agua (%)	5,20	5,51	5,27	5,29
Contenido (%)	99,9	99,9	99,9	99,9

[Tabla 3]

Envase interior: una bolsa de polietileno de baja densidad, abrazadera de nailon

Envase exterior: una bolsa laminada de aluminio, termosellada

Condiciones de almacenamiento: 60°C

Parámetros de la prueba	Al comienzo	2 semanas	4 semanas
Cantidad total de sustancias relacionadas (%)	0,09	0,02	0,04

Contenido de agua (%)	5,20	5,20	5,08
Contenido (%)	99,9	99,9	99,9

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma cristalina I.

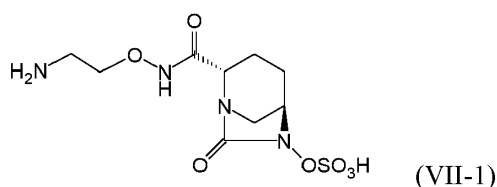
La figura 2 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma cristalina II.

La figura 3 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma cristalina III.

La figura 4 muestra un patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma cristalina IV.

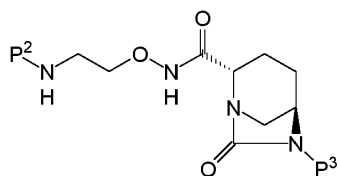
Modo para llevar a cabo la invención

Tal como se ha descrito previamente, la presente invención proporciona formas cristalinas muy estables del compuesto (VII-1) y un procedimiento de producción de las mismas.



A continuación se proporciona una explicación detallada del procedimiento de la presente invención para producir una forma cristalina del compuesto (VII-1), pero la presente invención no se limita al alcance de los ejemplos específicos indicados de la misma.

Los compuestos de las fórmulas (IV-1), (VI-1), (VII-CR-1) y (VII-1) considerados en la presente invención incluyen el siguiente grupo de compuestos:



IV-1, VI-1, VII-1

en la que P² es un grupo protector tal como terc-butoxicarbonilo (Boc) o H, y P³ es benciloxilo (OBn), tetrabutylamoniosulfooxilo o sulfooxilo.

Lo más preferiblemente, los ejemplos específicos incluyen {2-[[[[(2S,5R)-6-benciloxi-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de terc-butilo;

{2-[[[[(2S,5R)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de tetrabutylamonio y terc-butilo; y

(2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida, respectivamente.

El compuesto proporcionado por la presente invención es un inhibidor de la β-lactamasa y demuestra una acción que inhibe la descomposición de los agentes antimicrobianos β-lactámicos por esta enzima. Por tanto, un producto farmacéutico proporcionado por el procedimiento de la presente invención se basa en el uso concomitante con un agente antimicrobiano β-lactámico.

El fármaco proporcionado por la presente invención se caracteriza por contener como principios activos del mismo la forma cristalina I, la forma cristalina II, la forma cristalina III, la forma cristalina IV, o una mezcla de las mismas, del compuesto (VII-1), y aunque puede administrarse por vía oral o parenteral, se administra preferiblemente por vía parenteral. Un compuesto de la presente invención y un antibiótico β-lactámico pueden administrarse produciendo una composición farmacéutica mediante un método que consiste en usar de manera concomitante cada agente farmacéutico preparado individualmente en el momento de su uso y administrarlo simultáneamente o por separado, o mezclando ambos agentes farmacéuticos de antemano y usando normalmente uno o dos o más aditivos de

preparación (portadores).

Los ejemplos específicos de composiciones farmacéuticas para administración oral incluyen comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos, píldoras, disoluciones y suspensiones orales acuosas y no acuosas.

Los ejemplos de vías de administración para administración parenteral incluyen administración intranasal, colirios, gotas para los oídos, administración percutánea, administración intratraqueal, administración intrarrectal, administración intraurológica, administración subcutánea, administración intramuscular y administración intravenosa.

Los ejemplos específicos de composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen disoluciones para inyección intravenosa usando una composición farmacéutica en forma de polvo con un disolvente aceptable para administración intravenosa. Los ejemplos de disolventes aceptables incluyen agua estéril para inyección, solución salina fisiológica, disolución de glucosa, solución de Ringer, agua estéril para inyección que contiene parahidroxibenzoato de metilo o parahidroxibenzoato de propilo y agua estéril para inyección que contiene alcohol bencílico.

Se produce una forma en polvo de una composición farmacéutica para administración intravenosa dispensando un principio activo farmacéutico en forma de un compuesto de la presente invención y un antibiótico β -lactámico en un vial sellado después de pasar por una etapa de esterilización.

En este caso, los ejemplos de antibióticos β -lactámicos que pueden usarse de manera concomitante con un compuesto de la presente invención incluyen antibióticos de penicilina, cefémicos y carbapenémicos.

Los ejemplos específicos de penicilina incluyen bencilpenicilina, feneticilina, cloxacilina, dicloxacilina, ampicilina, ciclacilina, amoxicilina, talampicilina, becampicilina, lenampicilina, aspoxicilina, piperacilina, sulbenicilina, pivmecillinam, sultamicilina, fenoximetilpenicilina, carbenicilina, azidocilina, propicilina, epicilina, ticarcilina, pirlbenicilina, azlocilina, mezlocilina y otras penicilinas conocidas.

Los ejemplos específicos de cefem incluyen cefaclor, cefazolina, cefatrizina, cefadroxilo, cefapirina, nafato de cefamandol, cefradina, cefalexina, cefalotina, cefepima, cefoxitina, cefixima, Cefzidime, cefditoren, cefdinir, cefsulodina, cefselis, cefzopran, Ceftaxime, ceftazidima, ceftarolina, ceftiam, ceftizoxima, ceftibuteno, ceftazol, ceftetam, ceftriaxona, cefnidad, cefpiramida, cefpiroma, cefbuperazona, cefprozil, cefperazona, cefpodoxima, cefminox, cefmetazol, cefmenoxima, cefradina, cefroxadina, ceftolozano (CXA101; sal de hidrogenosulfato del ácido (6R,7R)-3-[5-amino-4-[3-(2-aminoetil)ureida]-1-metil-1H-pirazol-2-ilo-2-ilmetil]-7-[2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-[(Z)-1-carboxi-1-metiletoxiimino]acetamida]-3-cefem-4-carboxilo], y otros cefem conocidos.

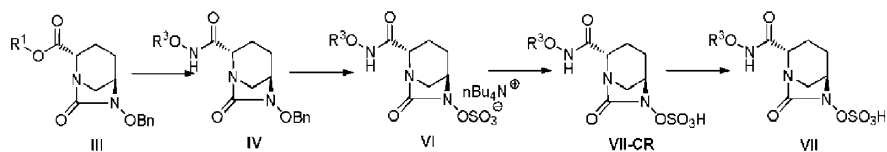
Los ejemplos de antibióticos carbapenémicos incluyen imipenem, panipenem, meropenem, biapenem, doripenem, ertapenem y tebipenem, y estos pueden usarse de manera concomitante con inhibidores de DHP-1 tales como cilastatina sodio según sea necesario.

Los ejemplos de antibióticos β -lactámicos distintos del carbapenem, penicilina y cefem incluyen aztreonam, carumonam, latamoxef, loracarbef, faropenem y ritipenem.

Los ejemplos de penicilina que son particularmente preferibles para la administración concomitante con un compuesto según la presente invención incluyen ampicilina, amoxicilina, carbenicilina, piperacilina, azlocilina, mezlocilina y ticarcilina. Estas penicilinas pueden usarse en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, en forma de sal sódica. En otra forma, puede usarse ampicilina o amoxicilina de manera concomitante con un compuesto (VII-1) en forma de suspensión para inyección o gránulos finos de iones zwitteriónicos (ampicilina trihidratada o amoxicilina trihidratada) para su uso en una suspensión para inyección. Los ejemplos de antibióticos basados en cefem particularmente preferibles para la administración concomitante con un compuesto según la presente invención incluyen cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima y cefepima, y estos pueden usarse en forma de una sal farmacéuticamente aceptable en forma de sal de sodio. Los ejemplos de antibióticos carbapenémicos particularmente preferidos para la administración concomitante con un compuesto según la presente invención incluyen imipenem, meropenem, biapenem, doripenem y ertapenem.

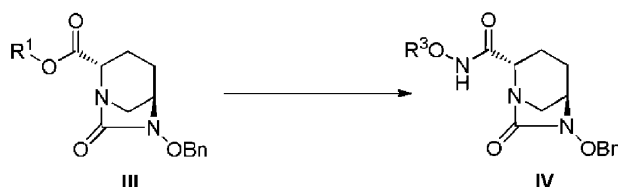
Un ejemplo de un antibiótico β -lactámico distinto de los antibióticos carbapenémicos, penicilinas y cefémicos que es particularmente preferible para la administración concomitante con un compuesto según la presente invención es aztreonam.

Lo siguiente proporciona explicaciones secuenciales de procedimientos para producir un compuesto de fórmula (VII) y cristales del mismo proporcionado por la presente invención.



en las que OBn, R¹ y R³ son los mismos tal como se describieron anteriormente.

- 5 La etapa para obtener compuesto (IV) a partir de un compuesto (III):



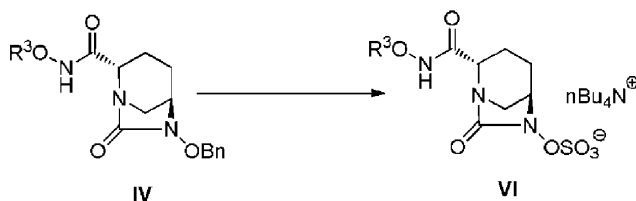
en las que OBn, R¹ y R³ son los mismos tal como se describieron se lleva a cabo de la manera descrita a continuación.

- 10 Los ejemplos de disolvente usados incluyen agua, metanol, etanol, isopropanol, acetato de etilo, tetrahidrofurano, dioxano, diclorometano, cloroformo, 1,2-dicloroetano y 2,2,2-trifluoroetanol; los ejemplos preferibles incluyen acetato de etilo, dioxano, diclorometano, cloroformo y dicloroetano, y estos disolventes se usan solos o como una mezcla.
- 15 El compuesto: R³ONH₂ usado en la reacción se selecciona de los enumerados como ejemplos específicos de R³ (por ejemplo, CH₂CH₂NH-Boc en el caso de preparar el compuesto VII-1), y se usa dentro del intervalo de 1 a 2 equivalentes, y preferiblemente de 1 a 1,3 equivalentes, basándose en el compuesto de fórmula (III).

- 20 Los ejemplos de bases usadas en la reacción incluyen hidrogenocarbonato de sodio, hidrogenocarbonato de potasio, carbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de cesio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, trietilamina, diisopropilamina, dimetilbutilamina, tributilamina, N-metilmorfolina, piridina, N-metilimidazol, 4-dimetilaminopiridina y trietilamina y se usa preferiblemente trietilamina, y la base puede usarse en forma de disolución acuosa en el caso de usar una base inorgánica. La base se usa dentro del intervalo de 0-2 equivalentes, y preferiblemente de 0-1,5 equivalentes, basándose en el compuesto (III). La temperatura de reacción está dentro del intervalo de -25 a 50°C y preferiblemente dentro del intervalo de -10 a 10°C. El tiempo de reacción es de 1-24 horas y preferiblemente de 1-16 horas.

- El compuesto (IV) puede aislarse una vez completada la reacción diluyendo la disolución de reacción con un disolvente adecuado y lavando secuencialmente con agua, ácido diluido y una disolución básica acuosa (tal como ácido clorhídrico diluido, hidrogenosulfato de potasio, ácido cítrico y bicarbonato de sodio acuoso o salmuera saturada) seguido por concentración por evaporación del disolvente. Los ejemplos de disolventes orgánicos usados para la dilución incluyen dietil éter, acetato de etilo, acetato de butilo, tolueno, diclorometano y cloroformo, y es preferible el acetato de etilo. Aunque el producto se aísla mediante procedimientos habituales de tratamiento y purificación, solo puede usarse en la siguiente etapa después del tratamiento.

- 35 La etapa para convertir un compuesto representado por la siguiente fórmula (IV):



- 40 en un compuesto (VI) anterior se lleva a cabo de la manera descrita a continuación.

- Los ejemplos de disolventes usados en la reacción incluyen agua, metanol, etanol, isopropanol y acetonitrilo, y estos disolventes se usan solos o como una mezcla. En el caso de llevar a cabo la reacción de desbencilación y la reacción de sulfatación simultáneamente, es preferible un disolvente acuosos, y en el caso de realizarla de manera continua, se añade agua preferiblemente durante la sulfatación. La cantidad de agua añadida es del 50 al 200% en volumen, y preferiblemente del 75 al 125% en volumen, del disolvente.

- La cantidad de paladio/carbono usada es del 5 al 100% en peso, y preferiblemente del 5 al 30% en peso, basándose en el compuesto representado por la fórmula (IV).

La fuente de suministro de hidrógeno usada en la hidrogenólisis es gas de hidrógeno, y la presión de hidrógeno se selecciona dentro de un intervalo de presión atmosférica a 1 MPa y preferiblemente de presión atmosférica a 0,5 MPa. La cantidad de hidrógeno suministrada es al menos la usada en una cantidad igual o mayor que la cantidad estequiométrica.

La temperatura de reacción de la hidrogenólisis es de 10-50°C y preferiblemente de 20-30°C. El tiempo de reacción es de 0,5-3 horas y preferiblemente de 0,5-2 horas.

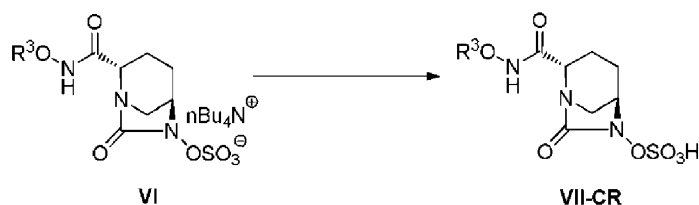
El complejo de trióxido de azufre-trimetilamina usado como reactivo de sulfatación se usa dentro del intervalo de 1-2 equivalentes, y preferiblemente de 1-1,3 equivalentes, basándose en el compuesto (IV).

Los ejemplos de base usada en la sulfatación incluyen trietilamina, tributilamina, diisopropiletilamina, N-metilmorfolina e hidrogenofosfato de disodio, y se usa preferiblemente trietilamina, y la base puede usarse dentro del intervalo de 0,1-1 equivalente, y preferiblemente de 0,1-0,3 equivalentes, basándose en el compuesto (IV).

La temperatura de reacción de sulfatación es de 0-50°C y preferiblemente de 15-30°C. El tiempo de reacción es de 12-48 horas y preferiblemente de 12-24 horas.

