



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

226013

(11) (B2)

(51) Int. Cl.³
C 07 D 498/04

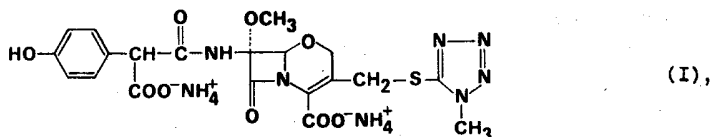
- (22) Přihlášeno 30 04 80
(21) (PV 3045-80)
(32) (31)(33) Právo přednosti od 01 05 79
(35037) Spojené státy americké
(40) Zveřejněno 24 06 83
(45) Vydáno 15 02 86

- (72) Autor vynálezu KUO SHANG YANG, GREENWOOD (Sp. st. a.)
(73) Majitel patentu ELI LILLY AND COMPANY, INDIANAPOLIS (Sp. st. a.)

(54) Způsob výroby diamonné soli 7β-[D-[karboxy/4-hydroxyfenyl/-acetyl]-
-amino]-7α-methoxy-3-[[1-methyl-1H-tetrazol-5-yl/-thio]methyl]-
-8-oxo-5-oxa-1-azabicyklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboxylové kyseliny

1

Vynález se týká způsobu přípravy diamonné soli oxa-beta-laktemového antibiotika vzor-
ce I



ve kterém chirální centrum alfa-karboxy-p-hydroxyfenylacetylového postranního řetězce má
D-konfiguraci,
v krystalické formě neobsahující více než 5 % l-epimeru.

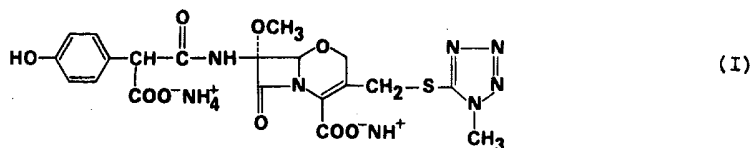
US patent 4138486 popisuje dikyselinu 1-oxa-beta-laktemu s antibiotickými vlastnostmi,
ze které se získá postupem podle tohoto vynálezu diamonné sůl. Tento patent zahrnuje sodné,
draselné a amonné soli, jako trietylamonnou sůl a prokeainovou sůl této dikyseliny. Tyto so-
li dikyseliny jsou formami tohoto antibiotika vhodnými pro jeho parenterální podání. U vět-
šiny beta-laktemových antibiotik, jako jsou peniciliny a cefalosporiny, která jsou podává-
na parenterálně, je forma soli nejčastější farmaceutickou formou podání. Farmaceutická for-
ma soli je vhodná stabilní krystalická sůl, kompatibilní a rozpustná ve fyziologických te-
kutinách.

Ačkoliv farmaceuticky vhodné soli oxa-beta-laktemové kyseliny jsou známy, nebyly do-
sud získány v krystalické formě s požadovanou stabilitou. Například dvojsodná sůl oxa-beta-
laktemu byla získána ve formě amorfní látky.

V popisu vynálezu k čs. AO 212 347 je popsána seskvisodná sůl oxa-beta-laktamu s D-konfigurací, která je farmaceuticky vhodnou formou tohoto antibiotika.

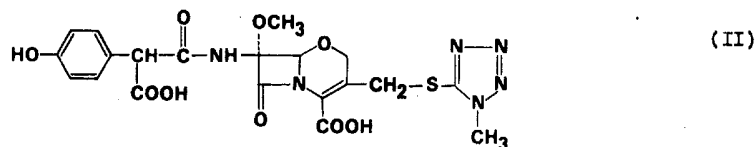
Předmětem tohoto vynálezu je způsob přípravy D-diamonné soli oxa-beta-laktamu vzorce I v krystalické formě, neobsahující více než 5 % L-epimeru.

