

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 682 931**

51 Int. Cl.:

**C07H 15/234** (2006.01)

**A61K 31/7048** (2006.01)

**A61P 11/00** (2006.01)

**A61P 31/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.05.2014 PCT/JP2014/064221**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.12.2014 WO14192848**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.05.2014 E 14803509 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.07.2018 EP 3006451**

54 Título: **Derivado de arbekacina y producción y uso del mismo**

30 Prioridad:

**30.05.2013 JP 2013114597**

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

**24.09.2018**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**MIWA, HIROYASU;  
KISHI, HISASHI;  
SASAKI, TOSHIRO;  
MURATA, TAKASHI;  
OYAMA, MAKOTO;  
SANO, NAO y  
ODAGIRI, AYAKO**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

ES 2 682 931 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

Derivado de arbekacina y producción y uso del mismo

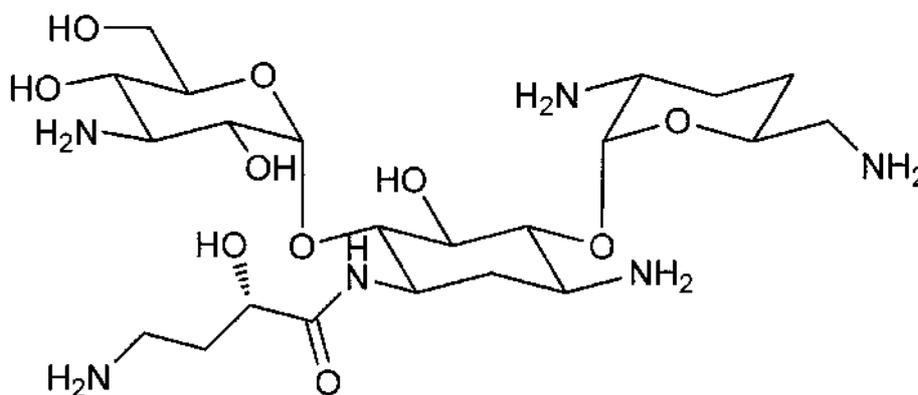
5 [Campo técnico]

La presente invención se refiere a un derivado de arbekacina, así como a la producción y uso del mismo.

10 [Antecedentes de la técnica]

La arbekacina (base libre) es un compuesto que tiene la siguiente estructura y un sulfato del mismo se usa para el tratamiento de neumonía y la sepsis causadas por el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina.

[Quím. 1]



15

Un método para el sulfato de arbekacina usa normalmente base libre de arbekacina sintetizada por un método descrito en la publicación de solicitud de patente examinada japonesa n.º Sho 52-33629 (PTL 1) o similar e incluye la adición de ácido sulfúrico a una solución acuosa de la base libre de arbekacina, seguido por la liofilización para obtener el sulfato de arbekacina en una forma sólida. En este caso, la base libre de arbekacina sintetizada se purifica mediante cromatografía. Sin embargo, este método no es eficaz puesto que aumentar la pureza generalmente requiere una gran cantidad de una resina, requiere que se retiren sustancias relacionadas cambiando la concentración de eluyente gradualmente, requiere una gran cantidad del eluyente, requiere mucho tiempo para llevar a cabo el procedimiento y requiere otros asuntos. Además, el sulfato de arbekacina obtenido mediante este método contiene inevitablemente aproximadamente del 1 al 2 % de sustancias relaciones tales como dibekacina.

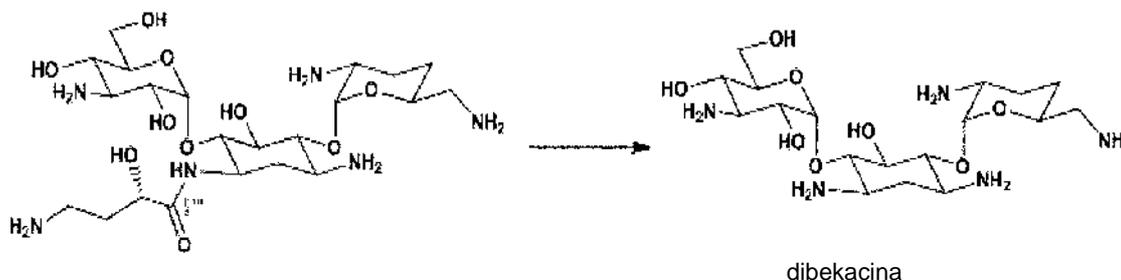
20

25

La arbekacina también puede usarse como base libre de arbekacina sin ser convertida en una sal farmacéuticamente aceptable tal como un sulfato. Además, también es posible convertir base libre de arbekacina a sales farmacéuticamente aceptables distintas de sulfato para su uso. No obstante, la base libre de arbekacina es propensa a degradarse, particularmente, degradarse en la posición 1", de modo que se forma dibekacina tal como se ilustra en la siguiente ecuación. Por este motivo, la base libre de arbekacina debe almacenarse a baja temperatura, lo cual es un inconveniente industrialmente.

30

[Quím. 2]



35

Cabe destacar que la publicación de solicitud de patente examinada japonesa n.º Sho 63-32799 (PTL 2) y The Journal of Antibiotics, vol. 26, 1973, pág. 412 (NPL 1) exponen que la base libre de arbekacina cruda obtenida mediante reacciones se purifica mediante cromatografía y se concentra hasta secado para obtener, de este modo, dicarbonato de arbekacina. Sin embargo, en estos métodos, se forma carbonato de arbekacina de forma no intencionada durante la concentración de la solución que resulta de la purificación de la base libre de arbekacina

40

mediante cromatografía. Y este dicarbonato de arbekacina se obtiene mediante secado sin realizar una etapa de purificación. De este modo, los métodos no incluyen la formación intencional de carbonato de arbekacina y la purificación de la misma mediante aislamiento. Además, esta bibliografía no desvela ácido carbámico de arbekacina o derivados de arbekacina.

5

#### **[Lista de citas]**

#### **[Bibliografía de patente]**

- 10 [PTL 1] Publicación de solicitud de patente examinada japonesa n.º Sho 52-33629  
[PTL 2] Publicación de solicitud de patente examinada japonesa n.º Sho 63-32799

#### **[Bibliografía no de patente]**

- 15 [NPL 1] The Journal of Antibiotics, vol. 26, 1973, pág. 412

#### **[Sumario de la invención]**

#### **[Problema técnico]**

20

Un objeto de la presente invención es proporcionar un derivado de arbekacina altamente estable convertible a base libre de arbekacina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un método de producción para el derivado de arbekacina. Otro objeto de la presente invención es proporcionar un método de producción de base libre de arbekacina más eficazmente con una pureza más elevada a través del derivado de arbekacina que en un caso de purificación cromatográfica. Un objetivo adicional de la presente invención es proporcionar un método de producción de una sal farmacéuticamente aceptable de arbekacina eficazmente con una pureza elevada usando el derivado de arbekacina.

25

#### **[Solución al Problema]**

30

Como resultado de estudios recientes, los presentes inventores han encontrado que la adición de dióxido de carbono, un carbonato o un hidrogenocarbonato a una solución que contiene base libre de arbekacina forma un ácido carbámico de arbekacina junto con carbonato de arbekacina en la solución y mediante la precipitación y separación del resultante, se obtienen en forma sólida derivados de arbekacina que incluyen carbonato de arbekacina y ácido carbámico de arbekacina (denominado como "derivado de ácido carbámico que incluye carbonato de arbekacina"). Además, los presentes inventores han encontrado que el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido separando el precipitado: (i) tiene una pureza aumentada como resultado de la retirada de sustancias relacionadas contenidas en la base libre de arbekacina original; (ii) es más estable que la base libre de arbekacina; (iii) pierde fácilmente dióxido de carbono (gas de dióxido de carbono) mediante un método cromatográfico y es convertible a base libre de arbekacina altamente pura; y (iv), como en el caso de la base libre de arbekacina, mediante la adición de un ácido a una solución de derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina, pierde fácilmente dióxido de carbono (gas de dióxido de carbono) y es convertible a una sal farmacéuticamente aceptable altamente pura de arbekacina. La figura 1 muestra el esquema de lo anterior. En la Fig. 1, al menos uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, y R<sub>4</sub> es un grupo carboxilo (COOH), mientras que el resto representa átomos de hidrógeno (H) y x e y cada uno representa independientemente el número de 1 a 5.

35

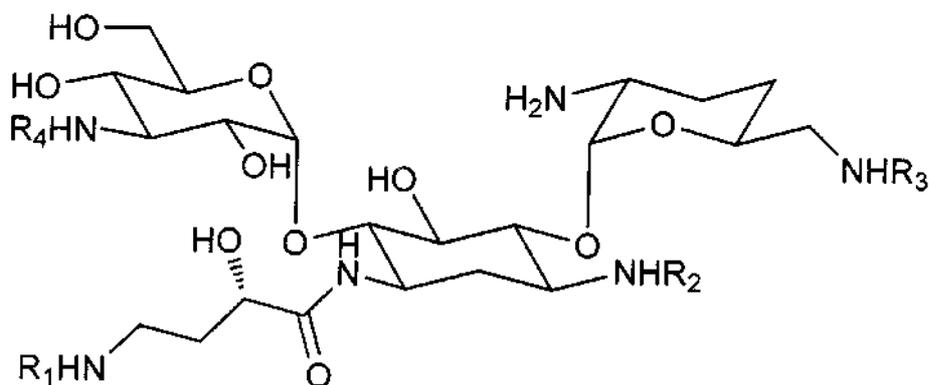
40

45

Específicamente, la presente invención proporciona lo siguiente.

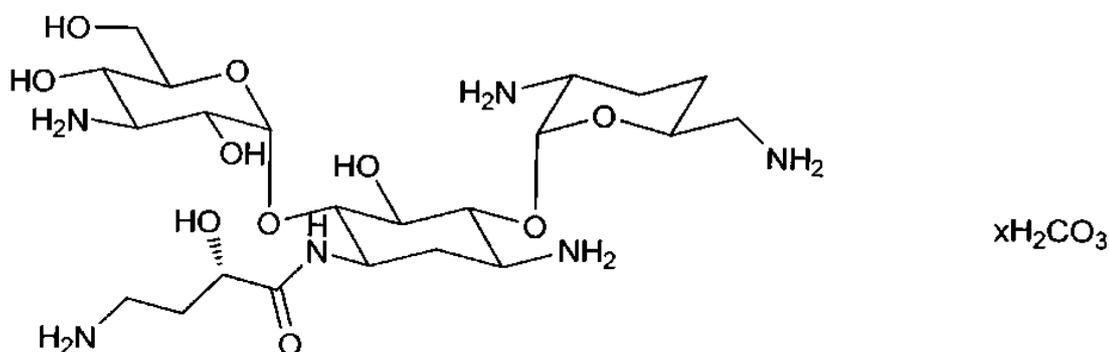
50

- [1] Un método de producción para un derivado de ácido carbámico de arbekacina representado por la siguiente fórmula (2):



Fórmula (2), en donde  
 en la fórmula, al menos uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, y R<sub>4</sub> es COOH, mientras que el resto representa H e incluye carbonato  
 de arbekacina representado por la siguiente fórmula (1):

5



Fórmula (1), en donde  
 en la fórmula, x representa de 1 a 5, el método de producción comprende:

10

- (a) una etapa de adición de uno cualquiera de dióxido de carbono, un carbonato y un hidrogenocarbonato a una solución que contiene base libre de arbekacina, preparando, de este modo, una solución que contiene un derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina;
- (b) una etapa de precipitación del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina en la solución; y
- (c) una etapa de separación del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina precipitado.