Después de completarse la reacción, el compuesto (VI) puede obtenerse separando por filtración impurezas tales como el catalizador y añadiendo un concentrado obtenido por evaporación del disolvente a una disolución acuosa de dihidrogenofosfato de sodio, seguido por la adición de 1-3 equivalentes molares de hidrogenosulfato de tetrabutilamonio, extrayendo con un disolvente orgánico tal como acetato de etilo y concentrando por evaporación del disolvente. El compuesto resultante (VI) puede usarse como una disolución concentrada para la siguiente etapa sin aislar ni purificar.

La etapa para convertir un compuesto de fórmula (VI):



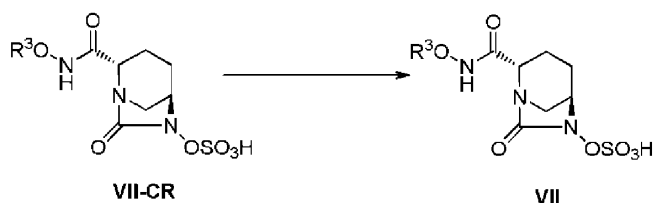
en un compuesto (VII-CR) anterior se lleva a cabo de la manera descrita a continuación.

Los ejemplos de disolventes usados en la etapa para desproteger un grupo protector contenido opcionalmente en R³O-NHC(=O)-, particularmente un grupo terc-butoxicarbonilo (Boc), incluyen acetato de etilo, tetrahidrofurano, dioxano, diclorometano, cloroformo, 1,2-dicloroetano y 2,2,2-trifluoroetanol y se usa preferiblemente diclorometano o acetato de etilo, y el disolvente se usa solo o como una mezcla. La cantidad de disolvente usada es de 2-10 vol/p, y preferiblemente de 2-6 vol/p, basándose en el peso neto del compuesto (VI).

Los ejemplos de ácidos usados en la desprotección incluyen ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido fórmico, ácido trifluoroacético, ácido metanosulfónico, ácido trifluorometanosulfónico, ácido clorometanosulfónico y ácido tetrafluorobórico, y es preferible el ácido trifluoroacético. La cantidad de ácido usada es de 10 vol/p, y preferiblemente de 2-6 vol/p basándose en el peso neto del compuesto representado por la fórmula (VI). El ácido se añade a de -50 a 0°C y preferiblemente de -20 a 0°C. La temperatura de reacción es de -5 a 20°C y preferiblemente de -5 a 5°C. El tiempo de reacción es de 0,5-5 horas y preferiblemente de 0,5-3 horas.

Después de completarse la desprotección, la etapa para obtener un compuesto representado por la fórmula (VII-CR) enfriando la disolución de reacción y añadiendo un disolvente deficiente se lleva a cabo de la manera que se describe a continuación. Los ejemplos del disolvente deficiente usado incluyen disolventes deficientes basados en éter y disolventes deficientes basados en éster, los ejemplos preferibles incluyen disolventes deficientes basados en éster tales como acetato de etilo, acetato de isopropilo o acetato de butilo, y el acetato de etilo es incluso más preferible. La cantidad de disolvente deficiente usada es de 1-3 veces, y preferiblemente de 1,5-2 veces, el volumen de la disolución de reacción. El disolvente deficiente, previamente enfriado hasta de -5 a 5°C, se añade a la disolución de reacción dividiéndolo o goteando. Después de completarse la adición del disolvente deficiente, se agita adicionalmente la disolución de reacción. Se filtra el material precipitado y se lava varias veces según sea necesario, se somete a secado a vacío el sólido húmedo resultante y se seca durante 10 horas o más hasta que la temperatura del material alcanza la temperatura ambiente para obtener el compuesto (VII-CR).

La etapa para convertir un compuesto de fórmula (VII-CR):



en un compuesto (VII) anterior se lleva a cabo de la manera descrita a continuación.

- 5 Es preferible un tampón fosfato que tenga un pH de 6,5 para el tampón usado para ajustar el pH del compuesto representado por la fórmula (VII-CR) mencionada anteriormente. La concentración del tampón es de 0,1-0,5 M y es preferiblemente 0,2 M, aunque varía según el resto del ácido trifluoroacético en el compuesto de fórmula (VII-CR). La cantidad total de tampón usado es de 10-50 vol/p basándose en el peso neto del compuesto (VII-CR).
- 10 Después de enfriar preliminarmente 5-7 vol/p de tampón fosfato hasta 0-10°C, el pH se ajusta añadiendo y disolviendo alternativamente una pequeña porción del compuesto (VII-CR) y el tampón fosfato enfriado para que el pH sea de entre 4 y 5,5 y preferiblemente entre 4,2 y 4,8 y finalmente se ajusta a pH 4,6, seguido por la dilución añadiendo agua a 25 vol/p en el caso de que la cantidad total sea inferior a 25 vol/p basándose en el peso neto del compuesto (VII-CR) y concentrando a presión reducida a 20 vol/p a una temperatura de disolución de 15°C o menos. Además, el pH
- 15 de la disolución acuosa se ajusta a 5,4 con tampón fosfato seguido por dilución con agua para obtener una disolución acuosa que tiene una concentración de 36 vol/p.
- La desalación de la disolución acuosa después del ajuste de pH mencionado anteriormente se lleva a cabo según sea necesario mediante purificación en columna usando un adsorbente sintético. Los ejemplos de adsorbentes sintéticos
- 20 usados incluyen Diaion HP-20 y SepaBeads SP-207, Mitsubishi Chemical, y se usa preferiblemente SepaBeads SP-207. Se usan 55-65 vol/p del adsorbente sintético basándose en el peso neto del compuesto (VII-CR). La desalación se lleva a cabo adsorbiendo la disolución acuosa mencionada anteriormente en adsorbente sintético, desalando con 65-70 vol/p de agua y eluyendo con 150-200 vol/p de isopropanol al 10%. La fracción activa está contenida dentro del intervalo de 20-25 vol/p. La cristalización se lleva a cabo usando un concentrado obtenido concentrando la fracción
- 25 activa resultante a presión reducida a 5-7 vol/p a una temperatura de disolución de 20°C o menos.
- Los polimorfos cristalinos pueden estar solvatados o ser anhidros (tal como anhídrido, monohidratado o dihidratado). Las formas cristalinas I, II, III y IV existen como polimorfos cristalinos de un compuesto (VII-1). Las formas cristalinas I y III cristalizan a de 20-25°C como resultado de la siembra con un cristal de siembra, mientras que la forma cristalina
- 30 II puede cristalizar en ausencia de cristal de siembra en condiciones sobresaturadas enfriando a 10-15°C y añadiendo isopropanol como disolvente deficiente. La forma cristalina IV puede cristalizar (i) ajustando la temperatura de una disolución del compuesto de fórmula (VII-1) entre 20-25°C, añadiendo metanol y agitando; o (ii) agitando la forma cristalina I, II o III en metanol, etanol o isopropanol.
- 35 Las formas cristalinas I, II y III se distinguen mediante DSC, solubilidad en isopropanol acuoso y espaciado reticular en patrones de difracción de rayos X de polvo. La forma cristalina I tiene la solubilidad más baja en isopropanol acuoso, mientras que las formas cristalinas II y III tienen una solubilidad similar.
- La cristalización del compuesto (VII-1) se lleva a cabo de la manera descrita a continuación. La cantidad inicial de
- 40 disolución química se ajusta a una concentración que permite que la forma cristalina que tiene la menor solubilidad se disuelva de manera adecuada. La cantidad inicial es del 10-30% y preferiblemente del 10-20%. En el caso de una forma cristalina para la que se prefiere la siembra, el cristal de siembra se prepara de antemano. Los cristales de siembra de la forma cristalina I se adquieren a temperatura ambiente, mientras que los cristales de siembra de la forma cristalina III pueden obtenerse libres de contaminación mediante cristalización sucesiva dentro del intervalo del 15-
- 45 25%. La cantidad de cristal de siembra usada es del 0,01-20% y preferiblemente del 0,01-2%.
- Los ejemplos de disolventes deficientes usados incluyen metanol, etanol, isopropanol, acetona, acetonitrilo y tetrahidrofurano, y preferiblemente incluyen disolventes deficientes a base alcohol tales como metanol, etanol o isopropanol. La cantidad de disolvente deficiente se ajusta basándose en la solubilidad de modo que la pérdida de
- 50 aislamiento sea del 1% o menos. El disolvente deficiente se usa a 1-10 veces, y preferiblemente 6-7 veces, el volumen inicial de la disolución. El momento de la adición de disolvente deficiente es tal que el disolvente deficiente se hace gotear después de que la mezcla haya formado una suspensión después de la siembra en el caso de la forma cristalina I, inmediatamente después de la siembra en el caso de las formas cristalinas II y III, y sin siembra en el caso de la forma cristalina IV.
- 55 La forma cristalina IV también puede obtenerse suspendiendo y agitando la forma cristalina I, II o III en metanol, etanol o isopropanol en vez de preparar una disolución acuosa de los mismos.
- El control de la temperatura de la disolución es un factor importante en cuanto al control del polimorfismo cristalino
- 60 deseado y se determina haciendo referencia a la velocidad de precipitación de los polimorfos cristalinos a una

temperatura establecida. Las formas cristalinas I, III y IV se controlan dentro del intervalo de 20-25°C, mientras que la forma cristalina II se controla a una temperatura de 10-15°C. Además, en el caso de una forma cristalina IV obtenida suspendiendo y agitando la forma cristalina I, II o III en un disolvente en vez de preparar una disolución acuosa del mismo, junto con la solubilidad de la forma cristalina I, II o III en el disolvente, se controla a una temperatura de 20-100°C y preferiblemente de 20-65°C.

El tiempo de agitación depende de la velocidad de precipitación y la agitación se lleva a cabo durante 1-24 horas y preferiblemente durante 1-15 horas.

La forma cristalina del compuesto (VII-1) puede obtenerse mediante filtración, lavado y secado a vacío habituales o secado por flujo continuo de los cristales precipitados. En el caso de los cristales solvatados, se evita un secado excesivo mediante el uso de medios para controlar la temperatura del material, la pérdida por secado, el secado a vacío humidificado y limitado o el secado por flujo continuo humidificado.

Ejemplos

La presente invención se describirá a continuación con más detalle por medio de los ejemplos, pero no se pretende que la presente invención se limite a estos ejemplos, y pueden realizarse diversas modificaciones.

Ejemplo de referencia 1

Diclorhidrato de (2S,5R)-5-(benciloxiamino)piperidin-2-carboxilato de metilo

Etapa 1

(2S,5S)-5-Hidroxipiperidin-2-carboxilato de metilo

A una disolución de cloruro de hidrógeno 2 M en metanol (12,8 l) se le añadió ácido (2S,5S)-5-hidroxipiperidin-2-carboxílico disponible comercialmente (contenido por HPLC de preetiqueta del 84%, neto 912,22 g, lavado con 3,1 l de cloruro de hidrógeno 2 M en metanol), seguido por reflujo durante 3 horas (temperaturas internas de 63 a 67°C). Después de enfriarse la disolución de reacción, se añadió 1,4-dioxano (12,8 l), y se eliminó por destilación el disolvente a presión reducida. Al residuo (4,1 kg) se le añadieron acetato de etilo (18,3 l) y una disolución acuosa de carbonato de potasio al 44% helada (23,7 l) para separar la fase orgánica, y se extrajo adicionalmente la fase acuosa con acetato de etilo (3 x 18,3 l). Se lavó cada una de las fases orgánicas con una disolución acuosa de carbonato de potasio al 50% (7,3 l). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron sobre carbonato de potasio anhidro (2,37 kg) y se filtraron, y se eliminó por destilación el disolvente a presión reducida. Se disolvió el residuo en tolueno (9,1 l), y se añadieron 9,2 g de carbón activado, seguido por agitación durante 30 minutos y filtración. Luego se eliminó por destilación el disolvente a presión reducida. Se cambió el disolvente del residuo a acetato de etilo (9,1 l) para proporcionar 1130 g del compuesto del título como un aceite de color amarillo pálido (contenido por HPLC de preetiqueta del 78,9%, neto 891,57 g, rendimiento del 89%).

Etapa 2

(2S,5S)-5-Hidroxi-1-(2,2,2-trifluoroacetil)piperidin-2-carboxilato de metilo

Se enfrió una disolución de acetato de etilo deshidratado (7,4 l) de (2S,5S)-5-hidroxipiperidin-2-carboxilato de metilo (contenido por HPLC de preetiqueta del 78,8%, neto 459,48 g) hasta -40°C, seguido por adición de trietilamina (1300 g), y luego adición gota a gota de anhídrido del ácido trifluoroacético (1349 g, lavado con 100 ml de acetato de etilo deshidratado) a de -40 a -12°C durante 30 minutos. Después de completarse la adición gota a gota, se elevó la temperatura hasta -2°C en 15 minutos, y se agitó la mezcla durante 75 minutos, y a la mezcla se le añadió adicionalmente agua (1277 ml), seguido por agitación a 25°C durante 1 hora. Se introdujo la mezcla en agua (8,4 l) (lavada con 4,5 l de acetato de etilo) y se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 9,8 l), y se lavó secuencialmente la fase orgánica combinada con ácido clorhídrico 1 M (8,5 l), bicarbonato de sodio saturado (8,5 l), y salmuera saturada (8,5 l), se secó sobre sulfato de sodio anhidro (1,8 kg), y se filtró. Se eliminó por destilación el disolvente de la fase orgánica a presión reducida, y se le añadió al residuo acetato de etilo (3,6 l), seguido por concentración por sustitución. Luego se secó el residuo a vacío para proporcionar 793,4 g del compuesto del título (contenido por HPLC del 81,5%, neto 648,66 g, rendimiento del 88%).

Etapa 3

(2S,5R)-5-(Benciloxiamino)-1-(2,2,2-trifluoroacetil)piperidin-2-carboxilato de metilo

Se enfriaron 4,0 l de una disolución de (2S,5S)-5-hidroxi-1-(2,2,2-trifluoroacetil)piperidin-2-carboxilato de metilo (contenido por HPLC del 81,5%, neto 556,23 g) en acetonitrilo deshidratado hasta -40°C, y se añadió 2,6-lutidina (259,24 g) (lavada con 100 ml de acetonitrilo), seguido por adición gota a gota de anhídrido trifluorometanosulfónico (645,72 g) a de -43 a -37°C a lo largo de 1 hora y 10 minutos (lavado con 100 ml de acetonitrilo). Se agitó la disolución

de reacción a -35°C durante 50 minutos, y luego se añadió gota a gota benciloxiamina (550,27 g) a -35°C o menos, seguido por lavado con acetonitrilo (500 ml). Después de elevar gradualmente la disolución de reacción hasta -5°C, se añadió 2,6-lutidina (259,24 g), seguido por agitación a 5°C durante 40 horas. Después de la concentración hasta 1,8 l, se diluyó la mezcla con acetato de etilo (12,4 l) y se lavó secuencialmente con agua (12,4 l), ácido cítrico al 10% (4 x 8 l + 4,7 l), bicarbonato de sodio saturado (6,3 l), y salmuera saturada (7,2 l). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró, y luego se concentró a presión reducida. Se secó el residuo a vacío para proporcionar 867,73 g del compuesto del título (contenido por HPLC del 71,56%, rendimiento del 79%).