Vynález poskytuje způsob přípravy D-diamonné soli oxa-beta-laktamového antibiotika vzorce I



v krystalické formě neobsahující více než 5 % L-epimeru, vyznačující se

- a) přidáním acetonu k vodnému roztoku dikyseliny oxa-beta-laktamu vzorce II



příčemž uvedená dikyselina oxa-beta-laktamu je ve formě D- nebo L-epimeru nebo jejich směsí,

- b) k tomuto vodně acetonovému roztoku uvedené kyseliny se přidá při teplotě v rozmezí mezi 15 až 30 °C hydroxid amonný až do dosažení hodnoty pH roztoku mezi 6 a 7,5,

- c) uvedený roztok se ředí acetonem až do bodu zákalu a

- d) vykrystalovaný D-epimer uvedené amonné soli, neobsahující více než 5 % L-epimeru, se oddělí.

Tato krystalická diamonná sůl získaná způsobem podle vynálezu, nebo krystalizací z vodného organického rozpouštědla, je ve formě tetrahydrátu. Tato krystalická tetrahydrátová sůl má následující charakteristické údaje získané práškovou rentgenovou difrakční analýzou za použití záření měď/nikl vlnové délky $1,5 \cdot 10^{-10}$ m, kde "d" znamená mezimřížkové vzdálenosti a "I/I₁" relativní intenzity.

d	I/I ₁ x 100
9,60	1
8,79	50
8,11	50
7,25	10
6,62	5
5,92	35
5,10	10
4,58	40
4,35	100
3,40	15
3,67	10
3,54	1

d	I/I ₁ x 100
3,36	15
3,21	10
3,10	5
2,97	10
2,82	10
2,71	5
2,62	5
2,41	1
2,35	5
2,30	1
2,19	1
2,05	1

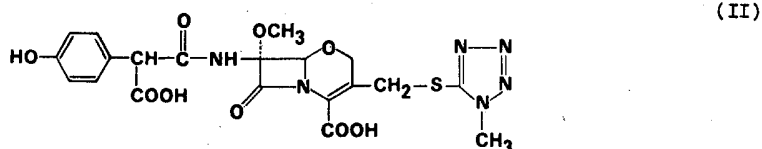
Elektrometrickou titrací diamonné soli v 66% dimetylformamidu byly zjištěny následující údaje: počáteční pH bylo 7,38 a hodnoty pK_a byly 5,0 (COO⁻), 9,5 (2NH₄⁺) a 12,9 (p-hydroxyskupina).

Tato diamonná sůl výše uvedeného vzorce má chemický název diamonná sůl 7beta-[D-[karboxy/4-hydroxyfenyl/acetyl]-7alfa-metoxi-3-[[/1-metyl-1H-tetrazol-5-yl/thio]metyl]-8-oxo-5-oxa-1-azabicyklo[4,1,0]okt-2-en-2-kerboxylové kyseliny. Pro výhodnost je v tomto textu nazývána buď jako D-diamonná sůl, nebo D-diamonná sůl oxa-beta-laktamu.

Krystalická D-diamonná sůl získaná způsobem podle vynálezu je vhodná farmaceutická forma, která je stabilní za běžných podmínek teploty a vlhkosti. Tuto sůl lze skladovat ve formě substance pro další použití, například pro použití dávkovaných forem v ampulích.

Zde získaná D-diamonná sůl krystaluje v D-epimerní formě, neobsahující více než 5 % L-epimeru. D-Epimerní forma soli vykázala vyšší antibiotickou antibakteriální účinnost vůči některým gramnegativním bakteriím, například *Escherichia coli*, než D,L-forma této soli.

Podle způsobu přípravy krystalické D-diamonné soli podle tohoto vynálezu se dikyselina oxa-beta-laktamu vzorce II



rozpustí ve vodě a roztok se zředí acetonem v asi 10% objemovém množství. pH roztoku se upraví hydroxidem amonným na hodnotu mezi pH 6 a pH 7,5 a dále se ředí acetonem, až se dosáhne bodu zákalu. Stáním krystaluje D-diamonná sůl a oddělí se od matečného louhu.

V postupu použitá dikyselina výše uvedeného vzorce může být v L-epimerní formě nebo jakékoli směsi D a L epimerních forem.