15

[2] El método de producción de acuerdo con [1], en el que, en la etapa (a), se añade dióxido de carbono a la solución que contiene base libre de arbekacina para producir un pH de 6,1 a 10,5, preparando, de este modo, la solución que contiene el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina.

20

[3] El método de producción de acuerdo con [1], en el que, en la etapa (a), uno cualquiera de un carbonato y un hidrogenocarbonato en una cantidad de 0,5 equivalentes o más se añade a la solución que contiene base libre de arbekacina, preparando, de este modo, la solución que contiene el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina.

25

[4] El método de producción de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [3], en el que, en la etapa (b), la solución preparada en la etapa (a) se mezcla con un disolvente orgánico, precipitando, de este modo, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina, en el que el disolvente orgánico usado en la etapa (b) se selecciona de entre el grupo que consiste en metanol, etanol, propanol, dimetilsulfóxido, acetonitrilo, piridina, tetrahidrofurano, acetona, N,N-dimetilformamida y combinaciones de disolventes de los mismos.

30

[5] Un derivado de ácido carbámico de arbekacina representado por la fórmula anterior (2) que incluye carbonato de arbekacina representado por la fórmula anterior (1), producido por el método según una cualquiera de [1] a [4].

35

#### [Efectos ventajosos de la Invención]

Los métodos de la presente invención hacen posible retirar fácilmente sustancias relacionadas convirtiendo base libre de arbekacina en un derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina y precipitando y separando el resultante, sin usar un método de purificación de base libre de arbekacina mediante

40

cromatografía.

El derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido según la presente invención se encuentra en forma sólida que tiene una alta estabilidad y bajas propiedades de absorción de humedad en comparación con la base libre de arbekacina. Por lo tanto, es posible almacenar fácilmente el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina como materias primas de base libre de arbekacina y una sal farmacéuticamente aceptable de arbekacina.

Además, la base libre de arbekacina necesita solidificarse mediante liofilización o secado por pulverización como una solución acuosa de la misma. Por el contrario, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido según la presente invención se precipita en la solución de reacción, separado por un método común, y más fácil (por ejemplo, filtración) sin usar liofilización ni secado por pulverización, y a continuación se seca, de modo que pueden obtenerse sólidos. Además, la purificación es posible mediante cualquier método de purificación conocido por los expertos en la técnica sin depender de la cromatografía. Por consiguiente, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina resulta industrialmente ventajoso, también.

Además, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido según la presente invención pierde fácilmente un gas de dióxido de carbono mezclándose con un ácido y forma una sal farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sulfato de arbekacina). Por lo tanto, desde este punto también, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina es ventajoso como materia prima de una sal farmacéuticamente aceptable de arbekacina.

#### [Breve descripción de las figuras]

[Fig. 1] La Fig. 1 es una figura que muestra un esquema de las características, método de producción y uso de un derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina de la presente invención.

[Fig. 2] La Fig. 2 es una figura que muestra el resultado de medición del espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN de hidrogenocarbonato de sodio, carbonato de sodio, hidrogenocarbonato de amonio y carbonato de amonio.

[Fig. 3] La Fig. 3 es una figura que muestra el resultado de medición del espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN de base libre de arbekacina+carbonato de sodio.

[Fig. 4] La Fig. 4 es una figura que muestra el resultado de medición de un espectro  $^{13}\text{C}$ -RMN de base libre de arbekacina+dióxido de carbono.

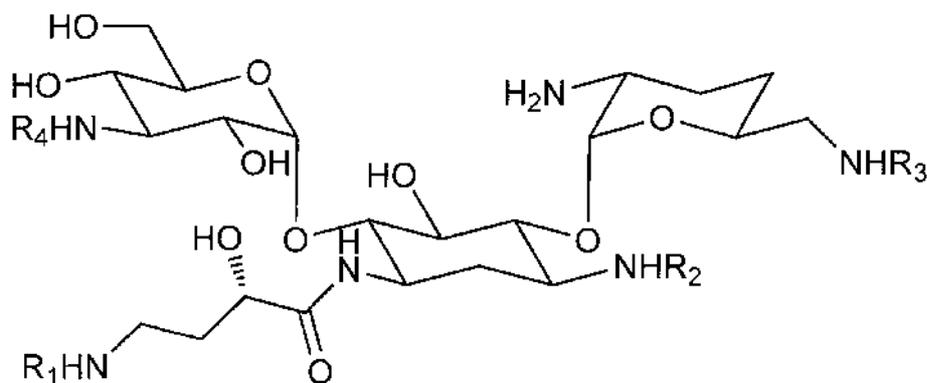
[Fig. 5] La Fig. 5 es una figura que muestra el resultado de medición de espectro HMBC de base libre de arbekacina+dióxido de carbono.

#### [Descripción de las realizaciones]

<Método de producción de derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina>

La presente invención proporciona un método de producción para un derivado de ácido carbámico de arbekacina representado por la siguiente fórmula (2):

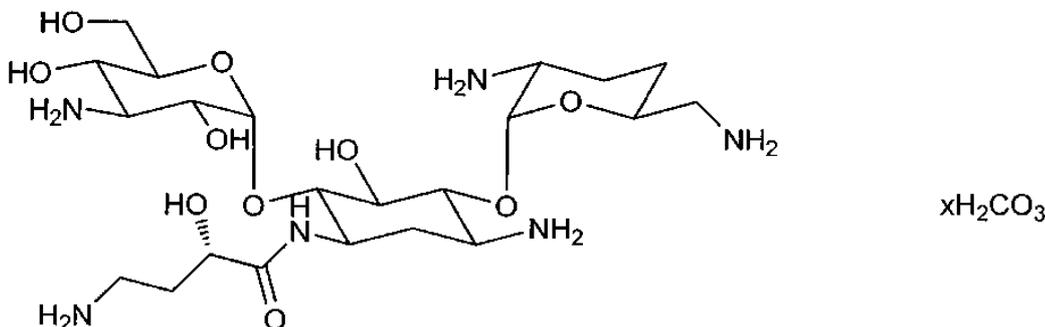
[Quím. 7]



Fórmula (2)

[en la fórmula, al menos uno de  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ , y  $R_4$  es  $\text{COOH}$ , mientras que el resto representa H] e incluye carbonato de arbekacina representado por la siguiente fórmula (1):

[Quím. 6]



Fórmula (1)

5 [en la fórmula, x representa de 1 a 5 ], el método de producción comprende:

- (a) una etapa de adición de uno cualquiera de dióxido de carbono, un carbonato y un hidrogenocarbonato a una solución que contiene base libre de arbekacina, preparando, de este modo, una solución que contiene un derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina;
- 10 (b) una etapa de precipitación del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina en la solución; y
- (c) una etapa de separación del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina precipitado. Cabe destacar que, en la presente invención, la expresión "carbonato de arbekacina" según la presente invención incluye carbonato de arbekacina que contiene un ion de carbonato representado por  $\text{CO}_3^{2-}$ , y carbonato de arbekacina que contiene un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).
- 15

-En caso de usar dióxido de carbono-

20 En el caso en el que se añade dióxido de carbono a la solución que contiene base libre de arbekacina en la etapa (a), un disolvente a usar debe ser tal que la base libre de arbekacina puede disolverse en el mismo. Es posible usar agua o una mezcla de disolventes de agua con metanol, etanol, propanol, dimetilsulfóxido, acetonitrilo, piridina, tetrahidrofurano, acetona o N,N-dimetilformamida. Es preferente agua. La cantidad del disolvente usado no está particularmente limitado, siempre y cuando la cantidad permita la disolución de la materia prima de base libre de arbekacina. No obstante, la cantidad es preferentemente de 1,6 veces a 200 veces más que la de la base libre de arbekacina. Cuando se sopla dióxido de carbono en la solución que contiene base libre de arbekacina, la temperatura no está particularmente limitada y el soplado puede realizarse a cualquier temperatura. La temperatura es preferentemente de 0 a 30 °C.

30 Cuando se sopla dióxido de carbono en la solución que contiene base libre de arbekacina para formar un derivado de ácido carbámico de arbekacina que contiene carbonato de arbekacina, el pH es preferentemente de 6,1 a 10,5, más preferentemente de 7,5 a 9,0. Esto hace posible preparar una solución que contiene derivados de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina representado por la fórmula (1) y ácido carbámico de arbekacina representado por la fórmula (2) (es decir, derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina). Cabe destacar que en el caso en el que se añade dióxido de carbono a la solución que contiene base libre de arbekacina como se ha descrito anteriormente, el carbonato de arbekacina que contiene un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina) se obtiene como el carbonato de arbekacina.

40 En el caso en el que se usa el disolvente en la etapa (a) es una solución de mezcla de agua con un disolvente orgánico, el soplado de dióxido de carbono puede precipitar el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina en la solución sin añadir adicionalmente ningún disolvente orgánico (es decir, puede formar una solución de suspensión). En este caso, la etapa (a) y la etapa (b) constituyen una etapa inseparable.

45 Por otro lado, en el caso en el que se usa agua como el disolvente en la etapa (a), incluso cuando se sopla dióxido de carbono, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina no se precipita en la solución. Por este motivo, en la etapa (b), la solución preparada en la etapa (a) se mezcla con un disolvente orgánico, precipitando, de este modo, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En este caso, el disolvente orgánico a usar no está particularmente limitado, siempre y cuando el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina puede precipitarse. No obstante, el disolvente orgánico es preferentemente uno o una mezcla de disolventes seleccionado entre el grupo que consiste en metanol, etanol, propanol, dimetilsulfóxido, acetonitrilo, piridina, tetrahidrofurano, acetona y N,N-dimetilformamida. Metanol o etanol es más preferente. La cantidad del disolvente usado no está particularmente limitado, siempre y cuando la cantidad permita la precipitación del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de

50

arbekacina. No obstante, la cantidad es preferentemente de 1,5 veces a 5 veces más que la de la solución de base libre de arbekacina. El derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina precipitado se separa preferentemente mediante un método comúnmente usado, por ejemplo, filtración y, a continuación, se seca.