Etapa 4

Clorhidrato de (2S,5R)-5-(benciloxiamino)-1-(2,2,2-trifluoroacetil)piperidin-2-carboxilato de metilo

Se diluyó (2S,5R)-5-(benciloxiamino)-1-(2,2,2-trifluoroacetil)piperidin-2-carboxilato de metilo (contenido por HPLC del 70,13%, neto 673,20 g) con acetato de etilo (4,8 l), y se añadieron 48 g de carbón activado, seguido por agitación durante 1 hora. Se filtró la mezcla y se lavó con 2 l de acetato de etilo. Se diluyó el filtrado con 4,7 l de acetato de etilo, y se añadió una disolución de cloruro de hidrógeno 1 M en acetato de etilo (2,7 l) a temperatura ambiente, seguido por agitación durante 15 minutos, y luego se añadieron 28,6 l de hexano, seguido por enfriamiento hasta 0°C. Después de agitar durante 3 horas, se filtró el sólido cristalino, se lavó con hexano/acetato de etilo = 4/1 (3 l), y se secó a vacío para proporcionar 724,0 g del compuesto del título (contenido por HPLC del 91,72%, rendimiento del 90%).

Etapa 5

Diclorhidrato de (2S,5R)-5-(benciloxiamino)piperidin-2-carboxilato de metilo

Se disolvió clorhidrato de (2S,5R)-5-(benciloxiamino)-1-(2,2,2-trifluoroacetil)piperidin-2-carboxilato de metilo (contenido por HPLC del 92,01%, neto 732,25 g) en una disolución de cloruro de hidrógeno 2 M en metanol (15 l), seguido por calentamiento a reflujo durante 27 horas. Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se concentró a presión reducida hasta 3 l. Se diluyó la mezcla con 2,7 l de metanol, y luego se añadieron 16,3 l de acetato de etilo, seguido por agitación durante 1 hora. Se filtró el sólido cristalino precipitado, se lavó con acetato de etilo (3 x 1,1 l), y se secó a vacío para proporcionar 572,0 g del compuesto del título (contenido por HPLC del 98,06%, rendimiento del 92%).

¹H-RMN (400 MHz, D₂O) δ 1,40-1,51 (m, 1H), 1,61-1,72 (m, 1H), 1,90-1,94 (m, 1H), 2,25-2,30 (m, 1H), 2,80 (t, J = 11,2 Hz, 1H), 3,19-3,27 (m, 1H), 3,51-3,55 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,87-3,91 (m, 1H), 4,68 (s, 2H), 7,27 (s, 5H); EM m/z 265 [M-2HCl+H]⁺.

Ejemplo de referencia 2

Ácido (2S,5R)-6-(benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxílico

Etapa 1

(2S,5R)-5-(Benciloxiamino)piperidin-2-carboxilato de metilo

A diclorhidrato de (2S,5R)-5-(benciloxiamino)piperidin-2-carboxilato de metilo (ejemplo de referencia 1, 1,319 g) se le añadieron acetato de etilo (20 ml) y carbonato de potasio al 50% (20 ml) para separar las fases. Se extrajo la fase acuosa tres veces con acetato de etilo (15 ml). Se lavó la fase orgánica con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró, se concentró a presión reducida y luego se secó a vacío durante la noche para proporcionar 975 mg del compuesto del título (rendimiento del 94%).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,25-1,35 (m, 1H), 1,49-1,59 (m, 1H), 1,89-2,11 (m, 2H), 2,45 (t, J = 11,7 Hz, 1H), 2,96-3,03 (m, 1H), 3,28-3,39 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 4,68 (s, 2H), 7,26-7,35 (m, 5H); EM m/z 265 [M+H]⁺.

Etapa 2

(2S,5R)-6-(Benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de metilo

A (2S,5R)-5-(benciloxiamino)piperidin-2-carboxilato de metilo (1,154 g, 4,37 mmol) se le añadió acetonitrilo deshidratado (198 ml), seguido por enfriamiento en hielo. A 5°C o menos, se añadieron secuencialmente gota a gota trietilamina (1,60 ml) y difosgeno (0,389 ml), seguido por agitación a 2°C durante 20 minutos. A la disolución de reacción se le añadió luego 4-dimetilaminopiridina (70,0 mg), seguido por agitación a temperatura ambiente durante 10 horas. Se concentró la disolución de reacción a presión reducida y se cambió el disolvente tres veces a acetato de etilo, y se concentró la disolución hasta 30 ml. A esto se le añadieron acetato de etilo (20 ml) y agua (40 ml) para separar las fases. Se extrajo la fase acuosa separada dos veces con acetato de etilo (30 ml). Se lavó secuencialmente la fase orgánica combinada con ácido cítrico al 5% (40 ml), bicarbonato de sodio al 6,5% (30 ml), y salmuera al 5% (30 ml), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró, y luego se concentró a presión reducida. Se diluyeron 1,16 g

del residuo resultante con acetato de etilo (5,5 ml), se añadió n-hexano (11 ml), y se sembraron cristales de siembra y se cristalizaron. Se añadió adicionalmente n-hexano (49 ml) y se agitó a 0°C durante 1 hora, y luego se filtró el sólido cristalino, se lavó con n-hexano (60 ml), y se secó a vacío para proporcionar 882,3 mg del compuesto del título como un polvo cristalino incoloro (rendimiento del 71%).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,65-1,70 (m, 1H), 2,03-2,12 (m, 3H), 2,90 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 3,07 (m, 1H), 3,32 (m, 1H), 4,12 (dd, J = 4,6&4,4 Hz, 1H), 4,91 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 5,06 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 7,35-7,44 (m, 5H); EM m/z 291 [M+H]⁺.

Etapa 3

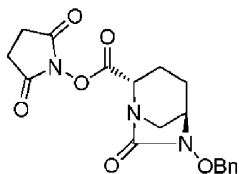
Ácido (2S,5R)-6-(benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxílico

A (2S,5R)-6-(benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de metilo (809,0 mg, 2,79 mmol) se le añadieron tetrahidrofurano (8 ml) y agua (3,6 ml), seguido por adición gota a gota de hidróxido de litio 0,5 M (6,41 ml) a 4,9°C o menos a lo largo de 10 minutos. Después de agitar la disolución de reacción a 2°C durante 2 horas, se añadió agua (30 ml), seguido por lavado con acetato de etilo (25 ml). A la fase acuosa separada se le añadió acetato de etilo (15 ml), y se ajustó el pH a 4,0 con ácido clorhídrico 1 M, seguido por extracción dos veces con acetato de etilo (acetato de etilo: 65 ml en total). Se ajustó la fase acuosa separada a un pH de 3,4 con ácido clorhídrico 1 M, se extrajo una vez con acetato de etilo, y luego se ajustó la fase acuosa a un pH de 2,4 y se extrajo dos veces con acetato de etilo. Se extrajo el extracto de acetato de etilo cinco veces en total (175 ml), se lavó con salmuera saturada (40 ml), se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró, y luego se concentró a presión reducida. Se diluyeron 759,1 mg del residuo resultante con acetato de etilo (5 ml), se añadió n-hexano (3 ml), y se sembraron cristales de siembra y se cristalizaron. Se añadió adicionalmente una disolución de acetato de etilo/n-hexano (5/3) (8 ml) y se agitó, y luego se añadió n-hexano (20 ml), seguido por agitación a 4°C durante 14 horas. Se filtró el sólido cristalino, se lavó con n-hexano (55 ml), y luego se secó a vacío para proporcionar 633,6 mg del compuesto del título como un polvo cristalino incoloro (rendimiento del 82%).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,67 (m, 1H), 2,04-2,26 (m, 3H), 2,85 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 3,13 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 4,12 (m, 1H), 4,91 (d, J = 11,3 Hz, 1H), 5,06 (d, J = 11,3 Hz, 1H), 7,37-7,44 (m, 5H); EM m/z 277 [M+H]⁺.

Ejemplo de referencia 3

(2S,5R)-6-(Benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo



Etapa 1

Ácido (2S,5R)-5-((benciloxi)amino)-1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-2-carboxílico

Se disolvió diclorhidrato de (2S,5R)-5-(benciloxiamino)piperidin-2-carboxilato de metilo (ejemplo de referencia 1, 65,4 g, 200 mmol) en agua (400 ml) y 1,4-dioxano (270 ml), y se enfrió en hielo la disolución. Luego se añadió hidróxido de sodio 5 M (132 ml), seguido por agitación durante 1 hora. A la disolución de reacción se le añadió ácido clorhídrico 5 M (12 ml), carbonato de potasio (27,6 g), y dicarbonato de di-terc-butilo (48 g), y se elevó la temperatura de la mezcla hasta temperatura ambiente, seguido por agitación durante la noche. Se lavó la disolución acuosa concentrada de la disolución de reacción con acetato de etilo, se ajustó a pH 3,3 con ácido cítrico monohidratado, se extrajo dos veces con acetato de etilo (500 ml), se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, y se filtró, y se concentró el disolvente a presión reducida y se cambió el disolvente adicionalmente a acetato de etilo para proporcionar 68,7 g del compuesto del título (cuantitativo). Se usó el compuesto en la siguiente etapa sin purificación. Se cristalizó una porción del mismo con acetato de etilo/hexano para confirmar la estructura del mismo.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,46 (s, 9H), 1,50-1,72 (m, 2H), 1,98-2,10 (m, 2H), 3,12-3,19 (m, 2H), 4,13-4,20 (m, 1H), 4,76 (d, J = 11,5 Hz), 4,70 (d, J = 11,5 Hz), 4,85-4,92 (m, 1H), 7,26-7,35 (m, 5H); EM m/z 351 [M+H]⁺.

Etapa 2

(2S,5R)-6-(Benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo

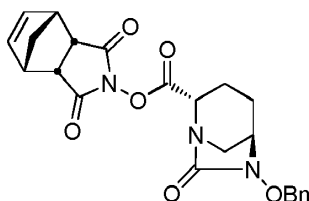
Se disolvió ácido (2S,5R)-5-((benciloxi)amino)-1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-2-carboxílico (ejemplo de referencia 3,

etapa 1, 700 mg, 2 mmol) en tetrahidrofurano deshidratado (10 ml), y se enfrió hasta -20°C. A la mezcla se le añadieron secuencialmente gota a gota cloroformiato de isobutilo (300 mg) y trietilamina (444 mg), seguido por agitación durante 15 minutos. A la disolución de reacción se le añadió 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona (253 mg), seguido por agitación durante 30 minutos y agitación adicional a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se diluyó la disolución de reacción con acetato de etilo (35 ml), se lavó secuencialmente con ácido cítrico al 10% (10 ml), bicarbonato de sodio saturado (10 ml), y salmuera saturada (10 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y se filtró, y se eliminó por destilación el disolvente a presión reducida para proporcionar 985 mg de un residuo. Se disolvió la cantidad total del residuo en cloroformo deshidratado (10 ml), y a la disolución se le añadió trietilamina (303 mg), seguido por enfriamiento en hielo. A la mezcla se le añadió trifosgeno (237 mg), seguido por agitación durante 30 minutos. A esto se le añadió luego metanol (0,1 ml), seguido por agitación durante 30 minutos. Luego se añadió gota a gota una disolución de ácido metanosulfónico (1,3 ml) en diclorometano (4,0 ml) y se agitó adicionalmente durante 30 minutos. Se añadió gota a gota la mezcla a hidrogenocarbonato de potasio 1 M helado (2,4 g/20 ml), seguido por agitación durante 30 minutos. Luego se añadió cloroformo (10 ml) para separar las fases. Se lavó secuencialmente la fase orgánica con ácido clorhídrico 1 M (10 ml), bicarbonato de sodio saturado (10 ml), y salmuera saturada (10 ml). Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Se sembró el residuo con cristales, y al sólido se le añadió hexano/acetato de etilo (1/2, 3 ml). Luego se agitó la mezcla, se filtró, y se lavó secuencialmente con hexano/acetato de etilo (1/1, 3 ml) y hexano (3 ml) para proporcionar 556 mg del compuesto del título como cristales (rendimiento del 75%).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,70-1,77 (m, 1H), 2,04-2,27 (m, 3H), 2,80-2,90 (m, 4H), 3,09-3,19 (m, 2H), 3,35 (s.a., 1H), 4,48 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 4,92 (d, J = 11,3 Hz, 1H), 5,07 (d, J = 11,3 Hz, 1H), 7,35-7,45 (m, 5H); EM m/z 374 [M+H]⁺.

Ejemplo de referencia 4

(2S,5R)-6-(Benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de (1R,2S,6R,7S)-3,5-dioxo-4-azatriciclo[5.2.1.0^{2,6}]dec-8-en-4-ilo



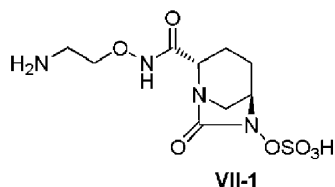
Se disolvió ácido (2S,5R)-5-((benciloxi)amino)-1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-2-carboxílico (ejemplo de referencia 3, etapa 1, 14,0 g, 41,09 mmol) en tetrahidrofurano deshidratado (200 ml), seguido por enfriamiento hasta alrededor de -20°C. A la mezcla se le añadió gota a gota cloroformiato de isobutilo (6,11 g) y luego trietilamina (8,86 g), seguido por agitación a la misma temperatura durante 15 minutos. A la disolución de reacción se le añadió luego (1R,2S,6R,7S)-4-hidroxi-4-azatriciclo[5.2.1.0^{2,6}]dec-8-en-3,5-diona (7,87 g), seguido por agitación a la misma temperatura durante 30 minutos y agitación adicional a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se diluyó la disolución de reacción con acetato de etilo (700 ml), se lavó secuencialmente con ácido cítrico al 10% helado (200 ml), bicarbonato de sodio saturado (200 ml), y salmuera saturada (200 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y se filtró. Se eliminó por destilación el disolvente a presión reducida, y de nuevo se concentró por sustitución con acetato de etilo. Se disolvió la cantidad total del residuo resultante (25,1 g) (rendimiento del 92%) en cloroformo deshidratado (180 ml), y a la disolución se le añadió trietilamina (5,5 g), seguido por enfriamiento en hielo. A la mezcla se le añadió trifosgeno (4,29 g), seguido por agitación durante 30 minutos. A esto se le añadió luego metanol (1 ml), seguido por agitación durante 30 minutos. A la disolución de reacción se le añadió gota a gota una disolución de ácido metanosulfónico (23,5 ml) en diclorometano (30 ml), seguido por agitación adicional durante 30 minutos. Se añadió gota a gota la mezcla a hidrogenocarbonato de potasio 1 M helado (43,5 g/200 ml), seguido por agitación durante 30 minutos. Luego se añadió cloroformo (100 ml) para separar las fases. Se lavó secuencialmente la fase orgánica con ácido clorhídrico 1 M (200 ml), bicarbonato de sodio saturado (200 ml), y salmuera saturada (200 ml). Se volvió a extraer secuencialmente cada una de las fases acuosas con cloroformo (100 ml). Se combinaron las fases orgánicas, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y se filtró. Se concentró el disolvente a presión reducida, y se disolvió el residuo resultante en cloroformo (70 ml). A la disolución se le añadió hexano (100 ml), seguido por agitación durante 30 minutos para la cristalización. A esto se le añadió secuencialmente hexano (100 ml), seguido por agitación durante 1 hora. Se filtró el material cristalino y se secó para proporcionar 15,4 g del compuesto del título (contenido del 100%, rendimiento del 88%).

