

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 633 964**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/14** (2006.01)

**A61K 31/545** (2006.01)

**C07D 501/00** (2006.01)

**C07K 9/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.03.2014 PCT/US2014/021064**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.10.2014 WO14158952**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.03.2014 E 14717248 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.05.2017 EP 2968446**

54 Título: **Sales de clorhidrato de un compuesto antibiótico**

30 Prioridad:

**13.03.2013 US 201361779065 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**26.09.2017**

73 Titular/es:

**THERAVANCE BIOPHARMA ANTIBIOTICS IP,  
LLC (100.0%)  
901, Gateway Boulevard  
South San Francisco, CA 94080, US**

72 Inventor/es:

**ZHANG, WEIJIANG;  
CHEUNG, RONNIE;  
FILIPOV, DIMITAR;  
GREEN, JACK y  
LEE, JUNNING**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 633 964 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Sales de clorhidrato de un compuesto antibiótico

## 5 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

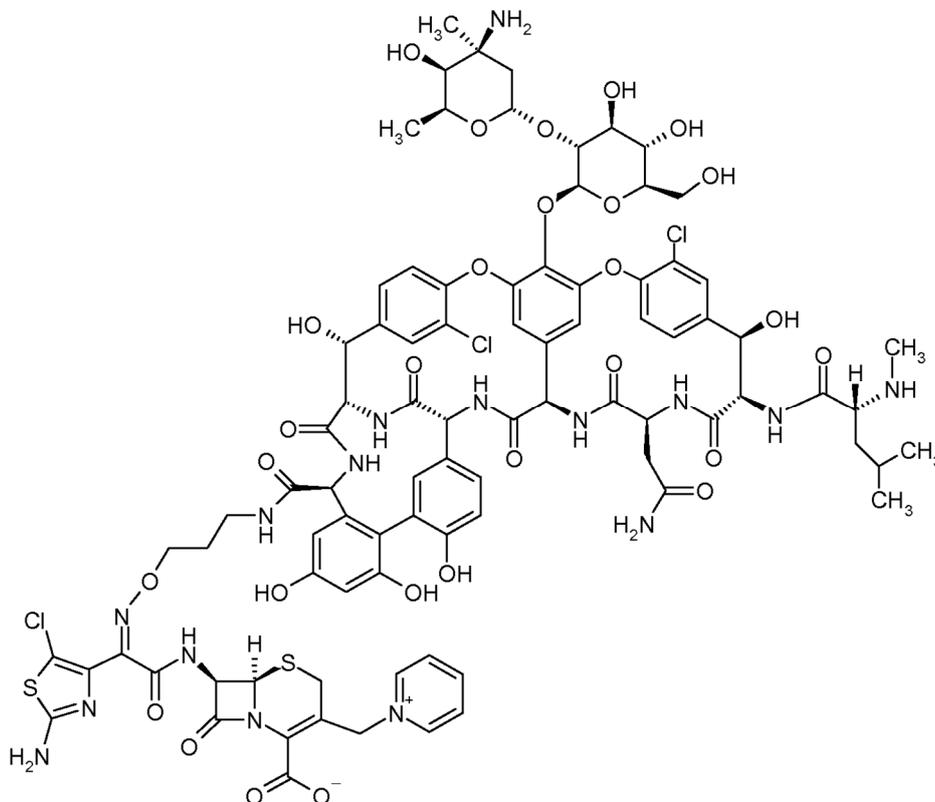
Campo de la invención

10 La presente invención se refiere a sales de clorhidrato novedosas de un compuesto antibiótico entrecruzado de glucopéptido-cefalosporina y a composiciones farmacéuticas que contienen tales sales de clorhidrato. Esta invención también se refiere a procedimientos para preparar, y describe métodos de uso, de tales sales y composiciones de clorhidrato.

15 Estado de la técnica

Los antibióticos entrecruzados de glicopéptido-cefalosporina son conocidos en la técnica. Por ejemplo, tales antibióticos se describen en las Patentes de Estados Unidos N° 6,878,868 B2; 6,974,797 B2; 7,067,481 B2; 7,067,482 B2; 7,601,690 B2; y en Long et al., J. Antibiot. 61(10):595-602 (2008); y Long et al., J. Antibiot. 61(10):603-614 (2008). Se reporta que estos antibióticos son útiles para tratar infecciones bacterianas Gram positivas, incluyendo infecciones por Staphylococci aureus resistentes a la meticilina (MRSA). Véase, por ejemplo, Leuthner et al., Antimicrob. Agents Chemother. 2010, 54(9):3799; Hegde et al., Antimicrob. Agents Chemother. 2012, 56(3):1578; Blais et al., Antimicrob. Agents Chemother. 2012, 56(3):1584; y Tyrell et al., Antimicrob. Agents Chemother. 2012, 56(4):2194.

25 Uno de estos antibióticos entrecruzados de glucopéptido-cefalosporina es el 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]-carbonil]-26-descarboxivancomicina, que tiene la estructura química:



30 Este compuesto, también conocido como TD-1792, se ha descrito previamente tanto como una sal de tri(ácido trifluoroacético) o como una sal de triclóhidrato. Véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos No. 6,974,797 B2 en la columna 34, línea 60, a la columna 35, línea 20. Las formas de sales descritas, sin embargo, tienen varias desventajas.

35

En primer lugar, se ha descrito que los ácidos perfluorocarboxílicos, tales como el ácido trifluoroacético, producen efectos hepáticos adversos cuando se administran a ratas. Véase, por ejemplo, Just et al., *Hepatology*, 9(4), 570-581 (1989). Por lo tanto, una sal de ácido trifluoroacético de este compuesto puede no ser farmacéuticamente aceptable para la administración a pacientes.

Además, se ha encontrado que la sal de triclorhidrato de este compuesto se descompone significativamente cuando se almacena a temperatura ambiente o incluso a temperatura refrigerada (aproximadamente 2 a aproximadamente 8 °C). Por lo tanto, la sal de triclorhidrato puede no ser aceptable para su uso en una formulación comercial puesto que las formulaciones farmacéuticas se almacenan a menudo durante períodos de tiempo significativos antes del uso.

Por consiguiente, existe una necesidad de nuevas formas de sales farmacéuticamente aceptables de este compuesto que tengan una estabilidad en almacenamiento mejorada.

También son de interés las nuevas composiciones farmacéuticas que contienen tales sales. De particular interés son las nuevas composiciones farmacéuticas que mejoran adicionalmente la estabilidad en almacenamiento del compuesto. Sin embargo, la bibliografía científica existente es a menudo contradictoria con respecto a qué excipientes son útiles para proporcionar una mayor estabilidad en almacenamiento para agentes farmacéuticos.

Por ejemplo, el documento EP 0 325 112 A1 muestra que las cefalosporinas se estabilizan disolviendo la cefalosporina con lactosa, glucosa, sacarosa o galactosa (y opcionalmente, glicina), y después secando la solución.

Por el contrario, la Patente de Estados Unidos No. 5,254,545 enseña que las preparaciones farmacéuticas de EP 0 325 112 A1 no son satisfactorias para estabilizar un compuesto de cefalosporina en particular y en su lugar la cefalosporina se formula con (i) lactosa, (ii) ácido cítrico o una sal de sodio del mismo y (iii) arginina o un clorhidrato del mismo o cloruro de sodio para proporcionar una preparación estable.

Además, con respecto al uso de carbohidratos, Burgess et al., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 97 (1994) muestra que la descomposición de ciertas cefalosporinas está catalizada por glucosa, galactosa, maltosa, sacarosa, manitol y  $\alpha$ -metilglucósido en soluciones acuosas a pH de 9-11.

Más recientemente, la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos No US 2010/010278 A1 discute las ventajas y desventajas de varios excipientes usados para preparar formulaciones liofilizadas de cefalosporinas, tales como polioles y aminoácidos (página 1, párrafos 004 a 0019), y concluye que la literatura científica es contradictoria y no permite predecir qué formulaciones proporcionarán estabilidad al producto liofilizado (página 1, párrafo 0020). Este documento describe formulaciones liofilizadas para derivados de cefalosporina que contienen al menos un estabilizante seleccionado de carbohidratos, alcoholes polihídricos y polivinilpirrolidona.

Con respecto a las composiciones farmacéuticas para glicopéptidos, el documento EP 0 438 747 A1 describe composiciones estabilizadas liofilizadas de glicopéptidos, tales como orienticinas A a D, cloroorienticinas A a E y vancomicina, que comprenden 0,05 partes en peso o más de uno o más sacáridos.

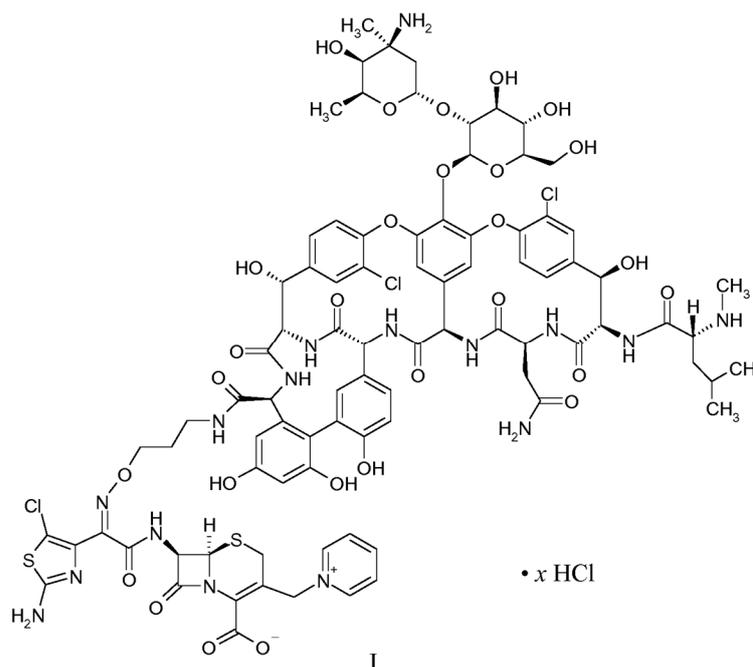
El documento JP 414249 B2 describe preparaciones liofilizadas de vancomicina que comprenden aminoácidos seleccionados entre arginina, alanina, ácido aspártico, histidina y glicina.

Adicionalmente, el documento JP 2010105965 A describe preparaciones de amidas ácidas solubles en agua que contienen vancomicina, tales como nicotinamida.

Por lo tanto, se han descrito una amplia variedad de excipientes para su uso en la formulación de cefalosporinas y glicopéptidos. Sin embargo, la literatura científica es a menudo contradictoria en cuanto a qué excipiente utilizar con un agente farmacéutico particular. Como resultado, la identificación de un excipiente o combinaciones de excipientes que mejora la estabilidad al almacenamiento de un glicopéptido de cefalosporina entrecruzado es particularmente desafiante ya que tales compuestos contienen tanto cefalosporina como fracciones de glicopéptido en la misma molécula.

## RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula I:



en el que x está en el intervalo de 1 a 2.

5 Se ha descubierto que estas sales de clorhidrato tienen una estabilidad en almacenamiento significativamente mejorada a temperatura ambiente y a temperatura refrigerada en comparación con la correspondiente sal de triclorhidrato. Además, se ha encontrado que la estabilidad al almacenamiento de tales sales de clorhidrato se mejora adicionalmente en composiciones que contienen sacarosa y glicina.

10 En una realización, x es 1, es decir, el compuesto de fórmula I es una sal monoclorhidrato. En otra realización, x es 2, es decir, el compuesto de fórmula I es una sal de diclorhidrato.

15 En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I. En una realización, la composición farmacéutica comprende un portador farmacéuticamente aceptable y un compuesto de fórmula I. En una realización particular, la composición farmacéutica contiene sacarosa y glicina.

En otra realización más, la composición farmacéutica comprende:

20 (a) un compuesto de fórmula I;

(b) 0,5 a 2,0 partes en peso de sacarosa; y

(c) 0,5 a 2,0 partes en peso de glicina (como el equivalente de base libre);

25 en la que las partes en peso de sacarosa y glicina se basan en la parte en peso del compuesto de fórmula I (como el equivalente de base libre).

30 En una realización particular, la composición farmacéutica es una composición liofilizada. En otra realización particular, la composición farmacéutica comprende 1,0 parte en peso de sacarosa; y 1,5 partes en peso de glicina. En otra realización particular, el cambio en la pureza del compuesto de fórmula I en la composición farmacéutica es inferior al 10%, según se mide mediante cromatografía líquida de alto rendimiento después de almacenamiento por 12 meses a una temperatura en el intervalo de desde 18 °C a 25 °C.

35 La presente invención encuentra utilidad en un método para tratar una infección bacteriana en un paciente usando un compuesto de fórmula I. En una realización, el método comprende administrar al paciente un compuesto de fórmula I. En otra realización, el método comprende administrar al paciente una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y un compuesto de fórmula I.

40 En otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I para uso en terapia. En una realización, el uso en terapia es para tratar una infección bacteriana.

Se puede proporcionar un compuesto de fórmula I para su uso en la fabricación de un medicamento. En una realización, el medicamento es para tratar una infección bacteriana.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un proceso para preparar un compuesto de fórmula I. En una realización, el proceso comprende las etapas de:

5 (a) formar una composición acuosa que comprende 26-[[[3-[(Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]-carbonil]-26-descarboxivancomicina y ácido clorhídrico en una proporción molar de 1:1 a 1:2;

(b) liofilizar la composición acuosa para proporcionar un compuesto de fórmula I.

10 En otro aspecto, la presente invención proporciona un producto producido mediante un proceso descrito aquí.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para reducir la degradación de 26-[[[3-[(Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-

15 oxoetilideno]-amino]oxi]propil]amino]-carbonil]-26-descarboxivancomicina durante el almacenamiento. En una realización, el método comprende (a) formar un compuesto de fórmula I y (b) almacenar el compuesto de fórmula I a una temperatura en el intervalo desde -25 °C a 25 °C. En otra realización, el compuesto de fórmula I se almacena de 2 °C a 8 °C.

20 En otra realización más, el método comprende almacenar una composición farmacéutica que comprende (a) un compuesto de fórmula I; (b) 0,5 a 2,0 partes en peso de sacarosa; y (c) 0,5 a 2,0 partes en peso de glicina (como el equivalente de base libre); en la que las partes en peso de sacarosa y glicina son por parte en peso del compuesto de fórmula I (como el equivalente de base libre), a una temperatura en el intervalo de desde -25 °C a 25 °C. En otra realización, la composición farmacéutica se almacena de 2 °C a 8 °C.

25 Se describen aquí otros aspectos y realizaciones de esta invención.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Diversos aspectos de la presente invención se ilustran haciendo referencia a los dibujos adjuntos.

30 La figura 1 muestra el cambio en la pureza (porcentaje) frente al tiempo (meses) para las sales mono, di y triclóhidrato de 26-[[[3-[(Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina almacenado a temperatura refrigerada.

35 La figura 2 muestra el cambio en la pureza (porcentaje) frente al tiempo (meses) para las sales mono, di y triclóhidrato del 26-[[[3-[(Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina almacenado a temperatura ambiente.

40 La figura 3 muestra el cambio en la pureza (porcentaje) frente al tiempo (meses) para las composiciones que contienen (a) sales mono, di o triclóhidrato de 26-[[[3-[(Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]-carbonil]-26-descarboxivancomicina; (b) sacarosa; y (c) glicina; donde la composición se ha almacenado a temperatura ambiente.

45 La figura 4 muestra el cambio en la pureza (porcentaje) frente al tiempo (meses) para la sal monoclóhidrato de 26-[[[3-[(Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina y una composición que contiene (a) la sal monoclóhidrato; (b) sacarosa; y (c) glicina; donde la sal monoclóhidrato y la composición se han almacenado a temperatura ambiente.

50 La figura 5 muestra el cambio en la pureza (porcentaje) frente al tiempo (meses) para la sal diclóhidrato de 26-[[[3-[(Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina y una composición que contiene (a) la sal de diclóhidrato; (b) sacarosa; y (c) glicina; donde la sal de diclóhidrato y la composición se han almacenado a temperatura ambiente.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

60 La presente invención se refiere a compuestos de fórmula I. Tales compuestos son sales de adición de ácido clorhídrico y 26-[[[3-[(Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]-carbonil]-26-descarboxivancomicina. En los compuestos de fórmula I, cualquier átomo capaz de ser protonado por el ácido clorhídrico (tal como un grupo amino o un grupo de ácido carboxílico) puede ser protonado para formar una sal y todas estas formas están incluidas dentro del alcance de esta invención a menos que se indique otra cosa.

## Definiciones

Quando se describe esta invención, los siguientes términos tienen los significados siguientes a menos que se indique otra cosa.

5 El término "sal farmacéuticamente aceptable" significa una sal que es aceptable para la administración a un paciente o un mamífero, tal como un ser humano (por ejemplo, sales que tienen una seguridad aceptable para mamíferos para un régimen de dosificación dado). Las sales farmacéuticamente aceptables representativas incluyen sales de ácido acético, ascórbico, bencenosulfónico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, edisílico, fumárico, 10 gentísico, glucónico, glucorónico, glutámico, hipúrico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, lactobiónico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, múxico, naftalenosulfónico, naftaleno-1,5-disulfónico, naftaleno-2,6-disulfónico, nicotínico, nítrico, orótico, pamóico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico y xinafóico y similares.

15 El término "temperatura refrigerada" significa una temperatura de aproximadamente 2 °C a aproximadamente 8 °C.

El término "temperatura ambiente" significa temperatura ambiente en un laboratorio de química, típicamente de aproximadamente 18 °C a aproximadamente 25 °C.

20 El término "cantidad terapéuticamente efectiva" significa una cantidad suficiente para efectuar el tratamiento cuando se administra a un paciente que necesita tratamiento.

El término "tratar" o "tratamiento" significa:

25 (a) prevenir que se produzca una enfermedad o condición médica, es decir, tratamiento profiláctico de un paciente o sujeto;

(b) mejorar una enfermedad o condición médica, es decir, eliminar o causar la regresión de la enfermedad o condición médica en un paciente;

30 (c) suprimir una enfermedad o condición médica, es decir, retardar o detener el desarrollo de la enfermedad o condición médica en un paciente; o

35 (d) aliviar los síntomas de una enfermedad o condición médica en un paciente.

## Procedimientos Sintéticos Generales

Los compuestos de fórmula I se preparan típicamente proporcionando o formando primero una composición acuosa que contiene 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina y desde 1 a 2 equivalentes molares de ácido clorhídrico. La composición acuosa se liofiliza a continuación para proporcionar un compuesto de fórmula I.

45 La composición acuosa se prepara típicamente añadiendo la cantidad apropiada de ácido clorhídrico acuoso diluido (tal como ácido clorhídrico acuoso 1 N) a una composición acuosa de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina. Generalmente, la composición acuosa que contiene el compuesto se analiza, por ejemplo, por HPLC para determinar la cantidad del compuesto presente en la solución acuosa. Una vez que se conoce la cantidad del compuesto, se añade la cantidad apropiada de ácido clorhídrico de modo que la composición acuosa resultante contiene de 1 a 2 equivalentes molares de ácido clorhídrico por equivalente molar de compuesto. Típicamente, el ácido clorhídrico se añade a una temperatura en el intervalo de desde -10 °C a 25 °C.

55 En algunos casos, la solución acuosa puede contener ya algo de ácido clorhídrico (por ejemplo, menos de 1 equivalente molar) y en tales casos, la cantidad de ácido clorhídrico ya presente en la solución acuosa se tiene en cuenta al añadir ácido clorhídrico adicional. Alternativamente, si la solución acuosa que contiene el 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina contiene más de 2 equivalentes de ácido clorhídrico, la solución acuosa puede neutralizarse con una base, tal como un bicarbonato alcalino o un carbonato alcalino, para ajustar la relación molar de ácido clorhídrico al compuesto para que esté en el intervalo de desde 1 a 2. A modo de ejemplo, se puede usar bicarbonato de sodio como base. La base se añade típicamente en forma de una solución acuosa diluida, por ejemplo, tal como una solución acuosa de bicarbonato de sodio al 5%. La base se añade típicamente a la solución acuosa a una temperatura en el intervalo de desde -10 °C a 25 °C.

65 Cuando se describen tales composiciones acuosas, se reconocerá que el ácido clorhídrico protona el compuesto de modo que la composición acuosa contiene la sal de adición ácida de ácido clorhídrico y el compuesto. Por lo tanto,

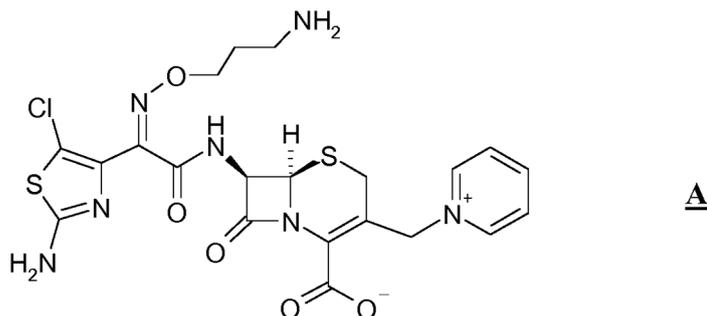
cualquier referencia a la proporción molar del compuesto a ácido clorhídrico se entenderá que se refiere a la proporción molar de los componentes en la forma de las sales de adición de ácido.