Výhodné je, je-li koncentrace roztoku dikyseliny ve vodě asi 10 %, nicméně může být použita koncentrace mezi 5 % až 15 %. Před přidáním hydroxidu amonného se vodný roztok dikyseliny zředí acetonem, výhodně 10 objemovými procenty, ačkoliv k ředění lze použít větší či menší množství acetonu.

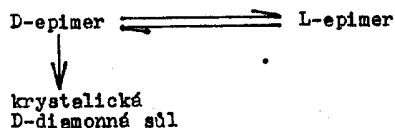
Je žádoucí, aby v postupu byl použit koncentrovaný hydroxid amonný, protože zředěnější roztoky báze mají za následek větší objemy krystalizačního roztoku tím, že vyžadují přidání

většího množství acetonu. Z obecného hlediska je žádoucí se při krystalizaci vyhnout, je-li to možné, větším objemům. Alternativně lze přidávat k vodnému roztoku dikyseliny roztok hydroxidu amonného v acetonu, aby se dosáhlo požadovaného pH roztoku. Výhodné je použít 1 N až 1,5 N roztoku. Požadované pH lze také upravit průchodem amoniaku vodným roztokem kyseliny za chlazení.

Jak je uvedeno výše, pH acetonem zředěného vodného roztoku dikyseliny se upraví na hodnotu pH 6 až 7,5 pomocí hydroxidu amonného. Výhodná je úprava na hodnotu 6,5. Po přidání hydroxidu amonného k úpravě pH se roztok dále ředí acetonem, až se zakalí. Krystalická diamonná sůl kyseliny ze zakaleného roztoku krystaluje jako D-epimer, neobsahující více než 5 % L-epimeru. Krystaly jsou zpracovány filtrací, centrifugováním nebo jinou vhodnou separační metodou, promytím zbeveny matečného louhu a vysušeny. Výtěžky D-diamonné soli připravené podle vynálezu jsou obecně nejméně 85%.

Způsob se výhodně provede při teplotě mezi 15 až 30 °C a výhodně při 25 °C.

Za podmínek pH a teploty tohoto postupu, kyselina oxa-beta-laktamu a diamonná sůl této dikyseliny, které vzniká v roztoku, podléhá rychlé epimerizaci na chirálním centru v alfa-karboxy-p-hydroxyfenylacetylovém postranním řetězci. Jestliže má například výchozí dikyselina L-konfiguraci, epimerizuje rychle sama nebo její diamonná sůl do rovnovážné směsi D a L epimerů. Tato rovnováha je narušována srážením D-diamonné soli, jak je znázorněno na následujícím diagramu.



Z toho vyplývá, že D-diamonná sůl jako nejméně rozpustný epimer z těchto soli krystaluje z roztoku a tím umožňuje posunutí rovnováhy ve prospěch dalšího D-epimeru, který dále krystaluje. Rychlá výše popsaná epimerizace se s výhodou provede při teplotách od 15 °C do 30 °C a nejlépe probíhá při 25 °C. Snižováním teploty dochází ke snížení rychlosti epimerizace, která vede k pomalejší krystalizaci a nižšímu výtěžku D-diamonné soli. Ačkoliv snížené teploty snižují rozpustnost D-diamonné soli, přesto se stává hůře dostupnou v důsledku snížené rychlosti epimerizace. Za podmínek podle vynálezu se získají vysoké výtěžky krystalické D-diamonné soli, protože je umožněna rychlá epimerizace, zatímco D-epimer diamonné soli je v podstatě nerozpustný. Při teplotách vyšších, než jsou uvedené teploty, se zvyšuje rychlost epimerizace, nicméně se také zvyšuje rozpustnost D-epimerní soli, což vede k nižším výtěžkům získané krystalické soli.