5

-En caso de usar uno cualquiera de carbonato e hidrogenocarbonato-

En el caso en el que se añade uno cualquiera de carbonato e hidrogenocarbonato a la solución que contiene base libre de arbekacina en la etapa (a), un disolvente a usar debe ser tal que la base libre de arbekacina y el carbonato pueden disolverse completamente en el mismo. Es posible usar agua o una mezcla de disolventes de agua con metanol, etanol, propanol, dimetilsulfóxido, acetonitrilo, piridina, tetrahidrofurano, acetona o N,N-dimetilformamida. Es preferente agua. La cantidad del disolvente usado no está particularmente limitado, siempre y cuando la cantidad permita la disolución de las materias primas de base libre de arbekacina y carbonato. No obstante, la cantidad es preferentemente de 1,6 veces a 200 veces más que la de la base libre de arbekacina. Cuando se añade carbonato en la solución que contiene base libre de arbekacina, la temperatura no está particularmente limitada y la adición puede realizarse a cualquier temperatura. La temperatura es preferentemente de 0 a 30 °C. Como el carbonato usado cuando se añade el carbonato a la solución que contiene base libre de arbekacina para formar el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina, es posible usar: una sal de metal o una sal de amonio de un ion de carbonato tal como carbonato de sodio, carbonato de potasio o carbonato de amonio; o una sal de metal o una sal de amonio de un ion de hidrogenocarbonato tal como hidrogenocarbonato de sodio o hidrogenocarbonato de amonio. Es preferente carbonato de amonio o hidrogenocarbonato de amonio. Una cantidad preferente del carbonato usado es de 0,5 mol (es decir, 0,5 equivalentes) o más, más preferentemente de 0,5 a 3,0 mol, en relación a 1 mol de base libre de arbekacina. Particular y preferentemente, se añade carbonato de amonio o hidrogenocarbonato de amonio en una cantidad de 0,5 a 3,0 mol en relación a 1 mol de base libre de arbekacina. Esto hace posible preparar una solución que contiene derivados de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina representado por la fórmula (1) y ácido carbámico de arbekacina representado por la fórmula (2) (es decir, derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina). Cabe destacar que en el caso en el que se añade carbonato a la solución que contiene base libre de arbekacina como se ha descrito anteriormente, el carbonato de arbekacina que contiene un ion de carbonato representado por  $\text{CO}_3^{2-}$  se obtiene como el carbonato de arbekacina. Sin embargo, en el caso en el que se añade hidrogenocarbonato, el carbonato de arbekacina que contiene un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina) se obtiene como el carbonato de arbekacina.

En el caso en el que se usa el disolvente en la etapa (a) es una solución de mezcla de agua con un disolvente orgánico, la adición de uno cualquiera de carbonato y un hidrogenocarbonato puede precipitar el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina en la solución sin añadir adicionalmente ningún disolvente orgánico (es decir, puede formar una solución de suspensión). En este caso, la etapa (a) y la etapa (b) constituyen una etapa inseparable.

Por otro lado, en el caso en el que se usa agua como el disolvente en la etapa (a), incluso cuando se añade uno cualquiera de un carbonato y un hidrogenocarbonato, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina no se precipita en la solución. Por este motivo, en la etapa (b), la solución preparada en la etapa (a) se mezcla con un disolvente orgánico, precipitando, de este modo, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En este caso, el disolvente orgánico a usar no está particularmente limitado, siempre y cuando el disolvente permita la precipitación del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. No obstante, el disolvente orgánico es preferentemente uno o una mezcla de disolventes seleccionado entre el grupo que consiste en metanol, etanol, propanol, dimetilsulfóxido, acetonitrilo, piridina, tetrahidrofurano, acetona y N,N-dimetilformamida. Metanol o etanol es más preferente. La cantidad del disolvente usado no está particularmente limitado, siempre y cuando la cantidad permita la precipitación del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. El derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina precipitado se separa preferentemente mediante un método comúnmente usado, por ejemplo, filtración y, a continuación, se seca.

-Purificación adicional-

El derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina precipitado puede purificarse adicionalmente repitiendo cualquier método de purificación conocido por los expertos en la técnica (por ejemplo, un método en el cual el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina aislado se disuelve en un disolvente adecuado, a continuación se precipita enfriando o añadiendo un disolvente orgánico y se separa, por ejemplo, mediante filtración; un método en el cual se añade un disolvente al derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina aislado y se agita; u otros métodos).

<Método de producción para base libre de arbekacina>

La base libre de arbekacina producida mediante cualquier método conocido por los expertos en la técnica contiene normalmente aproximadamente del 1 al 2 % de sustancias relacionadas. Por otro lado, en un caso en el que se

produce base libre de arbekacina según la presente invención produciendo un derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina a partir de base libre de arbekacina, purificando el producto mediante cualquier método de purificación conocido por los expertos en la técnica si es necesario y retirando dióxido de carbono del producto purificado, la base libre de arbekacina tiene un contenido de sustancias relacionadas disminuido al 0,5 % o inferior.

Por lo tanto, en el presente documento se describe un método de producción para base libre de arbekacina que tiene un contenido de sustancias relacionadas del 0,5 % o inferior, comprendiendo el método de producción una etapa de retirada del dióxido de carbono del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina producido mediante el método anteriormente descrito.

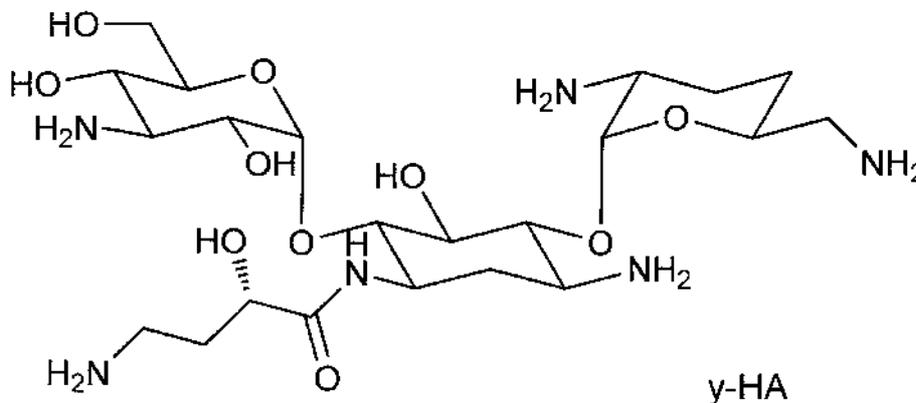
Tal método de producción para base libre de arbekacina incluye cromatografía. Como apoyo usado en la cromatografía, es posible usar una resina de intercambio de iones, una resina de intercambio de aniones o una resina porosa. La cantidad del apoyo usado no está particularmente limitado, siempre y cuando la cantidad permita la retirada del dióxido de carbono (es decir, permite la descarboxilación) mientras que se mantiene la arbekacina del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina o la cantidad permite el retirado por lavado de la base libre de arbekacina mientras que el dióxido de carbono (ion de carbonato) del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se está manteniendo. Como disolvente usado en la cromatografía, es posible usar disolventes generalmente usados para resinas de intercambio de iones, resinas de intercambio de aniones o resinas porosas. El disolvente es preferentemente agua o agua de amoníaco para una resina de intercambio de cationes; agua para una resina de intercambio de aniones; y uno o una mezcla de disolventes seleccionado entre el grupo que consiste en agua, metanol, etanol y propanol para una resina porosa. La base libre de arbekacina resultante se aísla mediante concentración hasta secado, secado por pulverización, liofilización o similar.

<Método de producción para sal farmacéuticamente aceptable de arbekacina>

Una sal farmacéuticamente aceptable de arbekacina producida mediante cualquier método conocido por los expertos en la técnica contiene normalmente aproximadamente del 1 al 2 % de sustancias relacionadas. Por otro lado, en un caso en el que se produce una sal farmacéuticamente aceptable de arbekacina según la presente invención produciendo un derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina a partir de base libre de arbekacina, purificando el producto mediante cualquier método de purificación conocido por los expertos en la técnica si es necesario y añadiendo un ácido al producto purificado, la sal farmacéuticamente aceptable tiene un contenido de sustancias relacionadas disminuido al 0,5 % o inferior.

Por lo tanto, se describe en el presente documento un método de producción para una sal farmacéuticamente aceptable de arbekacina, comprendiendo el método de producción una etapa de adición de un ácido al derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina producido mediante el método anteriormente descrito, teniendo la sal farmacéuticamente aceptable un contenido de sustancias relacionadas del 0,5 % o inferior, y representada por la siguiente fórmula (3):

[Quím. 8]



Fórmula (3)

[en la fórmula, y representa de 1 a 5 y HA representa un ácido farmacéuticamente aceptable].

En este método, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina puede dispersarse en un disolvente o disolverse en un disolvente para su uso. El disolvente para la dispersión o la disolución es uno o una mezcla de disolventes seleccionado entre el grupo que consiste en agua, metanol, etanol, propanol, dimetilsulfóxido, acetonitrilo, piridina, tetrahidrofurano, acetona y N,N-dimetilformamida. La cantidad del

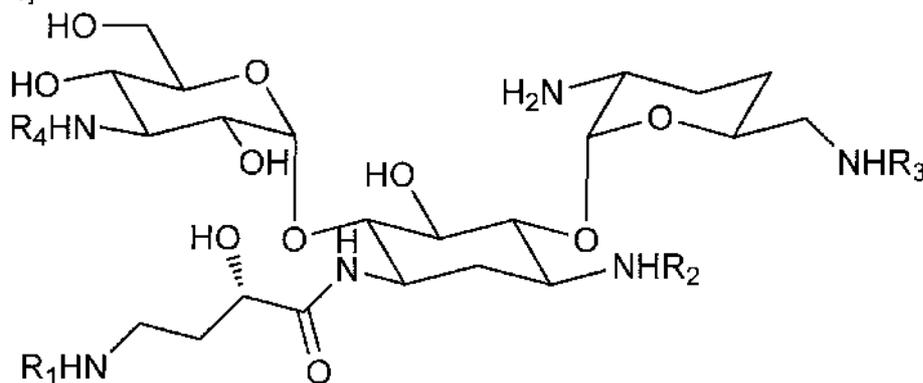
disolvente usado no está particularmente limitado, siempre y cuando la cantidad permita la disolución o la dispersión del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. Cualquier ácido es útil sin particular limitación, siempre y cuando sea capaz de formar una sal farmacéuticamente aceptable (sal ácida) de arbekacina. En el presente documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" significa que un compuesto o una combinación de compuestos es compatible con otros ingredientes de una formulación y no resulta perjudicial a un paciente o sujeto que lo recibe. Los ácidos útiles para formar una sal ácida farmacéuticamente aceptable de arbekacina incluyen ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico; y ácidos orgánicos tales como ácido oxálico, ácido maleico, ácido succínico, ácido cítrico y ácido sulfónico, pero sin limitación a estos. La sal farmacéuticamente aceptable resultante de arbekacina puede aislarse mediante concentración hasta secado, secado por pulverización, liofilización o similar. Cuando una sal farmacéuticamente aceptable de arbekacina se produce mediante adición de un ácido al derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina y la sal se precipita, la sal se separa mediante un método comúnmente usado, por ejemplo, filtración y, a continuación, se seca, de modo que pueden obtenerse sólidos del mismo. Cabe destacar que la expresión "sal farmacéuticamente aceptable de arbekacina" también se refiere para incluir un hidrato y un solvente de la sal. Un ejemplo del solvente incluye un etanolato.