HPLC: COSMOSIL 5C18 EM-II 4,6 X 150 mm, 35°C, TFA 0,02 M/CH₃CN = 50/50, 1,0 ml/min, UV 210 nm, TR 7,1 min; exceso enantiomérico del 99,9 % o más de e.e.: CHIRALPAK AD-H, 4,6 x 150 mm, 40°C, hexano/EtOH = 1/1, UV 210 nm, 1 ml/min, TR 37,3 min (cp. enantiómero 16,5 min); Pf 196°C; [α]_D²⁰ +12,686° (c 0,885, CHCl₃); ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,52 (d, J = 9,1 Hz, 1H), 1,70 (m, 1H), 1,78 (d, J = 9,1 Hz, 1H), 2,01-2,26 (m, 3H), 3,04-3,17 (m, 2H), 3,32 (m, 3H), 3,45 (s.a., 2H), 4,41 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 4,91 (d, J = 11,4 Hz, 1H), 5,06 (d, J = 11,4 Hz, 1H), 6,19 (s.a., 2H), 7,33-

7,46 (m, 5H); EM m/z 438 [M+H]⁺.

Ejemplo de referencia 5

5 (2S,5R)-N-(2-Aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1)



Etapas

10 {2-[[[(2S,5R)-6-Benciloxi-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de terc-butilo (IV-1)

Se enfrió una disolución de ácido (2S,5R)-6-(benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxílico (ejemplo de referencia 2, 4,30 g, 15,56 mmol) en acetato de etilo deshidratado (47 ml) hasta -30°C, y se añadieron secuencialmente gota a gota clorofornio de isobutilo (2,17 g, lavado con acetato de etilo deshidratado 1 ml) y trietilamina (1,61 g, lavada con 1 ml de acetato de etilo deshidratado) a -30°C, seguido por agitación durante 1 hora. A la disolución de reacción se le añadió una disolución de 2-(aminooxi)etilcarbamato de terc-butilo (3,21 g) en acetato de etilo deshidratado (4 ml) (lavado con 1 ml de acetato de etilo deshidratado), y se elevó la temperatura de la mezcla hasta 0°C a lo largo de 1,5 horas, seguido por agitación durante la noche. Se lavó secuencialmente la mezcla con ácido cítrico acuoso al 8% (56 ml), bicarbonato de sodio saturado (40 ml), y salmuera saturada (40 ml), y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. Luego se filtró la mezcla, se concentró hasta 5 ml, y se concentró por sustitución adicionalmente con etanol (10 ml) hasta 6 ml. A la disolución resultante se le añadió etanol (3 ml) y hexano (8 ml), y se enfrió en hielo la mezcla y se sembró con cristales, seguido por agitación durante 15 minutos. A la mezcla se le añadió gota a gota hexano (75 ml) a lo largo de 2 horas, seguido por agitación durante la noche. Se filtró el material cristalino, se lavó con hexano, y se secó a vacío para proporcionar 5,49 g del compuesto del título (neto 4,98 g, rendimiento del 74%).

HPLC: COSMOSIL 5C18 EM-II 4,6 X 150 mm, tampón fosfato 33,3 mM/MeCN = 50/50, 1,0 ml/min, UV 210 nm, TR 4,4 min; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,44 (s, 9H), 1,56-1,70 (m, 1H), 1,90-2,09 (m, 2H), 2,25-2,38 (m, 1H), 2,76 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 3,03 (d. a., J = 11,6 Hz, 1H), 3,24-3,47 (m, 3H), 3,84-4,01 (m, 3H), 4,90 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 5,05 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 5,44 (s.a., 1H), 7,34-7,48 (m, 5H), 9,37 (s.a., 1H); EM m/z 435 [M+H]⁺.

Etapas

35 {2-[[[(2S,5R)-6-Hidroxi-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de terc-butilo (V-1)

A una disolución de {2-[[[(2S,5R)-6-benciloxi-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de terc-butilo (3,91 g, 9,01 mmol) en metanol (80 ml) se le añadió un catalizador de paladio al 10%/carbono (húmedo al 50%, 803 mg), seguido por agitación durante 45 minutos bajo una atmósfera de hidrógeno. Se filtró la disolución de reacción a través de un lecho de Celite y se concentró a presión reducida para proporcionar 3,11 g del compuesto del título (cuantitativo).

HPLC: COSMOSIL 5C18 EM-II 4,6 X 150 mm, tampón fosfato 33,3 mM/MeCN = 75/25, 1,0 ml/min, UV 210 nm, TR 3,9 min; ¹H-RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 1,44 (s, 9H), 1,73-1,83 (m, 1H), 1,86-1,99 (m, 1H), 2,01-2,12 (m, 1H), 2,22 (dd. a., J = 15,0, 7,0 Hz, 1H), 3,03 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 3,12 (d. a., J = 12,0 Hz, 1H), 3,25-3,35 (m, 2H), 3,68-3,71 (m, 1H), 3,82-3,91 (m, 3H); EM m/z 345 [M+H]⁺.

Etapas

50 {2-[[[(2S,5R)-7-Oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de tetrabutilamonio y terc-butilo (VI-1)

A una disolución de {2-[[[(2S,5R)-6-hidroxi-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de terc-butilo (3,09 g, 8,97 mmol) en diclorometano (80 ml), se le añadieron 2,6-lutidina (3,20 ml) y complejo de trióxido de azufre-piridina (3,58 g), seguido por agitación a temperatura ambiente durante la noche. Se vertió la disolución de reacción en bicarbonato de sodio semisaturado, y se lavó la fase acuosa con cloroformo. A la fase acuosa se le añadió hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (3,47 g) y cloroformo (30 ml), seguido por agitación durante 10 minutos. Después de extraerse la fase acuosa con cloroformo, se secó la fase orgánica resultante sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró, y luego se concentró a presión reducida para proporcionar 5,46 g del compuesto del título (rendimiento del 91%).

60 HPLC: COSMOSIL 5C18 EM-II 4,6 X 150 mm, tampón fosfato 33,3 mM/MeCN = 80/20, 1,0 ml/min, UV 210 nm, TR

2,0 min; ^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 1,01 (t, $J = 7,4$ Hz, 12H), 1,37-1,54 (m, 8H), 1,45 (s, 9H), 1,57-1,80 (m, 9H), 1,85-1,98 (m, 1H), 2,14-2,24 (m, 1H), 2,30-2,39 (m, 1H), 2,83 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 3,20-3,50 (m, 11H), 3,85-3,99 (m, 3H), 4,33-4,38 (m, 1H), 5,51 (s a, 1H), 9,44 (s.a., 1H); EM m/z 425 $[\text{M}-\text{Bu}_4\text{N}+2\text{H}]^+$.

5 Etapa 4

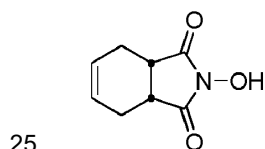
(2S,5R)-N-(2-Aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1)

10 A una disolución de {2-[[[(2S,5R)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de tetrabutilamonio y terc-butilo (5,20 g, 7,82 mmol) en diclorometano (25 ml), se añadió ácido trifluoroacético (25 ml) bajo enfriamiento en hielo, seguido por agitación a 0°C durante 1 hora. Se concentró la disolución de reacción a presión reducida. Se lavó el residuo resultante con dietil éter, se ajustó a pH 7 con una disolución acuosa de bicarbonato de sodio, se purificó mediante cromatografía en columna de gel de octadecil-sílice (agua) y se liofilizó para proporcionar 1,44 g del compuesto del título (rendimiento del 57%).

15 HPLC: COSMOSIL 5C18 EM-II 4,6 X 150 mm, tampón fosfato 33,3 mM/MeCN = 99/1, 1,0 ml/min, UV 210 nm, TR 3,1 min; ^1H -RMN (400 MHz, D_2O) δ 1,66-1,76 (m, 1H), 1,76-1,88 (m, 1H), 1,91-2,00 (m, 1H), 2,00-2,08 (m, 1H), 3,02 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,15 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H), 3,18 (d a, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,95 (dd, $J = 7,8, 2,2$ Hz, 1H), 4,04 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H), 4,07 (dd, $J = 6,4$ & $3,2$ Hz, 1H); EM m/z 325 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

20 Ejemplo de referencia 6

(3aR,7aS)-2-Hidroxi-3a,4,7,7a-tetrahidro-1H-isoindol-1,3(2H)-diona

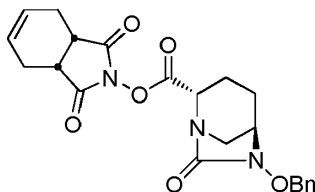


30 Se disolvió sulfato de hidroxilamina (24,975 g, 0,152 mol) en agua (100 ml), y se añadió (3aR,7aS)-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1,3-diona (45,228 g). A la mezcla se le añadió una disolución acuosa de hidróxido de sodio al 25% (50 g) en pequeñas porciones a lo largo de 15 minutos, seguido por agitación a 90°C durante 2 horas. Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente. Se filtró por succión el sólido cristalino precipitado, seguido por deslicuar durante 30 minutos. Se secaron a vacío los cristales húmedos a 50°C durante 2 días para proporcionar 42,87 g del compuesto del título (rendimiento del 87%).

35 ^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 2,20-2,31 (m, 2H), 2,56-2,65 (m, 2H), 3,08-3,14 (m, 2H), 5,91 (dt, $J = 0,9, 2,7$ Hz, 2H); EM m/z 166 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

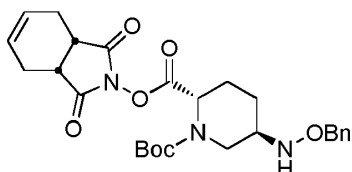
Ejemplo de referencia 7

40 (2S,5R)-6-(Benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de (3aR,7aS)-1,3-dioxo-3a,4,7,7a-tetrahidro-1H-isoindol-2(3H)-ilo



Etapa 1

45 (2S,5R)-5-((Benciloxi)amino)piperidin-1,2-dicarboxilato de 1-terc-butilo y 2-((3aR,7aS)-1,3-dioxo-3a,4,7,7a-tetrahidro-1H-isoindol-2(3H)-ilo)



Se disolvió ácido (2S,5R)-5-((Benciloxi)amino)-1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-2-carboxílico (ejemplo de referencia 3, etapa 1, 3,504 g, 10 mmol) en tetrahidrofurano deshidratado (50 ml), seguido por enfriamiento hasta aproximadamente -20°C. A la mezcla se le añadió gota a gota cloroformato de isobutilo (1,51 g) y luego trietilamina (2,17 g), seguido por agitación a la misma temperatura durante 15 minutos. Luego, a la disolución de reacción se le añadió (3aR,7aS)-2-hidroxi-3a,4,7,7a-tetrahidro-1H-isoindol-1,3(2H)-diona (ejemplo de referencia 17, 1,84 g), seguido por agitación a la misma temperatura durante 30 minutos y luego a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se diluyó la disolución de reacción con acetato de etilo (200 ml), se lavó secuencialmente con ácido cítrico al 10% helado (60 ml), bicarbonato de sodio saturado (60 ml), y salmuera saturada (60 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y se filtró. Se sometió el residuo obtenido concentrando el filtrado a presión reducida a cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo = 2/1) para proporcionar 4,689 g del compuesto del título como un sólido esponjoso incoloro (rendimiento del 94%).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,47 (sa, 9H), 1,59-1,75 (m, 2H), 2,04-2,32 (m, 2H), 2,16-2,35 (m, 2H), 2,61 (d, J = 15,2 Hz, 2H), 3,14-3,24 (m, 4H), 4,15-4,22 (m, 1H), 4,71 (q, J=11,6 Hz, 2H), 5,03 (sa, 1H), 5,97 (sa, 2H), 7,26-7,38 (m, 5H); EM m/z 500 [M+H]⁺.

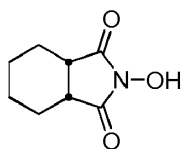
Etapa 2

Se disolvió compuesto de la etapa 1 mencionada anteriormente (4,689 g, 9,386 mmol) en cloroformo deshidratado (50 ml), y se añadió trietilamina (1,40 g), seguido por enfriamiento en hielo. A la mezcla se le añadió trifosgeno (1,09 g), seguido por agitación durante 0,5 horas, y se confirmó la finalización de la reacción para el compuesto del título mediante CCF. A la mezcla se le añadió metanol (0,255 ml) bajo enfriamiento en hielo, seguido por agitación durante 30 minutos. Posteriormente, se añadió ácido metanosulfónico (8,89 g), seguido por agitación durante 30 minutos. Se confirmó la finalización de la reacción para el compuesto del título mediante CCF. Se añadió gota a gota la mezcla a una disolución acuosa de hidrogenocarbonato de potasio 1 M helada (11,1 g/100 ml), seguido por agitación durante 0,5 horas. Luego se añadió cloroformo (30 ml) para separar las fases. Se lavó secuencialmente la fase orgánica con ácido clorhídrico 1 M (70 ml), bicarbonato de sodio saturado (70 ml) y salmuera saturada (70 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Se disolvió el residuo en cloroformo (16 ml), y se añadió hexano (24 ml), seguido por agitación durante 15 minutos. Además, se añadió hexano (8 ml), seguido por agitación y envejecimiento durante 15 minutos. Se separó por filtración el sólido precipitado, se lavó con una mezcla de cloroformo/hexano (2/3), y se secó a presión reducida para proporcionar 3,51 g del compuesto del título como un polvo cristalino incoloro (rendimiento del 88%).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,67-1,77 (m, 1H), 2,08 (d, J = 14,2 Hz, 1H), 2,14-2,26 (m, 2H), 2,30 (d, J = 13,8 Hz, 2H), 2,55-2,66 (m, 2H), 3,10-3,24 (m, 4H), 3,34 (sa, 1H), 4,45 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 4,91 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 5,06 (d, J = 11,4 Hz, 1H), 5,97 (sa, 2H), 7,34-7,45 (m, 5H); EM m/z 426 [M+H]⁺.