Una vez que se ha formado la composición acuosa que contiene el compuesto y desde 1 a 2 equivalentes molares de ácido clorhídrico, la composición acuosa se liofiliza típicamente para proporcionar un compuesto de fórmula I como un polvo liofilizado. La liofilización se lleva a cabo generalmente a una temperatura en el intervalo de desde -60 °C a -20 °C bajo presión reducida en el intervalo de desde 20 torr (mm Hg) a 100 torr, tal como 40 torr a 60 torr. La liofilización se lleva a cabo generalmente durante 48 horas a 200 horas o hasta que los componentes volátiles se eliminen sustancialmente. La liofilización proporciona el compuesto de fórmula I como un polvo liofilizado.

Alternativamente, el compuesto de fórmula I puede precipitarse y aislarse por filtración o centrifugación. Por ejemplo, se puede usar un exceso de un diluyente orgánico para precipitar el compuesto de fórmula I a partir de una composición acuosa. Los diluyentes orgánicos adecuados incluyen, a modo de ilustración, acetonitrilo, metanol, etanol y acetona. Si se desea, el precipitado se puede lavar opcionalmente con un diluyente orgánico adecuado. Por ejemplo, cuando se usa acetona para precipitar el compuesto de fórmula I, el precipitado resultante se lava opcionalmente con acetona y luego se seca. Típicamente, el procedimiento de aislamiento se lleva a cabo a una temperatura de 0 °C a 30 °C, típicamente en un intervalo entre 5 °C y 20 °C, y todas las etapas de filtración, lavado y secado se realizan bajo una atmósfera inerte, tal como nitrógeno o argón.

Procedimientos para preparar 26-[[[3-[[[Z]-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina son conocidos en la técnica. Por ejemplo, la preparación de este compuesto se describe en la Patente de Estados Unidos N° 6,974,797 B2 y Long et al., J. Antibiot. 61(10): 603-614 (2008).

A modo de ilustración, la vancomicina o una sal del mismo puede hacerse reaccionar con el compuesto A que tiene la fórmula:



o una sal del mismo, en presencia de un reactivo de acoplamiento peptídico para proporcionar 26-[[[3-[[[Z]-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]-carbonil]-26-descarboxivancomicina o una sal del mismo.

Típicamente, esta reacción se lleva a cabo poniendo en contacto vancomicina o una sal del mismo, con 1 a 1,1 equivalentes molares de un reactivo de acoplamiento peptídico en un diluyente, tal como DMF, DMSO, o una mezcla de los mismos. Esta reacción se lleva a cabo típicamente a una temperatura en el intervalo de -10 °C a 10 °C durante 10 minutos a 60 minutos o hasta que la reacción esté sustancialmente completa. Una solución de 0,9 a 1,1 equivalentes molares de compuesto A o una sal del mismo en un diluyente, tal como DMF, DMSO o una mezcla de los mismos, se añade entonces al derivado de vancomicina activado. Después de la adición del compuesto A, se añade una amina, tal como diisopropiletilamina, en una cantidad que varía de desde 2 a 10 equivalentes molares (tal como 5 equivalentes molares). La amina se añade típicamente a una tasa tal que la temperatura de reacción se mantiene en el intervalo de -10 °C a 5°C. La mezcla de reacción se mantiene típicamente a una temperatura en el intervalo de -10 °C a 5 °C durante 0,5 a 3 horas, o hasta que la reacción esté sustancialmente completa.

Se pueden usar diversos reactivos de acoplamiento de péptidos en esta reacción. Ejemplos representativos incluyen benzotriazol-1-iloxitripirrolidino fosfonio hexafluorofosfato (PyBOP) con o sin 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt); tetrafluoroborato de O-(6-cloro-1-hidrocibenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TCTU); hexafluorofosfato de O-(6-clorobenzotriazol-1-il)-N,N,N', N'-tetrametiluronio (HCTU); O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N', tetrafluoroborato de N'-tetrametiluronio (TBTU); cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolonio (DMTMM); 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDCI) con HOAt y dietilcianofosfonato (DECP). En una realización, el reactivo de acoplamiento peptídico es cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolonio.

Una vez completada la reacción de acoplamiento, el producto de reacción se aísla y purifica usando procedimientos convencionales, tales como precipitación y filtración, cromatografía en columna y HPLC.

El compuesto A es conocido en la técnica. Por ejemplo, el compuesto A puede prepararse como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 6,974,797 B2 (Ejemplo A, en la columna 27, línea 51 a la columna 30, línea 56) o en

Long et al., J. Antibiot. 61(10): 603-614 (2008) (C<sub>ox</sub> Synthon 18 en las páginas 611-612). Los procedimientos para preparar el compuesto A también se describen en los Ejemplos.

La vancomicina es también conocida en la técnica. Por ejemplo, el clorhidrato de vancomicina está comercialmente disponible de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO 63103) y de Haorui Pharma-Chem Inc. (Irvine, CA 92618).

Después de la preparación, el 26-[[[3-[[[*Z*]-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina empleado en la presente invención puede purificarse usando HPLC de fase reversa u otros métodos cromatográficos.

Por ejemplo, el compuesto puede purificarse usando resinas de poli(estireno-divinilbenceno) (PS-DVB). Típicamente, la resina PS-DVB empleada para purificar el compuesto es una resina rígida de tipo macroporoso que tiene un tamaño de poro que varía desde aproximadamente 100 angstroms a aproximadamente 1,000 angstroms y un tamaño de partícula que varía desde aproximadamente 10  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 50  $\mu\text{m}$ . Una resina representativa adecuada para su uso es PLRP-S (Agilent Technologies, Santa Clara CA 95051) que tiene un tamaño de poro de aproximadamente 100 angstroms y un tamaño de partícula de aproximadamente 50  $\mu\text{m}$ .

Generalmente, el eluyente usado para la purificación comprende una solución ácida acuosa que contiene cantidades variables de un disolvente orgánico polar. Los disolventes orgánicos polares representativos incluyen acetonitrilo, etanol, isopropanol y metanol. Los ácidos adecuados incluyen ácido acético, ácido trifluoroacético y ácido clorhídrico. El eluyente también puede contener un regulador, tal como un regulador de acetato o un regulador de fosfato. En una realización, el eluyente comprende un regulador de acetato acuoso (100 mM) que contiene acetonitrilo en cantidades que varían de 2% v/v a 13% v/v.

Dependiendo del procedimiento de purificación empleado, puede llevarse a cabo un intercambio de sales después de la purificación para proporcionar una sal de clorhidrato del compuesto. Por ejemplo, si el ácido empleado en el procedimiento de purificación es un ácido distinto del ácido clorhídrico (es decir, ácido acético o ácido trifluoroacético), se realiza típicamente un intercambio de sales para formar la sal del ácido clorhídrico.

El intercambio de sal se lleva a cabo generalmente usando una resina PS-DVB como se describe aquí para la purificación. La sal del compuesto se carga típicamente sobre la resina PS-DVB y después la resina se eluye con una solución acuosa de ácido clorhídrico que contiene cantidades variables de un disolvente orgánico polar. Los disolventes orgánicos polares representativos incluyen acetonitrilo, etanol, isopropanol y metanol. Generalmente, la cantidad de disolvente orgánico polar empleada oscilará entre el 10% v/v al 80% v/v; incluyendo 10% v/v hasta 50% v/v; tal como 10% v/v a 20% v/v. En una realización, el eluyente usado para el intercambio de sales comprende 10 mM de ácido clorhídrico acuoso que contiene acetonitrilo al 20% v/v.

#### Composiciones Farmacéuticas

Los compuestos de fórmula I se administran típicamente a un paciente en forma de una composición farmacéutica. Dichas composiciones farmacéuticas pueden contener cualquier portador o excipiente aceptable. La elección de un portador particular, o combinaciones de portadores, dependerá de diversos factores, tales como el modo de administración, la compatibilidad de los componentes y la estabilidad de la composición.

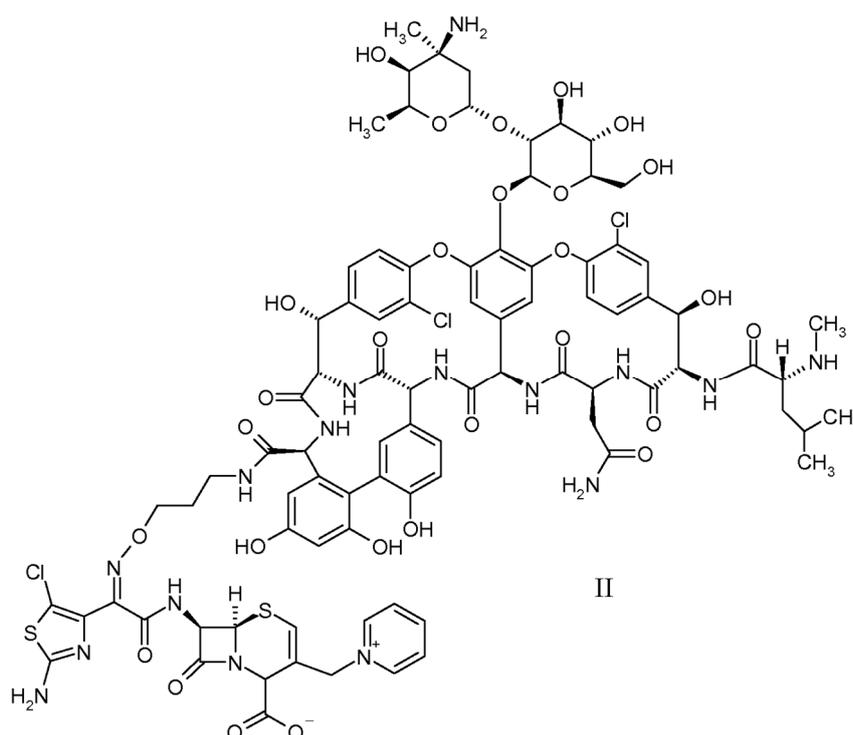
Las técnicas convencionales para preparar composiciones farmacéuticas son conocidas en la técnica y se describen, por ejemplo, en REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY (REMINGTON: THE SCIENCE & PRACTICE OF PHARMACY), Pharmaceutical Press, Philadelphia, PA; 21 Ed. (7 de octubre de 2011). Además, los ingredientes convencionales necesarios para tales composiciones están comercialmente disponibles, por ejemplo, de Sigma-Aldrich, St. Louis, MO 63178, y otros proveedores comerciales.

La composición farmacéutica se prepara típicamente mezclando o incorporando completa e íntimamente un compuesto de fórmula I con un portador farmacéuticamente aceptable y cualquier ingrediente opcional.

En una realización, la composición farmacéutica es adecuada para administración parenteral, particularmente administración intravenosa. Tales composiciones farmacéuticas comprenden típicamente una solución de soporte acuosa estéril, fisiológicamente aceptable, que contiene un compuesto de fórmula I. En una realización, la composición está libre de pirógenos. Opcionalmente, la solución portadora puede contener otros componentes, tales como azúcares, aminoácidos y electrolitos.