<Realizaciones preferentes de la presente invención>

Una realización preferente de la presente invención incluye

[13] un método de producción para un derivado de ácido carbámico de arbekacina representado por la siguiente fórmula (2):

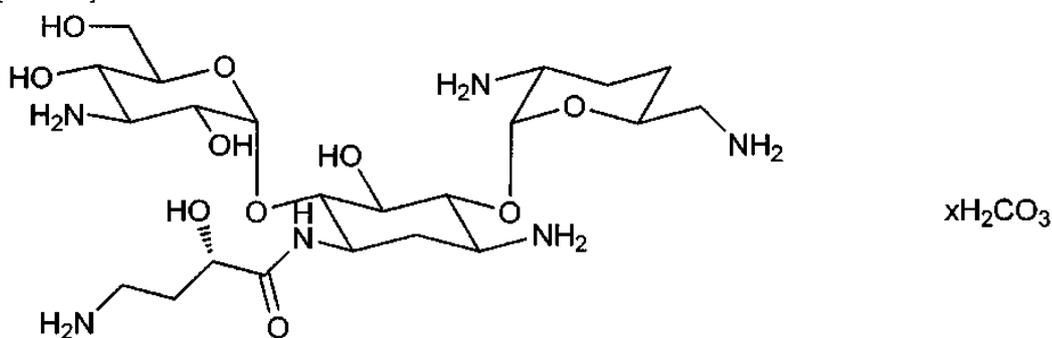
[Quím. 10]



Fórmula (2)

[en la fórmula, al menos uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, y R<sub>4</sub> es COOH, mientras que el resto representa H] e incluye carbonato de arbekacina representado por la siguiente fórmula (1):

[Quím. 9]



Fórmula (1)

[en la fórmula, x representa de 1 a 5 ], el método de producción comprende:

(a) una etapa de adición de dióxido de carbono a una solución en la que se disuelve base libre de arbekacina en agua cuya cantidad es de 1,6 veces a 200 veces más que la de la base libre de arbekacina, preparando, de este modo, una solución que tiene un pH de 7,5 a 9,0 y que contiene un derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina o añadiendo uno cualquiera de carbonato de amonio e hidrogenocarbonato de amonio en una cantidad de 0,5 a 3,0 equivalentes a la solución en la cual se disuelve

base libre de arbekacina en agua cuya cantidad es de 1,6 veces a 200 veces más que la de la base libre de arbekacina, preparando, de este modo, una solución que contiene un derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina;

5 (b) una etapa de mezcla de la solución preparada con uno cualquiera de metanol y etanol cuya cantidad es de 1,5 a 5 veces más que la de la solución, precipitando, de este modo, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina en la solución; y

(c) una etapa de separación del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina precipitado. Una realización más preferente incluye

10 [14] el método de producción de acuerdo con [13], que comprende:

(a) una etapa de adición de dióxido de carbono a la solución en la que se disuelve base libre de arbekacina en agua cuya cantidad es de 1,6 veces a 200 veces más que la de la base libre de arbekacina, preparando, de este modo, la solución que tiene un pH de 7,5 a 9,0 y contiene el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina;

15 (b) la etapa de mezcla de la solución preparada con uno cualquiera de metanol y etanol cuya cantidad es de 1,5 a 5 veces más que la de la solución, precipitando, de este modo, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina en la solución; y

20 (c) la etapa de separación del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina precipitado. Una realización particularmente preferente incluye

[15] el método de producción de acuerdo con [13], que comprende:

25 (a) una etapa de adición de dióxido de carbono a una solución en la que se disuelve base libre de arbekacina en agua cuya cantidad es de 5 veces más que la de la base libre de arbekacina, preparando, de este modo, la solución que tiene un pH de 7,5 a 9,0 y contiene el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina;

30 (b) una etapa de mezcla de la solución preparada con etanol cuya cantidad es de 2 veces más que la de la solución, precipitando, de este modo, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina en la solución; y

(c) la etapa de separación del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina precipitado. Otra realización particularmente preferente incluye

35 [16] el método de producción de acuerdo con [13], que comprende:

(a) una etapa de adición de uno cualquiera de carbonato de amonio e hidrogenocarbonato de amonio en una cantidad de 0,5 a 3,0 equivalentes a una solución en la que se disuelve base libre de arbekacina en agua cuya cantidad es de 5 veces más que la de la base libre de arbekacina, preparando, de este modo, la solución que contiene el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina;

40 (b) una etapa de mezcla de la solución preparada con etanol cuya cantidad es de 2 veces más que la de la solución, precipitando, de este modo, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina en la solución; y

45 (c) la etapa de separación del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina precipitado. También se describe

[17] un método de producción para base libre de arbekacina que tiene un contenido de sustancias relacionadas del 0,5 % o inferior, el método de producción comprende:

50 en caso necesario, purificar mediante cualquier método de purificación conocido por los expertos en la técnica el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido mediante el método según una cualquiera de [13] a [16]; y retirar dióxido de carbono del mismo usando una resina de intercambio de cationes. También se describe

55 [18] un método de producción para sulfato de arbekacina que tiene un contenido de sustancias relacionadas del 0,5 % o inferior, el método de producción comprende:

60 en caso necesario, purificar mediante cualquier método de purificación conocido por los expertos en la técnica el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido mediante el método según una cualquiera de [13] a [16]; y añadir ácido sulfúrico diluido al mismo.

### [Ejemplos]

65 En lo sucesivo en el presente documento, a continuación se describirá la presente invención basándose en ejemplos. Sin embargo, la presente invención no está limitada por los ejemplos siguientes.

## [Materia prima]

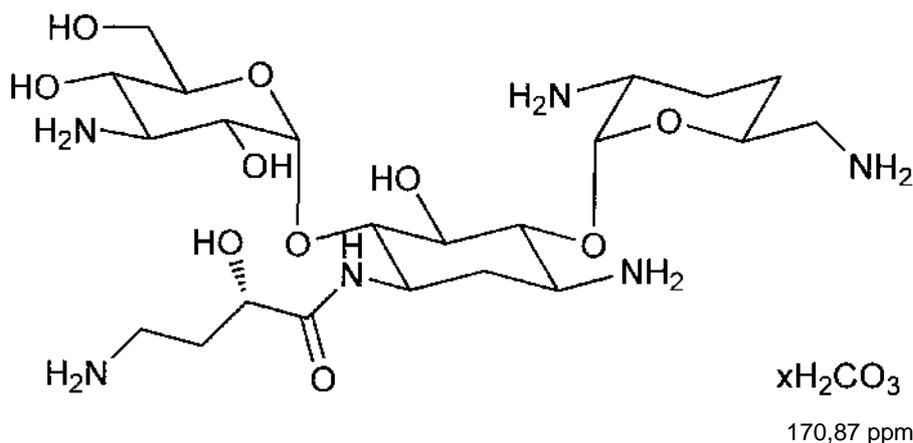
Como materia prima de la presente invención, se usa base libre de arbekacina. es posible usar base libre de arbekacina producida mediante cualquier método conocido por los expertos en la técnica, por ejemplo, el método descrito en Journal of Synthetic Organic Chemistry, Japón, 57 (5), 368-373 (1999) o un método en el cual se retira ácido sulfúrico a partir de sulfato de arbekacina disponible en el mercado mediante un método de cromatografía de columna usando una resina de intercambio de iones.

## [Análisis estructural mediante RMN]

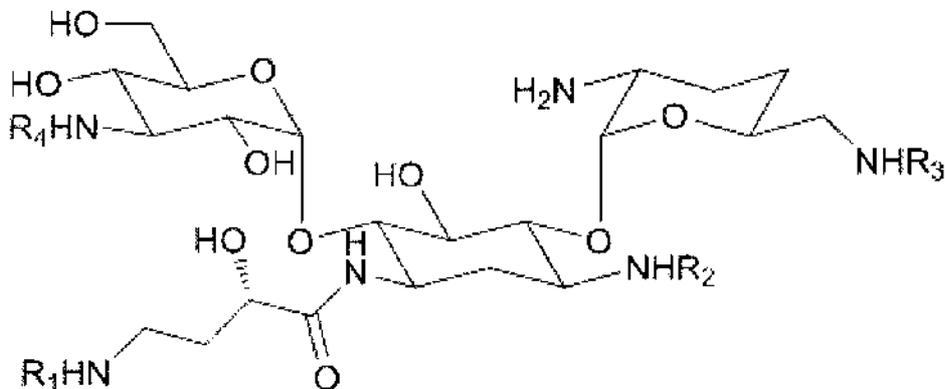
A partir del resultado de medición de  $^{13}\text{C}$ -RMN de soluciones acuosas de hidrogenocarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) y carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), los presentes inventores confirmaron que la señal de carbono de un hidrogenocarbonato (sal que contiene un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$ ) era de aproximadamente 163 ppm y que la señal de carbono de un carbonato (sal que contiene un ion de carbonato representado por  $\text{CO}_3^{2-}$ ) era de aproximadamente 171 ppm (Fig. 2). Además, a partir del resultado de medición de  $^{13}\text{C}$ -RMN de una solución acuosa de hidrogenocarbonato de amonio ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ) y carbonato de amonio ( $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ , mezcla de hidrogenocarbonato de amonio con sal de amonio de ácido carbámico), la señal de carbono de ácido carbámico se pensó que era de aproximadamente 169 ppm (Fig. 2).

A continuación, el carbonato de sodio en una cantidad de 15 equivalentes se añadió a una solución acuosa de base libre de arbekacina para observar señales generadas de nuevo mediante  $^{13}\text{C}$ -RMN. Como resultado, la observación mostró que se generaron múltiples señales a 170,87 ppm y a 166,73 a 167,13 ppm, que se pensó que eran respectivamente carbono de un carbonato (carbonato de arbekacina que contiene un ion de carbonato representado por  $\text{CO}_3^{2-}$ ) y carbono de ácido carbámico (ácido carbámico de arbekacina) (parte superior de la Fig. 3).