Ejemplo de referencia 8

(3aR,7aS)-2-Hidroxi-3a,4,7,7a-tetrahidro-1H-isoindol-1,3(2H)-diona

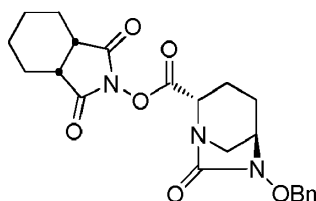


Se disolvió sulfato de hidroxilamina (24,975 g, 0,152 mol) en agua (75 ml), y se añadió (3aR,7aS)-hexahidroisobenzofuran-1,3-diona (48,000 g). A la mezcla se le añadió una disolución acuosa de hidróxido de sodio al 25% (50 g) en pequeñas porciones a lo largo de 15 minutos, seguido por agitación a 90°C durante 1 hora. Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente, se extrajo dos veces con cloroformo 50 ml, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se filtró. Se concentró el filtrado a presión reducida, se disolvió el residuo en cloroformo, se separaron por filtración las impurezas, y se concentró el disolvente a presión reducida. Se disolvió el residuo añadiendo acetato de etilo, se concentró la disolución a presión reducida y se secó a vacío durante 2 días adicionales para proporcionar 49,35 g del compuesto del título como un sólido incoloro (rendimiento del 94%).

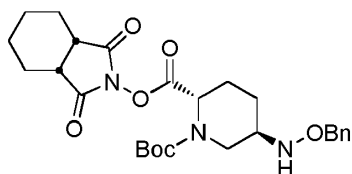
¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,45 (dt, J = 3,0, 5,9 Hz, 4H), 1,71-1,90 (m, 4H), 2,84-2,92 (m, 2H), 6,01 (sa, 1H); EM m/z 168 [M-H]⁻.

Ejemplo de referencia 9

(2S,5R)-6-(Benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de (3aR,7aS)-1,3-dioxohexahidro-1H-isoindol-2(3H)-ilo

*Etapla 1*

- 5 (2S,5R)-5-((Benciloxi)amino)piperidin-1,2-dicarboxilato de 1-terc-butilo y 2-((3aR,7aS)-1,3-dioxohexahidro-1H-isoindol-2(3H)-ilo)



- 10 Se disolvió ácido (2S,5R)-5-((benciloxi)amino)-1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-2-carboxílico (ejemplo de referencia 3, etapa 1, 3,504 g, 10 mmol) en tetrahidrofurano deshidratado (50 ml), seguido por enfriamiento hasta aproximadamente -20°C. A la mezcla se le añadió gota a gota clorofornio de isobutilo (1,51 g) y luego trietilamina (2,17 g), seguido por agitación a la misma temperatura durante 15 minutos. Luego, a la disolución de reacción se le añadió (3aR,7aS)-2-hidroxihexahidro-1H-isoindol-1,3(2H)-diona (ejemplo de referencia 8, 1,86 g), seguido por agitación a la misma temperatura durante 30 minutos y luego a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se diluyó la disolución de reacción con acetato de etilo (200 ml), se lavó secuencialmente con ácido cítrico al 10% helado (60 ml), bicarbonato de sodio saturado (60 ml), y salmuera saturada (60 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y se filtró. Se sometió el residuo obtenido concentrando el filtrado a presión reducida a cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo = 2/1) para proporcionar 4,521 g del compuesto del título como un sólido esponjoso incoloro (rendimiento del 90%).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,35-1,58 (m, 13H), 1,62 (sa, 1H), 1,76 (sa, 2H), 1,90 (sa, 4H), 1,95-2,15 (m, 2H), 3,00 (sa, 2H), 3,15-3,30 (m, 2H), 4,16-4,25 (m, 1H), 4,72 (q, J = 11,6 Hz, 2H), 5,30-5,53 (m, 1H), 7,26-7,38 (m, 5H); EM m/z 502 [M+H]⁺.

Etapla 2

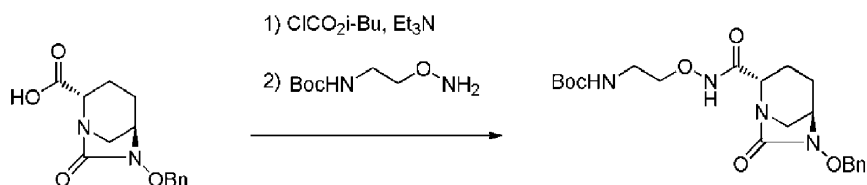
- Se disolvió el compuesto de la etapa 1 mencionada anteriormente (4,521 g, 9,01 mmol) en cloroformo deshidratado (50 ml), y trietilamina (1,350 g), seguido por enfriamiento en hielo. A la mezcla se le añadió trifosgeno (1,043 g), seguido por agitación durante 0,5 horas, y se confirmó la finalización de la reacción para el compuesto del título mediante CCF. A la mezcla se le añadió metanol (0,245 ml) bajo enfriamiento en hielo, seguido por agitación durante 30 minutos. Posteriormente, se añadió ácido metanosulfónico (8,53 g), seguido por agitación durante 30 minutos. Se confirmó la finalización de la reacción para el compuesto del título mediante CCF. Se añadió gota a gota la mezcla a una disolución acuosa de hidrogenocarbonato de potasio 1 M helada (10,668 g/90 ml), seguido por agitación durante 0,5 horas. Luego se añadió cloroformo (33 ml) para separar las fases. Se lavó secuencialmente la fase orgánica con ácido clorhídrico 1 M (70 ml), bicarbonato de sodio saturado (70 ml), y salmuera saturada (70 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. Se sometió el residuo a cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo/acetato de etilo = 6/1) para proporcionar 3,106 g del compuesto del título como un sólido incoloro (rendimiento del 81%).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 1,50 (sa, 4H), 1,62 (sa, 1H), 1,68-1,84 (m, 1H), 1,91 (sa, 4H), 2,04-2,27 (m, 2H), 3,02 (sa, 2H), 3,15 (s, 2H), 3,35 (sa, 1H), 4,47 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 4,92 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 5,07 (d, J = 11,4 Hz, 1H), 7,34-7,45 (m, 5H); EM m/z 428 [M+H]⁺.

Ejemplo 1

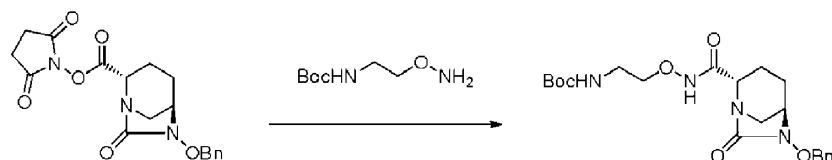
{2-[[[(2S,5R)-6-Benciloxi-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de terc-butilo (IV-1)

Ejemplo 1a



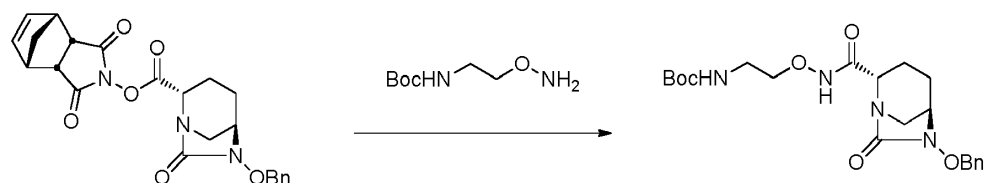
Se enfrió una disolución de ácido (2S,5R)-6-(benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxílico (ejemplo de referencia, 4,80 kg, 17,373 mol) en acetato de etilo deshidratado (62 l) hasta -30°C , se añadieron secuencialmente gota a gota clorofórmato de isobutilo (2,52 kg) y trietilamina (1,85 kg), seguido por agitación a -30°C durante 15 minutos. A la disolución de reacción se le añadió una disolución de 2-(aminooxi)etilcarbamato de terc-butilo en acetato de etilo deshidratado (15% en peso, 23,45 kg) a lo largo de 30 minutos (lavado con 2 l de acetato de etilo deshidratado), y se elevó la temperatura hasta 0°C a lo largo de 1 hora. Se lavó secuencialmente la mezcla con ácido cítrico al 8% (65 l), bicarbonato de sodio al 5% (60 l), y agua (60 l), y se concentró hasta 24 l. Al concentrado se le añadió acetato de etilo (24 l), y se concentró por sustitución la mezcla dos veces hasta 24 l. Al concentrado resultante se le añadió acetato de etilo (29 l) y hexano (72 l), seguido por agitación durante la noche. A la mezcla se le añadió gota a gota hexano (82 l), seguido por agitación durante 2 horas. Se filtraron los cristales precipitados, se lavaron con hexano, y se secaron a vacío para proporcionar 5,51 kg del compuesto del título (rendimiento del 76%). Los datos instrumentales eran coherentes con los del ejemplo de referencia 5, etapa 1.

Ejemplo 1b



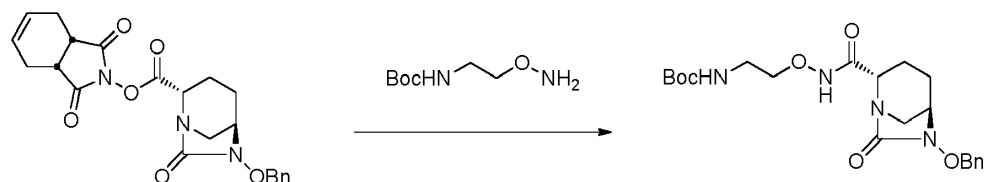
Se disolvió (2S,5R)-6-(benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (ejemplo de referencia 3, 373 mg, 1 mmol) en diclorometano deshidratado (5 ml), y a esto se le añadió una disolución de 2-(aminooxi)etilcarbamato de terc-butilo (194 mg) en diclorometano deshidratado (2 ml, lavado con 1 ml) bajo enfriamiento en hielo, seguido por agitación durante 1 hora. Se diluyó la disolución de reacción con acetato de etilo (65 ml), se lavó secuencialmente con ácido cítrico al 10% (20 ml), bicarbonato de sodio saturado (20 ml), y salmuera saturada (20 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró, y se concentró a presión reducida para proporcionar 362 mg del compuesto del título (rendimiento del 83%). Los datos instrumentales eran coherentes con los del ejemplo de referencia 5, etapa 1.

Ejemplo 1c



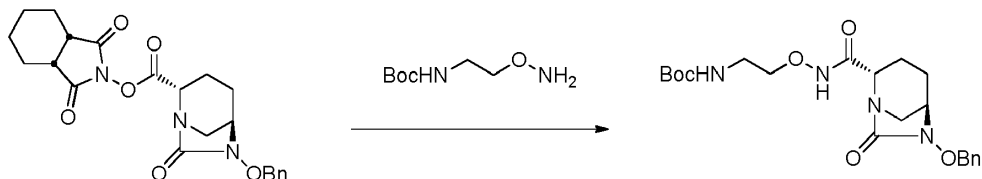
Se suspendió (2S,5R)-6-(benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de (1R,2S,6R,7S)-3,5-dioxo-4-azatriciclo[5.2.1.0^{2,6}]dec-8-en-4-ilo (ejemplo de referencia 4, 49,7 g, 113,6 mmol) en acetato de etilo deshidratado (650 ml). A la suspensión se le añadieron una disolución de 2-(aminooxi)etilcarbamato de terc-butilo (24,2 g) en acetato de etilo deshidratado (134 ml) y trietilamina (13,8 g) a temperatura ambiente, seguido por agitación durante 2,5 horas. Se diluyó la disolución de reacción con acetato de etilo (0,8 l), se lavó secuencialmente con ácido clorhídrico 0,25 M helado (1 l), bicarbonato de sodio saturado (1 l), y agua (1 l), y se concentró a presión reducida para proporcionar 48,08 g del compuesto del título (rendimiento del 98%, razón de área del HPLC 99% o más). Los datos instrumentales eran coherentes con los del ejemplo de referencia 5, etapa 1.

Ejemplo 1d



Se disolvió (2S,5R)-6-(benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de (3aR,7aS)-1,3-dioxo-3a,4,7,7a-tetrahidro-1H-isoindol-2(3H)-ilo (ejemplo de referencia 7, 425 mg, 1 mmol) en cloroformo deshidratado (5 ml), y se añadieron una disolución de 2-(aminooxi)etilcarbamato de terc-butilo (211 mg) en acetato de etilo deshidratado (1,41g) y trietilamina (121 mg) bajo enfriamiento en hielo, seguido por agitación durante 30 minutos. Se diluyó la disolución de reacción con acetato de etilo (75 ml), se lavó secuencialmente con ácido cítrico al 10% (35 ml), bicarbonato de sodio saturado (35 ml), y salmuera saturada (35 ml), y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y se concentró el filtrado a presión reducida. Se sometió el residuo a cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo = 1/2) para proporcionar 481 mg del compuesto del título (cuantitativo). Los datos instrumentales eran coherentes con los del ejemplo de referencia 5, etapa 1.

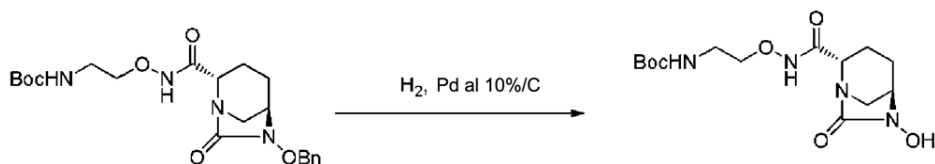
Ejemplo 1e



Se disolvió (2S,5R)-6-(benciloxi)-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de (3aR,7aS)-1,3-dioxohexahidro-1H-isoindol-2(3H)-ilo (ejemplo de referencia 9, 427 mg, 1 mmol) en cloroformo deshidratado (5 ml), y se añadieron una disolución de 2-(aminooxi)etilcarbamato de terc-butilo (211 mg) en acetato de etilo deshidratado (1,41 g) y trietilamina (121 mg) bajo enfriamiento en hielo, seguido por agitación durante 30 minutos. Se diluyó la disolución de reacción con acetato de etilo (75 ml), se lavó secuencialmente con ácido cítrico al 10% (35 ml), bicarbonato de sodio saturado (35 ml), y salmuera saturada (35 ml), y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, y se concentró el filtrado a presión reducida. Se sometió el residuo a cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo = 1/2) para proporcionar 418 mg del compuesto del título (rendimiento del 96%). Los datos instrumentales eran coherentes con los del ejemplo de referencia 5, etapa 1.