Los vehículos acuosos representativos fisiológicamente aceptables incluyen, a modo de ejemplo, Agua Estéril para Inyección, USP; Inyección de Dextrosa, USP (por ejemplo 2,5, 5,0, 10, 20% de dextrosa, incluyendo Inyección de Dextrosa al 5% (D5/W)); Inyección de Dextrosa y de Cloruro de Sodio, USP (por ejemplo, dextrosa que varía desde 2,5 a 10% y cloruro de sodio que varía desde 0,12 (19 mEq de sodio) a 0,9% (154 mEq de sodio)); Inyección de Manitol, USP, (por ejemplo, 5, 10, 15, 20 y 25% de manitol); Inyección de Ringer, USP (por ejemplo, 147 mEq de sodio, 4 mEq de potasio, 4,5 mEq de calcio y 156 mEq de cloruro por litro); Inyección de Lactato Ringer, USP (por

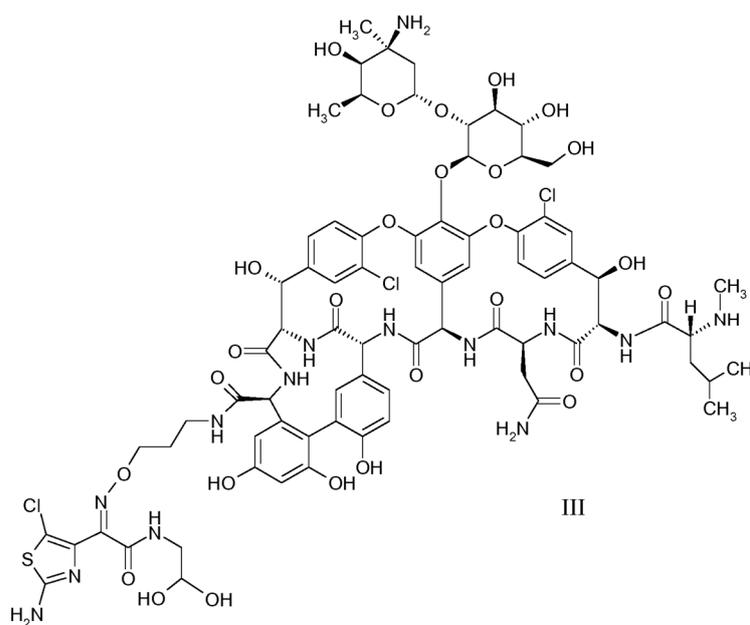




o una sal del mismo. Este compuesto se denomina también Degradante B. El compuesto de fórmula II es un isómero de doble enlace en el que el doble enlace en el anillo A de la fracción de cefalosporina se ha isomerizado desde la posición  $\Delta^3$  a la posición  $\Delta^2$ .

5 Se ha informado que los isómeros  $\Delta^2$  de los ácidos de cefalosporina son inactivos. Véase, por ejemplo, Crocker et al, J. Chem. Soc. (C), 1142 (1966); y Saab et al., J. Pharm. Sci., 77(10), 906 (1988). Por lo tanto, es importante minimizar la formación del isómero  $\Delta^2$  durante el almacenamiento del compuesto.

10 Se cree que otro degradante es un producto de hidrólisis que tiene la fórmula III:



15 o una sal del mismo. El compuesto de fórmula III también se denomina Degradante A.

Se ha descubierto ahora que los compuestos de fórmula I son más estables en comparación con la sal de triclorhidrato cuando se almacenan a temperatura ambiente o temperatura refrigerada durante 12 meses. Véase, por ejemplo, la Figura 1 y 2.

Además, los compuestos de fórmula I son más estables a temperatura ambiente cuando se formulan con sacarosa y glicina. Véase, por ejemplo, la Figura 3, 4 y 5.

5 En una realización, el cambio (o disminución) en la pureza del compuesto de fórmula I en la composición farmacéutica es menos que el 10% según se mide mediante cromatografía líquida de alto rendimiento ("HPLC") después de almacenamiento durante 12 meses a una temperatura en el intervalo de desde 18 °C a 25 °C (temperatura ambiente).

10 En otra realización, el área bajo la curva (AUC) para el compuesto de fórmula I disminuye por menos del 10% como se determinó por cromatografía líquida de alto rendimiento ("HPLC") después del almacenamiento de la composición farmacéutica durante 12 meses a una temperatura en el intervalo de desde 18 °C a 25 °C (temperatura ambiente).

En una realización particular, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende:

15 (a) un compuesto de fórmula I;

(b) 1,0 partes en peso de sacarosa; y

20 (c) 1,5 partes en peso de glicina (como el equivalente de base libre);

en la que las partes en peso de sacarosa y glicina se basan en la parte en peso del compuesto de fórmula I (como el equivalente de base libre); y en la que el cambio en la pureza del compuesto de fórmula I en la composición farmacéutica es menos que el 10% según se mide mediante cromatografía líquida de alto rendimiento después de almacenamiento durante 12 meses a una temperatura en el intervalo de desde 18 °C a 25 °C.

25 Utilidad

26-[[[3-[[[Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina y sus sales tienen utilidad como antibióticos o agentes bactericidas contra bacterias Gram-positivas, incluyendo organismos resistentes a múltiples fármacos tales como *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) y vancomicina intermedia *S. aureus* (VISA). Véase, por ejemplo, Leuthner et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 2010, 54(9):3799; Hegde et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012, 56(3):1578; Blais et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012, 56(3):1584; Tyrell et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012, 56(4):2194.

35 La concentración inhibitoria mínima (MIC) de los compuestos de fórmula I frente a diversas bacterias y cepas bacterianas puede determinarse usando procedimientos estándar, tales como los publicados por el Clinical and Laboratories Standards Institute (CLSI) (Wayne, PA 19087). Véase, por ejemplo, CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Ninth Edition.* CLSI Document M07A9.. Wanye, PA: Clinical and Laboratories Standards Institute; 2012.

40 Los compuestos de fórmula I se administran típicamente en una cantidad terapéuticamente efectiva por cualquier vía de administración aceptable. Típicamente, los compuestos se administran parenteralmente, tal como por vía intravenosa. Los compuestos se pueden administrar en una sola dosis diaria o en dosis múltiples por día. El régimen de tratamiento puede requerir administración durante largos períodos de tiempo, por ejemplo, durante varios días o de una a seis semanas o más. La cantidad de compuesto administrado por dosis o la cantidad total administrada se determinará típicamente por parte del médico del paciente y dependerá de factores tales como la naturaleza y gravedad de la infección, la edad y estado general del paciente, la tolerancia del paciente al compuesto, el(los) microorganismo (s) que causa(n) la infección y la vía de administración.

50 Las dosis representativas oscilan entre 0,25 y 2,5 mg/kg/día del compuesto de fórmula I (equivalente de base libre), incluyendo desde 1 a 2 mg/kg/día. En una realización, el compuesto de fórmula I se administra a una dosis de 2 mg/kg/día (equivalente de base libre). Un régimen de tratamiento representativo consiste en administrar un compuesto de fórmula I una vez al día a una dosis de 2 mg/kg/día (equivalente de base libre) durante un período de 7 a 14 días.

Cuando se administra en un portador acuoso fisiológicamente aceptable, el compuesto de fórmula I se administra típicamente de manera intravenosa al paciente durante un periodo de 0,5 h a 2 h, tal como durante 1 h.

60 Las infecciones representativas o afecciones médicas relacionadas con bacterias que se pueden tratar o prevenir con un compuesto de fórmula I incluyen, a modo de ejemplo, infecciones causadas por bacterias Gram-positivas, incluyendo infecciones de la piel y de la estructura de la piel, neumonía, endocarditis, meningitis, infecciones del tracto urinario, infecciones del torrente sanguíneo y osteomielitis. Cuando se tratan estas condiciones, el paciente puede ya estar infectado con el microorganismo que va a ser tratado o puede ser susceptible a la infección, en cuyo caso el agente antibiótico se administra profilácticamente.

65

**EJEMPLOS**

Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar diversas realizaciones y aspectos representativos de esta invención y no pretenden limitar el alcance de esta invención de ninguna manera a menos que se indique específicamente.

El clorhidrato de vancomicina se adquirió de Haorui Pharma-Chem Inc., Irvine, California, EE.UU. Se adquirió cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (DMTMM) de Ubichem Plc, Hampshire, Reino Unido. 1-[[[(6R,7R)-7-Amino-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-il]metil]piridinio cloruro de monoclóridato (7-PYCA) se adquirió de Zhejiang Hengdian Apelo Imp. & Exp. Co., Ltd., Zhejiang, China, y Aurisco Pharmaceuticals Limited, Shanghai, China; o puede prepararse mediante el procedimiento, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N° 4,258,041, o mediante otros procedimientos publicados. Todos los demás reactivos, materiales de partida y disolventes usados en los siguientes ejemplos se adquirieron de proveedores comerciales (tales como Sigma-Aldrich Chemical Company, St. Louis, MO) y se usaron sin purificación adicional a menos que se indique lo contrario.

Se utilizan las siguientes abreviaturas: DMF = N,N-dimetilformamida; DMSO = dimetilsulfóxido; h = horas; y min = minutos.

**Ejemplo 1**

Método de HPLC para determinar la pureza de 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]-propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina

**Muestras**

Las muestras de pruebas se analizaron con respecto a 26-[[[3-[[[(Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina y sus productos de degradación usando un sistema de HPLC con un detector de arreglo de fotodiodos (Agilent 1100 o 1200 HPLC System, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA 95051) controlado con software de datos de cromatografía (Empower Software, Waters Corporation, Milford, MA 01757). Todos los disolventes eran de grado HPLC y se compraron a Honeywell Burdick & Jackson (Muskegon, MI 49442). El ácido fosfórico (85% p/p) y el dihidrogenofosfato de sodio fueron de grado HPLC y se adquirieron de Fluka (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO 63103). Todos los reactivos se usaron sin purificación adicional.

Las muestras de prueba se filtraron a través de un filtro de fluoruro de polivinilideno (PVDF) de 0,2 µm antes del análisis y se descartó el primer 1 mL. Las condiciones de análisis por HPLC se resumen en la Tabla A.