## [Quím. 11]



## [Quím. 12]

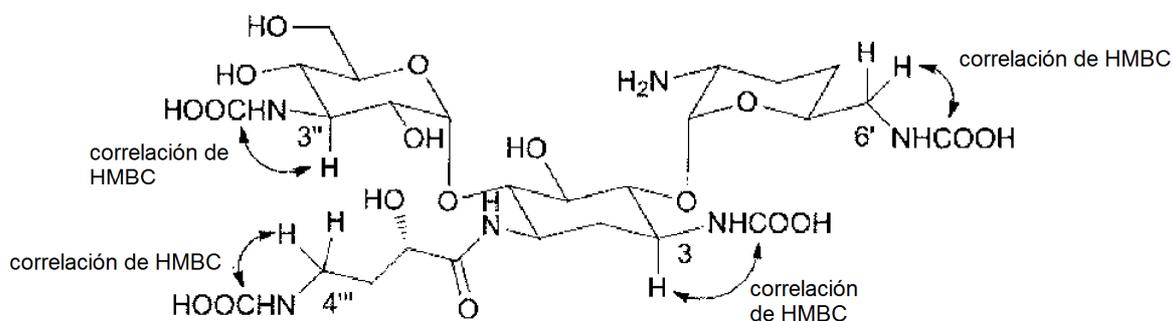


Uno cualquiera o más de  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ ,  $\text{R}_3$ , y  $\text{R}_4$  son  $\text{COOH}$  166,73-167,13 ppm

No obstante, en el caso en el que se añade carbonato de sodio a la solución acuosa de base libre de arbekacina, el carbonato de sodio tiene que ser en una cantidad que supere 3 equivalentes en relación con la base libre de arbekacina para generar señales suficientes pensadas de ácido carbámico (Fig. 3). De este modo, la condición para formar eficazmente ácido carbámico se estudió seriamente. Como resultado, se encontró un método para añadir

- dióxido de carbono a una solución acuosa de base libre de arbekacina. Además, se encontró que añadiendo etanol a esta solución acuosa precipitaba sólidos. Como resultado del análisis  $^{13}\text{C}$ -RMN sobre los sólidos obtenidos de este modo, se observaron múltiples señales a 163,95 ppm y a 166,15 a 167,95 ppm, que se pensó que eran respectivamente de un hidrogenocarbonato (hidrogenocarbonato de arbekacina que contiene un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$ ) y ácido carbámico (ácido carbámico de arbekacina) (Fig. 4). Este resultado sugirió que la adición de dióxido de carbono a una solución acuosa de base libre de arbekacina simultáneamente formaba ácido carbámico de arbekacina y carbonato de arbekacina (carbonato de arbekacina que contenido un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina)).
- Además, los sólidos obtenidos del modo anterior se midieron mediante método de RMN bidimensional (HMBC (espectroscopía de resonancia magnética nuclear) para observar las correlaciones entre  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  separados con 2 o 3 enlaces (véase la siguiente ecuación)). Como resultado, los máximos de correlación de HMBC de las posiciones  $6'$ ,  $4'''$ ,  $3$ , and  $3''$  se observaron aproximadamente a 166 ppm (Fig. 5). Este resultado reveló que la arbekacina y el dióxido de carbono se enlazaron entre sí a través de la formación de ácido carbámico. Los resultados anteriores revelaron que añadiendo uno cualquiera de dióxido de carbono, un carbonato y un hidrogenocarbonato a una solución de base libre de arbekacina formaron derivados de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina y ácido carbámico de arbekacina (es decir, derivado de ácido carbámico que incluye carbonato de arbekacina).

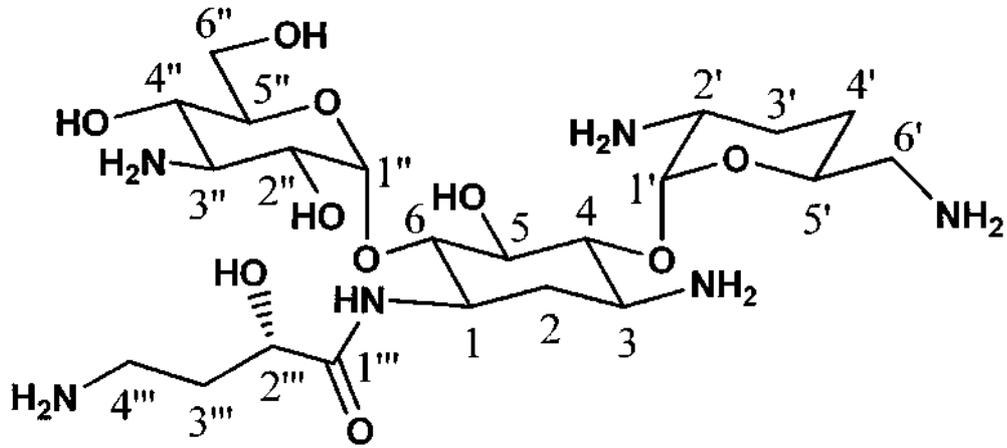
[Quím. 13]



- Posteriormente, un derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina (carbonato de arbekacina que contiene un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina)) se aisló a distintos niveles de pH cuando se añadió el dióxido de carbono a la solución acuosa de base libre de arbekacina y se llevó a cabo el análisis de  $^{13}\text{C}$ -RMN. Las siguientes Tablas 1 y 2 muestran el resultado de llevar a cabo la medición de  $^{13}\text{C}$ -RMN sobre derivados de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido en Ejemplos 2 y 3 a continuación. En la comparación entre el resultado de la solución de pH de 6,1 (Ejemplo 2) y el resultado del pH de 10,5 (Ejemplo 3) cuando se añadió dióxido de carbono, el número de señales fue diferente en gran medida; además, el número de señales pensado de carbono de carbonilo en la posición  $1'''$  diferían de aproximadamente 177 a 179 ppm y las desviaciones químicas de las otras señales diferían. Estas revelaron que se formaron mezclas en múltiples estados que eran distintas en posición y el número de ácidos carbámicos formados así como el número de carbonatos.

- Además, los presentes inventores estudiaron seriamente la condición para formar eficazmente ácido carbámico distinto al uso del dióxido de carbono. Como resultado, se encontró que los métodos para añadir carbonato de amonio o hidrogenocarbonato de amonio a una solución acuosa de base libre de arbekacina formaban eficazmente un derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluía carbonato de arbekacina (carbonato de arbekacina que contenía un ion de carbonato representado por  $\text{CO}_3^{2-}$ , o hidrogenocarbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$ ). En este caso también, el resultado de medición de  $^{13}\text{C}$ -RMN reveló que se formaron mezclas en múltiples estados que eran distintas en posición y el número de ácidos carbámicos formados así como el número de carbonatos, dependiendo de la cantidad de carbonato añadido. Las siguientes Tablas 1 y 2 muestran el resultado de llevar a cabo la medición de  $^{13}\text{C}$ -RMN sobre derivados de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido en Ejemplos 6 y 7 a continuación. Cabe destacar que, la siguiente fórmula muestra las posiciones de grupos de base libre de arbekacina.

[Quím. 14]



[Tabla 1]

Desviación química (ppm)				
base libre de arbekacina (asignación de cada señal)	base libre + dióxido de carbono		base libre + carbonato de amonio	
	Ejemplo 2 (pH 6,1)	Ejemplo 3 (pH 10,5)	Ejemplo 6 (3 eq.)	Ejemplo 7 (0,5 eq.)
179,2 (1''')	179,01	179,06	178,99	179,08
103,9 (1')	178,11	178,74	178,08	178,98
101,1 (1'')	178,01	167,37	177,94	178,32
89 (4)	167,84	166,98	177,87	178,26
83,3 (6)	167,41	166,08	167,82	178,18
77,9 (5)	167,03	103,90	167,39	178,10
74,8 (5'')	166,41	103,37	167,03	167,83
74,4 (2'')	166,08	101,02	166,40	167,40
73,4 (5')	163,84	100,80	166,05	167,01
72,7 (2''')	102,64	89,33	163,49	166,43
72,1 (4'')	101,60	88,42	102,63	166,09
63,1 (6'')	101,36	85,48	101,36	165,07
56,9 (3'')	101,28	83,16	101,12	103,06
52,7 (2')	101,16	82,96	101,01	102,80
52,4 (1)	101,05	82,74	100,94	102,67
51,9 (3)	100,90	78,49	100,80	102,55
47,8 (6')	100,64	77,76	100,69	102,35
40,1 (4''')	100,55	77,69	100,58	102,14
38,5 (3''')	88,44	74,64	100,40	101,44
37,2 (2)	86,24	74,23	100,09	101,12
30,3 (4')	86,13	72,67	86,23	101,02
28,7 (3')	85,87	72,42	86,15	100,89
	83,39	72,03	85,88	89,02
	82,94	71,82	83,45	87,45
	82,16	69,80	83,03	87,20
	78,31	62,90	82,19	86,12
	77,98	60,06	78,87	83,33

ES 2 682 931 T3

	77,71	56,67	78,25	83,28
	75,54	53,47	77,99	83,08
	74,82	52,46	77,68	82,84
	74,73	52,25	75,57	78,40
	73,91	51,92	74,85	77,89

[Tabla 2]

Desviación química (ppm) (continuación de la Tabla 1)				
base libre de arbekacina (asignación de cada señal)	base libre + dióxido de carbono		base libre + carbonato de amonio	
	Ejemplo 2 (pH 6,1)	Ejemplo 3 (pH 10,5)	Ejemplo 6 (3 eq.)	Ejemplo 7 (0,5 eq.)
	73,61	51,78	74,70	77,71
	73,25	48,12	73,66	77,58
	72,35	47,41	73,23	74,70
	72,14	46,60	72,33	74,16
	72,05	40,20	72,16	74,01
	71,66	39,81	72,06	73,30
	71,58	36,94	71,44	72,38
	71,45	36,78	71,33	72,08
	69,71	30,04	71,14	71,86
	68,21	28,35	71,06	71,79
	68,03	27,95	69,15	71,45
	63,26	19,47	68,11	71,22
	63,04	1,17	67,95	70,99
	62,92		63,29	70,88
	60,11		63,03	68,59
	58,39		62,85	62,93
	56,79		58,35	60,09
	56,71		56,77	58,46
	53,23		53,22	56,71
	53,12		52,70	53,30
	52,72		52,38	52,71
	52,43		52,12	52,48
	52,16		52,01	52,27
	52,07		51,95	52,20
	51,85		51,81	52,14
	51,72		51,66	51,90
	47,94		47,85	51,76
	46,27		45,96	48,06
	45,99		45,68	46,86
	45,79		40,25	46,67
	40,26		39,60	46,06
	39,63		37,15	40,20
	37,18		36,99	39,68
	36,86		36,81	37,19
	33,93		36,73	36,90
	33,74		33,72	34,93
	30,25		33,61	34,84
	29,81		30,23	34,79
	29,54		29,34	29,89
	26,61		26,56	29,79
	26,49		25,26	27,68

