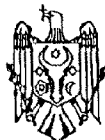




MD 4599 C1 2019.06.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4599** (13) **C1**
(51) Int.Cl: *A61K 31/545* (2006.01)
A61K 38/14 (2006.01)
C07D 501/00 (2006.01)
C07K 9/00 (2006.01)

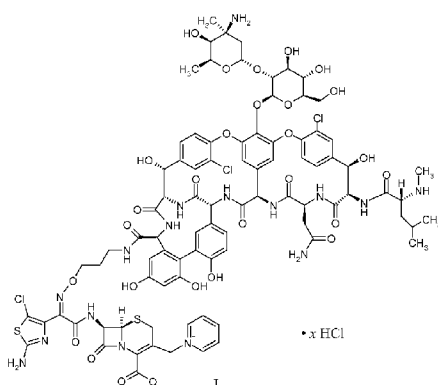
(12) BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: a 2015 0101 (22) Data depozit: 2014.03.06 (31) Nr.: 61/779065 (32) Data: 2013.03.13 (33) Țara: US (41) Data publicării cererii: 2016.02.29, BOPI nr. 2/2016	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2018.11.30, BOPI nr. 11/2018 (85) 2015.10.12 (86) PCT/US2014/021064, 2014.03.06 (87) WO 2014/158952 A1, 2014.10.02
(71) Solicitant: THERAVANCE BIOPHARMA ANTIBIOTICS IP, LLC, US (72) Inventatori: ZHANG Weijiang, US; CHEUNG Ronnie, US; FILIPOV Dimitar, US; GREEN Jack, US; LEE Junning, US (73) Titular: THERAVANCE BIOPHARMA ANTIBIOTICS IP, LLC, US (74) Mandatar autorizat: ANDRIEȘ Ludmila	

(54) Săruri de hidrociorură a unui compus antibiotic

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la un compus cu formula
I:



2
procedee de obținere, la utilizarea unor astfel
de compuși și la metode de tratament al
infecției bacteriene.

Revendicări: 19

Figuri: 5

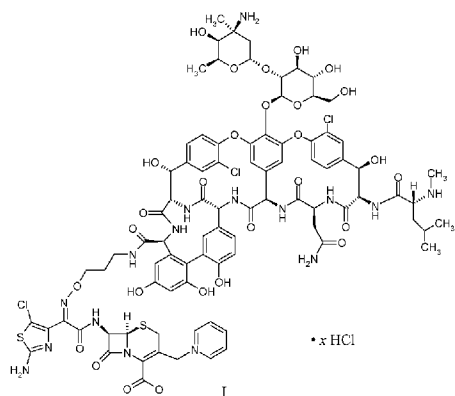
in care x se află în intervalul de la 1 până la 2.
Invenția se referă, de asemenea, la compoziții
farmaceutice ce conțin astfel de compuși, la

MD 4599 C1 2019.06.30

(54) Hydrochloride salts of an antibiotic compound

(57) Abstract:

The invention relates to a compound of formula I:



wherein x is in the range of from about 1 to about 2. The invention also relates to pharmaceutical compositions containing such compounds, processes for preparing, the use of such compounds and methods for treating a bacterial infection.

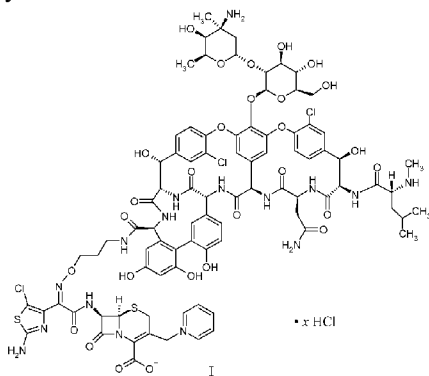
Claims: 19

Fig.: 5

(54) Гидрохлоридные соли антибиотического соединения

(57) Реферат:

Изобретение относится к соединению формулы I:



где x находится в диапазоне от 1 до 2. Изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим такие соединения, к способам получения, к применению таких соединений и к способам лечения бактериальной инфекции.

П. формулы: 19

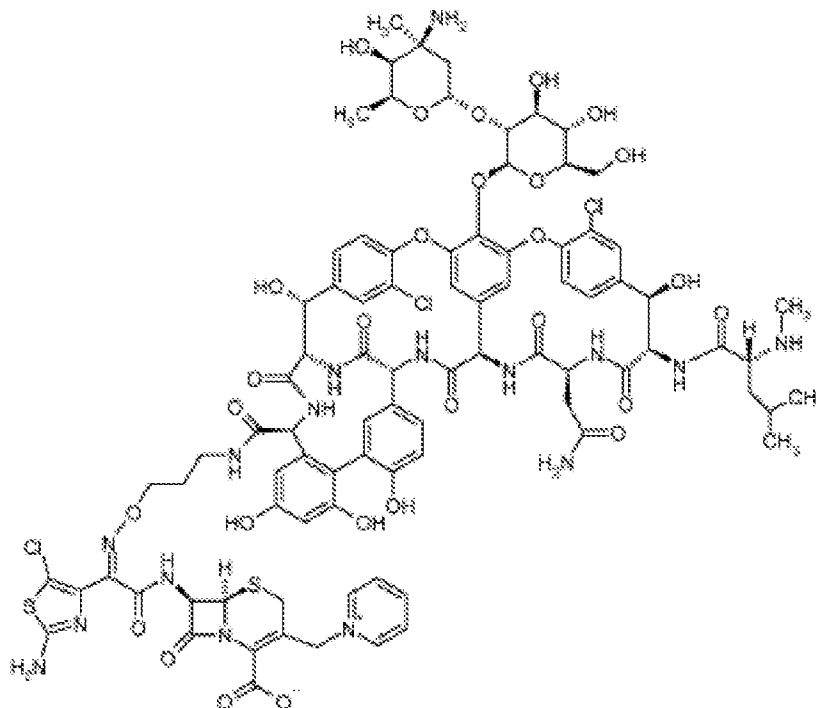
Фиг.: 5

Descriere:**(Descrierea se publică în redacția solicitantului)**

5 Prezenta invenție se referă la săruri noi de hidroclozură ale unui compus antibiotic reticulat de glicopeptidă-cefalosporină și la compoziții farmaceutice care conțin astfel de săruri de hidroclozură. Prezenta invenție se referă, de asemenea, la metode de preparare și la metode de

10 utilizare a unor astfel de săruri și compoziții de hidroclozură. Antibiotice glicopeptidă-cefalosporinice reticulate sunt cunoscute în domeniu [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]. Aceste antibiotice, conform publicațiilor, se utilizează pentru tratarea infecțiilor cauzate de bacterii gram-pozitive, inclusiv a infecțiilor cauzate de *Staphylococci aureus* (MRSA), rezistenți la

15 Unul dintre astfel de antibiotice glicopeptidă-cefalosporinice reticulate reprezintă 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R,7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridinimetil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]-carbonil]-26-decarboxivancomicină cu următoarea structură chimică:



Acest compus, de asemenea, cunoscut sub denumirea de TD-1792, a fost dezvoltat anterior, fie ca o sare de trifluoracetat, sau ca o sare de trihidroclorură. [2'] (de la rândul 60, coloana 60, până la rândul 20, coloana 35). Formele de sare descrise, însă, au mai multe dezavantaje.

20 În primul rând, s-a comunicat, că acizii perfluorcarboxilici, cum ar fi acidul trifluoracetic, produc efecte adverse hepatice fiind administrați la șobolani, Just et al, Hepatology, 9(4), 570-581 (1989). Prin urmare, o sare a acidului trifluoracetic a compusului menționat nu poate fi farmaceutic acceptabilă pentru administrare la pacienți.

25 În plus, s-a constatat că sarea de trihidroclorură a acestui compus se descompune într-un grad semnificativ la păstrare la temperatura camerei sau chiar la temperatură de păstrare în frigider (de la aproximativ 2 până la aproximativ 8°C). Prin urmare, sarea de trihidroclorură nu poate fi acceptată pentru utilizare într-o formulare comercială, deoarece formulările farmaceutice sunt deseori depozitate pentru perioade de timp semnificative înainte de utilizare.

30 Astfel, există necesitatea de noi forme de săruri farmaceutic acceptabile ale acestui compus, care au o stabilitate îmbunătățită la depozitare.

De asemenea prezintă interes noile compoziții farmaceutice care conțin asemenea săruri. Un interes deosebit prezintă noile compoziții farmaceutice, care îmbunătățesc adițional stabilitatea la depozitare a compusului. În literatura științifică existentă, însă, există opinii contradictorii cu privire la faptul, care excipienți se pot utiliza pentru a asigura o stabilitate crescută la depozitarea

35 preparatelor farmaceutice. De exemplu, se știe că cefalosporinele sunt stabilizate prin dizolvarea cefalosporinei cu lactoză, glucoză, zaharoză sau galactoză (și opțional, glicină), iar apoi uscarea soluției [12].

În contrast, se mai știe, că preparatele farmaceutice stabilizate, cum s-a menționat mai sus, nu sunt satisfăcătoare pentru a stabili un anumit compus de cefalosporină și, alternativ, cefalosporina este formulată cu (i) lactoză, (ii) acid citric sau cu o sare de sodiu a acestuia și (iii) arginină sau o hidrociorură a acestuia, sau cu clorură de sodiu, cu obținerea unui preparat stabil [13].

Mai mult decât atât, în ceea ce privește utilizarea carbohidraților se indică, că descompunerea unor cefalosporine este catalizată de glucoză, galactoză, maltoză, zaharoză, manitol și α -metilglucozidă în soluții apoase la pH 9-11 [14].

Mai recent au fost examinate avantajele și dezavantajele diferitelor excipienți, utilizați pentru prepararea formulărilor liofilizate de cefalosporine, cum ar fi poliolii și aminoacizii [15] (pag. 1, paragrafele 004-0019), fiind făcute concluzii, că în literatura de specialitate există opinii contrare, care și nu permit de a determina care formulări vor asigura stabilitatea produsului liofilizat (pag. 1, paragraful 0020). Acest document descrie formulări liofilizate pentru derivații de cefalosporină care conțin, cel puțin, un stabilizator selectat dintre carbohidrați, polialcooli și polivinilpirolidonă.

În ceea ce privește compozițiile farmaceutice pentru glicopeptide, sunt descrise compoziții liofilizate stabilizate de glicopeptide, cum ar fi orienticinele A-D, clororienticinele A-E și vancomicina, care conțin 0,05 părți din greutate sau mai mult de una sau mai multe zaharide [16].

Mai sunt descrise preparate liofilizate de vancomicină conținând aminoacizi, selectați dintre arginină, alanină, acid aspartic, histidină și glicină [17].

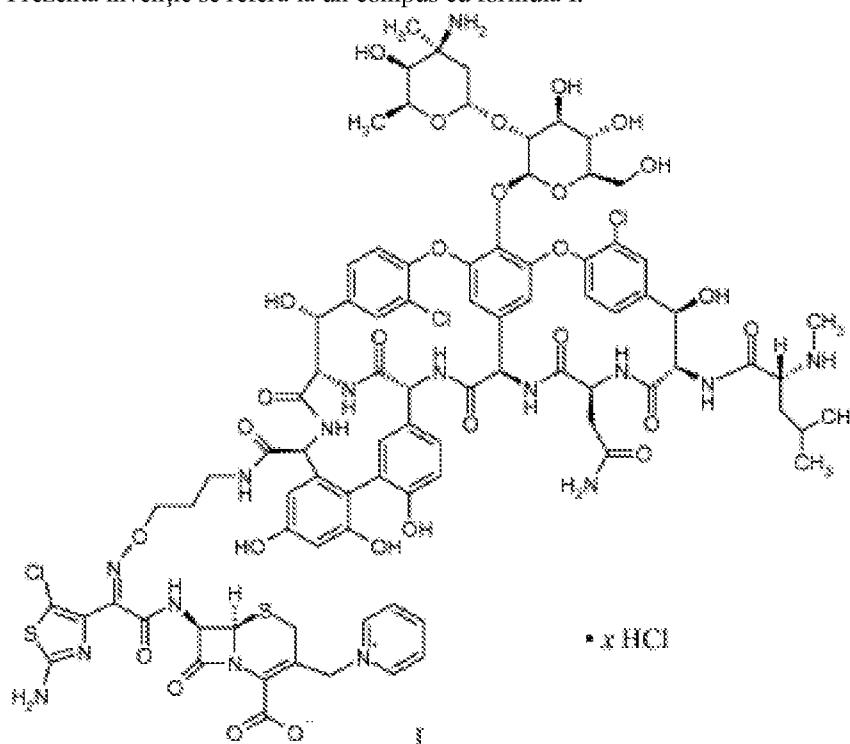
În plus, sunt descrise, de asemenea, preparate de vancomicină conținând amide solubile în apă ale acidului, cum ar fi nicotinamida [18].

Mai este dezvăluită o hidrociorură TD-1792, cea mai apropiată soluție de esența prezentei invenții, care în continuare se precizează în descriere până la sarea de trihidrociorură și utilizarea ei în medicină [19].

Însă, în acest document nu sunt dezvăluite sărurile mono- și dihidrocioruri TD-1792 și utilizarea lor în medicină. Astfel, în US 2008194464 nu se descrie cum poate fi prezentată o sare de hidrociorură TD-1792 cu proprietăți îmbunătățite în ceea ce privește stabilitatea ei.