Ejemplo 2

{2-[[[(2S,5R)-6-Hidroxi-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de terc-butilo (V-1)

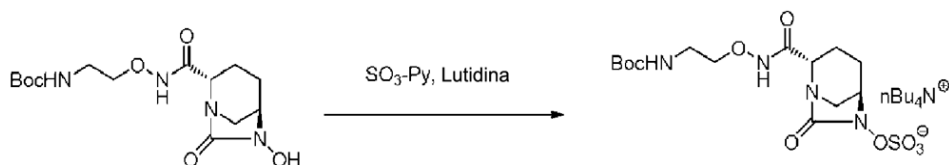


A una disolución de {2-[[[(2S,5R)-6-benciloxi-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de terc-butilo (IV-1, 5,52 kg, 12,705 mol) en metanol (85 l), se le añadió catalizador de paladio al 10%/carbono (húmedo al 50%, 0,55 kg), seguido por agitación durante 1 hora bajo presión de hidrógeno (0,1 MPa). Se filtró el catalizador, y se lavó el sólido con metanol (25 l). Se combinaron los filtrados y se concentraron a presión reducida hasta 39 l a una temperatura del líquido de 10°C o menos. Al concentrado se le añadió acetonitrilo (44 l), y se concentró por sustitución la mezcla hasta 39 l a una temperatura del líquido de 10°C o menos. Se realizó esta operación dos veces. Se enfrió la mezcla hasta 0°C, seguido por agitación durante la noche. Se filtraron los cristales precipitados, se lavaron con acetonitrilo (24 l), y se secaron a vacío para proporcionar 3,63 kg del compuesto del título (rendimiento del 83%). Los datos instrumentales eran coherentes con los del compuesto del ejemplo de referencia 5, etapa 2.

Ejemplo 3

{2-[[[(2S,5R)-7-Oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de tetrabutilamonio y terc-butilo (VI-1)

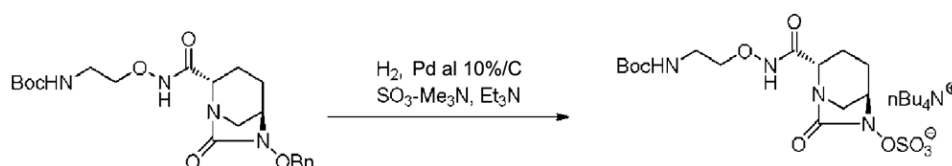
Ejemplo 3a



A acetonitrilo (51 l) se le añadieron secuencialmente agua (51 ml), {2-[[[(2S,5R)-6-hidroxi-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de terc-butilo (V-1, 3,53 kg, 10,251 mol), complejo de

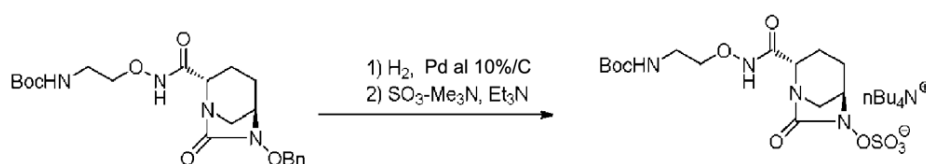
trióxido de azufre-piridina (3,95 kg), y 2,6-lutidina (2,21 kg), seguido por agitación a 35-45°C durante la noche. Se filtró la mezcla para retirar los compuestos insolubles, y se lavó el sólido con acetonitrilo (11 l). Se combinaron los filtrados y se concentraron hasta 17 l. Se enfrió el concentrado hasta 10°C o menos, y se separaron las fases con dihidrogenofosfato de sodio al 9% (60 l) y acetato de etilo (113 l). Se volvió a extraer la fase orgánica con dihidrogenofosfato de sodio al 9% (11 l). A la fase acuosa resultante se le añadieron acetato de etilo (113 l), una disolución acuosa de hidrogenosulfato de tetrabutilamonio al 30% (12,87 kg), y dihidrogenofosfato de sodio al 37% (56,5 kg), seguido por agitación durante 15 minutos. Se separó la fase orgánica, se lavó con dihidrogenofosfato de sodio al 20% (60 l), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro (2,5 kg), se filtró, y luego se concentró a presión reducida. Se precipitaron los cristales del compuesto del título en las disoluciones concentradas, y se disolvieron en acetato de etilo, y se ajustó el volumen total de líquido hasta 20 l para proporcionar 32,55 kg de una disolución del compuesto del título en acetato de etilo (neto 6,25 kg, rendimiento del 92%). Se sometió la disolución a la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo 3b: síntesis en una etapa a partir de {2-[[[(2S,5R)-6-benciloxi-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de terc-butilo (IV-1)



A una disolución de {2-[[[(2S,5R)-6-benciloxi-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de terc-butilo (IV-1, 515 mg, 1,16 mmol) en isopropanol (7 ml) se le añadieron agua (5 ml), complejo de trióxido de azufre-trimetilamina (196 mg), trietilamina (0,0407 ml), y catalizador de paladio al 10%/carbono (húmedo al 53,3%, 95,0 mg) bajo una atmósfera de hidrógeno, seguido por agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió adicionalmente un catalizador de paladio al 10%/carbono (húmedo al 53,3%, 63,5 mg), y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 3 horas bajo una atmósfera de hidrógeno y luego se sustituyó con gas argón, seguido por agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. Se filtró el catalizador en la disolución de reacción a través de un lecho de Celite y se lavó con isopropanol/agua (1/1, 40 ml), y luego se filtró a través de MF (Millipore) y se lavó con isopropanol/agua (1/1, 15 ml). Luego se eliminó por destilación el isopropanol a presión reducida. A la disolución acuosa resultante se le añadieron dihidrogenofosfato de sodio (5,29 g), acetato de etilo (20 ml), e hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (476 mg), seguido por agitación a temperatura ambiente durante 10 minutos. Luego se extrajo la mezcla dos veces con acetato de etilo. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de sodio, se filtró, y se concentró para proporcionar 702 mg del compuesto del título (rendimiento del 91%).

Ejemplo 3c: síntesis secuencial a partir de {2-[[[(2S,5R)-6-benciloxi-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de terc-butilo (IV-1)



A una disolución de {2-[[[(2S,5R)-6-benciloxi-7-oxo-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de terc-butilo (IV-1, 5,0 g, 11,51 mmol) en isopropanol (80 ml) se le añadió catalizador de paladio al 10%/carbono (húmedo al 50%, 0,5 g), seguido por agitación durante 2 horas bajo una atmósfera de hidrógeno. Se filtró el catalizador en la disolución de reacción a través de un lecho de Celite, y se lavó el sólido con isopropanol (15 ml). Luego se combinaron los filtrados, y a esto se le añadieron agua (47,5 ml), complejo de trióxido de azufre-trimetilamina (1,8 g) y trietilamina (0,237 g), seguido por agitación a 25-30°C durante 24 horas. Se concentró la mezcla hasta 47 ml a presión reducida. A esto se le añadieron dihidrogenofosfato de sodio (11,87 g), acetato de etilo (200 ml) e hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (4,688 g), seguido por agitación durante 10 minutos. Se separó la fase orgánica, y se extrajo adicionalmente la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 100 ml). Se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato de magnesio y se filtró. Se concentró el disolvente orgánico del filtrado a presión reducida para proporcionar una disolución del compuesto del título en acetato de etilo (neto 6,522 g, rendimiento del 85%).

Ejemplo 4

(2S,5R)-N-(2-Aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1-CR)



Ejemplo 4a

Se enfrió una disolución de {2-[[[(2S,5R)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de tetrabutilamonio y terc-butilo (VI-1, 788 g, neto 467,1 g, 0,701 mol) en diclorometano (934 ml) hasta -20°C bajo una corriente de nitrógeno, se añadió gota a gota ácido trifluoroacético (934 ml) a lo largo 15 minutos, y se elevó la temperatura hasta 0°C, seguido por agitación durante 1 hora. Se enfrió la disolución de reacción hasta -20°C, y a esto se le añadió gota a gota diisopropil éter (4,17 l), y se elevó la temperatura de la mezcla hasta -6°C, y se agitó la mezcla durante 1 hora. Se filtraron los precipitados y se lavaron con diisopropil éter (2 x 1 l), y se secó el sólido húmedo a vacío para proporcionar 342,08 g del compuesto del título (neto 222,35 g, rendimiento del 98%, razón de área del HPLC 96,1%, CE/TFA 27% en moles).

Ejemplo 4b

Se enfrió {2-[[[(2S,5R)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]oct-2-il]carbonil]amino]oxi]etil}carbamato de tetrabutilamonio y terc-butilo (VI-1, disolución de acetato de etilo de 15,60 kg, neto 2,98 kg) hasta una temperatura del líquido de 0°C o menos y se concentró hasta 9 l. Al concentrado se le añadió diclorometano (9 l), y se enfrió la mezcla hasta -20°C bajo una corriente de nitrógeno. A la mezcla se le añadió gota a gota ácido trifluoroacético (16,5 l) a -5°C o menos a lo largo de aproximadamente 1 hora, seguido por agitación a de -5 a 0°C durante 1 hora. A la disolución de reacción se le añadió acetato de etilo enfriado hasta 0°C en porciones a 7°C o menos (4 x 8,3 l, 24,6 l, 57,8 l en total), seguido por agitación a 0°C durante la noche. Se filtraron los precipitados, se lavaron con acetato de etilo (13,5 l, 9 l) y se secaron a vacío para proporcionar 1,74 kg del compuesto del título (neto 1,43 kg, rendimiento del 99%, razón de área del HPLC 99,1%, CE/TFA 10% en moles, GC/EtOAc 14%).

Ejemplo 5

Forma cristalina I de (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1)

Ejemplo 5a

Se enfrió en hielo un tampón ácido acético 0,5 M (pH 5,5, 35 ml), y a esto se le añadieron (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1-CR, 36 g) e hidróxido de sodio 5 M enfriado sodio de manera alternada para ajustar el a 5,5. Se sometió la mezcla a cromatografía en columna de gel de octadecil-silíce (3,6 l) y se eluyó con agua. Se recogieron las fracciones activas y se concentraron a presión reducida con un baño de agua de 35°C. Se secaron los cristales precipitados a vacío durante la noche. Se pulverizaron 2,10 g de los cristales resultantes, y luego se añadió isopropanol/agua (19/1, 13 ml) bajo enfriamiento en hielo, seguido por trituración a 0°C durante 1 hora. Se filtró la suspensión, seguido por lavado con isopropanol/agua enfriados (19/1, 80 ml). Se secaron los cristales resultantes a vacío para proporcionar 1,68 g del compuesto del título (rendimiento del 80%). Pico endotérmico de DSC: 111°C. Solubilidad en una disolución acuosa de isopropanol al 60%: 0,44% (10°C), 0,48% (20°C). El compuesto del título mostró un patrón de picos característicos en el patrón de difracción de rayos X de polvo tal como se muestra en la tabla 4 y la figura 1 a continuación. Los parámetros del instrumento y del ensayo fueron de la siguiente manera: el difractómetro de rayos X de polvo: RINT2100 de Rigaku Corporation; fuente de rayos X: CuK α , voltaje del tubo: 40 kV, corriente del tubo: 40 mA, velocidad de barrido 4°/min, intervalo de barrido: 20 = 3-40°.

[Tabla 4]

Datos de rayos X de polvo		
Difracción de rayos X de polvo de la forma cristalina I		
Posición del pico		Intensidad relativa
2 θ	Espaciado reticular (d)	
(CuK α)	Å	I/I ₀
12,04	7,34	13
15,64	5,66	53
16,02	5,53	26

16,70	5,30	58
17,66	5,02	49
19,02	4,66	100
20,30	4,37	46
20,74	4,28	11
21,88	4,06	10
24,16	3,68	11
24,56	3,62	15
25,66	3,47	18
26,54	3,36	17
26,96	3,30	13
28,18	3,16	12
28,72	3,11	14
29,44	3,03	16
29,86	2,99	13
35,90	2,50	10

Ejemplo 5b

Se disolvió (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1-CR, neto 4,253 g) en un tampón fosfato 0,2 M (pH 6,5, 73 ml) y se ajustó el pH a 5,5, seguido por dilución con agua (20 ml). Se concentró la mezcla hasta 130 ml, se sometió a purificación con resina (SP207, 260 ml), y se eluyó con agua (238 ml) y una disolución acuosa de isopropanol al 10% (780 ml). Se recogieron las fracciones activas y se concentraron hasta 30 ml a presión reducida. A esto se le introdujo carbón activado (Seisei Shirasagi, 87 mg), seguido por agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se separó por filtración el carbón activado con un filtro de membrana, y se sometió el filtrado a liofilización para proporcionar 4,07 g de (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1) en una forma amorfa (rendimiento del 95,7%). Se disolvió este compuesto amorfo (0,2 g) en agua (0,8 ml), y se le añadió a la disolución isopropanol (1,2 ml) y se sembró con la forma cristalina I (ejemplo 5a, 1 mg) a temperatura ambiente, seguido por agitación con una barra de agitación durante 3 horas. Se filtraron los cristales precipitados y se secaron para proporcionar 0,1 g del compuesto del título (rendimiento del 50%). Los cristales mostraron el mismo patrón de picos que los cristales del ejemplo 5a en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Ejemplo 5c

Se añadieron de manera alternada (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1-CR, neto 2,113 g) y un tampón fosfato 0,2 M (pH 6,5, 73 ml), y se ajustó el pH a 4,6, seguido por dilución con agua (27 ml). Se concentró la mezcla hasta 80 ml a presión reducida, y luego se ajustó el pH a 5,4 con un tampón fosfato 0,2 M (pH 6,5, 16 ml), seguido por dilución con agua (48 ml). Se sometió la mezcla a purificación con resina (SP207, 240 ml), y se eluyó con agua (276 ml) y una disolución acuosa de isopropanol al 10% (720 ml). Se recogieron las fracciones activas y se concentraron a presión reducida hasta 12 ml. A esto se le añadió carbón activado (Seisei Shirasagi, 40 mg), seguido por agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se separó por filtración el carbón activado a través de un filtro de membrana, seguido por dilución con agua hasta 14 ml. Se sembró la disolución acuosa con la forma cristalina I (ejemplo 5b, 6 mg), se agitó con una barra de agitación a temperatura ambiente. A la suspensión resultante se le añadió gota a gota isopropanol (84 ml) a lo largo 1 hora. Después de completarse la adición gota a gota, se agitó la mezcla durante 3 horas. Se filtraron los cristales precipitados y se secaron para proporcionar 1,834 g del compuesto del título (rendimiento del 86,8%). Contenido de agua: 5,37%, el contenido de producto anhidro: 95,3%, razón de área del HPLC 99,3%. Los cristales mostraron el mismo patrón de picos que los cristales del ejemplo 5a en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Ejemplo 6