	26,31		24,98	27,56
	25,89		1,19	27,12
	25,73			26,99
	25,54			26,55
	19,49			19,48

**(Ejemplo 1)**

5 Después de disolver 1 g de base libre de arbekacina en 5,5 ml de agua, se sopló dióxido de carbono en el mismo y el pH se ajustó a 9,0. A esta solución, se añadieron 11 ml de etanol y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con estanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 0,95 g de derivados de arbekacina que incluyen carbonato de arbekacina y ácido carbámico de arbekacina (es decir, derivado de ácido carbámico que incluye carbonato de arbekacina"). En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de  
 10 arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 0,4 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,1 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

15 **(Ejemplo 2)**

Después de disolver 1 g de base libre de arbekacina en 200 ml de agua, se sopló dióxido de carbono en el mismo y el pH se ajustó a 6,1. A esta solución, se añadieron 1000 ml de etanol y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con  
 20 estanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 0,64 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 0,3 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,1 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era  
 25 carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

**(Ejemplo 3)**

30 Después de disolver 1 g de base libre de arbekacina en 1,6 ml de agua, se sopló dióxido de carbono en el mismo y el pH se ajustó a 10,5. A esta solución, se añadieron 20 ml de etanol y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con estanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 0,91 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que  
 35 incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 1,2 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,5 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de  
 40 arbekacina).

**(Ejemplo 4)**

Después de disolver 1 de g base libre de arbekacina en 2,4 ml de agua, se sopló dióxido de carbono en el mismo y el pH se ajustó a 8,9. Esta solución se añadió a 8 ml de etanol y se agitó y el derivado de ácido carbámico de  
 45 arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con estanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 1,00 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de  
 50 retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 1,8 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,8 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de  
 55 arbekacina).

**(Ejemplo 5)**

Después de disolver 1 g de base libre de arbekacina en 10 ml de agua, se sopló dióxido de carbono en el mismo y el pH se ajustó a 8,0. A esta solución, se añadieron 25 ml de etanol y se agitó y el derivado de ácido carbámico de  
 55 arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con estanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 1,07 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que

incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0, el contenido de sustancias relacionadas del 0,8 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,4 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

#### (Ejemplo 6)

En 10 ml de agua, se disolvieron 1 g de base libre de arbekacina y 3 equivalentes de carbonato de amonio. A esta solución, se añadieron 25 ml de etanol y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con etanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 0,96 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 0,3 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,1 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de carbonato representado por  $\text{CO}_3^{2-}$ .

#### (Ejemplo 7)

En 1,6 ml de agua, se disolvieron 1 g de base libre de arbekacina y 0,5 equivalentes de carbonato de amonio. A esta solución, se añadieron 8 ml de etanol y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con etanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 0,35 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 0,5 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,1 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de carbonato representado por  $\text{CO}_3^{2-}$ .

#### (Ejemplo 8)

En 200 ml de agua, se disolvieron 1 g de base libre de arbekacina y 102 equivalentes de carbonato de amonio. A esta solución, se añadieron 1000 ml de etanol y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con etanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 1,04 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 0,6 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,2 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de carbonato representado por  $\text{CO}_3^{2-}$ .

#### (Ejemplo 9)

En 10 ml de agua, se disolvieron 1 g de base libre de arbekacina y 3 equivalentes de hidrogenocarbonato de amonio. A esta solución, se añadieron 25 ml de etanol y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con etanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 0,96 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 0,2 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,0 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

#### (Ejemplo 10)

En 10 ml de agua, se disolvieron 1 g de base libre de arbekacina y 3 equivalentes de hidrogenocarbonato de sodio. Esta solución se añadió a 25 ml de etanol y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con etanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 0,35 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 1,4 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,4 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina

que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

(Ejemplo 11)

5 Después de disolver 3,0 g de base libre de arbekacina en 16,4 ml de agua, se sopló dióxido de carbono en el mismo y el pH se ajustó a 8,9. A esta solución, se añadieron 34 ml de metanol y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con metanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 1,93 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que  
10 incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 0,4 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,1 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

15

**(Ejemplo 12)**

Después de disolver 2,0 g de base libre de arbekacina en 5,5 ml de agua, se sopló dióxido de carbono en el mismo y el pH se ajustó a 8,9. A esta solución, se añadieron 22,7 ml de 2-propanol y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por  
20 filtración, se lavó con 2-propanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 1,90 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 1,3 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,4 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

25

**(Ejemplo 13)**

30

Después de disolver 3,0 g de base libre de arbekacina en 16,4 ml de agua, se sopló dióxido de carbono en el mismo y el pH se ajustó a 8,9. A esta solución, se añadieron 34 ml de dimetilsulfóxido y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por  
35 filtración, se lavó con dimetilsulfóxido y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 3,32 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 0,1 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,0 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

40

**(Ejemplo 14)**

Después de disolver 2,0 g de base libre de arbekacina en 5,5 ml de agua, se sopló dióxido de carbono en el mismo y el pH se ajustó a 8,9. A esta solución, se añadieron 91 ml de acetonitrilo y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con acetonitrilo y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 2,50 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que  
45 incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 1,5 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,5 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

50

**(Ejemplo 15)**

55

Después de disolver 2,0 g de base libre de arbekacina en 5,5 ml de agua, se sopló dióxido de carbono en el mismo y el pH se ajustó a 8,9. A esta solución, se añadieron 91 ml de tetrahidrofurano y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por  
60 filtración, se lavó con etrahidrofurano y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 2,12 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 1,5 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,5 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

65

**(Ejemplo 16)**

Después de disolver 2,0 g de base libre de arbekacina en 10,9 ml de agua, se sopló dióxido de carbono en el mismo y el pH se ajustó a 8,9. A esta solución, se añadieron 34 ml de piridina y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con piridina y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 2,58 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 1,3 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,4 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

**(Ejemplo 17)**

Después de disolver 2,0 g de base libre de arbekacina en 10,9 ml de agua, se sopló dióxido de carbono en el mismo y el pH se ajustó a 8,9. A esta solución, se añadieron 22,7 ml de N,N-dimetilformamida y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con N,N-dimetilformamida y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 2,23 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 1,0 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,1 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

**(Ejemplo 18)**

En 10,9 ml de agua, se disolvieron 2,0 g de base libre de arbekacina, se sopló dióxido de carbono en el mismo y el pH se ajustó a 8,9. A esta solución, se añadieron 22,7 ml de acetona y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con acetona y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 2,13 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 0,9 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,3 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

**(Ejemplo 19)**

En 16 ml de agua, se disolvieron 3,0 g de base libre de arbekacina, se sopló dióxido de carbono en el mismo y el pH se ajustó a 7,5. A esta solución, se añadieron 32 ml de etanol y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con etanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 3,40 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0, el contenido de sustancias relacionadas era del 0,4 % y el contenido de dibekacina del 0,1 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

**(Ejemplo de referencia)**

En 20 ml de agua, se disolvieron 5,0 g de base libre de arbekacina, y el pH se ajustó a 7,0 usando ácido sulfúrico diluido. Esta solución se sometió a liofilización. Por lo tanto, se obtuvieron 7,17 g de sulfato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el sulfato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 2,1 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 1,0 %.

**(Ejemplo 20)**

(i) En 52 ml de agua, se disolvieron 10,0 g de base libre de arbekacina en un lote usado en el Ejemplo de referencia, se sopló dióxido de carbono en el mismo y el pH se ajustó a 8,9. A esta solución, se añadieron 78 ml de etanol y se agitó y el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se precipitó. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con etanol y después se secó. Por lo tanto, se

obtuvieron 10,73 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 0,4 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,1 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

(ii) (ejemplo de referencia) En 160 ml de agua, se disolvieron 4,0 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido en (i) y se adsorbió en 50 ml de una resina de intercambio de cationes débilmente ácida. La resina se lavó con agua y se retiró el dióxido de carbono. Después, 1 mol/l de agua de amoníaco se pasó a través de la resina y se obtuvo una solución que contenía la base libre de arbekacina. Esta solución se sometió a liofilización. Por lo tanto, se obtuvieron 3,91 g de la base libre de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el base libre de arbekacina obtenida, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 0,4 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,2 %.

#### (Ejemplo 21 - ejemplo de referencia)

En 14 ml de agua, se disolvieron 4,0 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido en (i) del Ejemplo 20 y el pH se ajustó a 7,0 usando ácido sulfúrico diluido. Esta solución se sometió a liofilización. Por lo tanto, se obtuvieron 4,45 g de sulfato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el sulfato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0 y el contenido de sustancia relacionada fue del 0,4 %, en el cual el contenido de dibekacina fue del 0,2 %.

#### (Ejemplo 22)

En una solución de mezcla de 50 ml de metanol con 10 ml de agua, se disolvieron 3,0 g de base libre de arbekacina, se sopló dióxido de carbono en el mismo durante 60 minutos, y se precipitó un derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. El sólido precipitado se aisló por filtración, se lavó con metanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 3,30 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0, el contenido de sustancias relacionadas era del 0,4 % y el contenido de dibekacina del 0,2 %. Cabe destacar que, en este caso, el carbonato de arbekacina era carbonato de arbekacina que contenía un ion de hidrogenocarbonato representado por  $\text{HCO}_3^-$  (es decir, hidrogenocarbonato de arbekacina).

#### (Ejemplo 23)

A 1,0 g de derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido en el Ejemplo 14, se añadieron 6 ml de una solución de mezcla de etanol/agua=1/1 y se agitó para la disolución. A esta solución, se añadieron 4 ml de etanol y se precipitó un sólido. Se aisló por filtración, se lavó con etanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 0,75 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0, el contenido de sustancias relacionadas era del 0,3 % y el contenido de dibekacina del 0,0 %.

#### (Ejemplo 24)

A 1,0 g de derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido en el Ejemplo 15, se añadieron 10 ml de una solución de mezcla de etanol/agua=2/1 y se agitó. Se aisló un sólido por filtración, se lavó con etanol y después se secó. Por lo tanto, se obtuvieron 0,88 g del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina. En el análisis HPLC sobre el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido, el tiempo de retención relativo (el tiempo de retención de la muestra/el tiempo de retención de la sustancia estándar) fue 1,0, el contenido de sustancias relacionadas era del 0,2 % y el contenido de dibekacina del 0,1 %.