Astfel, a fost descrisă o mare varietate de excipienți pentru utilizare în formulări de cefalosporine și glicopeptide. În literatura științifică, totuși, deseori există opinii contrare cu privire la excipientul necesar pentru utilizare cu un anumit agent farmaceutic. Ca urmare, identificarea unui excipient sau a combinațiilor de excipienți, care îmbunătățesc stabilitatea la depozitare a cefalosporinei-glicopeptidei reticulate este deosebit de dificilă, deoarece astfel de compuși conțin atât fragmente de cefalosporină, cât și de glicopeptidă în aceeași moleculă.

Prezenta invenție se referă la un compus cu formula I:



în care x este în intervalul de la circa 1 până la circa 2.

S-a constatat, că astfel de hidrocloruri posedă o stabilitate semnificativ îmbunătățită la depozitare la temperatura camerei și la temperatură de refrigerare, comparativ cu sarea de trihidroclorură corespunzătoare. În plus, s-a constatat că stabilitatea la depozitare a unor asemenea săruri de hidroclorură s-a dovedit a fi îmbunătățită adițional în compozițiile cu conținut de zaharoză și glicină.

Intr-o realizare x este aproximativ 1, adică, compusul cu formula I este o sare de monohidroclorură. Intr-o altă formă de realizare x este aproximativ 2, adică, compusul cu formula I este o sare dihidroclorură.

Intr-un alt aspect prezenta invenție se referă la o compoziție farmaceutică care conține un compus cu formula I. Intr-o realizare compoziția farmaceutică conține un purtător farmaceutic acceptabil și un compus cu formula I. Într-o realizare concretă compoziția farmaceutică conține zahăr și glicină.

Intr-o altă variantă de realizare compoziția farmaceutică conține:

(a) un compus cu formula I;

(b) de la aproximativ 0,5 până la aproximativ 2,0 părți din greutate de zaharoză; și

(c) de la aproximativ 0,5 până la aproximativ 2,0 părți din greutate de glicină (ca echivalent de bază liberă);

în care părțile din greutate de zaharoză și glicină se bazează pe partea din greutate de compus cu formula I (sub formă de echivalent de bază liberă).

Intr-o variantă concretă de realizare compoziția farmaceutică este o compoziție liofilizată. Intr-o altă variantă concretă de realizare compoziția farmaceutică conține aproximativ 1,0 parte din greutate de zaharoză și aproximativ 1,5 părți din greutate de glicină. Intr-o altă variantă concretă de realizare modificarea purității compusului cu formula I în compoziția farmaceutică este mai mică de aproximativ 10%, măsurată prin cromatografie de lichide de înaltă performanță după depozitare timp de 12 luni la o temperatură în intervalul de la aproximativ 18°C până la aproximativ 25°C.

Intr-un alt aspect prezenta invenție se referă la o metodă pentru tratarea unei infecții bacteriene la un pacient folosind un compus cu formula I. Intr-o realizare a prezentei invenții metoda prevede administrarea la un pacient a compusului cu formula I. Intr-o altă variantă de realizare metoda prevede administrarea la un pacient a unei compoziții farmaceutice care conține un purtător farmaceutic acceptabil și compusul cu formula I.

Intr-un alt aspect prezenta invenție se referă la compusul cu formula I pentru utilizare în terapie. Intr-o variantă de realizare utilizarea în terapie este pentru tratarea unei infecții bacteriene.

Intr-un alt aspect prezenta invenție se referă la compusul cu formula I pentru utilizare în prepararea unui medicament. Intr-o variantă de realizare medicamentul este pentru tratarea unei infecții bacteriene.

Intr-un alt aspect prezenta invenție se referă la o metodă de preparare a compusului cu formula I. Intr-o variantă de realizare metoda prevede etapele de:

(a) formare a unei compoziții apoase care conține 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo [4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]-carbonil]-26-decarboxivancomicină și acid clorhidric într-un raport molar de circa 1:1 până la circa 1:2;

(b) liofilizare a compoziției apoase cu obținerea compusului cu formula I. Într-un alt aspect prezenta invenție se referă la un produs, preparat printr-o metodă descrisă aici.

Intr-un alt aspect prezenta invenție se referă la o metodă de reducere a degradării 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo [4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden] amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicinei în timpul depozitării. Intr-o variantă de realizare a prezentei invenții metoda prevede (a) formarea compusului cu formula I și (b) depozitarea compusului cu formula I la o temperatură în intervalul de la aproximativ -25°C până la aproximativ 25°C. Intr-o altă variantă de realizare compusul cu formula I este depozitat la aproximativ 2°C până la aproximativ 8°C.

Încă într-o variantă de realizare metoda prevede stocarea unei compoziții farmaceutice care conține (a) compusul cu formula I; (b) de la aproximativ 0,5 până la aproximativ 2,0 părți din greutate de zaharoză; și (c) aproximativ 0,5 până la aproximativ 2,0 părți din greutate de glicină (ca echivalent de bază liberă); în care părțile din greutate de zaharoză și glicină sunt pentru o parte din greutate de compus cu formula I (ca echivalent de bază liberă) la o temperatură cuprinsă în intervalul de la aproximativ -25°C până la aproximativ 25°C. Intr-o altă variantă de realizare compoziția farmaceutică este depozitată la aproximativ 2°C până la aproximativ 8°C.

Alte aspecte și variante de realizare ale prezentei invenții sunt descrise în prezentul document.

Invenția se explică prin desenele din fig. 1-fig. 5, care reprezintă:

fig. 1, modificarea purității (în procente) în funcție de timp (luni) pentru compoziții cu conținut de săruri mono-, di- și trihidroclorură de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridinometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină păstrate la temperatura de refrigerare.

fig. 2, modificarea purității (în procente) în funcție de timp (luni) pentru compoziții cu conținut de săruri mono-, di- și trihidroclorură de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridinometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină păstrate la temperatura camerei.

fig. 3, modificarea purității (în procente) în funcție de timp (luni) pentru compoziții cu conținut de (a) săruri mono-, di- și trihidroclorură de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridinometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină; (b) zaharoză și (c) glicină; în cazul în care compoziția a fost depozitată la temperatura camerei.

fig. 4, modificarea purității (în procente) în funcție de timp (luni) pentru compoziții cu conținut de sare monohidroclorură de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridinometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină și compoziție cu conținut de sare monohidroclorură; (b) zaharoză și (c) glicină; în cazul în care sarea monohidroclorură și compoziția au fost depozitate la temperatura camerei.

fig. 5, modificarea purității (în procente) în funcție de timp (luni) pentru sarea dihidroclorură de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridinometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]

amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină și compoziția cu conținut (a) de sare dihidroclorură; (b) zaharoză și (c) glicină; în cazul în care sarea dihidroclorură și compoziția au fost depozitate la temperatura camerei.

Prezenta invenție se referă la compuși cu formula I. Astfel de compuși reprezintă săruri de adiție acidă ale acidului clorhidric și 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridinometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină. În compuși cu formula I fiecare atom, care poate fi protonat de acidul clorhidric (cum ar fi o grupă amino sau o grupare de acid carboxilic) poate fi astfel protonat cu formarea unei sări și toate aceste forme sunt incluse în volumul prezentei invenții, dacă nu este indicat altceva.

Definiții

La descrierea prezentei invenții următorii termeni au următoarele semnificații, dacă nu este indicat altfel.

Termenul "sare farmaceutic acceptabilă" înseamnă o sare care este acceptabilă pentru administrare la un pacient sau la un mamifer, cum ar fi la un om (de exemplu, săruri cu inofensivitate acceptabilă pentru mamifere pentru un regim de dozare dat). Exemplele de săruri farmaceutic acceptabile includ săruri ale acidului acetic, ascorbic, benzensulfonic, benzoic, camforsulfonic, citric, etansulfonic, edisilic, fumaric, gentisic, gluconic, glucoronic, glutamic, hipuric, bromhidric, clorhidric, isetionic, lactic, lactobionic, maleic, malic, mandelic, metansulfonic, mucic, naftalensulfonic, naftalen-1,5-disulfonic, naftalen-2,6-disulfonic, nicotinic, azotic, orotic, pamoic, pantotenic, fosforic, succinic, sulfuric, tartric, p-toluensulfonic și xinafoic, etc.

Termenul "temperatură de refrigerare" înseamnă o temperatură de aproximativ 2°C până la aproximativ 8°C.

Termenul "temperatura camerei" înseamnă temperatura ambiantă într-un laborator de chimie, de obicei, de la aproximativ 18°C până la aproximativ 25°C.

Termenul "cantitate terapeutic eficientă" înseamnă o cantitate suficientă pentru un tratament eficient care este administrată la un pacient care are nevoie de un astfel de tratament.

Termenul "tratare" sau "tratament" înseamnă:

(a) prevenirea unei boli sau stări medicale, adică, tratamentul profilactic al unui pacient sau al unui subiect;

(b) ameliorarea intensității manifestării unei boli sau a unei stări medicale, adică, eliminarea sau regresia bolii sau stării medicale la un pacient;

(c) suprimarea unei boli sau unei stări medicale, adică, încetinirea sau stoparea dezvoltării bolii sau stării medicale la un pacient; sau

(d) atenuarea simptomelor unei boli sau unei stări medicale la un pacient.

Metode generale de sinteză

5 Compușii cu formula I sunt de obicei preparați inițial prin asigurarea sau obținerea unei compoziții apoase, care conține 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridinimetil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]

amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină și de la aproximativ 1 până la aproximativ 2 echivalenți molari de acid clorhidric. Compoziția apoasă este apoi liofilizată pentru a furniza un compus cu formula I.

10 Compoziția apoasă se prepară, de obicei, prin adăugarea unei cantități potrivite de acid clorhidric apos diluat (cum ar fi soluție apoasă 1N de acid clorhidric) la o compoziție apoasă de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridinimetil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]

15 amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină.

Pentru determinarea cantității de compus, prezent în soluția apoasă, de obicei, compoziția apoasă cu conținut de compus este analizată prin, de exemplu, CLÎP. După ce cantitatea de compus este determinată, se adaugă o cantitate corespunzătoare de acid clorhidric, astfel încât compoziția apoasă rezultată să conțină de la aproximativ 1 până la aproximativ 2 echivalenți molari de acid clorhidric per echivalent molar de compus. De obicei, acidul clorhidric se adaugă la o temperatură în intervalul de la aproximativ -10°C până la aproximativ 25°C.

În unele cazuri soluția apoasă poate să conțină deja o oarecare cantitate de acid clorhidric (de exemplu, mai puțin de 1 echivalent molar) și în asemenea cazuri cantitatea de acid clorhidric deja prezentă în soluția apoasă este luată în considerare atunci când se adaugă o cantitate suplimentară de acid clorhidric. Alternativ, în cazul în care soluția apoasă, care conține 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridinimetil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]

propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină, conține mai mult de aproximativ 2 echivalenți de acid clorhidric, soluția apoasă poate fi neutralizată cu o bază, cum ar fi un bicarbonatul unui metal alcalin, carbonatul unui metal alcalin, etc., pentru a ajusta raportul molar de acid clorhidric în compus în intervalul de la aproximativ 1 până la aproximativ 2. Cu titlu de exemplu, bicarbonatul de sodiu poate fi utilizat în calitate de bază. Baza este adăugată, de obicei, sub formă de o soluție apoasă diluată, de exemplu, cum ar fi 5% soluție apoasă de bicarbonat de sodiu. Baza este, de obicei, adăugată la soluția apoasă la o temperatură în intervalul de la aproximativ -10°C până la aproximativ 25°C.

Atunci când sunt descrise astfel de compoziții apoase este necesar de luat în considerare, că acidul clorhidric protonează compusul pentru ca compoziția apoasă să conțină sarea de adiție acidă a acidului clorhidric și a compusului. Astfel, orice referire la raportul molar al compusului la acid clorhidric va fi înțeleasă ca referindu-se la raportul molar dintre componente sub formă de săruri de adiție acidă.

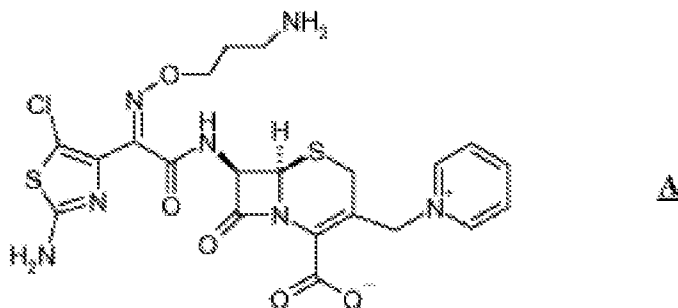
După formarea compoziției apoase, care conține compus și acid clorhidric în cantitate de la aproximativ 1 până la aproximativ 2 echivalenți molari, compoziția apoasă este, de obicei, liofilizată cu obținerea compusului cu formula I sub formă de pulbere liofilizată. Liofilizarea este, în general, realizată la o temperatură în intervalul de la aproximativ -60°C până la aproximativ -20°C sub presiune redusă în intervalul de la circa 20 torr (mm Hg) până la aproximativ 100 torr, de exemplu, aproximativ 40 torr până la 60 torr. Liofilizarea în general durează de la aproximativ 48 ore până la aproximativ 200 ore sau până la eliminarea, într-un grad semnificativ, a componentelor volatile. Liofilizarea asigură obținerea compusului cu formula I sub formă de pulbere liofilizată.