Tabla A

Condiciones de análisis por HPLC			
Columna	Columna Advanced Materials Technology Halo C18, 2,7µm, 4.6 x 150 mm		
Temperatura de muestreador automático	5,0 °C		
Temperatura de columna	30,0 °C		
Longitud de onda	214 nm		
Fase Móvil A	2:98 acetonitrilo:agua p/65 mM regulador de fosfato pH = 2,0		
Fase Móvil B	60:40 acetonitrilo:agua p/65 mM regulador de fosfato pH = 2,0		
Solvente de Muestra	2:98 acetonitrilo:agua p/65 mM regulador de fosfato pH = 3,2		
Concentración de la Muestra	0,25 mg/mL		
Volumen de Inyección	7 µL		
Rata de flujo	1.00 mL/min		
Gradiente	Tiempo (min)	Fase Móvil A	Fase Móvil B
	0	92,0 % v/v	8,0 % v/v
	93,0	70,0	30,0
	98,0	45,0	55,0



Condiciones de Análisis por GC			
Inicial	---	30	0
Rampa 1	2	60	15
Rampa 2	10	140	23
Rampa 3	1	143	26
Rampa 4	10	160	29.7
Válvula	200 °C; 10:1 relación de división		
Muestreador de espacio de cabeza	Horno de espacio de cabeza = 85 °C Temperatura de bucle = 100 °C Línea de transferencia = 110 °C Tiempo de equilibrio del Vial = 10 min, en agitación alta Presurización del Vial = 11 psi (He) Bucle de muestra 1 mL		
Detector	FID, 300° C Flujo de Hidrógeno = 30 mL/min Flujo de Aire = 400 mL/min Gas nitrógeno de compensación a 30 mL/min		

Los tiempos de retención de GC para disolventes típicos con relación al estándar interno de 1-butanol se muestran en la Tabla D. El 1-butanol se eluye típicamente a aproximadamente 19,0 min.

5

Tabla D

Tiempos de Retención Relativos de GC en comparación con a 1-Butanol	
Disolvente	Tiempo Relativo de Retención
Acetona	0,45
Acetonitrilo	0,50
1-Butanol	1,00
Sulfóxido de Dimetilo	1,38
Metil <i>tert</i> -butil éter	0,57

La cantidad de disolvente residual en una muestra de prueba se determinó comparando las áreas pico de la muestra con las de los estándares de referencia.

10

## Ejemplo 3

Preparación de 3-Bromopropilcarbamato de *tert*-butilo

15

A una solución de hidróxido de sodio (105 g, 2,625 mol) en agua (1,15 L) mantenida a una temperatura de o ligeramente por debajo de 10 °C se añadió una solución de dicarbonato de di-*tert*-butilo (229 g, 1,05 mol) en heptano (1,03 L). El matraz que contenía la solución de dicarbonato de di-*tert*-butilo se enjuagó con heptano (125 mL) y se añadió el enjuague a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se enfrió a una temperatura de o ligeramente por debajo de 10 °C y se añadió gota a gota una solución de bromhidrato de 3-bromopropilamina (251 g, 1,15 moles) en agua (250 mL) a una rata que permitió que la temperatura de reacción interna fuera mantenida por debajo de aproximadamente 20 °C. El matraz que contenía la solución de bromhidrato de 3-bromopropilamina se enjuagó con agua (20 ml) y el enjuague se añadió a la mezcla de reacción. Una vez completada la adición, la mezcla de reacción se dejó calentar lentamente hasta temperatura ambiente (aproximadamente 22 °C) y la agitación se continuó durante aproximadamente 2 h a temperatura ambiente. La agitación se interrumpió y la mezcla se dejó reposar durante 30 min. La capa acuosa inferior se separó de la capa orgánica y se desechó. A la capa orgánica se añadió una solución acuosa saturada de cloruro de sodio (250 mL) y la mezcla resultante se agitó durante 5 min. La mezcla se dejó reposar durante 30 minutos y la capa acuosa inferior se separó y se desechó. La capa orgánica se concentró hasta un volumen de aproximadamente 350 mL y esta solución concentrada se enfrió a 5 °C y se agitó durante 4 h a 5 °C.

20

25

El precipitado resultante se recogió por filtración al vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido cristalino blanco (211 g, 84% de rendimiento). El filtrado se concentró y la solución concentrada se enfrió a 5 °C y se agitó durante 4 h a 5 °C. El precipitado adicional resultante se recogió por filtración al vacío para proporcionar una cantidad adicional del compuesto del título (17 g, 6,8% de rendimiento). <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 1,38 (s, 9H).

#### Ejemplo 4

##### Preparación de (2Z)-2-(2-Aminotiazol-4-il)-2-(3-N-tert-butoxicarbonilaminopropoxiimino)acetato de etilo

A una mezcla de 2-amino- $\alpha$ -(hidroxiimino)-4-tiazolacetato de etilo (139,9 g, 650 mmol), 3-bromopropilcarbarnato de tert-butilo (209,0 g, 877,5 mmol) y carbonato de potasio en polvo (157,2 g, 1137,5 mmol) se añadió DMF (550 mL) y agua (24,4 mL). La mezcla resultante se agitó a 30 °C durante aproximadamente 11 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadieron acetato de etilo (2,3 L) y agua (1,7 L) y la mezcla resultante se agitó durante 5 min. La mezcla se dejó reposar durante 60 minutos y la capa inferior (capa acuosa) se separó y se desechó. Se añadió una solución acuosa de bicarbonato de sodio (10% en peso, 600 mL) y la mezcla resultante se agitó durante 5 min. La mezcla se dejó reposar durante 60 minutos y la capa inferior (capa acuosa) se separó y se desechó. Se añadió una solución acuosa de cloruro de sodio (10% en peso, 600 mL) y la mezcla resultante se agitó durante 5 min. La mezcla se dejó reposar durante 60 minutos y la capa inferior (capa acuosa) se separó y se desechó. La capa orgánica se concentró hasta un volumen de aproximadamente 600 mL. Se añadieron hexanos (250 mL) gota a gota al concentrado con agitación suave a 0 °C durante 1 h para formar un precipitado. El precipitado se recogió por filtración al vacío para dar el compuesto del título (232 g, 96% de rendimiento) como un sólido cristalino blanquecino. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 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).

Si se desea, el producto se puede recrystalizar. El material bruto de varios lotes (1,0 kg, 91,2% de pureza) se disolvió en acetato de etilo (2 L) a 60 °C y se añadió lentamente heptano (1 L). La solución resultante se calentó a 60 °C durante 1 h con agitación, tiempo durante el cual se formó un precipitado. La mezcla se dejó enfriar lentamente a temperatura ambiente. El precipitado se recogió por filtración al vacío bajo nitrógeno seco, se lavó con una mezcla de heptano y EtOAc (1 L, 3:1) y se secó al vacío durante una noche para dar el compuesto del título (770 g, 98,3% de pureza).

#### Ejemplo 5

##### Preparación de ácido (2Z)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(3-N-tert-butoxicarbonilaminopropoxiimino)acético

A una solución de (2Z)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(3-N-tert-butoxicarbonilaminopropoxiimino)acetato de etilo (232,0 g, 622,9 mmol) en etanol absoluto (1,63 L) se añadió gota a gota una solución de hidróxido de sodio (29,9 g, 747,4 mmol) en agua (748 mL). La mezcla resultante se calentó a 35 °C durante aproximadamente 8 h. La mezcla se enfrió entonces a aproximadamente -5 °C y se añadió gota a gota ácido trifluoroacético (aproximadamente 10 mL) hasta que el pH de la mezcla fue de aproximadamente 6,0. La mezcla se concentró entonces al vacío para eliminar la mayor parte de los componentes volátiles y se añadió etanol absoluto (500 ml). La mezcla resultante se concentró de nuevo para eliminar el agua a través de un azeótropo. Este procedimiento se repitió de nuevo añadiendo etanol absoluto (500 ml) concentrando posteriormente para dar el compuesto del título que se usó en la siguiente reacción sin ningún aislamiento o purificación adicional.

#### Ejemplo 6

##### Preparación de sal de trietilamina de ácido (2Z)-2-(2-amino-5-clorotiazol-4-il)-2-(3-N-tert-butoxicarbonilaminopropoxiimino)acético

Se añadió acetato de etilo (2,0 L) a una mezcla de ácido (2Z)-2-(2-aminotiazol-4-il)-2-(3-N-tert-butoxicarbonilaminopropoxiimino)acético (aproximadamente 213 g, 627 mmol) en metanol (200 mL) para formar una suspensión. Se añadió N-clorosuccinimida (108,0 g, 815 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Se añadieron agua (2,5 L), cloruro de sodio (514 g) y ácido trifluoroacético (93 mL, 1254 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante 15 min. La mezcla se dejó reposar durante 1 h y luego la capa acuosa inferior se separó y se desechó. La capa orgánica se concentró al vacío hasta un volumen de aproximadamente 500 mL. Se añadió acetonitrilo (1,0 L) y la mezcla se concentró al vacío. Esto se repitió añadiendo de nuevo acetonitrilo (1,0 L) y concentrando la mezcla al vacío hasta un volumen de aproximadamente 600 mL. Después, la mezcla se filtró a través de tierra de diatomeas (Celite). Se añadió trietilamina (350 mL, 2508 mmol) y la mezcla se enfrió a 0 °C, momento en el que se formó un precipitado. El precipitado se recogió por filtración al vacío, se lavó con acetonitrilo (165 mL) y se secó a temperatura ambiente al vacío para dar el compuesto del título (224 g, 79% de rendimiento) como un sólido cristalino marrón claro. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) 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).

## Ejemplo 7

Preparación de clorhidrato de 1-[[[(6R,7R)-7-[[[(2Z)-(2-amino-5-cloro-4-tiazolil)](3-N-tert-butoxicarbonilaminopropoxi)imino]acetil]amino]-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-1]metil]piridinio

5 A una mezcla de sal de trietilamina de ácido acético (2Z)-2-(2-amino-5-clorotiazol-4-il)-2-(3-N-tert-butoxicarbonilaminopropoxiimino) (44,88 g, 93,5 mmol) en dimetilacetamida (300 mL) a 20 °C se añadió ditiobis (benzotiazol) (32,7 g, 98,2 mmol). Se añadió trifenilfosfina (25,8 g, 98,2 mmol) (ligera exotermia) y la mezcla resultante se agitó durante 30 min a temperatura ambiente, tiempo durante el cual la mezcla de reacción se convirtió en una solución cristalina de color marrón rojizo. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió diisopropiletamina (14,8 ml, 85 mmol). La mezcla resultante se agitó durante aproximadamente 5 min y después se añadió monoclóridato de cloruro de 1-[[[(6R,7R)-7-amino-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-il]metil]piridinio (7-PYCA) (34,00 g, 85,0 mmol). La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 16 h y después se añadió lentamente una solución de ácido clorhídrico en 1,4-dioxano (4,0 M, 44,6 mL, 178,5 mmol) mientras se mantenía la temperatura interna de la mezcla de reacción entre aproximadamente 0 °C a aproximadamente 5 °C. La mezcla resultante se agitó durante aproximadamente 20 minutos y luego se filtró a través de papel de filtro. A continuación, el filtrado se añadió lentamente durante un periodo de 30 min a acetato de etilo (2,5 L) a temperatura ambiente para formar un precipitado. La suspensión resultante se agitó durante aproximadamente 1 h a temperatura ambiente y luego el precipitado se recogió por filtración bajo una atmósfera de nitrógeno seco. La torta húmeda se lavó con acetato de etilo (1 x 300 mL) y metil tert-butil éter (1 x 300 mL), luego se secó bajo una corriente de nitrógeno seco durante aproximadamente 25 min. El material se secó entonces en un horno de vacío durante 4 h a temperatura ambiente para proporcionar el compuesto del título (56,6 g, aproximadamente 85% de pureza).