#### [Análisis HPLC]

Las condiciones del análisis de HPLC fueron como se describe en (3) Dibekacina y (4) Sustancia relacionada en el ensayo de pureza para sulfato de arbekacina en la decimosexta edición de Farmacopea Japonesa.

Tal como se ha descrito hasta el momento, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido según la presente invención fueron mezclas en múltiples estados que fueron distintas en la posición y en el número de ácidos carbámicos formados así como el número de carbonatos, dependiendo de las

condiciones de formación. Según el análisis HPLC sobre estos, el dióxido de carbono se perdió rápidamente y el máximo se detectó solo en el mismo tiempo de retención que el de la base libre de arbekacina usada como materia prima. La Tabla 3 muestra el resultado del análisis HPLC sobre base libre de arbekacina usada como materia prima en cada Ejemplo y sobre el derivado de ácido carbámico descrito anteriormente de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina (es decir, derivados de arbekacina) obtenido según la presente invención. El resultado que se muestra en la Tabla 3 reveló que las sustancias relacionadas disminuyeron en comparación con la base libre de arbekacina usada como materia prima. En otras palabras, se encontró que el método de la presente invención hizo posible retirar fácilmente sustancias relacionadas convirtiendo base libre de arbekacina en un derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina y aislando el resultante en una forma sólida, sin usar un método convencional de purificación de base libre de arbekacina mediante cromatografía.

[Tabla 3]

Ejemplo	Base libre de arbekacina usada como materia prima		Derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina
	lote n.º	contenido de sustancias relacionadas (cantidad de dibekacina)(%)	contenido de sustancias relacionadas (cantidad de dibekacina)(%)
Ejemplo 1	3	1,7(0,5)	0,4(0,1)
Ejemplo 2	2	2,2(1,0)	0,3(0,1)
Ejemplo 3	2	2,2(1,0)	1,2(0,5)
Ejemplo 4	2	2,2(1,0)	1,8(0,8)
Ejemplo 5	2	2,2(1,0)	0,8(0,4)
Ejemplo 6	1	1,7(0,5)	0,3(0,1)
Ejemplo 7	2	2,2(1,0)	0,5(0,1)
Ejemplo 8	2	2,2(1,0)	0,6(0,2)
Ejemplo 9	1	1,7(0,5)	0,2(0,0)
Ejemplo 10	2	2,2(1,0)	1,4(0,4)
Ejemplo 11	3	1,7(0,5)	0,4(0,1)
Ejemplo 12	4	1,6(0,5)	1,3(0,4)
Ejemplo 13	4	1,6(0,5)	0,1(0,0)
Ejemplo 14	4	1,6(0,5)	1,5(0,5)
Ejemplo 15	4	1,6(0,5)	1,4(0,4)
Ejemplo 16	4	1,6(0,5)	1,3(0,4)
Ejemplo 17	4	1,6(0,5)	1,0(0,1)
Ejemplo 18	4	1,6(0,5)	0,9(0,3)
Ejemplo 19	5	1,6(0,5)	0,4(0,1)
Ejemplo 20	2	2,2(1,0)	a)0,4(0,1), b)0,4(0,2)
Ejemplo 21	2	2,2(1,0)	0,4(0,2)
Ejemplo 22	5	1,6(0,5)	0,4(0,2)
Ejemplo 24	(compuesto obtenido en Ejemplo 14)		0,3(0,0)
Ejemplo 24	(compuesto obtenido en Ejemplo 15)		0,2(0,1)
Ejemplo de referencia	2	2,2(1,0)	2,1(1,0)

Además, Se reveló que el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina en forma sólida era más estable que la base libre de arbekacina (Tabla 4).

[Tabla 4]

	Cantidad de sustancias relacionadas aumentada (%) Fila superior: dibekacina, Fila inferior: contenido de sustancias relacionadas	
	40 °C, 75 % HR, 1 mes de almacenamiento	40 °C, 75 % HR, 2 meses de almacenamiento
Ejemplo 1	0,0	0,1
	0,0	0,1
Ejemplo 2	0,1	0,2
	0,2	0,2
Ejemplo 3	0,2	0,3
	0,2	0,3
Ejemplo 4	0,1	0,2
	0,1	0,3
Ejemplo 5	0,1	0,1
	0,1	0,1
Ejemplo 6	0,0	0,1
	0,0	0,1
Ejemplo 7	0,2	0,2
	0,2	0,3
Ejemplo 8	0,0	0,0
	0,0	0,0
Ejemplo 9	0,0	0,1
	0,0	0,1
Ejemplo 10	0,0	0,0
	0,0	0,2
la base libre de arbekacina	1,2	2,2
	1,7	4,3

5 Específicamente, la base libre de arbekacina se almacenó a 40 °C y a una humedad del 75 % durante 1 mes y 2 meses, y la cantidad de sustancias relacionadas cambiadas se analizó mediante HPLC. Como resultado, la observación mostró que la cantidad de sustancias relacionadas cambiadas (es decir, la cantidad aumentada) fue del 4 % o más. Por el contrario, en el caso del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina obtenido según la presente invención y almacenado en las mismas condiciones, el aumento en la cantidad de sustancias relacionadas cambiadas fue solo del 0,3 % o menos. Se reveló que el efecto de estas se retuvo, cuando el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina se obtuvo dentro de condiciones preferentes, incluso si la posición y el número de ácidos carbámicos así como el número de carbonatos eran distintos.

15 Además, se reveló que el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina tenía propiedades de adsorción de humedad bajas en comparación con la base libre de arbekacina. La Tabla 5 muestra el resultado de medición de las propiedades de absorción de humedad cuando la base libre de arbekacina y el compuesto obtenido en Ejemplo 19 de la presente invención se almacenaron cada uno a 40 °C y una humedad del 12, 22, 30, 43 y 53 %.

[Tabla 5]

	Humedad del 12 %	Humedad del 22 %	Humedad del 30 %	Humedad del 43 %	Humedad del 53 %
Base libre de arbekacina	1,60	4,62	6,25	7,54	9,14
Ejemplo 19	-0,52	0,06	0,59	0,90	2,63

20 Lo anterior reveló que fue posible almacenar fácilmente el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina como materia prima de una sal farmacéuticamente aceptable de arbekacina.

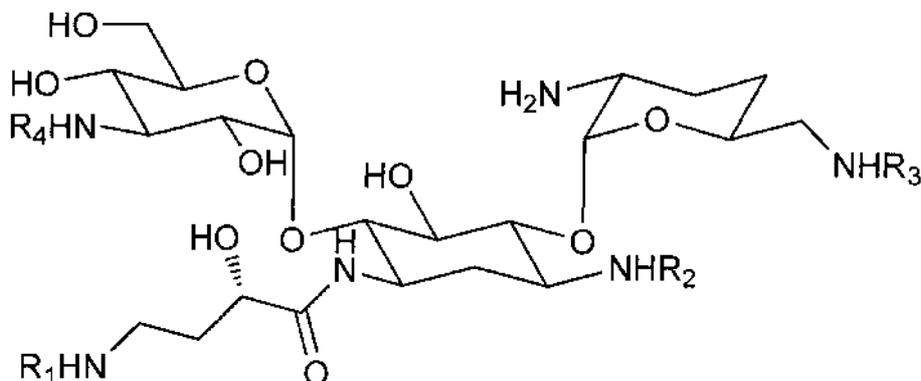
**[Aplicabilidad industrial]**

5 La presente invención proporciona el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina y hace posible producir base libre de arbekacina y una sal farmacéuticamente aceptable de la misma eficazmente con una alta pureza. La presente invención puede contribuir en gran medida al campo médico particularmente.

REIVINDICACIONES

1. Un método de producción de un derivado de ácido carbámico de arbekacina representado por la siguiente fórmula (2):

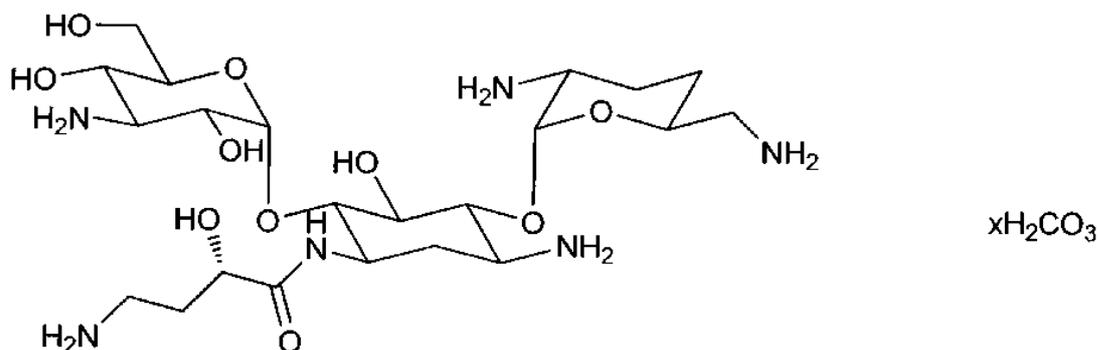
5



Fórmula (2),

en la fórmula, al menos uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, y R<sub>4</sub> es COOH, mientras que el resto representa H e incluye carbonato de arbekacina representado por la siguiente fórmula (1):

10



Fórmula (1),

en la fórmula, x representa de 1 a 5, comprendiendo el método de producción:

15

(a) una etapa de adición de uno cualquiera de dióxido de carbono, un carbonato y un hidrogenocarbonato a una solución que contiene base libre de arbekacina, preparando, de este modo, una solución que contiene un derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina;

20

(b) una etapa de precipitación del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina en la solución; y

(c) una etapa de separación del derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina precipitado.

25

2. El método de producción de acuerdo con la reivindicación 1, en el que, en la etapa (a), se añade dióxido de carbono a la solución que contiene base libre de arbekacina para producir un pH de 6,1 a 10,5, preparando, de este modo, la solución que contiene el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina.

30

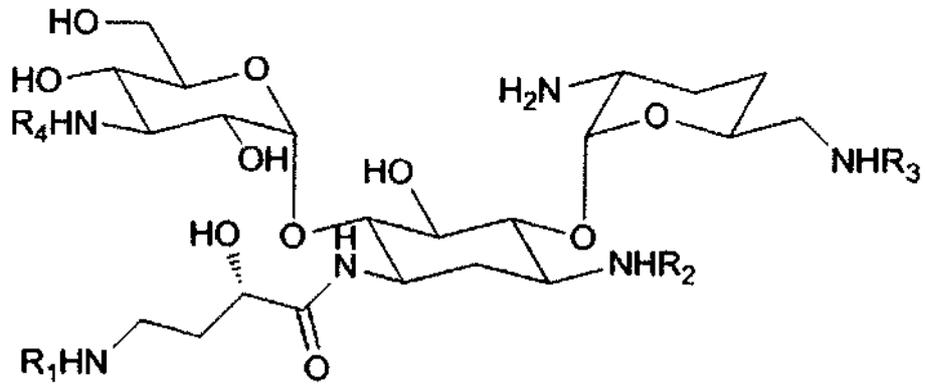
3. El método de producción de acuerdo con la reivindicación 1, en el que, en la etapa (a), uno cualquiera de un carbonato y un hidrogenocarbonato en una cantidad de 0,5 equivalentes o más se añade a la solución que contiene base libre de arbekacina, preparando, de este modo, la solución que contiene el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina.