Alternativ, compusul cu formula I poate fi precipitat și separat prin filtrare sau centrifugare. De exemplu, pentru a precipita compusul cu formula I dintr-o compoziție apoasă poate fi utilizat un exces de diluant organic. Diluanții organici adecvați includ, cu titlu de exemplificare, acetonitril, metanol, etanol, acetonă, etc. În caz de necesitate precipitatul poate fi opțional spălat cu un diluant organic potrivit. De exemplu, atunci când se utilizează acetonă pentru a precipita compusul cu formula I, precipitatul rezultat opțional se spală cu acetonă și apoi se usucă. De obicei, procedura de izolare este condusă la o temperatură cuprinsă între aproximativ 0°C până la aproximativ 30°C, de obicei într-un interval de la aproximativ 5°C până la aproximativ 20°C și toate etapele de filtrare, spălare și uscare sunt realizate într-o atmosferă inertă, cum ar fi azot, argon, etc.

Metodele de preparare a 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridinimetil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]

amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicinăi sunt cunoscute în domeniu. [2, 3, 5].

În calitate de ilustrare, vancomicina sau sărurile acesteia poate fi reacționată cu compusul **A** având formula:



sau cu o sare a acestuia, în prezența unui reactiv de cuplare a peptidelor cu obținerea 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]

amino]carbonil]-26-decarboxivancomicinei sau unei sări a acesteia.

De obicei, această reacție este condusă prin contactarea vancomicinei sau unei sări a acesteia cu aproximativ 1 până la aproximativ 1.1 echivalenți molari de un reactiv de cuplare a peptidelor într-un diluant, cum ar fi DMF, DMSO sau un amestec al acestora. Această reacție este condusă de obicei la o temperatură în intervalul de la aproximativ -10°C până la aproximativ 10°C timp de aproximativ 10 minute până la aproximativ 60 minute sau până când reacția nu se finalizează. Apoi soluția de compus **A** sau de o sare a acestuia în cantitate de la circa 0,9 până la circa 1,1 echivalenți molari într-un diluant, cum ar fi DMF, DMSO sau un amestec al acestora, se adaugă la derivatul activat de vancomicină. După adăugarea compusului **A**, se adaugă o amină, cum ar fi diizopropiletilamina, în cantitate variind de la aproximativ 2 până la aproximativ 10 echivalenți molari (de exemplu, aproximativ 5 echivalenți molari). Amina se adaugă, de regulă, cu o viteză, care menținerea temperaturii de reacție în intervalul de la aproximativ -10°C până la aproximativ 5°C. Amestecul de reacție este apoi menținut de obicei la o temperatură în intervalul de la aproximativ -10°C până la aproximativ 5°C timp de aproximativ 0,5 până la aproximativ 3 ore, sau până când reacția este în esență completă.

În această reacție pot fi folosiți diferiți reagenți de cuplare a peptidelor. Exemplele reprezentative includ: hexafluorfosfat de benzotriazol-1-iloxitripirolidinofosfoniu (PyBOP) cu sau fără 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt); tetrafluorborat de 0-(6-clor-1-hidroxibenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluroniu (TCTU); tetrafluorborat de 0-(6-clorbenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluroniu (HCTU); tetrafluorborat de 0-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluroniu (TBTU); clorură de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolină (DMTMM); 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimidă (EDCI) cu HOAt; dietilcianofosfonat (DECP) și altele asemenea. Într-o realizare reactivul de cuplare a peptidei reprezintă 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolină.

După finalizarea reacției de cuplare, produsul de reacție este izolat și purificat utilizând procedee uzuale, cum ar fi precipitarea și filtrarea, cromatografia pe coloană, CLÎP și altele asemenea.

Compusul **A** este cunoscut în domeniu. De exemplu, compusul **A** poate fi preparat prin metoda descrisă în literatura de specialitate [2] (exemplul A, de la rândul 51, coloana 27, până la rândul 56, coloana 30) sau [5] (C_{ox}Synthon 18 la paginile 611-612). Metode de preparare a compusului A sunt, de asemenea, descrise în Exemple.

Vancomicina este, de asemenea, cunoscută în domeniu. De exemplu, hidrociorura de vancomicină este comercial disponibilă de la Sigma-Aldrich (St. Louis, MO 63103) și de la Haorui Pharma-Chem Inc. (Irvine, CA 92618).

După obținere 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]

propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicina, folosită în prezenta invenție, poate fi purificată folosind CLÎP cu fază inversă sau alte metode cromatografice.

De exemplu, compusul poate fi purificat folosind polimerul poli(stiren-divinilbenzen) (PS-DVB). De obicei, polimerul PS-DVB, folosit pentru purificarea compusului, reprezintă o rășină microporoasă cu structură rigidă, având o dimensiunea porilor de la circa 100 angstromi până la aproximativ 1000 angstromi și o dimensiune a particulei variind de la aproximativ 10 până la

aproximativ 50 µm. O răşină reprezentativă potrivită pentru utilizare este PLRP-S (Agilent Technologies, Santa Clara CA 95051) având o dimensiune a porilor de aproximativ 100 angstromi şi o dimensiune a particulelor de aproximativ 50 µm.

De obicei eluentul utilizat pentru purificare conţine o soluţie apoasă de acid conţinând diferite cantităţi de solvent organic polar. Solvenţii organici polari reprezentativi includ acetonitril, etanol, izopropanol, metanol şi alţii asemenea.

Acizii potriviţi includ acid acetic, acid trifluoracetic, acid clorhidric şi alţii asemenea. Eluentul poate conţine, de asemenea, un tampon, cum ar fi un tampon acetat sau un tampon fosfat. Într-o realizare, eluentul conţine o soluţie tampon de acetat apos (100 mM) conţinând acetonitril în cantităţi variind de la circa 2% v/v până la circa 13% v/v.

În funcţie de metoda de purificare folosită schimbul de sare poate fi realizat după purificare cu obţinerea sării de hidrociorură a compusului. De exemplu, în cazul în care acidul folosit în cadrul metodei de purificare este un alt acid, decât acidul clorhidric (adică, acidul acetic sau acidul trifluoracetic), schimbul de sare este efectuat de obicei cu formare sării acidului clorhidric.

Schimbul de sare se efectuează cu utilizarea polimerului PS-DVB, cum este descris în prezentul document. Sarea de compus este de obicei încărcată pe polimerul PS-DVB şi apoi răşina este eluată cu o soluţie apoasă de acid clorhidric conţinând diferite cantităţi de solvent organic polar. Solvenţii organici polari reprezentativi includ acetonitril, etanol, izopropanol, metanol şi alţii asemenea. În general, cantitatea de solvent organic polar folosită va varia de la aproximativ 10% v/v până la circa 80% v/v; inclusiv de la circa 10% v/v până la circa 50% v/v; de exemplu, de la aproximativ 10% v/v până la circa 20% v/v. Într-o variantă de realizare eluentul utilizat pentru schimbul de sare conţine circa 10 mM de acid clorhidric apos, care conţine circa 20% v/v acetonitril.

Compoziţii farmaceutice

Compuşii cu formula I sunt de obicei administraţi la un pacient sub forma unei compoziţii farmaceutice. Astfel de compoziţii farmaceutice pot conţine orice purtător sau excipient acceptabil. Alegerea unui anumit purtător, sau combinaţii de purtători, va depinde de mulţi factori, cum ar fi modul de administrare, compatibilitatea componentelor, stabilitatea compoziţiei şi altele asemenea.

Tehnicile uzuale de preparare a compoziţiilor farmaceutice sunt cunoscute în domeniu şi sunt descrise, de exemplu, în REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY (REMINGTON: THE SCIENCE & PRACTICE OF PHARMACY), Pharmaceutical Press, Philadelphia, PA; 21st Ed. (October 7, 2011). În plus, ingredientele obişnuite, necesare pentru astfel de compoziţii, sunt comercial accesibile de la, de exemplu, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO 63178, şi alţi furnizori comerciali.

Compoziţia farmaceutică este de obicei preparată prin amestecarea minuţioasă şi uniformă sau amestecarea unui compus cu formula I cu un purtător farmaceutic acceptabil şi orice ingrediente suplimentare.

Într-o variantă de realizare compoziţia farmaceutică este potrivită pentru administrare parenterală, în special, pentru administrare intravenoasă. Astfel de compoziţii farmaceutice conţin de obicei o soluţie apoasă sterilă fiziologic acceptabilă de un purtător, care conţine compusul cu formula I. Într-o variantă de realizare compoziţia este lipsită de pirogeni. Opţional, soluţia de purtător poate conţine alte componente, cum ar fi zaharuri, aminoacizi, electroliţi şi alţii asemenea.

Purtătorii apoşi reprezentativi fiziologic acceptabili includ, cu titlu de exemplu, apă sterilă pentru injecţii (USP, farmacopeea SUA); soluţie de dextroză pentru injecţii, USP (de exemplu, 2.5, 5.0, 10, 20% soluţie de dextroză, inclusiv 5% soluţie de dextroză pentru injecţii (D5/W)); soluţie de dextroză şi clorură de sodiu pentru injecţii, USP (de exemplu, dextroză variind de la 2.5 până la 10% şi clorură de sodiu, variind de la 0.12 (19 mgEchiv de sodiu) până la 0.9% (154 mgEchiv de sodiu)); soluţie de manitol pentru injecţii, USP, (de exemplu, 5, 10, 15, 20 şi 25% manitol); soluţie Ringer pentru injecţii, USP (de exemplu, 147 mgEchiv de sodiu, 4 mgEchiv de potasiu, 4,5 mgEchiv de calciu şi 156 mgEchiv de clorură per litru); soluţie Ringer cu lactate pentru injecţii, USP (de exemplu, 2,7 mgEchiv de calciu, 4 mgEchiv de potasiu, 130 mgEchiv de sodiu şi 28 mgEchiv de lactat per litru); clorură de sodiu pentru injecţii, USP (de exemplu, 0.9% clorură de sodiu) şi altele asemenea.

La administrare la un pacient, compusul cu formula I va fi, de obicei, diluat în aproximativ 0,5 ml până la aproximativ 10 ml de purtător apos pentru mg de compus cu formula I, de exemplu, de la aproximativ 0,6 până la aproximativ 8 ml per mg.

Alternativ, compoziţia farmaceutică poate fi într-o formă solidă, potrivită pentru reconstituire şi administrare parenterală ulterioară. Astfel de compoziţii de obicei sunt sub forma unei

compoziții sterile liofilizate, care se reconstituie înainte de utilizare cu un vehicul apos steril, fiziologic acceptabil. În această variantă de realizare compoziția farmaceutică conține de obicei compusul cu formula I și un purtător farmaceutic acceptabil. Purtătorii reprezentativi pentru utilizare în astfel de compoziții farmaceutice includ, cu titlu de exemplu, zaharoză, manitol, dextroză, dextran, lactoză, glicină sau combinații ale acestora.

Intr-o variantă de realizare compoziția farmaceutică conține (a) compusul cu formula I, (b) zaharoză și (c) glicină sau o sare farmaceutic acceptabilă a acestuia. Astfel de compoziții conțin în mod obișnuit aproximativ 0,5 până la aproximativ 2,0 părți din greutate, inclusiv aproximativ 1,0 părți din greutate de zaharoză pentru parte din greutate de compus cu formula I (ca echivalent de bază liberă) și circa 0,5 până la circa 2,0 părți din greutate, inclusiv circa 1.5 părți din greutate de glicină (ca echivalent de bază liberă) pentru parte din greutate de compus cu formula I (ca echivalent de bază liberă). Intr-o variantă de realizare compoziția farmaceutică conține aproximativ 1,0 părți din greutate de zaharoză și aproximativ 1.5 părți din greutate de glicină (ca echivalent de bază liberă) pentru parte din greutate de compus cu formula I (ca echivalent de bază liberă). De exemplu, astfel de compoziții farmaceutice pot conține de la circa 0,5 mg până la circa 2,0 mg de zaharoză și aproximativ 1,0 mg până la aproximativ 2.0 mg de glicină (ca echivalent de bază liberă) pentru miligram de compus cu formula I (ca echivalent de bază liberă), de exemplu, aproximativ 1,0 mg de zaharoză și aproximativ 1.5 mg de glicină (ca echivalent de bază liberă) pentru miligram de compus cu formula I (ca echivalent de bază liberă).

Intr-o altă variantă de realizare compoziția farmaceutică conține (a) de la aproximativ 10 mas% până la aproximativ 60 mas% de compus cu formula I (echivalent în bază pură); (b) de la aproximativ 10 mas% până la aproximativ 60 mas% de zaharoză și (c) de la aproximativ 10 mas% până la aproximativ 80 mas% de glicină (echivalent în bază pură). De exemplu, această variantă de realizare include o compoziție farmaceutică cuprinzând (a) de la aproximativ 20 mas% până la 50 mas% de compus cu formula I (echivalent în bază pură); (b) de la aproximativ 20 mas% până la 50 mas% de zaharoză și (c) de la aproximativ 20 mas% până la aproximativ 70 mas% de glicină (echivalent în bază pură); cum ar fi o compoziție farmaceutică care conține (a) de la aproximativ 25 mas% până la 35 mas% de compus cu formula I (echivalent în bază pură); (b) de la aproximativ 25 mas% până la 35 mas% de zaharoză și (c) de la aproximativ 30 mas% până la aproximativ 50 mas% de glicină (echivalent în bază pură) raportate la greutatea totală a compoziției.

Intr-o variantă de realizare compoziția farmaceutică reprezintă o pulbere liofilizată.

De obicei, pulberea liofilizată este sterilă și este ambalată într-un flacon sau fiolă ermetic închise sau într-un recipient similar.