## Ejemplo 8

Preparación de diclorhidrato de 1-[[[(6R,7R)-7-[[[(2Z)-(2-Amino-5-cloro-4-tiazolil)](3-aminopropoxi)imino]acetil]amino]-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-1]metil]piridinio

30 A metanol (187,5 mL, 4751,9 mmol) a -10 °C se añadió cloruro de acetilo (138,8 mL, 1952,1 mmol) gota a gota a una tasa suficiente para mantener la temperatura interna a o por debajo de 15 °C. Después de la adición, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se añadió entonces gota a gota a una mezcla de clorhidrato de 1-[[[(6R,7R)-7-[[[(2Z)-(2-amino-5-cloro-4-tiazolil)](3-N-tert-butoxicarbonilaminopropoxi)imino]acetil]amino]-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-1]metil]piridinio (50,0 g, 65,1 mmol) en metanol (187,5 mL) enfriada a -10 °C. La adición se llevó a cabo a una velocidad suficiente para mantener la temperatura interna de la mezcla de reacción a o por debajo de 0 °C. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante aproximadamente 6 h y después se añadió gota a gota a acetona (1,50 L). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y después el precipitado se recogió por filtración bajo una atmósfera de nitrógeno seco. La torta húmeda se lavó con una mezcla 1:1 v/v de alcohol isopropílico y acetato isopropílico (1 x 600 mL) y luego con metil tert-butil éter (1 x 600 mL). El material se secó entonces en un horno de vacío (con una purga de nitrógeno) a temperatura ambiente durante aproximadamente 4 h para proporcionar el compuesto del título (33,34 g, aproximadamente 93,1% de pureza). Una segunda cosecha del compuesto del título se aisló también del filtrado de una manera similar (2,6 g, aproximadamente 90,6% de pureza).

## Ejemplo 9

Preparación de triclorhidrato de 26-[[[3-[[[Z]-[1-(2-Amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina

50 A una solución agitada de clorhidrato de vancomicina (56,56 g, 38,07 mmol) en una mezcla de DMSO (280,0 mL) y DMF (218,4 mL) a 0 °C se añadió una suspensión de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (12,04 g, 43,51 mmol) en DMSO (30,80 mL) y DMF (30,80 mL). La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante aproximadamente 20 minutos y después se añadió una mezcla de diclorhidrato de 1-[[[(6R,7R)-7-[[[(2Z)-(2-amino-5-cloro-4-tiazolil)](3-aminopropoxi)imino]acetil]amino]-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-1]metil]piridinio (28,00 g, 31,4 mmol) en DMSO (30,80 mL) y DMF (92,40 mL). La mezcla resultante se enfrió a -10 °C y se agitó durante 10 minutos. A esta mezcla se añadió N,N-diisopropiletamina (DIPEA) (27,58 mL, 158,34 mmol) a una tasa que permitió mantener la temperatura de reacción por debajo de -5 °C. Después de la adición completa de DIPEA, la mezcla de reacción se agitó entre -10 °C y por aproximadamente 1 hora (momento en el que el análisis por HPLC mostró que la reacción estaba sustancialmente completa). A la mezcla de reacción se añadió ácido clorhídrico acuoso 1 N (186,76 mL) a una tasa que permitió mantener la temperatura de reacción por debajo de 0 °C. Después de la adición completa del ácido clorhídrico, la mezcla de reacción se calentó a 10 °C y se añadió una mezcla de acetonitrilo (560,0 ml) y agua (92,40 mL). A continuación se añadió acetona (1,40 L) a la mezcla de reacción durante un periodo de aproximadamente 1 hora y la suspensión resultante se agitó durante aproximadamente 30 minutos. La suspensión se filtró entonces bajo nitrógeno para recoger el sólido (torta húmeda). La torta húmeda se lavó con acetona (621,60 mL) y se purgó con nitrógeno hasta que se secó. Se añadió acetona (621,60 mL) a la torta húmeda y la mezcla resultante se agitó para formar una suspensión y luego se filtró bajo



El análisis de viales representativos mostró que las muestras tenían un contenido de agua de 1,7% (Karl Fisher), disolvente residual (acetonitrilo) de 0,6% (análisis por GC) y una pureza de 90,4% (análisis por HPLC).

B. Sal de monoclóhidrato (fórmula I, x es aproximadamente 1), sacarosa y glicina

A una solución de monoclóhidrato de 26-[[[3-[[[Z]-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina (75 mL, 13,0 mg/mL, 975 mg) se añadieron sacarosa (975 mg) y glicina (1,46 g). La mezcla se agitó hasta que los materiales se disolvieron. El pH de la solución resultante fue 6,7.

Se colocaron muestras (2 mL cada una) de esta solución en 21 viales con tapones de goma ventilados. Los viales se liofilizaron a -40 °C al vacío (40-60 mTorr) durante aproximadamente 5 días para dar 21 viales que contenían la sal de monoclóhidrato (26 mg como equivalente de base libre), sacarosa (26 mg) y glicina (39 mg) como un polvo liofilizado.

El análisis de viales representativos mostró que las muestras tenían un contenido de agua de 0,5% (Karl Fisher), disolvente residual (acetonitrilo) de 0,6% (análisis por GC) y una pureza de 90,4% (análisis por HPLC).

C. Sal de diclorhidrato (fórmula I, donde x es aproximadamente 2)

Las muestras (2 mL cada una) de una solución salina de intercambio de diclorhidrato de 26-[[[3-[[[Z]-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]-carbonil]-26-descarboxivancomicina (124 mL, 13,0 mg/mL) con un pH de 4,4 se colocaron en 21 viales con tapones de goma ventilados. Los viales se liofilizaron a -40 °C al vacío (40-60 mTorr) durante aproximadamente 6 días para dar 21 viales que contenían la sal de diclorhidrato (26 mg como equivalente de base libre) como un polvo liofilizado.

El análisis de viales representativos mostró que las muestras tenían un contenido de agua de 1,1% (Karl Fisher), disolvente residual (acetonitrilo) de 0,3% (análisis por GC) y una pureza de 90,1% (análisis por HPLC).

D. Sal de diclorhidrato (fórmula I, donde x es aproximadamente 2), sacarosa y glicina

A una solución salina de intercambio de diclorhidrato de 26-[[[3-[[[Z]-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina (150 mL, 13,0 mg/mL, 1,95 g) a pH 4,27 se añadió sacarosa (1,95 g) y la mezcla se agitó hasta que la sacarosa se disolvió. A esta solución (104 mL) se añadió glicina (2,03 g). La mezcla se agitó hasta que la glicina se disolvió.

Se colocaron muestras (2 mL cada una) de esta solución en 21 viales con tapones de goma ventilados. Los viales se liofilizaron a -40 °C al vacío (40-60 mTorr) durante aproximadamente 6 días para dar 21 viales que contenían la sal de diclorhidrato (26 mg como equivalente de base libre), sacarosa (26 mg) y glicina (39 mg) como un polvo liofilizado.

El análisis de viales representativos mostró que las muestras tenían un contenido de agua de 0,5% (Karl Fisher), disolvente residual (acetonitrilo) de 0,8% (análisis por GC) y una pureza de 90,6% (análisis por HPLC).

E. Sal de triclorhidrato (fórmula I, donde x es aproximadamente 3)

El pH de una solución salina de intercambio de 26-[[[3-[[[Z]-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina se ajustó a un pH 2,0 mediante la adición de ácido clorhídrico acuoso 1N.

Se colocaron muestras (2 mL cada una) de esta solución en 21 viales con tapones de goma ventilados. Los viales se liofilizaron a -40 °C al vacío (40-60 mTorr) durante aproximadamente 6 días para dar 21 viales que contenían la sal de triclorhidrato (26 mg como equivalente de base libre) como un polvo liofilizado.

El análisis de viales representativos mostró que las muestras tenían un contenido de agua de <0,8% (Karl Fisher), disolvente residual (acetonitrilo) de 0,3% (análisis por GC) y una pureza del 84,5% (análisis por HPLC).

F. Sal de triclorhidrato (fórmula I, donde x es aproximadamente 3), sacarosa y glicina

El pH de una solución de diclorhidrato de 26-[[[3-[[[Z]-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-descarboxivancomicina (13,0 mg/mL), sacarosa (13,0 mg/mL) y glicina (19,5 mg/mL) se ajustó a un pH de 2,0 añadiendo gota a gota ácido clorhídrico acuoso 1N.

Se colocaron muestras (2 mL cada una) de esta solución en 21 viales con tapones de goma ventilados. Los viales se liofilizaron a -40 °C al vacío (40-60 mTorr) durante aproximadamente 5 días para dar 21 viales que contenían la sal de triclorhidrato (26 mg como equivalente de base libre), sacarosa (26 mg) y glicina (39 mg) como un polvo liofilizado.

El análisis de viales representativos mostró que las muestras tenían un contenido de agua de 0,5% (Karl Fisher), disolvente residual (acetonitrilo) de 0,1% (análisis por GC) y una pureza de 91,3% (análisis por HPLC).

Ejemplo 13

Almacenamiento y análisis de muestras para estabilidad

Se prepararon dos bastidores que contenían seis viales de cada tipo de muestra de estabilidad (Ejemplos 12A-F, 6 x 6 = 36 viales). Un bastidor fue almacenado protegido de la luz en un cajón a temperatura ambiente y el otro bastidor se almacenó en un refrigerador a 2 a 8 °C. Un vial representativo de cada tipo de muestra de estabilidad se analizó por HPLC después del almacenamiento durante 1, 3, 6 y 12 meses para determinar la pureza. Los resultados se muestran en las Tablas 1-6.

Tabla 1

Estabilidad en almacenamiento de compuestos de fórmula I a temperatura refrigerada						
Tiempo (M) <sup>1</sup>	Monoclorhidrato		Diclorhidrato		Triclorhidrato	
	Pureza (%) <sup>2</sup>	$\Delta$ <sup>3</sup>	Pureza (%)	$\Delta$	Pureza (%)	$\Delta$
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

<sup>1</sup> Tiempo en meses.  
<sup>2</sup> Pureza de la muestra con base en porcentaje de área de HPLC.  
<sup>3</sup> Cambio en el porcentaje de pureza desde tiempo = 0.

Los datos de la Tabla 1 muestran que la pureza de la sal de triclorhidrato (fórmula I, donde x es aproximadamente 3) disminuyó significativamente más que las sales de mono o diclorhidrato cuando las sales se almacenaron a 2 a 8 °C durante 12 meses. La sal de triclorhidrato disminuyó en pureza en un 8,6% en comparación con 3,0% y 2,9% para las sales de mono y diclorhidrato, respectivamente. Estos resultados se muestran en la figura 1.