Forma cristalina II de (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1)

Ejemplo 6a

Se enfrió un tampón fosfato 0,2 M (pH 6,5, 0,8 l) hasta 10°C o menos. A esto se le añadieron mientras se agitaba

(2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1-CR, neto 49,96 g) y un tampón fosfato 0,2 M enfriado (pH 6,5) de manera alternada en pequeñas porciones para ajustar el pH entre 4,2 y 5,5 y finalmente a pH 5,5. Se diluyó la mezcla con agua (la cantidad total de 1,8 l) y se concentró a presión reducida a una temperatura del líquido de 18°C o menos hasta 1,6 l. Se diluyó el concentrado con agua hasta 1,8 l (razón de área del HPLC 96,7%), se sometió a purificación con resina (Sepabeads SP207, 3 l), y se eluyó con agua (0,83 l) y una disolución acuosa de isopropanol al 10% para recoger las fracciones activas. Se combinaron las fracciones activas (1,5 l) y se concentraron a presión reducida a una temperatura del líquido de 15°C o menos hasta 0,5 l. A esto se le añadió carbón activado (0,88 g), seguido por agitación durante 30 minutos. Se separó por filtración el carbón activado a través de un filtro de membrana y se lavó con agua (0,05 l x 2). Se combinaron los filtrados y se concentraron a presión reducida a una temperatura del líquido de 15°C o menos hasta 0,2 l, y se ajustó la temperatura del líquido hasta 10-15°C. A la mezcla se le añadió gota a gota isopropanol (0,25 l) a lo largo de 10 minutos. Después de agitar durante 1 hora, se añadió adicionalmente gota a gota isopropanol (0,6 l) a lo largo de 15 minutos. Se agitó la mezcla durante 1 hora, y se filtraron los cristales precipitados, se lavaron con isopropanol (0,2 l), y se secaron a vacío hasta que la temperatura del material alcanzó 20°C para proporcionar 44,69 g del compuesto del título (rendimiento del 85%, contenido de agua 5,9%, razón de área del HPLC 100%). Pico endotérmico de DSC: 92°C. Solubilidad en una disolución acuosa de isopropanol al 60%: 0,67% (10°C), 0,74% (20°C).

El compuesto del título también mostró un patrón de picos característicos en el patrón de difracción de rayos X de polvo tal como se muestra en la tabla 5 y la figura 2 a continuación. Los parámetros del instrumento y del ensayo fueron de la siguiente manera : difractómetro de rayos X de polvo: RINT2100 de Rigaku Corporation; fuente de rayos X: CuK α , voltaje del tubo: 40 kV, corriente del tubo: 40 mA, velocidad de barrido 4°/min, intervalo de barrido: 2 θ = 3-40°.

[Tabla 5]

Datos de rayos X de polvo		
Difracción de rayos X de polvo de la forma cristalina II		
	Posición del pico	Intensidad relativa
2 θ	Espaciado reticular (d)	
(Cuka)	Å	I/I ₀
9,34	9,46	62
15,76	5,62	28
16,94	5,23	42
17,38	5,10	49
17,74	5,00	100
18,04	4,91	37
18,98	4,67	11
19,92	4,45	56
20,68	4,29	40
22,42	3,96	16
23,52	3,78	19
23,94	3,71	31
25,30	3,52	14
27,50	3,24	26
28,06	3,18	12
28,74	3,10	12
29,54	3,02	12
31,08	2,88	14
31,82	2,81	11
32,24	2,77	19
33,50	2,67	11

35,92	2,50	10
36,62	2,45	13

Ejemplo 6b

Experimento sobre la transformación de cristales de la forma cristalina II de (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1)

Se tomó una pequeña cantidad de una suspensión de los cristales del ejemplo 6a y se agitó a temperatura ambiente durante un día. Se recogieron los cristales precipitados se sometieron a difracción de cristales de rayos X de polvo. No se observó transformación de cristales a una forma cristalina diferente.

Ejemplo 7

Forma cristalina III de (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1)

Ejemplo 7a

Se enfrió un tampón fosfato 0,2 M (pH 6,5, 3,0 l) hasta 10°C o menos, y a esto se le añadieron mientras se agitaba (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1-CR, neto 133,334 g) y un tampón fosfato 0,2 M enfriado (pH 6,5, 1,8 l) de manera alternada en pequeñas porciones para ajustar el pH entre 5,1 y 5,5, y finalmente a pH 5,3. Se concentró la mezcla a presión reducida a una temperatura del líquido de 18°C o menos hasta 3,6 l. Se ajustó el pH del concentrado hasta pH 5,5 con un tampón fosfato 0,2 M (pH 6,5). Se diluyó el concentrado con agua hasta 4,8 l, se sometió a purificación con resina (Sepabeads SP207, 7L), y se eluyó con agua (7,2 l) y una disolución acuosa de isopropanol al 10% para recoger fracciones activas. Se combinaron las fracciones activas (3,1 l) y se concentraron a presión reducida a una temperatura del líquido de 15°C o menos hasta 1,8 l. A esto se le añadió carbón activado (2,66 g), seguido por agitación durante 30 minutos. Se separó por filtración el carbón activado a través de un filtro de membrana y se lavó con agua (0,39 l). Se combinaron los filtrados y se concentraron a presión reducida a una temperatura del líquido de 18°C o menos hasta 0,6 l. Se ajustó la temperatura del líquido del concentrado hasta 20-25°C, y a esto se le añadió gota a gota isopropanol (0,77 l). Luego se sembró la forma cristalina II (ejemplo 6a, 0,63 g), seguido por agitación durante 1 hora. A la mezcla se le añadió adicionalmente gota a gota isopropanol (1,93 l) a lo largo de 1,5 horas, seguido por agitación durante 30 minutos. Se filtraron los cristales precipitados, se lavaron con isopropanol (1 l), y se secaron a vacío hasta que la temperatura del material alcanzó 20°C. Se obtuvieron 127,3 g del compuesto del título que contenía una pequeña cantidad de forma cristalina II (rendimiento del 90%, contenido de agua 5,3%, razón de área del HPLC 99,9%). Se usaron los cristales obtenidos en esta etapa como cristales de siembra, y se repitió una etapa similar. Se usaron adicionalmente los cristales resultantes como cristales de siembra en la siguiente etapa para proporcionar el compuesto del título como forma cristalina III sola en la difracción cristalina de rayos X de polvo. Pico endotérmico de DSC: 102°C. Solubilidad en una disolución acuosa de isopropanol al 60%: 0,76% (10°C), 0,80% (20°C). El compuesto del título mostró un patrón de picos característicos en el patrón de difracción de rayos X de polvo tal como se muestra en la tabla 6 y la figura 3 a continuación. Los parámetros del instrumento y del ensayo fueron de la siguiente manera: difractómetro de rayos X de polvo: RINT2100 de Rigaku Corporation; fuente de rayos X: CuK α 1, voltaje del tubo: 40 kV, corriente del tubo: 40 mA, velocidad de barrido 4°/min, intervalo de barrido: 2 θ = 3-40°.

[Tabla 6]

Datos de rayos X de polvo		
Difracción de rayos X de polvo de la forma cristalina III		
Posición del pico		Intensidad relativa
2 θ	Espaciado reticular (d)	
(Cuka)	Å	I/I ₀
10,62	8,32	20
14,52	6,10	20
14,80	5,98	33
16,08	5,51	100
17,18	5,16	39
17,48	5,07	68
18,28	4,85	20

18,86	4,70	39
19,24	4,61	37
20,38	4,35	10
21,16	4,20	23
21,90	4,06	13
22,22	4,00	13
22,50	3,95	20
23,60	3,77	24
23,84	3,73	20
24,38	3,65	10
26,00	3,42	44
26,28	3,39	21
26,54	3,36	12
27,30	3,26	16
27,58	3,23	13
28,50	3,13	13
28,90	3,09	18
29,88	2,99	15
31,84	2,81	12
35,54	2,52	11

Ejemplo 7b

Se enfrió un tampón fosfato 0,2 M (pH 6,5, 7,2 l) hasta 10°C o menos, y a esto se le añadieron mientras se agitaba (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1-CR, neto 1,2 kg) y un tampón fosfato 0,2 M helado (pH 6,5, 3,5 l) de manera alternada en pequeñas porciones para ajustar el pH entre 4,2 y 4,8, y finalmente a pH 4,6. Se diluyó la mezcla con agua (19,3 l) (la cantidad total de 30 l) y se concentró a presión reducida a una temperatura del líquido de 18°C o menos a 24 l. Se ajustó el pH del concentrado a pH 5,4 con tampón fosfato 0,2 M (pH 6,5, 2,4 l) (razón de área del HPLC 98,5%). Se diluyó el concentrado con agua hasta 43,2 l, se sometió a purificación con resina (Sepabeads SP207, 75 l) y se eluyó con agua (83 l) y una disolución acuosa de isopropanol al 10% para recoger las fracciones activas. Se combinaron las fracciones activas (33 l) y se concentraron a una temperatura del líquido de 15°C o menos hasta 7,2 l. A esto se le añadió carbón activado (24 g), seguido por agitación durante 30 minutos. Se separó por filtración el carbón activado a través de un filtro de membrana y se lavó con agua (0,4 l x 2). Se combinaron los filtrados, y se ajustó la temperatura del líquido hasta 20-25°C. Esto se sembró con forma cristalina III (ejemplo 7a, 3,6 g). A la mezcla se le añadió gota a gota isopropanol (50,4 l) a lo largo de 1 hora, seguido por agitación durante la noche. Se filtraron los cristales precipitados, se lavaron con isopropanol (4,8 l), y se secaron a vacío hasta que la temperatura del material alcanzó 20°C para proporcionar 1,17 kg del compuesto del título (rendimiento del 90%, contenido de agua 5,3%, razón de área del HPLC 100%). Los cristales mostraron el mismo patrón de picos que los cristales del ejemplo 7a en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

Ejemplo 7c

Experimento sobre la transformación de cristales de la forma cristalina III de (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1)

En la etapa del ejemplo 7a, se tomó una pequeña cantidad de la suspensión inmediatamente después de la siembra y de la suspensión después de la adición gota a gota de isopropanol, y se agitó cada una de las porciones tomadas con una barra de agitación a temperatura ambiente durante un día y cuatro días. Se recogieron los cristales precipitados y se sometieron a difracción de cristales de rayos X de polvo. No se observó transformación de cristales a una forma cristalina diferente.

Ejemplo 7d

Experimento de difracción de rayos X-calorimetría diferencial de barrido (DRX-DSC) en la forma cristalina III de (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1)

Se examinó la transformación cristalina mediante calentamiento en polimorfismo de la forma cristalina III del ejemplo 7a usando DRX-DSC. Las condiciones de calentamiento y enfriamiento fueron las siguientes: la temperatura se elevó a una velocidad de 2°C/min desde la temperatura ambiente hasta 160°C y luego se enfrió hasta 63°C bajo una humedad relativa (RH) constante del 60%. Se midieron sucesivamente DSC y DRX de las muestras. Los parámetros del instrumento y del ensayo fueron de la siguiente manera: difractómetro de rayos X de polvo: SmartLab y DRX-DSC de Rigaku Corporation; fuente de rayos X: CuK α l, voltaje del tubo: 45 kV, corriente del tubo: 200 mA, velocidad de barrido 80°/min, intervalo de barrido: 2 θ = 5-35°.

Ejemplo 8

Forma cristalina IV de (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1)

Ejemplo 8a

Se disolvieron 0,20 g de forma cristalina III del ejemplo 7a en 2 ml de agua. A esto se le añadió gota a gota mientras se agitaba metanol (30 ml), seguido por dejar reposar a 20-25°C durante la noche. Se filtró la mezcla, se lavó con metanol (2 x 2 ml), y se secó a vacío a temperatura ambiente durante la noche para proporcionar 0,13 g del compuesto del título (rendimiento del 68%).

El compuesto del título mostró un patrón de picos característicos en el patrón de difracción de rayos X de polvo tal como se muestra en la tabla 7 y la figura 4 a continuación. Los parámetros del instrumento y del ensayo fueron de la siguiente manera: difractómetro de rayos X de polvo: RINT2100 de Rigaku Corporation; fuente de rayos X: CuK α l, voltaje del tubo: 40 kV, corriente del tubo: 40 mA, velocidad de barrido 4°/min, intervalo de barrido: 2 θ = 3-40°.

[Tabla 7]

Datos de rayos X de polvo		
Difracción de rayos X de polvo de la forma cristalina IV		
Posición del pico		Intensidad relativa
2 θ	Espaciado reticular (d)	
(Cuka)	Å	I/I ₀
11,22	7,88	31
13,80	6,41	46
17,04	5,20	56
19,00	4,67	21
19,70	4,50	100
22,10	4,02	34
23,34	3,81	13
23,68	3,75	19
24,06	3,70	34
24,56	3,62	14
26,36	3,38	11
27,62	3,23	10
27,88	3,20	13
32,64	2,74	14

Ejemplo 8b

A 25 g de forma cristalina III del ejemplo 7a se le añadió metanol (200 ml), seguido por agitación a 20-25°C durante 3,5 horas. Se filtró la mezcla, se lavó con metanol (2 x 20 ml), y se secó a vacío a temperatura ambiente durante la noche para proporcionar 23 g del compuesto del título (rendimiento del 99%). Los cristales mostraron el mismo patrón de picos que los cristales del ejemplo 8a en patrón de difracción de rayos X de polvo.

Ejemplo 8c

A 25 g de forma cristalina III del ejemplo 7a se le añadió etanol (200 ml), seguido por agitación a 20-25°C durante 3,5 horas. Se filtró la mezcla, se lavó con etanol (2 x 20 ml), y se secó a vacío a temperatura ambiente durante la noche para proporcionar 23 g del compuesto del título (rendimiento del 99%). Los cristales mostraron el mismo patrón de picos que los cristales del ejemplo 8a en patrón de difracción de rayos X de polvo.

Ejemplo 8d

Experimento sobre la transformación de cristales de la forma cristalina IV de (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1)

Se tomó la forma cristalina IV de los ejemplos 8a-c y se añadió a la misma isopropanol/agua (6/1) y se suspendió y se agitó a 25°C o 40°C durante una semana. Se tomaron muestras después de 12 horas, 24 horas (un día), 48 horas (dos días), 72 horas (tres días), 96 horas (cuatro días) y 168 horas (una semana) y se sometieron a difracción de cristales de rayos X de polvo después del secado de flujo continuo. No se observó transformación de cristales a una forma cristalina con ninguno de los tiempos de agitación.