Stabilitatea la depozitare

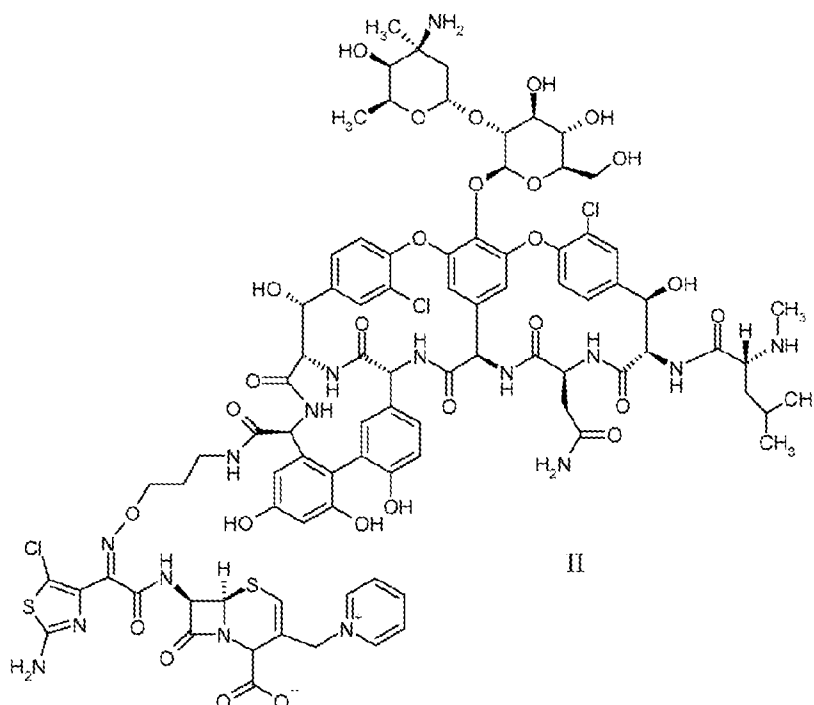
S-a constatat, că compușii cu formula I au o stabilitate semnificativ mai îmbunătățită la depozitare, comparativ cu sarea de trihidroclorură respectivă. În plus, s-a constatat că stabilitatea la depozitare a compușilor cu formula I este suplimentar îmbunătățită în compozițiile, care conțin zaharoză și glicină.

Sarea trihidroclorură de 26-[[[3-[[[*Z*]-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[6*R*, 7*R*]-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]

amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină este cunoscută în domeniu, J. Diana et al, Journal of Chromatography A, 996: 115-131 (2003), (coloana 35, liniile 16-20). Cu toate acestea, s-a constatat, că în timpul depozitării puritatea sării de trihidroclorură se reduce semnificativ. De exemplu, s-a determinat, că la păstrare la temperatura camerei timp de 12 luni puritatea sării de trihidroclorură se reduce cu peste 30% (fig. 2).

O astfel de degradare prezintă interes, deoarece produsele de degradare se pot deosebi prin activitatea lor biologică sau efectul terapeutic, comparativ cu molecula inițială, J. Diana et al, Journal of Chromatography A, 996: 115-131 (2003).

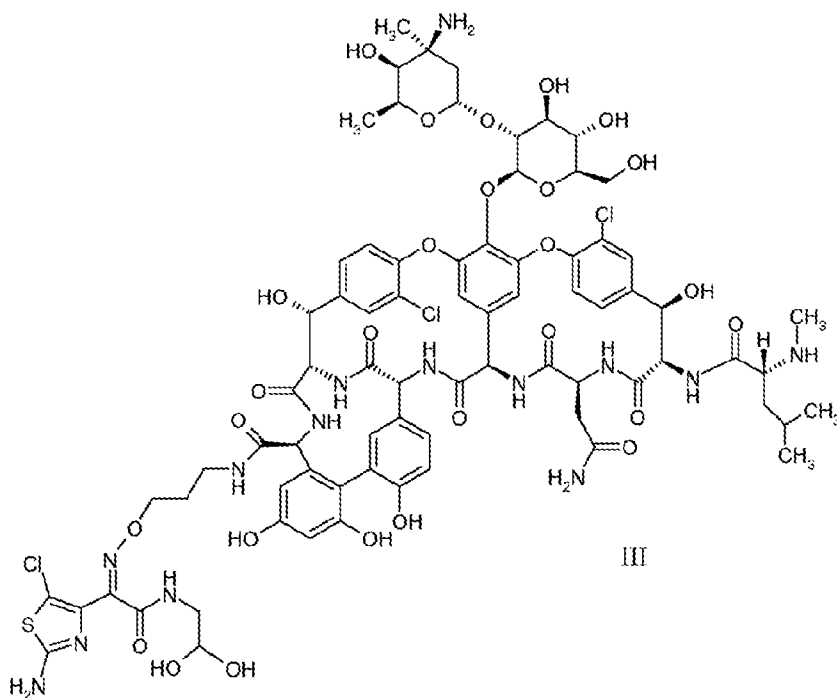
Unul dintre produsele de degradare ale sării de trihidroclorură se presupune a fi compusul cu formula II:



5 sau o sare a acestuia. Acest compus este menționat ca degradant B. Compusul cu formula II este un izomer cu legătură dublă, în care legătura dublă în inelul A al fragmentului de cefalosporină este izomerizată din poziția δ^3 în poziția δ^2 . Izomerii δ^2 ai acizilor cefalosporinici, după cum se comunică, sunt inactivi, Crocker et al, J. Chem. Soc. (C), 1 142 (1966); and Saab et al, J. Pharm. Sci., 77(10), 906 (1988).

Astfel, este important de a reduce la minimum formarea de izomer δ^2 în timpul depozitării compusului.

Un alt degradant este considerat a fi un produs de hidroliză cu formula III:



sau o sare a acestuia. Compusul cu formula III este menționat ca degradant A.

În prezent s-a constatat, că compușii cu formula I sunt mult mai stabili, comparativ cu sarea de trihidroclorură la depozitare la temperatura camerei sau la temperatura de refrigerare timp de 12 luni. (de exemplu, fig. 1 și 2).

În plus, compușii cu formula I sunt mai stabili la temperatura camerei, când ei sunt formulați cu zaharoză și glicină. (de exemplu, fig. 3, 4 și 5).

Intr-o variantă de realizare modificarea (sau reducerea) purității compusului cu formula I în compoziția farmaceutică constituie mai puțin de aproximativ 10%, măsurată prin cromatografie de lichide de înaltă performanță ("CLÎP"), după depozitare timp de 12 luni la o temperatură în intervalul de la aproximativ 18°C până la aproximativ 25°C (temperatura camerei).

Intr-o altă variantă de realizare regiunea sub curbă (AUC) pentru compusul cu formula I se micșorează mai puțin de aproximativ 10%, determinată prin cromatografie de lichide de înaltă performanță ("CLÎP") după depozitarea compoziției farmaceutice pentru 12 luni la o temperatură în intervalul de la aproximativ 18°C până la aproximativ 25°C (temperatura camerei).

Intr-o variantă concretă de realizare prezenta invenție se referă la o compoziție farmaceutică, care conține:

(a) un compus cu formula I;

(b) aproximativ 1,0 părți din greutate de zaharoză; și

(c) aproximativ 1,5 părți din greutate de glicină (ca echivalent de bază liberă);

în care părțile din greutate de zaharoză și glicină se calculează în raport cu partea din greutate de compus cu formula I (ca echivalent bază liberă); și în care modificarea purității compusului cu formula I în compoziția farmaceutică constituie mai puțin de aproximativ 10%, măsurată prin cromatografie de lichide de înaltă performanță după depozitare timp de 12 luni la o temperatură în intervalul de la aproximativ 18°C până la aproximativ 25°C.

Utilitatea invenției

26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R,7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]

amino]carbonil]-26-decarboxivancomicina și sărurile acestora se utilizează în calitate de antibiotice sau agenți bactericizi împotriva bacteriilor Gram-pozitive, inclusiv a organismelor multirezistente, cum ar fi *S. aureus* rezistent la metilicilină (MRSA) și *S. aureus* cu sensibilitate intermediară la vancomicină (VISA). [6, 7, 8, 9].

Concentrația minimă inhibitorie (CMI) a compușilor cu formula I împotriva diferitor bacterii și tulpini bacteriene poate fi determinată folosind procedee standard, cum ar fi cele publicate în Clinical and Laboratories Standards Institute (CLSI) (Wayne, PA 19087). De exemplu, CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Ninth Edition. CLSI Document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratories Standards Institute; 2012.

Compușii cu formula I, de obicei, sunt administrați într-o cantitate terapeutic eficientă prin orice cale acceptabilă de administrare. De obicei, compușii sunt administrați parenteral, de exemplu, intravenos. Compușii pot fi administrați într-o doză zilnică unică sau în doze multiple pe zi. Regimul de tratament poate necesita administrarea pe perioade extinse de timp, de exemplu, pentru câteva zile sau pentru una până la șase săptămâni sau mai mult. Cantitatea de compus administrată per doză sau cantitatea totală administrată va fi determinată, de regulă, de către medicul curant al pacienților și va depinde de așa factori, cum ar fi etiologia și severitatea infecției, vârsta și starea generală de sănătate a pacientului, toleranța pacientului a compusului, microorganismul (microorganismele) care cauzează infecția, calea de administrare și altele asemenea.

Dozele reprezentative variază de la aproximativ 0,25 până la aproximativ 2,5 mg/kg/zi de compus cu formula I (echivalent în bază pură), inclusiv de la aproximativ 1 până la aproximativ 2 mg/kg/zi. Intr-o variantă de realizare compusul cu formula I este administrat în doză de aproximativ 2 mg/kg/zi (echivalent în bază pură). Un regim de tratament reprezentativ constă în administrarea compusului cu formula I o dată pe zi în doză de aproximativ 2 mg/kg/zi (echivalent în bază pură) pentru o perioadă de aproximativ 7 până la aproximativ 14 zile.

Când se administrează într-un purtător apos fiziologic acceptabil, compusul cu formula I este, de obicei, administrat pacientului intravenos timp de aproximativ 0,5 ore până la aproximativ 2 ore, de exemplu, timp de aproximativ 1 oră.

Infecțiile sau stările medicale reprezentative, cauzate de bacteria, care pot fi tratate sau prevenite cu un compus cu formula I includ, cu titlu de exemplu, infecțiile cauzate de bacterii Gram-pozitive, inclusiv infecțiile pielii și structurilor subcutanate, pneumonia, endocardita, meningita, septicemia, infecțiile tractului urinar, infecțiile fluxului sanguin, osteomieliita și altele

asemenea. Când se tratează astfel de stări, pacientul poate fi deja infectat cu microorganismul, care urmează să fie tratat, sau pot fi susceptibili la infecție, și în acest caz antibioticul se administrează profilactic.

EXAMPLE

- 5 Următoarele exemple sunt prezentate pentru a ilustra diferite variante reprezentative de realizare și aspecte ale acestei invenții și nu intenționează să limiteze volumul prezentei invenții în nici un mod, dacă nu se indică în mod specific.

- 10 Hidroclorura de vancomicină a fost achiziționată de la firma Haorui Pharma-Chem Inc., Irvine, California, Statele Unite ale Americii. Clorura de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolină (DMTMM) a fost achiziționată de la firma Ubichem Pic, Hampshire, Marea Britanie. Clorura de 1-[[[(6R, 7R)-7-amino-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo [4,2,0] oct-2-en-3-il] metil]piridiniu monoclorhidrat (7-PYCA) a fost achiziționată de la Zhejiang Hengdian Apelo Imp. & Exp. Co, Ltd., Zhejiang, China și Aurisco Pharmaceuticals Limited, Shanghai, China; sau el poate fi preparat prin metoda, de exemplu, descrisă în literatura de specialitate, US 425841 A
- 15 1981.03.24, sau prin alte metode publicate. Toți ceilalți reagenți, materii prime și solvenți, utilizați în exemplele care urmează, au fost achiziționați de la furnizori comerciali (cum ar fi Sigma-Aldrich Chemical Company, St. Louis, MO) și au fost utilizați fără purificare suplimentară, dacă nu este indicat altceva.

- 20 Sunt folosite următoarele abrevieri: DMF = N,N-dimetilformamidă; DMSO = dimetil sulfoxid; h = oră și min = minute.

Exemplul 1

- Metoda CLÎP pentru determinarea purității probelor de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R,7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină
- 25 Probele de testare au fost analizate pentru conținutul de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R,7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină și de produse de degradare a acesteia, folosind un sistem CLÎP cu detector cu matrice de fotodiodă (CLIP sistemul Agilent 1 100 sau 1200; Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA 95051),
- 30 controlat cu software pentru prelucrarea datelor cromatografiei (Empower Software, Waters Corporation, Milford, MA 01757). Toți solvenții aveau puritatea corespunzătoare pentru CLÎP și au fost achiziționați de la Honeywell Burdick & Jackson (Muskegon, MI 49442). Acidul fosforic (85% mas/mas) și dihidrofosfatul de sodiu aveau puritatea corespunzătoare pentru CLÎP și au fost achiziționate de la Fluka (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO 63103). Toți reactivii au fost utilizați fără
- 35 purificare suplimentară.

Înainte de analiză probele de testare au fost filtrate printr-un filtru de fluorură de poliviniliden (PVDF) cu diametrul porilor de 0.2 μm, iar primul 1 ml era aruncat. Condițiile de analiză CLÎP sunt prezentate în Tabelul A.