D-Epimer diamonné soli oxa-beta-laktamu se získá v podstatě prostý L-epimeru postupem podle vynálezu. Výrez "v podstatě prostý L-epimeru" použitý v popisu znamená obsah přinejmenším 95 % D-epimeru. Procentuální obsah D-epimeru v krystalické diamonné soli se stanoví vysokodělnou kapalinovou chromatografií (HPLC). Jeden ze systémů HPLC, který lze použít ke stanovení D-epimeru a L-epimeru má následující parametry:

kolona: Waters Associates Bonapak C-18
 průtok: 3 ml/min
 rozpouštědlo: 0,1 N octan amonný (100 dílů)
 metylalkohol (6 dílů)
 rozpouštědlo vzorku: fosfátový pufr o pH 7,4
 koncentrace vzorku: 1 mg/ml
 objem vzorku: 15 mikrolitrů.

Pro použití v tomto postupu může být pomocí HPLC D,L-dikyselina oxa-beta-laktamu použita k přípravě soli postupem podle vynálezu rozdělena na D-epimer a L-epimer. Výhodné je použít D,L-kyseliny.

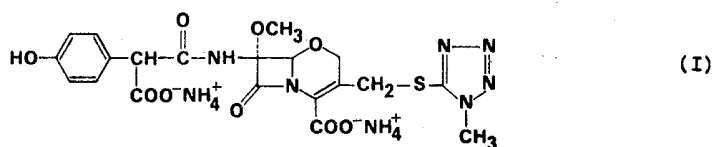
Následující příklad dále ilustruje tento vynález.

P ř í k l a d 1

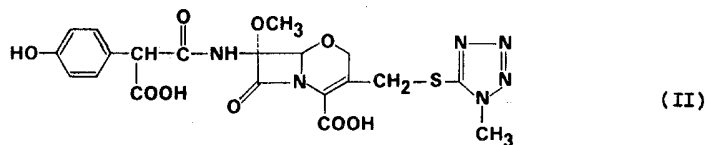
K roztoku 5 g dikyseliny 1-oxa-beta-laktamu /D,L-směs 40:60) v 15 ml směsi aceton/voda v poměru 90:10 (obj./obj) se přidá za intenzivního míchání 1,4 N roztok hydroxidu amonného v acetonu až pH roztoku dosáhne hodnoty 6,5. Pak se přidává aceton, až se roztok zakalí. Tento roztok se neočkuje D-diamonnou solí a nechá krystalizovat. Krystalická D-diamonná sůl se odfiltruje a promyje vodným isopropylalkoholem (1:9, voda : isopropylalkohol, objem : objem) a suší. Vysušené krystaly váží 4,5 g. Krystalická sůl obsahuje 97 % D-epimeru podle HPLC.

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

1. Způsob výroby diamonné soli 7bete-[D-[karboxy/4-hydroxyfenyl/-acetyl]-amino]-7alfa-metoxi-3-[[1-metyl-4H-tetrazol-5-yl/-thio]metyl]-8-oxo-5-oxa-1-azabicyklo 4.2.0 okt-2-en-2-karboxylové kyseliny obecného vzorce I



v krystalické formě neobsahující více než 5 % L-epimeru, vyznačující se tím, že se přidá aceton k vodnému roztoku dikyseliny oxa-beta-laktamu vzorce II



příčemž tato dikyselina je ve formě D- nebo L-epimeru, nebo je jejich směsí, k tomuto vodně acetonovému roztoku uvedené kyseliny se přidá při teplotě mezi 15 a 30 °C hydroxid amonný až do dosažení hodnoty pH roztoku mezi 6 a 7,5, uvedený roztok se dále ředí acetonem až do bodu zákalu a vykrystalovaný D-epimer uvedené amonné soli, neobsahující více než 5 % L-epimeru, se oddělí.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se pH upraví 28% vodným hydroxidem amonným.

3. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se pH upraví roztokem hydroxidu amonného v acetonu o koncentraci mezi 1 N a 1,5 N.

4. Způsob podle kteréhokoli z bodů 1 až 3, vyznačující se tím, že se pH upraví na hodnotu 6,5.

5. Způsob podle kteréhokoli z bodů 1 až 4, vyznačující se tím, že se použije vodný
restok dikyseliny oxa-beta-laktamu vzorce II o koncentraci mezi 5 % a 15 % hmotnostně obje-
movými.