Tabla 2

Estabilidad en almacenamiento de compuestos de fórmula I a temperatura ambiente						
Tiempo (M) <sup>1</sup>	Monoclorhidrato		Diclorhidrato		Triclorhidrato	
	Pureza (%) <sup>2</sup>	$\Delta$ <sup>3</sup>	Pureza (%)	$\Delta$	Pureza (%)	$\Delta$
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

<sup>1</sup> Tiempo en meses.  
<sup>2</sup> Pureza de la muestra con base en porcentaje de área de HPLC  
<sup>3</sup> Cambio en el porcentaje de pureza desde tiempo = 0.

Los datos de la Tabla 2 muestran que la pureza de la sal de triclorhidrato (fórmula I, donde x es aproximadamente 3) disminuyó significativamente más que la sal de mono o diclorhidrato cuando las sales se almacenaron a temperatura ambiente durante 12 meses. La sal de triclorhidrato disminuyó en pureza en un 34,2% en comparación con el 23,4% y el 20,5% para las sales de mono y diclorhidrato, respectivamente. Estos resultados se muestran en la figura 2.

Tabla 3

Estabilidad en almacenamiento de compuestos de fórmula I a temperatura refrigerada en una composición que contiene sacarosa y glicina						
Tiempo (M) <sup>1</sup>	Monoclorhidrato		Diclorhidrato		Triclorhidrato	
	Pureza (%) <sup>2</sup>	$\Delta$ <sup>3</sup>	Pureza (%)	$\Delta$	Pureza (%)	$\Delta$
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
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

<sup>1</sup> Tiempo en meses.  
<sup>2</sup> Pureza de la muestra con base en porcentaje de área de HPLC.  
<sup>3</sup> Cambio en el porcentaje de pureza desde tiempo = 0.

- 5 Los datos de la Tabla 3 muestran que la pureza de las sales de mono, di y triclorhidrato (fórmula I, donde x es aproximadamente 1, 2 y 3, respectivamente) disminuyó en un porcentaje similar cuando las sales se formularon con sacarosa y glicina y se almacenaron a 2-8 °C durante 12 meses. Las sales de mono, di y triclorhidrato disminuyeron en pureza un 1,9%, 2,9% y 1,2%, respectivamente.

Tabla 4

Estabilidad en almacenamiento de compuestos de fórmula I a temperatura ambiente en una composición que contiene sacarosa y glicina						
Tiempo (M) <sup>1</sup>	Monoclorhidrato		Diclorhidrato		Triclorhidrato	
	Pureza (%) <sup>2</sup>	$\Delta$ <sup>3</sup>	Pureza (%)	$\Delta$	Pureza (%)	$\Delta$
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

<sup>1</sup> Tiempo en meses.  
<sup>2</sup> Pureza de la muestra con base en porcentaje de área de HPLC.  
<sup>3</sup> Cambio en el porcentaje de pureza desde tiempo = 0.

- 10 Los datos de la Tabla 4 muestran que la pureza de la sal de triclorhidrato (fórmula I, donde x es aproximadamente 3) disminuyó significativamente más que la de las sales de mono o diclorhidrato cuando las sales se formularon con sacarosa y glicina y se almacenaron a temperatura ambiente durante 12 meses. La sal de triclorhidrato disminuyó en pureza un 26,3% en comparación con el 8,9% y el 6,8% para las sales de mono y diclorhidrato, respectivamente. Estos resultados se muestran en la figura 3.
- 15

Tabla 5

Estabilidad en almacenamiento de la sal monoclorhidrato (fórmula I, donde x es aproximadamente 1) a temperatura ambiente				
Tiempo (M) <sup>1</sup>	Mono HCl		Mono HCl + Sacarosa + Glicina	
	Pureza (%) <sup>2</sup>	$\Delta$ <sup>3</sup>	Pureza (%)	$\Delta$
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

Estabilidad en almacenamiento de la sal monoclóhidrato (fórmula I, donde x es aproximadamente 1) a temperatura ambiente				
Tiempo (M) <sup>1</sup>	Mono HCl		Mono HCl + Sacarosa + Glicina	
	Pureza (%) <sup>2</sup>	$\Delta$ <sup>3</sup>	Pureza (%)	$\Delta$
12	67,0	-23,4	81,5	-8,9

<sup>1</sup> Tiempo en meses.  
<sup>2</sup> Pureza de la muestra con base en porcentaje de área de HPLC.  
<sup>3</sup> Cambio en el porcentaje de pureza desde tiempo = 0.

5 Los datos de la Tabla 5 muestran que la pureza de la sal de monoclóhidrato (fórmula I, donde x es aproximadamente 1) disminuyó significativamente menos cuando la sal se formuló con sacarosa y glicina y se almacenó a temperatura ambiente durante 12 meses. La sal de monoclóhidrato disminuyó en pureza un 23,4% en comparación con el 8,9% para el monoclóhidrato formulado con sacarosa y glicina. Estos resultados se muestran en la figura 4.

Tabla 6

Estabilidad en almacenamiento de la sal de diclorhidrato (Fórmula I, donde x es aproximadamente 2) a temperatura ambiente				
Tiempo (M) <sup>1</sup>	Di HCl		Di HCl + Sacarosa + Glicina	
	Pureza (%) <sup>2</sup>	$\Delta$ <sup>3</sup>	Pureza (%)	$\Delta$
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

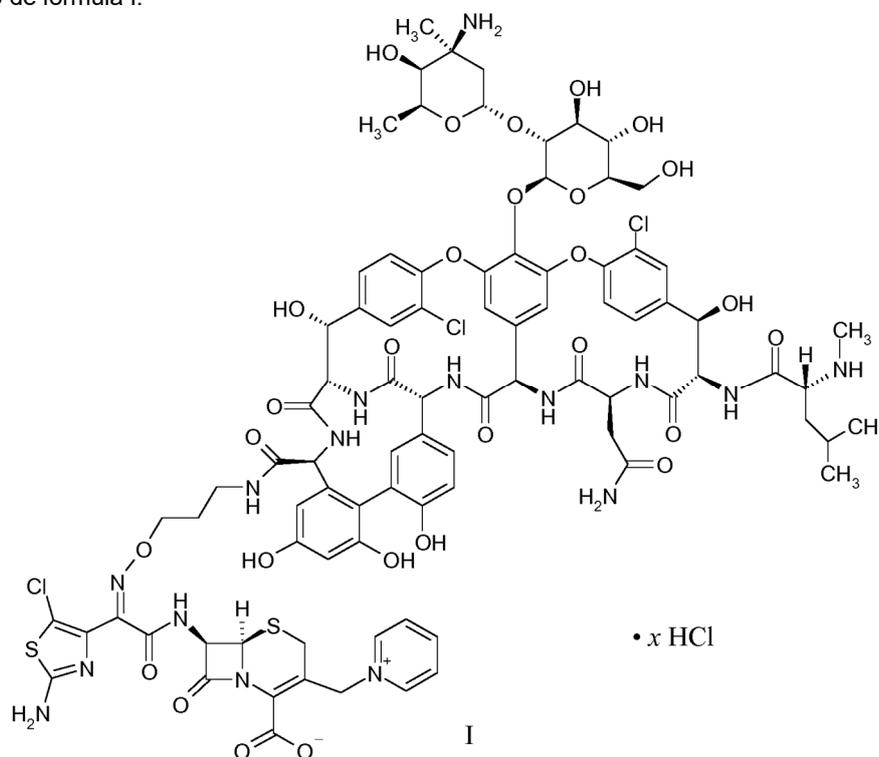
<sup>1</sup> Tiempo en meses.  
<sup>2</sup> Pureza de la muestra con base en porcentaje de área de HPLC.  
<sup>3</sup> Cambio en el porcentaje de pureza desde tiempo = 0.

10  
 15 Los datos de la Tabla 6 muestran que la pureza de la sal diclorhidrato (fórmula I, donde x es aproximadamente 2) disminuyó significativamente menos cuando la sal se formuló con sacarosa y glicina y se almacenó a temperatura ambiente durante 12 meses. La sal de diclorhidrato disminuyó en pureza en un 20,5% en comparación con el 6,8% para el diclorhidrato formulado con sacarosa y glicina. Estos resultados se muestran en la figura 5.

20 En resumen, los compuestos de fórmula I, donde x es aproximadamente 1 y aproximadamente 2, es decir, las sales de mono y diclorhidrato, son significativamente más estables que la sal de triclorhidrato cuando las sales se almacenan durante 12 meses a temperatura ambiente o de 2 a 8 °C. Adicionalmente, las sales de mono y diclorhidrato son más estables cuando se almacenan a temperatura ambiente durante 12 meses cuando dichas sales se formulan con sacarosa y glicina.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I:



- 5 en el que x está en el intervalo de 1 a 2.
2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que x es 1.
- 10 3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que x es 2.
4. Una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y un compuesto de la reivindicación 1, 2 o 3.
- 15 5. La composición farmacéutica de la reivindicación 4, que comprende (a) un compuesto de la reivindicación 1, 2 o 3; (b) sacarosa y (c) glicina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.
6. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, en la que la composición es una composición liofilizada.
- 20 7. La composición farmacéutica de la reivindicación 5, que comprende:
- (a) un compuesto de la reivindicación 1, 2 o 3;
- (b) 0,5 a 2,0 partes en peso de sacarosa; y
- 25 (c) 0,5 a 2,0 partes en peso de glicina (como el equivalente de base libre);
- en la que las partes en peso de sacarosa y glicina se basan en la parte en peso del compuesto de la reivindicación 1, 2 o 3 (como el equivalente de base libre).
- 30 8. La composición farmacéutica de la reivindicación 6, en la que la composición comprende 1,0 parte en peso de sacarosa; y 1,5 partes en peso de glicina.
- 35 9. La composición farmacéutica de la reivindicación 8, en la que el cambio en la pureza del compuesto de la reivindicación 1, 2 o 3 (como el equivalente de base libre) en la composición farmacéutica es inferior al 10%, según se mide mediante cromatografía líquida de alto rendimiento después del almacenamiento durante 12 meses a una temperatura en el intervalo de 18 °C a 25 °C.

10. Un compuesto de la reivindicación 1, 2 o 3 para uso en terapia.
11. Un compuesto de la reivindicación 10 para uso en el tratamiento de una infección bacteriana.
- 5 12. Un proceso para preparar un compuesto de la reivindicación 1, comprendiendo el procedimiento las etapas de:
- (a) formar una composición acuosa que comprende 26-[[[3-[[[Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-  
 10 descarboxivancomicina y ácido clorhídrico en una relación molar de 1:1 a 1:2;
- (b) liofilizar la composición acuosa para proporcionar un compuesto de la reivindicación 1
13. El proceso de la reivindicación 12, en el que la relación molar es 1:1.
- 15 14. El proceso de la reivindicación 12, en el que la relación molar es 1:2.
15. Un método para reducir la degradación de 26-[[[3-[[[Z)-[1-(2-amino-5-cloro-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-oxoetilideno]amino]oxi]propil]amino]carbonil]-26-  
 20 descarboxivancomicina durante el almacenamiento, comprendiendo el método (a) formar un compuesto de la reivindicación 1, 2 o 3 y (b) almacenar el compuesto de la reivindicación 1, 2 o 3 a una temperatura en el intervalo desde -25 °C a 25 °C; o el método que comprende (a) formar una composición farmacéutica de la reivindicación 8 y (b) almacenar la composición farmacéutica a una temperatura en el intervalo de desde -25 °C a 25 °C.
- 25 16. El método de la reivindicación 15, en el que la temperatura está en el intervalo de desde 2 °C a 8 °C.