Tabelul A

Condițiile de analiză CLÎP

Coloană	Colană Halo C18 de la Advanced Materials Technology. 2,7 μm, 4,6×150 mm		
Temperatura autodozatorului	5,0°C		
Temperatura coloanei	30,0°C		
Lungimea de undă	214 nm		
Faza mobilă A	2:98 acetonitril:apă w/65 mM tampon fosfat pH=2,0		
Faza mobilă B	60:40 acetonitril:apă w/65 mM tampon fosfat pH=2,0		
Solventul probei	2:98 acetonitril:apă w/65 mM tampon fosfat pH=3,2		
Concentrația probei	0,25 mg/ml		
Volumul injectat	7 μl		
Rata fluxului	1,00 ml/min		
Gradientul	Timpul (min)	Faza mobilă A	Faza mobilă B
	0	92,0% v/v	8,0% v/v
	93,0	70,0	30,0
	98,0	45,0	55,0
	98,1	5,0	95,0
	100,1	5,0	95,0
	100,2	92,0	8,0
	105,0	92 0	8,0

Timpul de retenție pentru anumite componente ale eșantionului sunt prezentate în tabelul B.

Tabelul B

Timpul de retenție CLÎP

Compusul	Timpul de retenție (min)
Degradantul A	23,4
Degradantul B	24,5
26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R,7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină	27,2

Puritatea probei testate a fost determinată pe baza zonei sumare a vârfului (suprafața sub curbă sau ASC) pentru compus în procente de la suma tuturor vârfurilor. Concentrația (valoarea test)

5 compusului într-o probă testată a fost determinată prin comparație cu un standard de referință.

Exemplul 2

Metoda CG de determinare a solventului rezidual

10 Cantitățile reziduale de solvenți în probele de testare de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R,7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină au fost determinate utilizând un sistem de cromatografie de gaz (Agilent GC 6890, Agilent Technologies, Santa Clara CA 9505), echipat cu un dozator de vapor în echilibru (Agilent 7694 Headspace Sampler). S-a utilizat o coloană pentru CG DB-624 GC (30 m lungime x 0,53 mm DI x 3 μm) (Agilent, Part No. 125-1334).

15 Soluția standard intern a fost preparată prin adăugarea 1-butanolului (4 ml) într-un balon gradat de 1 l. S-a adăugat DMSO (800 ml) și amestecul a fost amestecat minuțios și apoi s-a adăugat o cantitate suplimentară de DMSO pentru obținere un volum total de 1 l.

20 Fiecare probă de testare (50 mg) a fost transferată într-un flacon de 20 ml pentru analiza fazei gazoase și s-a adăugat soluția etalon intern (1 ml), amestecul rezultat a fost agitat viguros până s-a dizolvat proba.

25 Standardele de referință au fost preparate având o concentrație de 2 mg/ml în soluție de etalon intern din solvenți comercial disponibili de puritate cunoscută. Toți solvenții standardului de referință au fost combinați în mod tipic într-o singură soluție standard de referință, care a fost preparată în trei exemplare. Pentru fiecare replicat de standard de referință s-a adăugat 1 ml de soluție din flaconul de 20 ml flacon pentru analiza în faza gazoasă și s-a etanșat prin ambutisare.

Condițiile de analiză CG sunt prezentate în tabelul C.

Tabelul C

Condițiile de realizare a cromatografiei de gaze (CG)

Gazul-purtător	Helium în regim de flux constant cu 2,60 ml/min		
Termostatul CG	Vremea stabilirii echilibrului = 1 min Durata totală a analizei = 29,7 min		
Modificarea temperaturii termostatului	Rata modificării temperaturii (°C/min)	Temperatura finală (°C)	Durata analizei (min)
inițială	-	30	0
Modificarea temperaturii 1	2	60	15
Modificarea temperaturii 2	10	140	23
Modificarea temperaturii 3	1	143	26
Modificarea temperaturii 4	10	160	29,7
Ieșire	200°C; 10:1 coeficientul de separare		
Dozator al gazului de echilibru	Temperatura în termostatul de fază gazoasă = 85°C Temperatura în ansă = 100°C Linia de transfer = 110°C Timpul de instalare a echilibrului în flacon = 10 min, la o agitare intensă Presiunea în flacon = 11 psi (He) Ansa de probe cu volum de 1 ml		

Detector	FID, 300°C Fluxul de hidrogen – 30 ml/min Fluxul de aer = 400 ml/min Gazul-compensator azot la 30 ml/min
----------	---

Timpul de retenție CG pentru solvenți tipici în raport cu standardul intern 1-butanol este prezentat în tabelul D. 1-butanol în mod tipic eluează la aproximativ 19.0 min.

Tabelul D

Timpul relativ de retenție CG, comparativ cu 1-butanol	
Solvent	Timpul relative de retenție
acetonă	0,45
acetonitril	0,50
1-butanol	1,00
dimetilsulfoxid	1,38
eter metil-terț-butilic	0,57

- 5 Cantitatea de solvent rezidual într-o probă de testare a fost determinată prin compararea ariilor vârfurilor din eșantion cu cele ale standardelor de referință.

Exemplul 3

Prepararea terț-butil 3-brompropilcarbamatului

- 10 La o soluție de hidroxid de sodiu (105 g, 2.625 mol) în apă (1,15 l), menținută la o temperatură la sau puțin sub 10°C, s-a adăugat o soluție de di-terț-butildicarbonat (229 g, 1,05 mol) în heptan (1.03 l). Balonul, care conține soluția de di-terț-butildicarbonat a fost clătit cu heptan (125 ml) și soluția de clătire s-a adăugat la amestecul de reacție. Amestecul rezultat a fost răcit la o temperatură la sau puțin sub 10°C și s-a adăugat o soluție de bromhidrat de 3-brompropilamină (251 g, 1,15 mol) în apă (250 ml) în picături la o rată care a permis să fie menținută temperatura de reacție internă sub aproximativ 20°C. Balonul, care conține soluția de bromhidrat de 3-brompropilamină a fost clătit cu apă (20 ml) și soluția de clătire s-a adăugat la amestecul de reacție. După finalizarea adității, amestecul de reacție a fost lăsat să se încălzească lent până la temperatura camerei (aproximativ 22°C), conținând agitare timp de aproximativ 2 ore la temperatura camerei. Agitarea a fost întreruptă și amestecul a fost lăsat să stea timp de 30 min. Stratul apos inferior a fost separat de stratul organic și îndepărtat. La stratul organic s-a adăugat o soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (250 ml) și amestecul rezultat a fost agitat timp de 5 min. Amestecul a fost lăsat să stea timp de 30 min și stratul apos inferior s-a separat și îndepărtat. Stratul organic a fost concentrat până la un volum de aproximativ 350 ml și această soluție concentrată s-a răcit la 5°C și s-a agitat timp de 4 ore la 5°C. Precipitatul rezultat a fost colectat prin filtrare sub vid cu obținerea compusului din titlu sub forma unei substanțe solide cristaline albe (211 g, randamentul 84%). Filtratul a fost concentrat și soluția concentrată a fost răcită la 5°C și agitată timp de 4 ore la 5°C. Precipitatul rezultat suplimentar a fost colectat prin filtrare sub vid, s-a obținut o cantitate suplimentară de compus din titlu (17 g, randamentul 6,8%).

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 3.50 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 3,03 (q, J = 6,8 Hz, 2H), 1,91 (m, J = 6,8 Hz, 2H), 1,38 (s, 9H).

- 30 Exemplul 4

Prepararea etil (2Z)-2-(2-aminotiazol-4-il) -2- (3-N-terț-butoxicarbonilaminopropoxi imino)acetatului

- 35 La un amestec de etil 2-amino-α- (hidroxiimino) -4-tiazolacetat (139.9 g, 650 mmol), terț-butil 3-brompropilcarbammat (209.0 g, 877.5 mmol) și carbonat de potasiu în pulbere (157,2 g, 1137.5 mmol) s-a adăugat DMF (550 ml) și apă (24,4 ml). Amestecul rezultat a fost agitat la 30°C timp de aproximativ 11 ore. Amestecul de reacție a fost răcit până la temperatura camerei și s-a adăugat acetat de etil (2.3 l) și apă (1.7 l) și amestecul rezultat a fost agitat timp de 5 min. Amestecul a fost lăsat să stea timp de 60 min și stratul inferior (stratul apos) a fost separat și îndepărtat. S-a adăugat o soluție de bicarbonat de sodiu apos (10 mas%, 600 ml) și amestecul rezultat a fost agitat timp de 5 min. Amestecul a fost lăsat să stea timp de 60 min și stratul inferior (stratul apos) a fost separat și îndepărtat. S-a adăugat o soluție de clorură de sodiu apoasă (10 mas%, 600 ml) și amestecul rezultat a fost agitat timp de 5 min. Amestecul a fost lăsat să stea timp de 60 min și stratul inferior (stratul apos) a fost separat și îndepărtat. Stratul organic a fost concentrate până la un volum de aproximativ 600 ml. La concentrat s-au adăugat prin picurare hexani (250 ml) cu o agitare ușoară la 0°C timp de 1 h cu formarea unui precipitat. Precipitatul a fost colectat prin filtrare sub vid, s-a

obținut compusul din titlu (232 g, randamentul 96%) sub forma unei substanțe solide cristaline de culoare aproape albă.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,25 (s, 2H), 6,89 (s, 1H), 6,82 (brs, 1H), 4,26 (q, J = 8 Hz, 2H), 4,08 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,97 (q, J = 6,4 Hz, 2H), 1,72 (m, J = 6,4 Hz, 2H), 1,37 (s, 9H), 1,26 (t, J = 8 Hz, 3H).

Dacă se dorește, produsul poate fi recristalizat. Materialul brut din câteva șarje (1,0 kg, puritate 91,2%) s-a dizolvat în acetat de etil (2 l) la 60°C și s-a adăugat lent heptan (1l). Soluția rezultată s-a încălzit la 60°C timp de 1 h, cu agitare, timp în care se formează un precipitat. Amestecul a fost apoi lăsat să se răcească lent până la temperatura camerei. Precipitatul a fost colectat prin filtrare sub vid sub azot uscat, s-a spălat cu un amestec de heptan și acetat de etil (1l, 3: 1) și uscat sub vid peste noapte pentru a se obține compusul din titlu (770 g, puritate 98.3%).

Exemplul 5

Prepararea acidului (2Z)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(3-N-terț-butoxicarbonilamino propoxiimino) acetic

La o soluție de etil (2Z)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(3-N-terț-butoxicarbonilamino propoxiimino) acetat (232.0 g, 622.9 mmol) în etanol absolut (1,63 l) s-a adăugat prin picurare o soluție de hidroxid de sodiu (29.9 g, 747.4 mmol) în apă (748 ml). Amestecul rezultat a fost încălzit la 35°C timp de aproximativ 8 ore. Amestecul a fost apoi răcit până la circa -5°C și s-a adăugat prin picurare acid trifluoracetic (circa 10 ml) până când pH amestecului a devenit de aproximativ 6.0. Amestecul a fost apoi concentrat sub vid pentru a îndepărta majoritatea componentelor volatile și s-a adăugat etanol absolut (500 ml). Amestecul rezultat a fost concentrat din nou pentru a îndepărta apa cu ajutorul unui amestec azeotrop. Această procedură a fost repetată din nou prin adăugarea etanolului absolut (500 ml), urmată de concentrare pentru a obține compusul din titlu, care a fost utilizat în reacția următoare fără nici o izolare sau purificare ulterioară.

Exemplul 6

Prepararea sării de trietilamină a acidului (2Z)-2-(2-amino-5-clortiazol-4-il)-2-(3-N-terț-butoxicarbonilaminopropoxiimino) acetic

La un amestec de acid (2Z)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(3-N-terț-butoxicarbonilaminopropoxiimino) acetic (aproximativ 213 g, 627 mmol) în metanol (200 ml) s-a adăugat acetat de etil (2.0 l) cu formarea unei suspensii. S-a adăugat N-clorsuccinimidă (108.0 g, 815 mmol) și amestecul rezultat a fost agitat la temperatura camerei timp de 3 h. S-a adăugat Apă (2.5 l), clorură de sodiu (514 g) și acid trifluoracetic (93 ml, 1,254 mmol) și amestecul rezultat a fost agitat timp de 15 min. Amestecul a fost lăsat să stea timp de 1 oră și apoi stratul apos inferior s-a separat și s-a îndepărtat. Stratul organic a fost concentrat sub vid până la un volum de aproximativ 500 ml. S-a adăugat acetonitril (1.0 L) și amestecul a fost concentrat sub vid. Această procedură a fost repetată prin adăugarea acetonitrilului (1.0 L) și concentrarea amestecului sub vid până la un volum de aproximativ 600 ml. Amestecul a fost apoi filtrat printr-un strat de diatomit (Celite). S-a adăugat trietilamină (350 ml, 2,508 mmol) și amestecul a fost răcit la 0 ° C, moment în care s-a format un precipitat. Precipitatul a fost colectat prin filtrare în vid, clătit cu acetonitril (165 ml) și s-a uscat la temperatura camerei sub vacuum, s-a obținut compusul din titlu (224 g, randamentul 79%) sub formă de substanță solid cristalină de culoare brun deschis.

¹H RMN (400 MHz, MeOH-*d*₆) δ 4.15 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 3,18 (m, 8H), 1,86 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,30 (t, J = 7,9Hz, 9H).