Ejemplo 9a

Evaluación de la estabilidad de las formas cristalinas I-IV de (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1)

Se disolvió la forma cristalina III del ejemplo 7a en agua y se sometió a liofilización para proporcionar (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1) en una forma amorfa. Se pesaron cada uno de los compuestos en una forma amorfa y las formas cristalinas I-IV de los ejemplos 5-8 en un frasco con cierre de rosca, y se realizaron pruebas de estabilidad en cada una de las temperaturas y condiciones de humedad. Los métodos de medición de las sustancias relacionadas, medición del contenido y medición del contenido de agua fueron los siguientes. Los resultados se muestran en la tabla 9.

Medición de sustancias relacionadas y contenido

Se disolvieron las muestras en agua, y se usaron estas disoluciones como disoluciones de muestra. Se sometieron a prueba las disoluciones de muestra cada una en la cantidad de 5 µl en las siguientes condiciones mediante la norma JP16, Cromatografía de líquidos <2.01> para obtener la cantidad de cada sustancia relacionada (%) y la cantidad total de sustancias relacionadas (%), y el contenido.

Condiciones de la prueba:

Columna: Waters Atlantis dc18, 5 µm, 4,6 × 250 mm

Temperatura de la columna: una temperatura constante de 35°C

Cantidad inyectada: 5 µl

Detector: un fotómetro de absorción ultravioleta (longitud de onda: 210 nm)

Fase móvil A: se disolvieron 1,32 g de hidrogenofosfato de diamonio en 900 ml de agua, y se añadió ácido fosfórico para ajustar el pH a 3,0. A esto se le añadió luego agua hasta alcanzar 1000 ml.

Fase móvil B: acetonitrilo para cromatografía de líquidos

Programa de gradiente: la razón de mezclado de la fase móvil A con respecto a la fase móvil B se controló como el siguiente programa de tiempo.

[Tabla 8]

Tiempo después de la inyección (min)	Fase móvil A (% en volumen)	Fase móvil B (% en volumen)
0-5	100	0
5-20	100 → 90	0 → 10
20-30	90	10

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Tiempo de retención: aproximadamente 6,5 minutos

Tiempo de medición: 30 minutos

Medición de contenido de agua

Se midieron de manera precisa aproximadamente 20 mg del producto y se sometieron a prueba mediante la norma JP16, Determinación de agua <2.48> Titulación coulométrica.

[Tabla 9]

Condiciones de almacenamiento: 40°C/75% de HR, recipiente hermético

Forma cristalina	Al comienzo			1 mes			3 meses		
	Contenido de agua (%)	Cantidad total de sustancias relacionadas (%)	Contenido (%)	Contenido de agua (%)	Cantidad total de sustancias relacionadas (%)	Contenido (%)	Contenido de agua (%)	Cantidad total de sustancias relacionadas (%)	Contenido (%)
Forma amorfa	1,3	0,5	99,4	3,3	6,6	93,3	3,8	12,3	87,5
Forma I	5,4	0,1	99,9	5,4	0,0	99,9	5,6	0,1	99,8
Forma II	5,7	0,1	99,8	5,6	0,0	99,8	5,9	0,5	99,3
Forma III	5,3	0,0	99,9	5,3	0,0	100,0	5,5	0,0	99,9
Forma IV	0,1	0,0	99,9	0,1	0,0	99,8	NT	NT	NT

Ejemplo 9b

Evaluación de la estabilidad de la forma cristalina III de (2S,5R)-N-(2-aminoetoxi)-7-oxo-6-(sulfooxi)-1,6-diazabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxamida (VII-1) en un recipiente de envasado

Se envasó la forma cristalina III en las siguientes condiciones y se realizaron pruebas de estabilidad a cada una de las temperaturas y condiciones de humedad en las condiciones de análisis del ejemplo 9a. Los resultados se muestran en las tablas 10-12.

Recipiente de envasado

Bolsa interior: un polietileno de baja densidad, abrazadera de nailon

Bolsa exterior: una bolsa laminada de aluminio, termosellada

[Tabla 10]

Estabilidad de la forma cristalina III

Bolsa interior: un polietileno de baja densidad, abrazadera de nailon

Bolsa exterior: una bolsa laminada de aluminio, termosellada

Condiciones de almacenamiento: 25°C/60% de HR

Parámetros de la prueba	Al comienzo	3 meses
Cantidad total de sustancias relacionadas (%)	0,09	0,07
Contenido de agua (%)	5,32	5,23
Contenido (%)	99,9	99,9

ES 2 901 198 T3

[Tabla 11]

Estabilidad de la forma cristalina III

Bolsa interior: un polietileno de baja densidad, abrazadera de nailon

Bolsa exterior: una bolsa laminada de aluminio, termosellada

5 Condiciones de almacenamiento: 40°C/75% de HR

Parámetros de la prueba	Al comienzo	1 mes	2 meses	3 meses
Cantidad total de sustancias relacionadas (%)	0,09	0,07	0,04	0,06
Contenido de agua (%)	5,20	5,51	5,27	5,29
Contenido (%)	99,9	99,9	99,9	99,9

[Tabla 12]

10 Estabilidad de la forma cristalina III

Bolsa interior: un polietileno de baja densidad, abrazadera de nailon

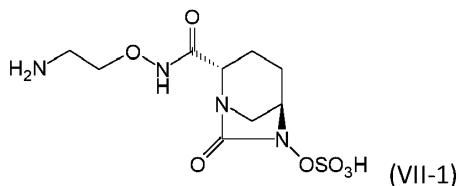
Bolsa exterior: una bolsa laminada de aluminio, termosellada

15 Condiciones de almacenamiento: 60°C

Parámetros de la prueba	Al comienzo	2 semanas	4 semanas
Cantidad total de sustancias relacionadas (%)	0,09	0,02	0,04
Contenido de agua (%)	5,20	5,20	5,08
Contenido (%)	99,9	99,9	99,9

REIVINDICACIONES

1. Forma cristalina de un compuesto de fórmula (VII-1):



que es

(i) una forma cristalina I que tiene picos característicos que aparecen en el espaciado reticular (d) de 7,34, 5,66, 5,53, 5,30, 5,02, 4,66, 4,37, 4,28, 4,06, 3,68, 3,62, 3,47, 3,36, 3,30, 3,16, 3,11, 3,03, 2,99 y 2,50 Å en el patrón de difracción de rayos X de polvo;

(ii) una forma cristalina II que tiene picos característicos que aparecen en el espaciado reticular (d) de 9,46, 5,62, 5,23, 5,10, 5,00, 4,91, 4,67, 4,45, 4,29, 3,96, 3,78, 3,71, 3,52, 3,24, 3,18, 3,10, 3,02, 2,88, 2,81, 2,77, 2,67, 2,50 y 2,45 Å en el patrón de difracción de rayos X de polvo;

(iii) una forma cristalina III que tiene picos característicos que aparecen en el espaciado reticular (d) de 8,32, 6,10, 5,98, 5,51, 5,16, 5,07, 4,85, 4,70, 4,61, 4,35, 4,20, 4,06, 4,00, 3,95, 3,77, 3,73, 3,65, 3,42, 3,39, 3,36, 3,26, 3,23, 3,13, 3,09, 2,99, 2,81 y 2,52 Å en el patrón de difracción de rayos X de polvo; o

(iv) una forma cristalina IV que tiene picos característicos que aparecen en el espaciado reticular (d) de 7,88, 6,41, 5,20, 4,67, 4,50, 4,02, 3,81, 3,75, 3,70, 3,62, 3,38, 3,23, 3,20, y 2,74 Å en el patrón de difracción de rayos X de polvo.

2. Procedimiento para producir las formas cristalinas I-IV según la reivindicación 1, seleccionado de

(i) producir la forma cristalina I mediante un método que comprende ajustar la temperatura de una disolución del compuesto de fórmula (VII-1) entre 20-25°C, sembrar con una forma cristalina I y agitar, seguido de añadir además isopropanol;

(ii) producir la forma cristalina II mediante un método que comprende ajustar la temperatura de una disolución del compuesto de fórmula (VII-1) entre 10-15°C, añadir isopropanol y agitar;

(iii) producir la forma cristalina III mediante un método que comprende ajustar la temperatura de una disolución del compuesto de fórmula (VII-1) entre 20-25°C, sembrar con una forma cristalina III, añadir isopropanol y agitar; y

(iv) producir la forma cristalina IV mediante un método que comprende

- ajustar la temperatura de una disolución del compuesto de fórmula (VII-1) entre 20-25°C, añadir metanol y agitar; o

- agitar la forma cristalina I, II o III en metanol, etanol o isopropanol.

3. Composición farmacéutica que comprende la forma cristalina I, la forma cristalina II, la forma cristalina III, la forma cristalina IV, o una mezcla de las mismas, del compuesto de fórmula (VII-1) según la reivindicación 1, y opcionalmente un portador farmacéuticamente aceptable.

4. Composición farmacéutica según la reivindicación 3, que comprende además un antibiótico β-lactámico seleccionado de ampicilina, amoxicilina, piperacilina, ticarcilina, flomoxef, cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima, ceftarolina, ceftolozano, imipenem, meropenem, biapenem, doripenem, ertapenem y aztreonam.

FIG. 1

Patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma cristalina I

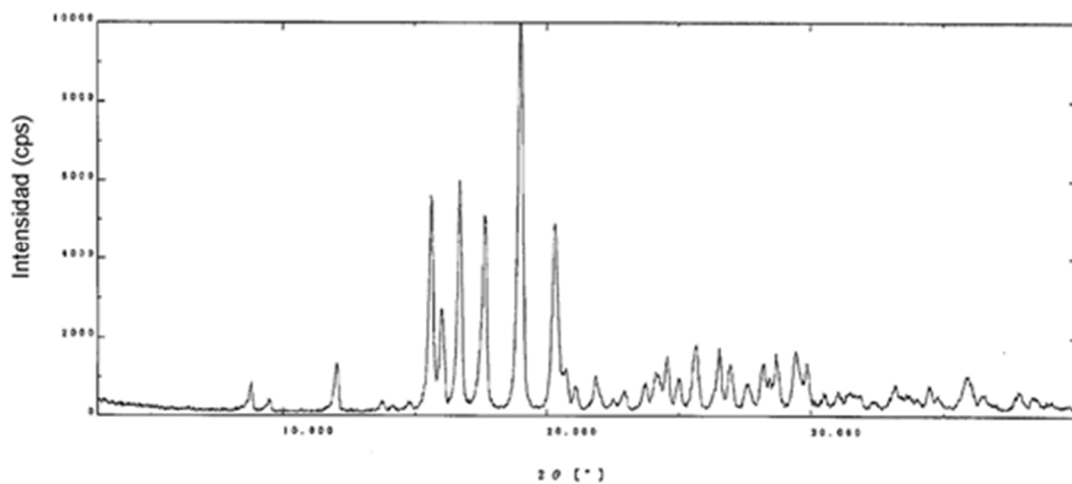


FIG. 2

Patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma cristalina II

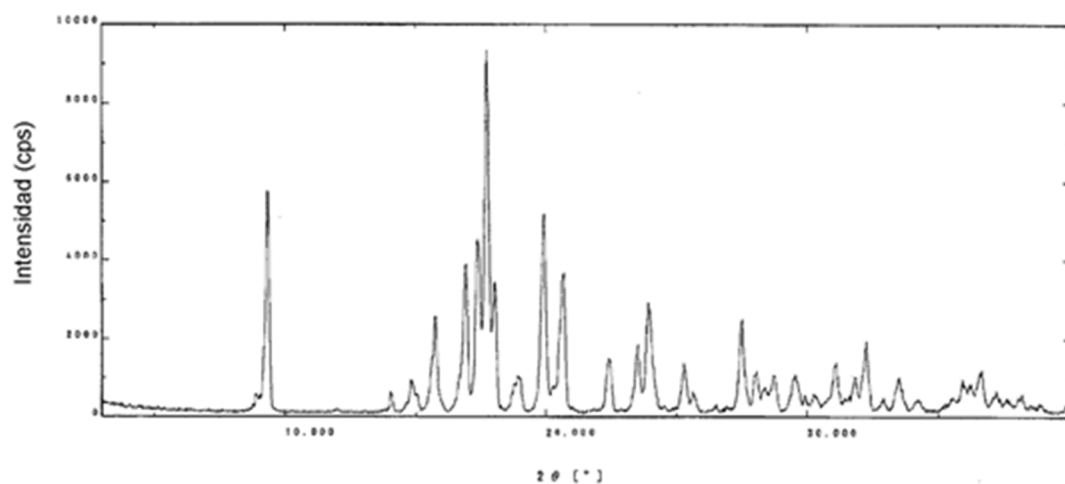


FIG. 3

Patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma cristalina III

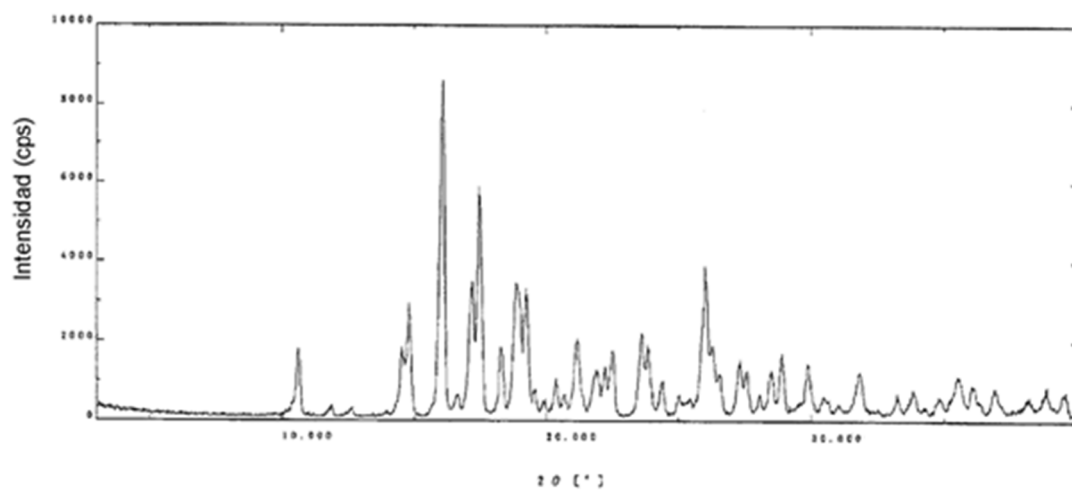


FIG. 4

Patrón de difracción de rayos X de polvo de la forma cristalina IV