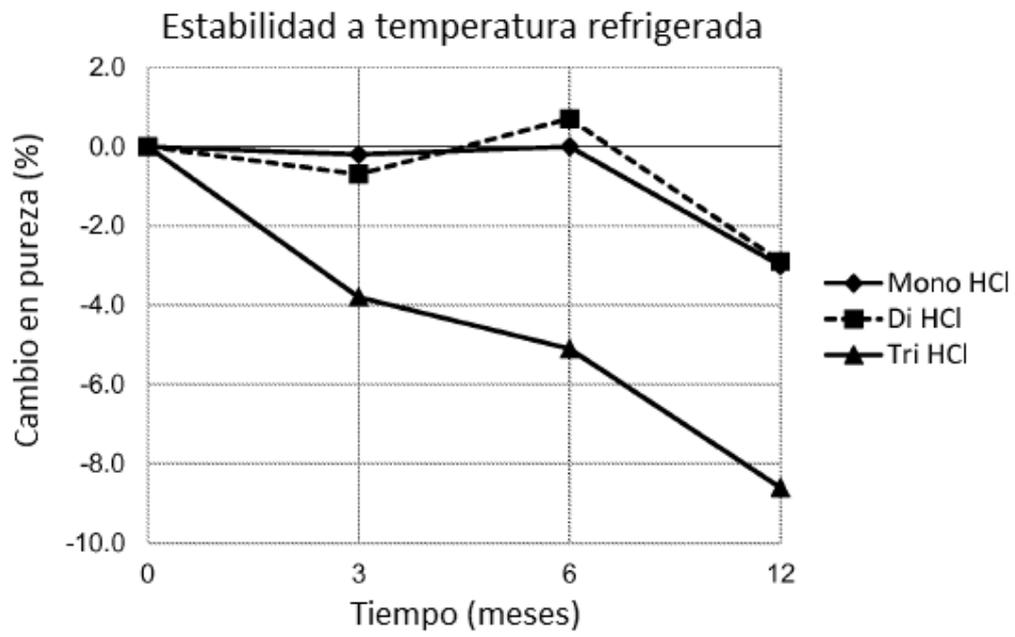


FIG. 1

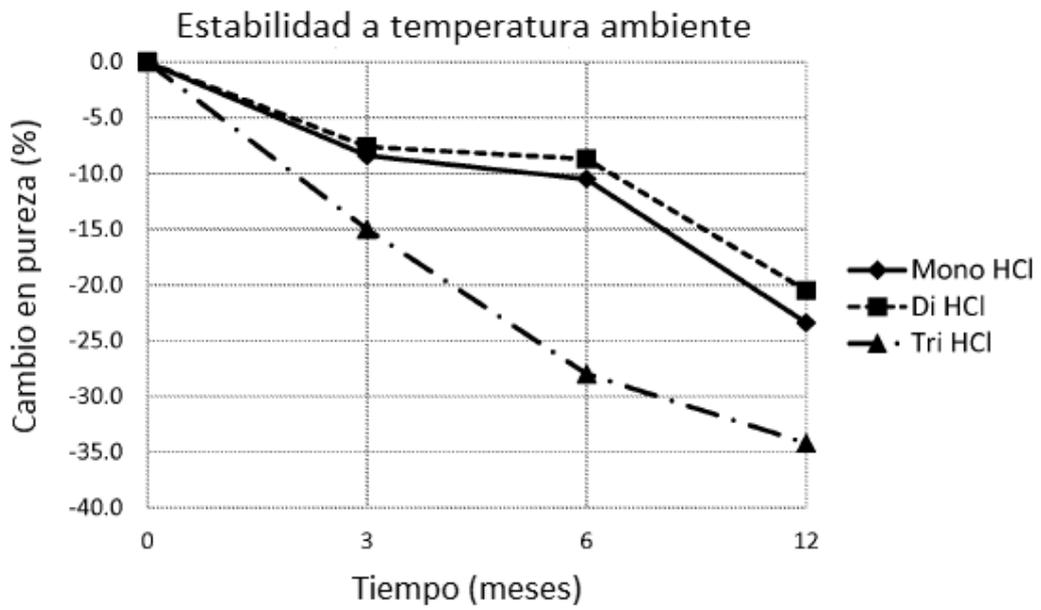


FIG. 2

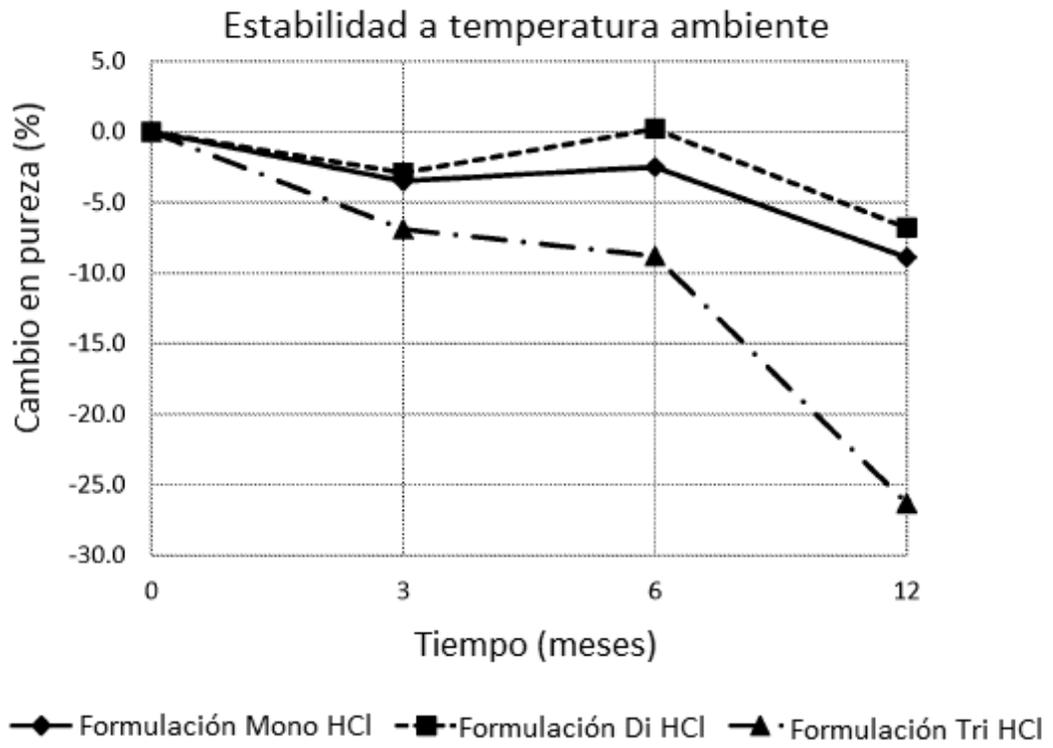


FIG. 3

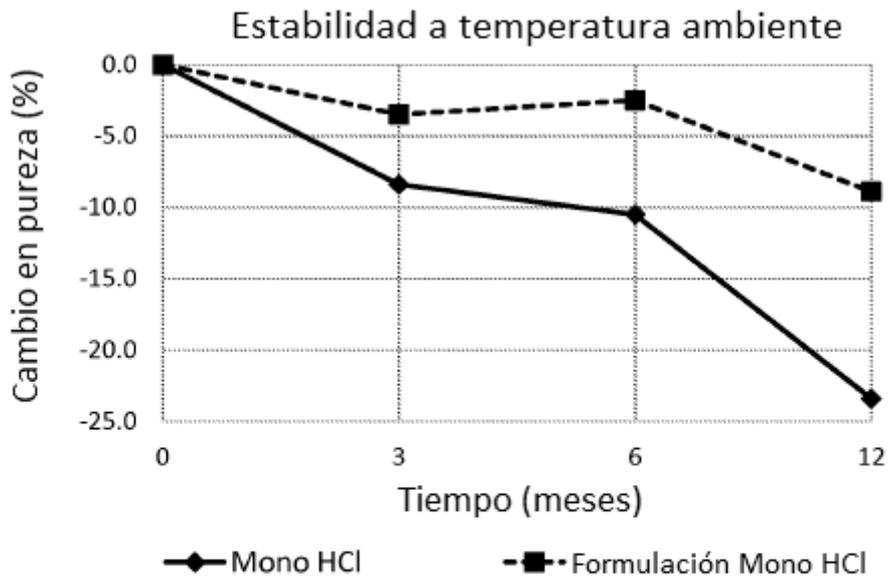


FIG. 4

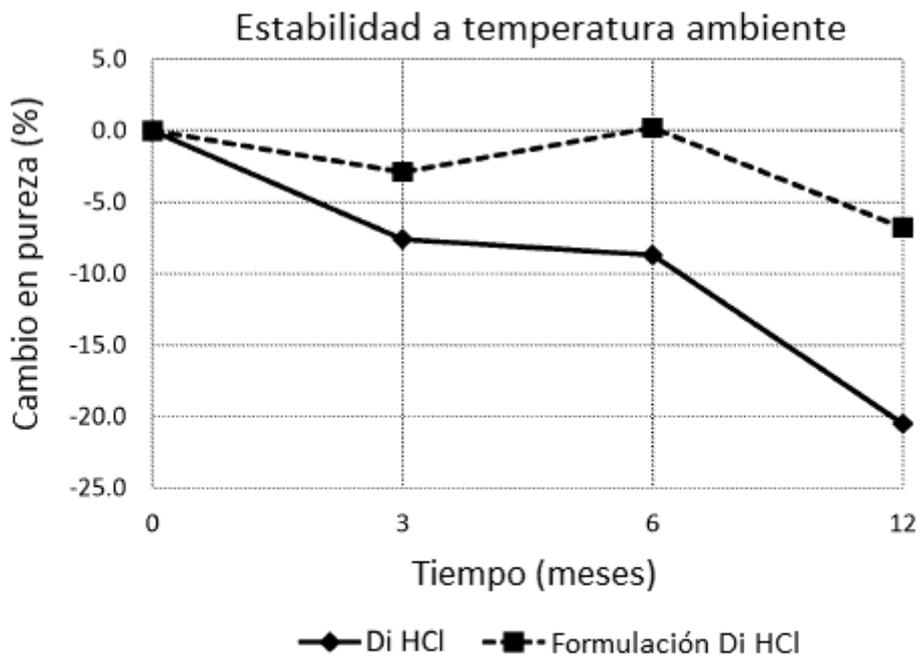


FIG. 5