Exemplul 7

Prepararea hidroclorurii de 1-[[[(6R, 7R)-7-[[[(2Z)-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)](3-N-terț-butoxicarbonilaminopropoxi)imino]acetil]amino]-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-yl]metil]piridiniu

La un amestec de sare de trietilamină a acidului (2Z)-2-(2-amino-5-clortiazol-4-il)-2-(3-N-terț-butoxicarbonilaminopropoxiimino) acetic (44.88 g, 93.5 mmol) în dimetilacetamidă (300 ml) la 20°C s-a adăugat ditiobis (benzotiazol) (32.7 g, 98.2 mmol). S-a adăugat trifenilfosfină (25,8 g, 98,2 mmol) (efect exoterm ușor) și amestecul rezultat a fost agitat timp de 30 minute la temperatura camerei, timp în care amestecul de reacție s-a transformat într-o soluție transparentă de culoare roșie-brună. Amestecul de reacție a fost răcit la 0°C și s-a adăugat diizopropiletilamină (14,8 ml, 85 mmol). Amestecul rezultat a fost agitat timp de aproximativ 5 minute și apoi s-a adăugat clorură de 1-[[[(6R, 7R)-7-amino-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo [4,2,0] oct-2-en-3-yl] metil] piridiniu monoclorhidrat (7-pycA) (34.00 g, 85.0 mmol). Amestecul rezultat a fost agitat la 0°C timp de 16 h și apoi s-a adăugat lent o soluție de acid clorhidric în 1,4-dioxan (4,0 M, 44,6 ml, 178,5 mmol), menținând temperatura internă a amestecului de reacție de la aproximativ 0°C până

la aproximativ 5°C. Amestecul rezultat a fost agitat timp de aproximativ 20 min și apoi s-a filtrat prin hartie de filtru. Apoi la acetatul de etil (2.5 l) a fost adăugat lent filtratul timp de 30 min la temperatura camerei cu formarea unui precipitat. Suspensia rezultată a fost agitată timp de aproximativ 1 h la temperatura camerei și apoi precipitatul a fost colectat prin filtrare sub atmosferă de azot uscat. Precipitatul umed de pe filtru a fost spălat cu acetat de etil (1 x 300 ml) și eter metil terț-butilic (1 x 300 ml), apoi s-a uscat sub un curent de azot uscat timp de aproximativ 25 min. Materialul a fost apoi uscat într-un cuptor cu vid timp de 4 ore la temperatura camerei, s-a obținut compusul din titlu (56,6 g, puritatea aproximativ 85%).

Exemplul 8

10 Prepararea dihidroclorurii de 1-[[[(6R, 7R)-7-[[[(2Z)-(2-amino-5-clor-4-tiazolil) [(3-aminopropoxi) imino] acetil] amino] -2 carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4,2,0]oct-2-en-3-1] metil] piridiniu

La metanol (187.5 ml, 4751.9 mmol) la -10°C s-a adăugat clorură de acetil (138,8 ml, 1952.1 mmol) prin picurare cu viteză suficientă pentru a menține temperatura internă la sau sub 15°C. După adăugare, amestecul de reacție s-a încălzit până la temperatura camerei și s-a agitat timp de 1 h. Amestecul de reacție s-a adăugat apoi prin picurare la un amestec de hidroclorură de 1-[[[(6R, 7R)-7-[[[(2Z)-(2-amino-5-clor-4-tiazolil) [(3-N-terț-butixicarbonil aminopropoxi)imino]acetil]amino]-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4,2,0]oct-2-en-3-1] metil] piridiniu (50.0 g, 65.1 mmol) în metanol (187.5 ml) răcit până la -10°C. Adăugarea a fost efectuată o viteză suficientă pentru a menține temperatura internă a amestecului de reacție la sau sub 0°C. Amestecul rezultat a fost agitat la 0°C timp de aproximativ 6 ore și apoi s-a adăugat prin picurare la acetonă (1.50 l). Amestecul rezultat a fost agitat la temperatura camerei timp de 1 h și apoi precipitatul a fost colectat prin filtrare sub atmosferă de azot uscat. Turta umedă a fost spălată cu un amestec de 1:1 v/v de alcool izopropilic și acetat de izopropil (1 x 600 ml) și apoi cu eter metil terț-butilic (1 x 600 ml). Materialul a fost apoi uscat într-o cuptor cu vid (cu un curent de azot) la temperatura camerei timp de aproximativ 4 ore cu obținerea compusului din titlu (33.34 g, puritate aproximativ 93.1%). O a doua parte de compusul din titlu a fost izolată din filtrat în mod similar (2.6 g, puritate aproximativ 90.6%).

Exemplul 9

30 Prepararea trihidroclorurii de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R,7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden] amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină

La o soluție agitată de hidroclorură de vancomicină (56.56 g, 38.07 mmol) într-un amestec de DMSO (280.0 ml) și DMF (218.4 ml) la 0°C s-a adăugat o suspensie de clorură de 4- (4,6-dimetoxi-1, 3,5-triazin-2-il) -4-metilmorfolină (12.04 g, 43.51 mmol) în DMSO (30.80 ml) și DMF (30.80 ml). Amestecul rezultat a fost agitat la 0 ° C timp de aproximativ 20 minute și apoi s-a adăugat un amestec de dihidroclorură de 1-[[[(6R, 7R)-7-[[[(2Z)-(2-amino-5-clor-4-tiazolil) [(3-aminopropoxi) imino] acetil] amino] -2 carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4,2,0]oct-2-en-3-1] metil] piridiniu (28.00 g, 31.4 mmol) în DMSO (30.80 ml) și DMF (92.40 ml). Amestecul rezultat a fost răcit până la -10°C și s-a agitat timp de 10 minute. La acest amestec s-a adăugat N, N-diizopropiletilamină (DIPEA) (27.58 ml, 158.34 mmol) cu o rată care a permis menținerea temperaturii de reacție sub -5°C. După adăugarea completă a DIPEA, amestecul de reacție se agită la -10°C până la aproximativ 1 oră (moment în care CLÎP a arătat că reacția este în esență completă). La amestecul de reacție s-a adăugat soluție 1 v apoasă de acid clorhidric (186.76 ml) cu o rată care a permis menținerea temperaturii de reacție sub 0°C. După adăugarea completă a acidului clorhidric, amestecul de reacție a fost încălzit până la 10°C și s-a adăugat un amestec de acetonitril (560.0 ml) și apă (92.40 ml). Apoi la amestecul de reacție s-a adăugat acetonă (1.40 L) timp de aproximativ 1 oră și suspensia rezultată s-a agitat timp de aproximativ 30 minute. Apoi pentru a colecta produsul solid (turta umedă), suspensia a fost filtrată într-o atmosferă de azot. Turta umedă a fost spălată cu acetonă (621.60 ml) și purjată cu azot până la uscare. La turta umedă s-a adăugat acetonă (621.60 ml) și amestecul rezultat a fost agitat cu formarea unei suspensii și apoi s-a filtrat într-o atmosferă de azot pentru a colecta substanța solidă, care a fost purjată cu azot timp de aproximativ 20 minute. Apoi substanța solidă a fost apoi uscată sub vid la temperatura camerei timp de aproximativ 18 h cu obținerea compusului din titlu sub formă de sare de trihidroclorură (81.9 g, 39.12 mmol, randamentul 92,2%).

Exemplul 10

Purificarea 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R,7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden] amino]oxi]propil] amino]carbonil]-26-decarboxivancomicinei

Exemplul 11

Exemplul 12

A. Sarea de monohidroclorură (formula I, în care x este aproximativ 1)

Analiza flacoanelor reprezentative a relevat, că probele au avut un conținut de apă de 1,7% (analiza Karl Fisher), de solvent rezidual (de acetonitril) de 0.6% (analiza CG) și o puritate de 90.4% (analiza CLIP).

La o soluție a monohidroclorurii de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[(6R,7R)-2-boksi-8-oxo-3-(piridinometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-
oetiliden]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină (75 ml, 13.0 mg/ml, 975

mg) s-a adăugat zaharoză (975 mg) și glicină (1.46 g). Amestecul a fost agitat până la dizolvarea materialelor. Semnificația pH soluției obținute constituia 6,7.

Probele (2 ml fiecare) de această soluție au fost plasate în 21 flacoane cu dopuri de cauciuc cu orificii. Fiolele au fost liofilizate la -40°C sub vid (40-60 mTorr) timp de aproximativ 5 zile cu obținerea a 21 de flacoane conținând sarea de monohidroclorură (26 mg ca echivalent de bază pură), zaharoză (26 mg) și glicină (39 mg) sub formă de pulbere liofilizată.

Analiza flacoanelor reprezentative au arătat, că probele au avut un conținut de apă de 0,5% (Karl Fisher), de solvent rezidual (acetonitril) de 0.6% (analiza CG) și o puritate de 90.4% (analiza CLIP).

10 C. Sare de dihidroclorură (formula I, în care x este aproximativ 2)

Probele (2 ml fiecare) de o soluție de sare de schimb a dihidroclorurii de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R,7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină (124 ml, 13.0 mg/ml) cu un pH de 4.4 au fost plasate în 21 flacoane cu dopuri de cauciuc cu orificii. Fiolele au fost liofilizate la -40°C sub vid (40-60 mTorr) timp de aproximativ 6 zile cu obținerea a 21 flacoane ce conținut de sarea de dihidroclorură (26 mg ca echivalent de bază pură) sub formă de o pulbere liofilizată.

Analiza flacoanelor reprezentative au arătat, că probele au avut un conținut de apă de 1,1% (Karl Fisher), de solvent rezidual (acetonitril) de 0.3% (analiză CG) și o puritate de 90.1% (analiza CLIP).

D. Sare de dihidroclorură (formula I, în care x este aproximativ 2), zaharoză și glicină

La o soluție de sare de schimb a dihidroclorurii de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R,7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicină (150 ml, 13.0 mg/ml, 1.95 g) la pH 4,27 s-a adăugat zaharoză (1.95 g) și amestecul a fost agitat până la dizolvarea zaharozei. La această soluție (104 ml) s-a adăugat glicină (2.03 g). Amestecul a fost agitat până la dizolvarea glicinei.

Probele (2 ml fiecare) de această soluție au fost plasate în 21 flacoane cu dopuri de cauciuc cu orificii. Fiolele au fost liofilizate la -40°C sub vid (40-60 mTorr) timp de aproximativ 6 zile cu obținerea a 21 de flacoane conținând sarea de dihidroclorură (26 mg, ca echivalent de bază pură), zaharoză (26 mg) și glicină (39 mg) sub formă de o pulbere liofilizată.

Analiza flacoanelor reprezentative au arătat, că probele au un conținut de apă de 0,5% (Karl Fisher), de solvent rezidual (acetonitril) de 0.8% (analiză CG) și o puritate de 90.6% (analiza CLIP).

35 E. Sare de trihidroclorură (formula I, în care x este aproximativ 3)

Semnificația pH unei soluții de sare de schimb a dihidroclorurii de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R,7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo [4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]-carbonil] -26-decarboxi vancomicină a fost ajustată până la 2,0 prin adăugarea soluției apoase 1N de acid clorhidric.

Probele (2 ml fiecare) de această soluție au fost plasate în 21 flacoane cu dopuri de cauciuc cu orificii. Fiolele au fost liofilizate la -40°C sub vid (40-60 mTorr) timp de aproximativ 6 zile cu obținerea a 21 de flacoane conținând sarea de trihidroclorură (26 mg ca echivalent de bază pură) sub formă de o pulbere liofilizată.

Analiza flacoanelor reprezentative au arătat, că probele au un conținut de apă de <0.8% (Karl Fisher), de solvent rezidual (acetonitril) de 0.3% (analiza CG) și o puritate de 84.5% (analiza CLIP).

F. Sare de trihidroclorură (formula I, în care x este aproximativ 3), zaharoză și glicină

Semnificația pH unei soluții a dihidroclorurii de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R,7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridiniometil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]-carbonil] -26-decarboxivancomicină (13,0 mg/ml), zaharoză (13.0 mg/ml) și glicină (19,5 mg/ml) s-a ajustat până la 2,0 prin adăugarea în picături a soluției apoase 1N de acid clorhidric.

Probele (2 ml fiecare) de această soluție au fost plasate în 21 flacoane cu dopuri de cauciuc cu orificii. Fiolele au fost liofilizate la -40°C sub vid (40-60 mTorr) timp de aproximativ 5 zile pentru cu obținerea a 21 de flacoane conținând sarea de trihidroclorură (26 mg ca echivalent de bază pură), zaharoză (26 mg) și glicină (39 mg) sub formă de o pulbere liofilizată.

Analiza flacoanelor reprezentative au arătat, că probele au un conținut de apă de 0,5% (Karl Fisher), de solvent rezidual (acetonitril) de 0.1% (analiza CG) și o puritate de 91.3% (analiza CLIP).

Exemplul 13

Depozitarea și analiza probelor de stabilitate

- 5 Au fost pregătite două suporturi, care conțineau câte șase flacoane de fiecare tip de probă de stabilitate ($6 \times 6 = 36$ flacoane, Exemplele 12A-F). Un suport a fost depozitat într-o ladă protejată de lumină la temperatura camerei, iar celălalt suport a fost depozitat într-un frigider la temperatură de la 2 până la 8°C. O fiolă reprezentativă de fiecare tip de probă stabilitate a fost analizată prin CLÎP după depozitare timp de 1, 3, 6 și 12 luni pentru a determina puritatea. Rezultatele sunt prezentate în Tabelele 1-6.

Tabelul 1

Stabilitatea compușilor cu formula I la depozitare în condiții de refrigerare

Timpul (M) ¹	Monohidrociorură		Dihidrociorură		Trihidrociorură	
	Puritatea (%) ²	Δ^3	Puritatea (%)	Δ	Puritatea (%)	Δ
0	90,4	-	90,1	-	84,5	-
1	90,0	-0,4	89,9	-0,2	84,0	-0,5
3	90,2	-0,2	89,4	-0,7	80,7	-3,8
6	90,4	0,0	90,8	0,7	79,4	-5,1
12	87,4	-3,0	87,2	-2,9	76,0	-8,6

¹ Timpul în luni de zile² Puritatea eșantionului, calculată în baza suprafeței CLÎP, exprimată în procente.³ Modificarea purității, exprimate în procente, începând de la momentul timpului = 0.

- 10 Datele din tabelul 1 atestă, că puritatea sării de trihidrociorură (formula I, în care x este aproximativ 3) s-a redus mai semnificativ, decât puritatea oricărei sări de mono- sau dihidrociorură, în cazurile, în care sărurile au fost depozitate la o temperatură de la 2 până la 8°C timp de 12 luni. Puritatea sării de trihidrociorură s-a redus cu 8,6%, comparativ cu 3,0% și 2,9% pentru sărurile de mono- și dihidrociorură, respectiv. Aceste rezultate sunt prezentate în fig. 1.

15

Tabelul 2

Stabilitatea compușilor cu formula I la depozitare la temperatura camerei

Timpul (M) ¹	Monohidrociorură		Dihidrociorură		Trihidrociorură	
	Puritatea (%) ²	Δ^3	Puritatea (%)		Puritatea (%) ²	Δ^3
0	90,4	-	90,1	-	84,5	-
1	89,3	-1,1	85,3	-4,8	74,8	-9,7
3	82,0	-8,4	82,5	-7,6	69,5	-15,0
6	79,9	-10,5	81,4	-8,7	56,5	-28,0
12	67,0	-23,4	69,6	-20,5	50,4	-34,2

¹ Timpul în luni de zile² Puritatea eșantionului, calculată în baza suprafeței CLÎP, exprimată în procente.

- 20 ³ Modificarea purității, exprimate în procente, începând de la momentul timpului = 0.

- 25 Datele din tabelul 2 atestă, că puritatea sării de trihidrociorură (formula I, în care x este aproximativ 3) s-a redus mai semnificativ, decât puritatea oricărei sări de mono- sau dihidrociorură, în cazurile, în care sărurile au fost depozitate la temperatura camerei timp de 12 luni. Puritatea sării de trihidrociorură s-a redus cu 34,2%, comparativ cu 23,4% și 20,5% pentru sărurile de mono- și dihidrociorură, respectiv. Aceste rezultate sunt prezentate în fig. 2.

Tabelul 3

Stabilitatea compușilor cu formula I în compoziții cu conținut de zaharoză și glicină la depozitare în condiții de refrigerare

Timpul (M) ¹	Monohidrociorură		Dihidrociorură		Trihidrociorură	
	Puritatea (%) ²	Δ^3	Puritatea (%)		Puritatea (%) ²	Δ^3
0	90,4	-	90,6	-	91,3	-
1	90,7	0,3	89,8	-0,3	91,5	0,2
3	88,9	-1,5	89,4	-0,7	90,8	-0,5

30

6	91,7	1,3	90,8	0,7	92,8	1,5
12	88,5	-1,9	87,2	-2,9	90,1	-1,2

¹ Timpul în luni de zile

² Puritatea eşantionului, calculată în baza suprafeței CLÎP, exprimată în procente.

³ Modificarea purității, exprimate în procente, începând de la momentul timpului = 0.

- 5 Datele din tabelul 3 atestă, că puritatea sărurilor de mono-, di- și trihidroclorură (formula I, în care x este aproximativ 1, 2 și 3) s-a redus cu un procent asemănător cu procentul pentru sărurile formulate cu zaharoză și glicină și păstrate la o temperatură de la 2 până la 8°C timp de 12 luni. Puritatea sărurilor de mono-, di- și trihidroclorură s-a redus cu 1.9%, 2.9% și 1.2%, respectiv.

10

Tabelul 4

Stabilitatea compuşilor cu formula I în compoziții cu conținut de zaharoză și glicină la depozitare la temperatura camerei

Timpul (M) ¹	Monohidroclorură		Dihidroclorură		Trihidroclorură	
	Puritatea (%) ²	Δ^3	Puritatea (%)		Puritatea (%) ²	Δ^3
0	90,4	-	90,6	-	91,3	-
1	89,0	-1,4	89,8	-0,8	89,2	-2,1
3	86,9	-3,5	87,7	-2,9	84,4	-6,9
6	87,9	-2,5	90,8	0,2	82,5	-8,8
12	81,5	-8,9	83,8	-6,8	65,0	-26,3

¹ Timpul în luni de zile

² Puritatea eşantionului, calculată în baza suprafeței CLÎP, exprimată în procente.

15

³ Modificarea purității, exprimate în procente, începând de la momentul timpului = 0.

- 20 Datele din tabelul 4 atestă, că puritatea sării de trihidroclorură (formula I, în care x este aproximativ 3) s-a redus mai semnificativ, decât puritatea oricărei sări de mono- sau dihidroclorură, în cazurile, în care sărurile au fost asociate în compoziții cu zaharoză și glicină și erau depozitate la temperatura camerei timp de 12 luni. Puritatea sării de trihidroclorură s-a redus cu 26,3%, comparativ cu 8,9% și 6,8% pentru sărurile de mono- și dihidroclorură, respectiv. Aceste rezultate sunt prezentate în fig. 3.

Tabelul 5

Stabilitatea sării de monohidroclorură (formula I, în care x este aproximativ 1) la depozitare la temperatura camerei

25

Timpul (M) ¹	Mono HCl		Mono HCl+zaharoză+glicină	
	Puritatea (%) ²	Δ^3	Puritatea (%)	Δ
0	90,4	-	90,4	-
1	89,3	-1,1	89,0	-1,4
3	82,0	-8,4	86,9	-3,5
6	79,9	-10,5	87,9	-2,5
12	67,0	-23,4	81,5	-8,9

¹ Timpul în luni de zile

² Puritatea eşantionului, calculată în baza suprafeței CLÎP, exprimată în procente.

³ Modificarea purității, exprimate în procente, începând de la momentul timpului = 0.

30

- 35 Datele din tabelul 5 atestă, că puritatea sări de monohidroclorură (formula I, în care x este aproximativ 1) s-a redus semnificativ mai puțin în cazul în care sarea a fost formulată cu zaharoză și glicină și depozitată la temperatura camerei timp de 12 luni. Puritatea sării de monohidroclorură s-a redus cu 23,4%, comparativ cu 8,9% pentru monohidroclorura formulată cu zahăr și glicină. Aceste rezultate sunt prezentate în fig. 4.

40

Tabelul 6

Stabilitatea sării de dihidroclorură (formula I, în care x este aproximativ 2)
la depozitare la temperatura camerei

Timpul (M) ¹	Di HCl		Di HCl+zaharoză+glicină	
	Puritatea (%) ²	Δ^3		Puritatea (%) ²
0	90,1	-	90,6	-
1	85,3	-4,8	89,8	-0,8
3	82,5	-7,6	87,7	-2,9
6	81,4	-8,7	90,8	0,2
12	69,6	-20,5	83,8	-6,8

¹ Timpul în luni de zile

5 ² Puritatea eşantionului, calculată în baza suprafeței CLÎP, exprimată în procente.

³ Modificarea purității, exprimate în procente, începând de la momentul timpului = 0.

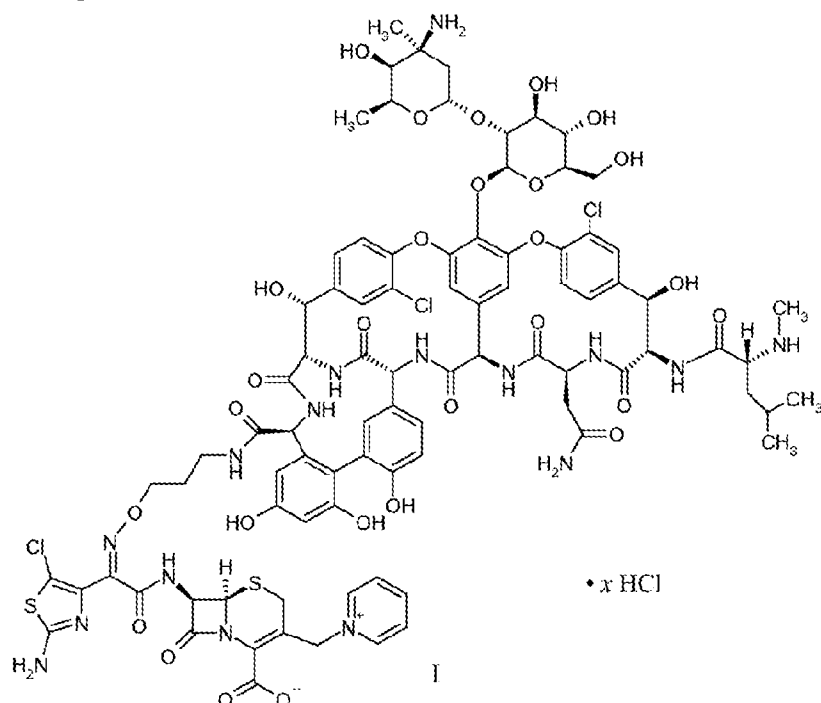
10 Datele din tabelul 6 atestă, că puritatea sări de dihidroclorură (formula I, în care x este aproximativ 2) s-a redus semnificativ mai puțin în cazul în care sarea a fost formulată cu zaharoză și glicină și depozitată la temperatura camerei timp de 12 luni. Puritatea sării de dihidroclorură s-a redus cu 20,5%, comparativ cu 6,8% pentru dihidroclorura formulată cu zahăr și glicină. Aceste rezultate sunt prezentate în fig. 5.

15 Astfel, compușii cu formula I, în care x este aproximativ 1 și aproximativ 2, adică, sărurile de mono- și dihidroclorură sunt semnificativ mai stabile, decât sarea de trihidroclorură la depozitare timp de 12 luni la temperatura camerei sau la temperatură de la 2 până la 8°C. În plus, sărurile de mono- și dihidroclorură sunt mai stabile la depozitarea la temperatura camerei timp de 12 luni în cazul, în care astfel de săruri sunt formulate cu zaharoză și glicină.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. US 6878868 B2 2005.04.12
2. US 6974797 B2 2005.12.13
3. US 7067481 B2 2006.06.27
4. US 7067482 B2 2006.06.27
5. US 7601690 B2 2009.10.13
6. Long et al., J. Antibiot. 61(10): 595-602 (2008)
7. Long et al., J. Antibiot. 61(10): 603-614 (2008)
8. Leuthner et al, Antimicrob. Agents Chemother. 2010, 54(9): 3799
9. Hegde et al, Antimicrob. Agents Chemother. 2012, 56(3): 1578
10. Blais et al, Antimicrob. Agents Chemother. 2012, 56(3): 1584
11. Tyrell et al, Antimicrob. Agents Chemother. 2012, 56(4): 2194
12. EP 0325112 A1 1989.07.26
13. US 5254545 A 1993.10.19
14. Burgess et al, J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2, 97 (1994)
15. US 2010010278 A1 2010.01.14
16. EP 0438747 A1 1991.07.31
17. JP 4142149 B2 2008.08.27
18. JP 2010105965 A 2010.05.13
19. US 2008194464 A1 2008.08.14

1. Compus cu formula I:



(a) formare a unei compoziții apoase care conține 26-[[[3-[[[(Z)-1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[[[(6R,7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridinometil)-5-tia-1-azabiclo [4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-

oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]-carbonil]-26-decarboxivancomicină și acid clorhidric într-un raport molar de 1:1 până la 1:2;

(b) liofilizare a compoziției apoase cu obținerea compusului, conform revendicării 1.

14. Procedeu, conform revendicării 13, în care raportul molar este de 1:1.

15. Procedeu, conform revendicării 13, în care raportul molar este de 1:2.

16. Metodă de reducere a degradării 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridinometil)-5-tia-1-azabicyclo [4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicinei, care prevede (a) formarea compusului, conform revendicării 1, 2 sau 3, și (b) depozitarea compusului, conform revendicării 1, 2 sau 3, la o temperatură în intervalul de la -25°C până la 25°C.

17. Metodă, conform revendicării 16, în care temperatura este în intervalul de la 2 ° C până la 8 ° C.

18. Metodă de reducere a degradării 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-clor-4-tiazolil)-2-[(6R, 7R)-2-carboxi-8-oxo-3-(piridinometil)-5-tia-1-azabicyclo [4.2.0]oct-2-en-7-il]amino]-2-oxoetiliden]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-decarboxivancomicinei în timpul depozitării, care prevede (a) formarea unei compoziții farmaceutice, conform revendicării 8, și (b) depozitarea compoziției farmaceutice la o temperatură în intervalul de la -25°C până la 25°C.

19. Metodă, conform revendicării 18, în care temperatura este în intervalul de la 2°C până la 8°C.

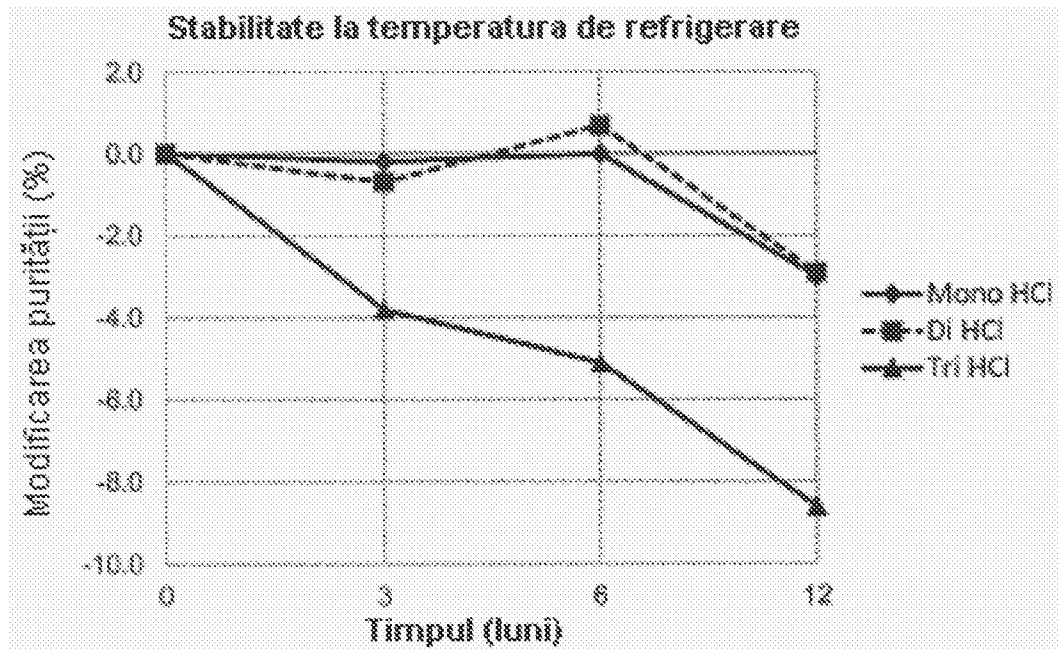


Fig. 1

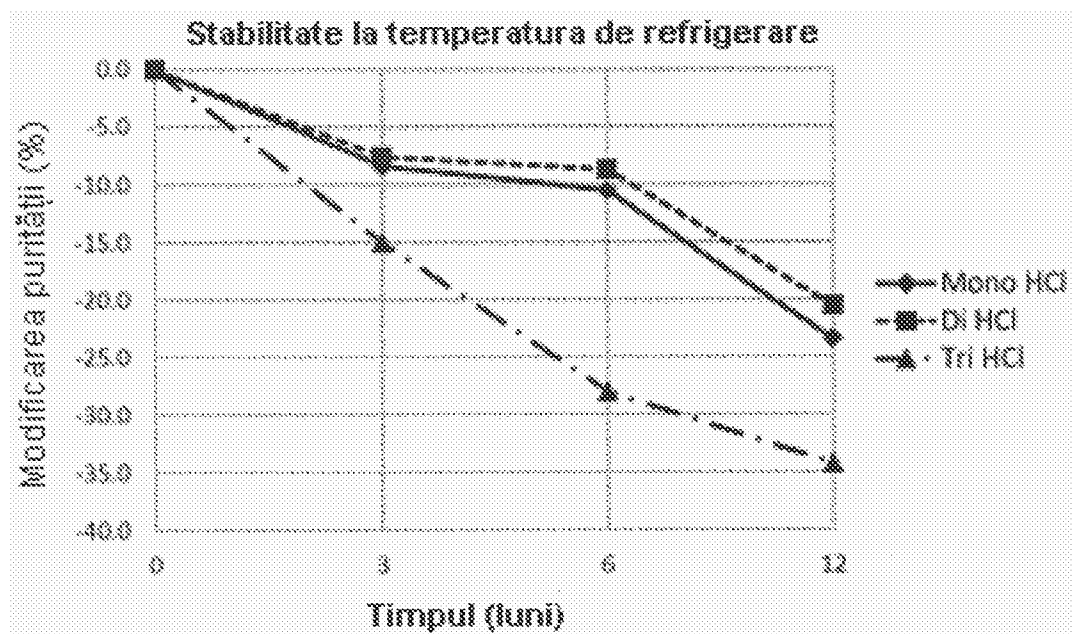


Fig. 2

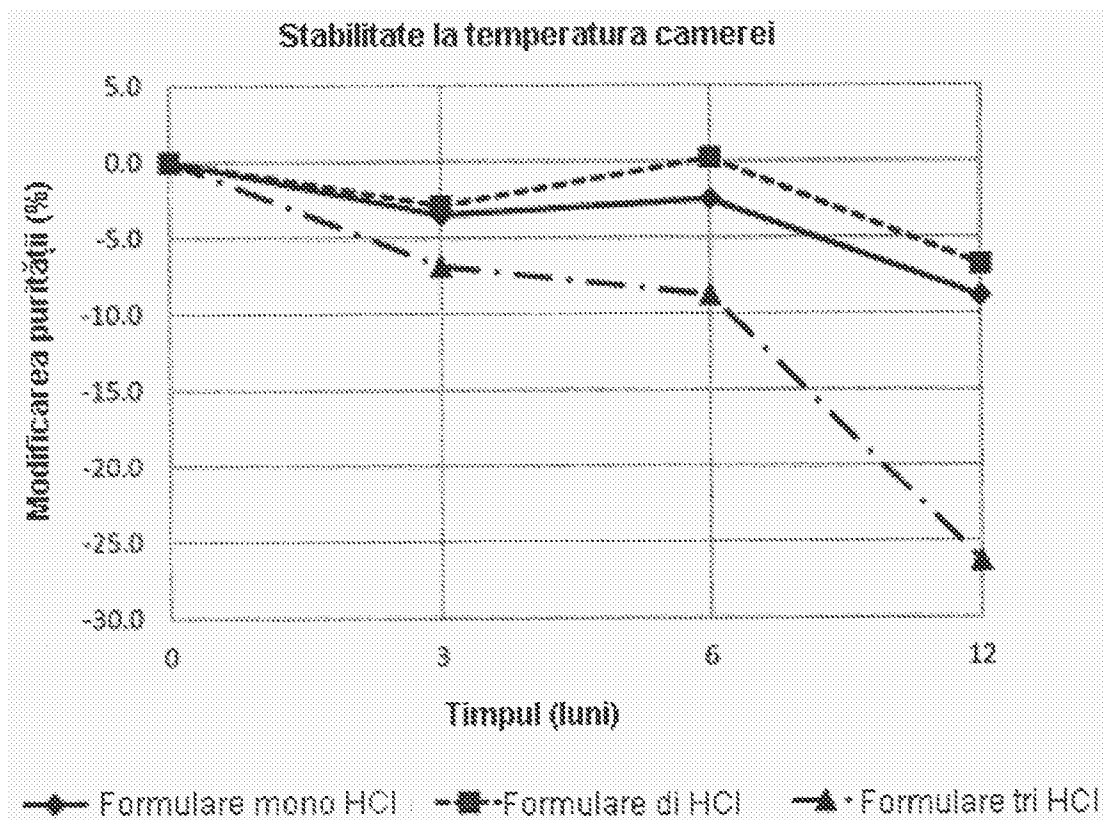


Fig. 3

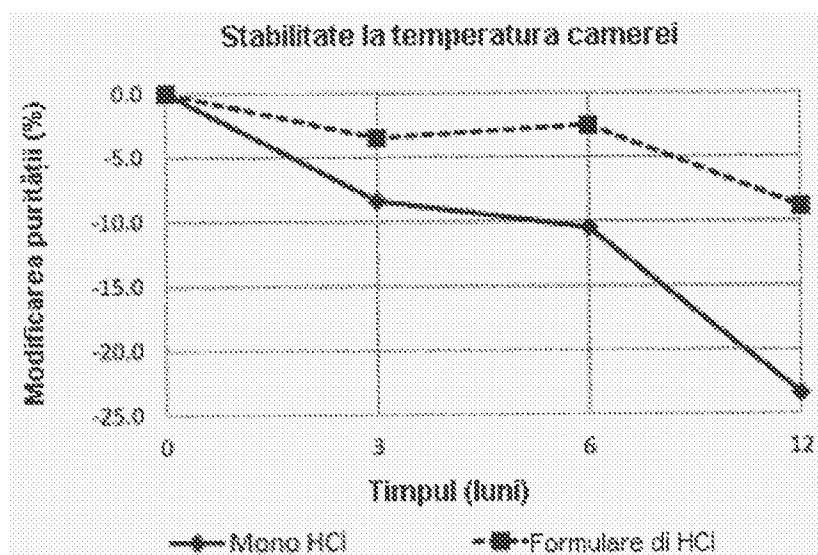


Fig. 4

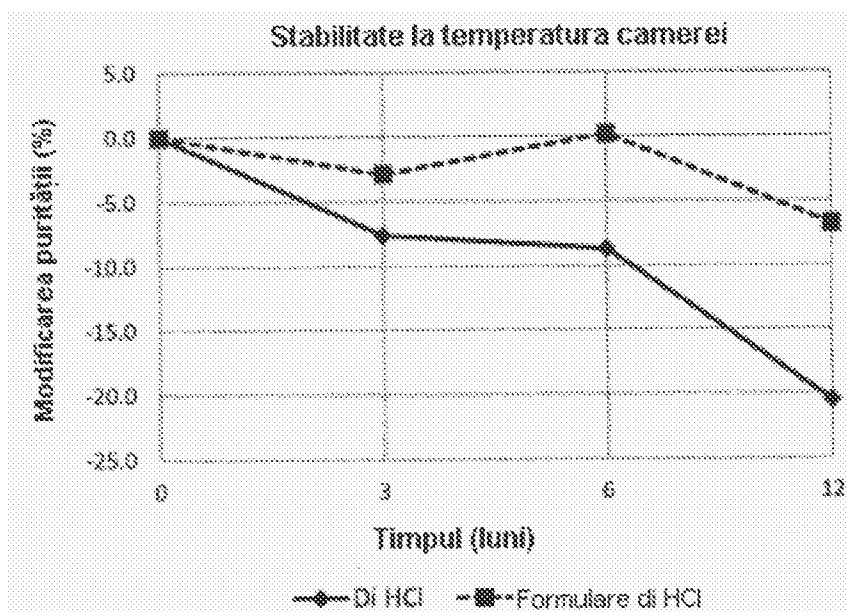


Fig. 5

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2015 0101 (32) Data de prioritate recunoscută: 2013.03.13
 (22) Data depozit: 2014.03.06 Raport de documentare internațională: ☐ da
 (67) Numărul cererii transformate și data transformării:
 (71) Solicitant: **THERAVANCE BIOPHARMA ANTIBIOTICS IP, LLC, US**
 (54) **Titlul: Săruri de hidroclorură a unui compus antibiotic**

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl:** *A61K 31/545* (2006.01)
A61K 38/14 (2006.01)
C07D 501/00 (2006.01)
C07K 9/00 (2006.01)

III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)

MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta):

Int.Cl: *A61K 31/545*
A61K 38/14
C07D 501/00
C07K 9/00

glicopeptidă cefalosporinică, decarboxivancomicină, tiazol, vancomicin, hidroclorură, antibiotic TD-1792

"Worldwide" (Espacenet):

Int.Cl: *A61K 31/545*
A61K 38/14
C07D 501/00
C07K 9/00

glycopeptide cephalosporin, decarboxyvancomycin, thiazol, vancomycin, hydrochloride, antibiotic TD-1792

EA, CIS (Eapatis):

Int.Cl: *A61K 31/545*
A61K 38/14
C07D 501/00
C07K 9/00

гликопептид цефалоспорин, декарбоксиванкомицин, тиазол, ванкомицин, гидрохлорид, антибиотик TD-1792

SU:

Int.Cl: *A61K 31/545*
A61K 38/14
C07D 501/00
C07K 9/00

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A, D	US 6878868 B2 2005.04.12	1-19
A, D	US 6974797 B2 2005.12.13	1-19
A, D	US 7067481 B2 2006.06.27	1-19
A, D	US 7067482 B2 2006.06.27	1-19
A, D	US 7601690 B2 2009.10.13	1-19
A, D	Long et al., J. Antibiot. 61(10): 595-602 (2008)	1-19
A, D	Long et al., J. Antibiot. 61(10): 603-614 (2008)	1-19
A, D	Leuthner et al, Antimicrob. Agents Chemother. 2010, 54(9): 3799	1-19
A, D	Hegde et al, Antimicrob. Agents Chemother. 2012, 56(3): 1578	1-19
A, D	Blais et al, Antimicrob. Agents Chemother. 2012, 56(3): 1584	1-19
A, D	Tyrell et al, Antimicrob. Agents Chemother. 2012, 56(4): 2194	1-19
A, D	EP 0325112 A1 1989.07.26	1-19
A, D	US 5254545 A 1993.10.19	1-19
A, D	Burgess et al, J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2, 97 (1994)	1-19
A, D	US 2010010278 A1 2010.01.14	1-19
A, D	EP 0438747 A1 1991.07.31	1-19
A, D	JP 4142149 B2 2008.08.27	1-19
A, D	JP 2010105965 A 2010.05.13	1-19
A, C	US 2008194464 A1 2008.08.14	1-19
A	Database Medline [online] US National Library of Medicine (NLM), Bethesda, MD, US; October 2008 (2008-10), Long Daniel D. et al: "A multivalent approach to drug discovery for novel antibiotics" , XP055120347, Database accession nr. NLM19168973	1-19
A	WO 2005042568 A2 2005.05.12	1-19
A	WO 2004092183 A2 2004.10.28	1-19
A	WO 03099858 A1 2003.12.04	1-19
A	WO 03031449 A2 2003.04.17	1-19

* categoriile speciale ale documentelor citate:

A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria pe care se bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri
Data finalizării documentării 2018.06.11	
Examinator CAISIM Natalia	