35

4. El método de producción de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que, en la etapa (b), la solución preparada en la etapa (a) se mezcla con un disolvente orgánico, precipitando, de este modo, el derivado de ácido carbámico de arbekacina que incluye carbonato de arbekacina, y el disolvente orgánico se selecciona del grupo que consiste en metanol, etanol, propanol, dimetilsulfóxido, acetonitrilo, piridina, tetrahidrofurano, acetona, N,N-dimetilformamida y combinaciones de disolventes de los mismos.

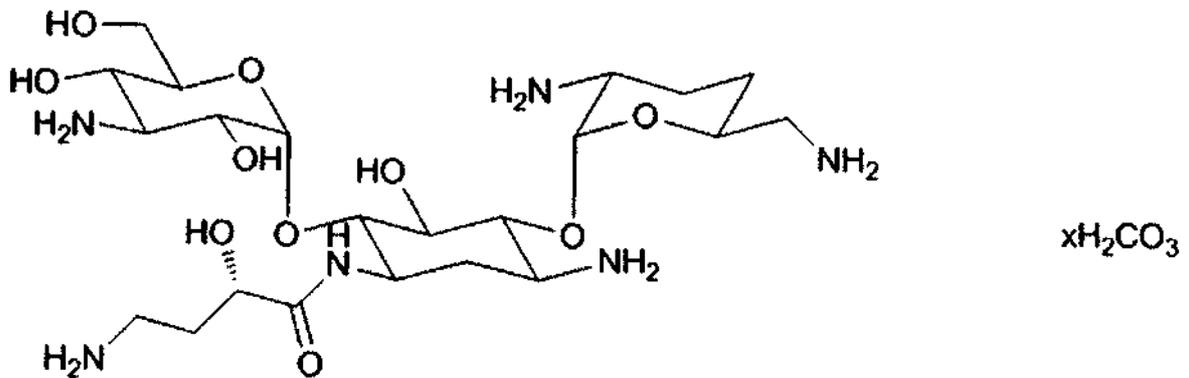
40

5. Un derivado de ácido carbámico de arbekacina representado por la siguiente fórmula (2):



Fórmula (2),

5 en la fórmula, al menos uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, y R<sub>4</sub> es COOH, mientras que el resto representa H e incluye carbonato de arbekacina representado por la siguiente fórmula (1):



Fórmula (1),

10 en la fórmula, x representa de 1 a 5, producido por el método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

Fig.1

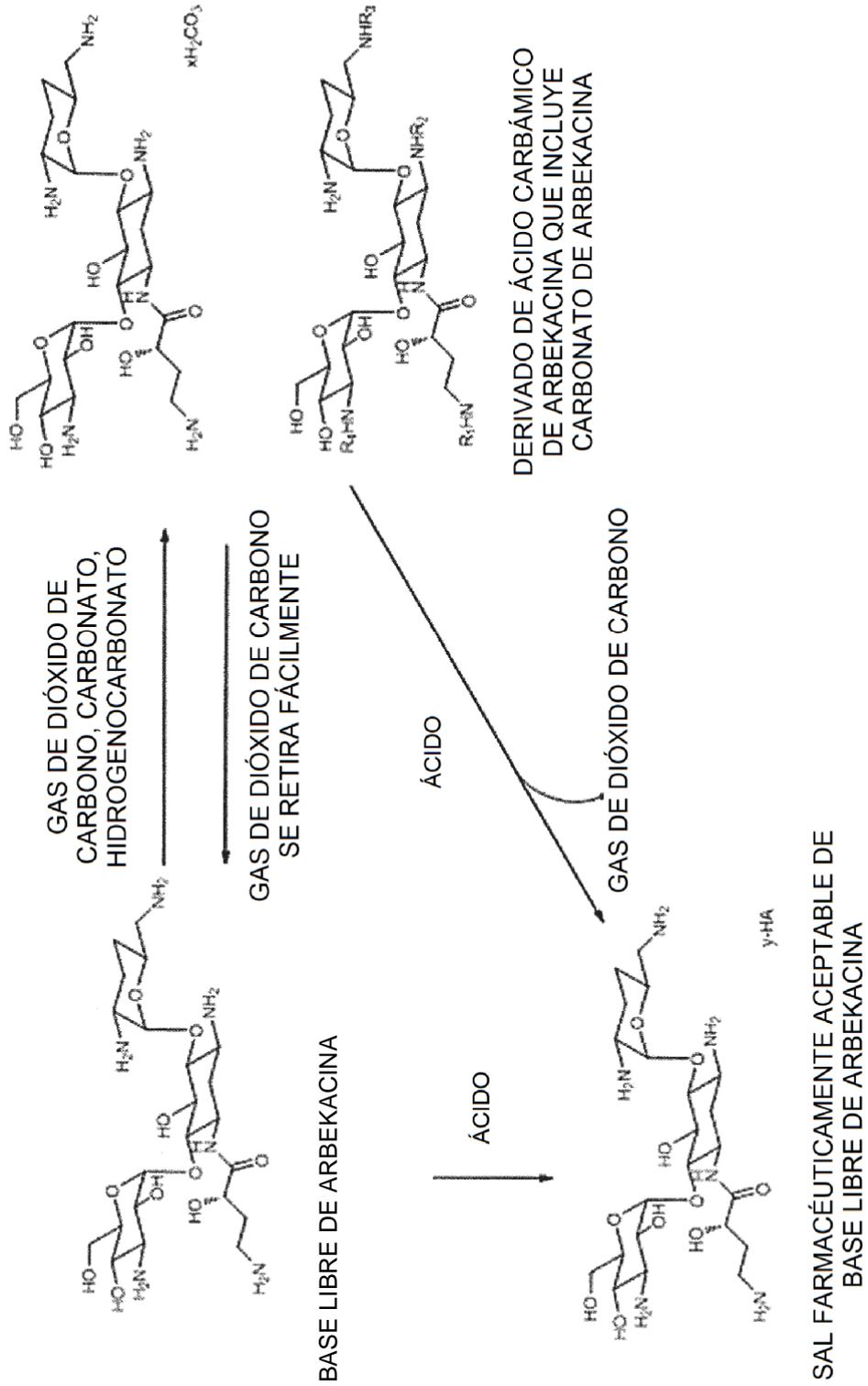


Fig.2

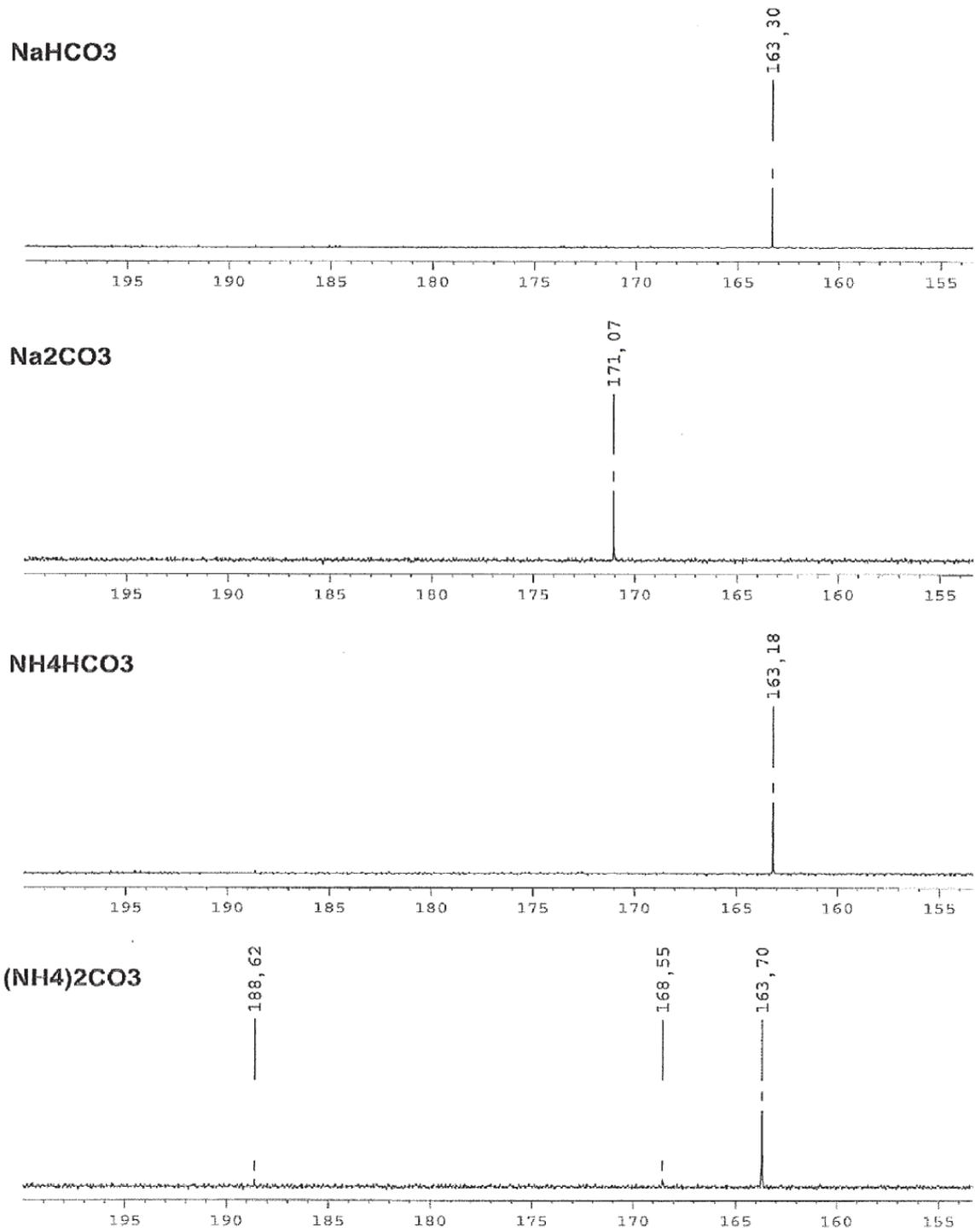
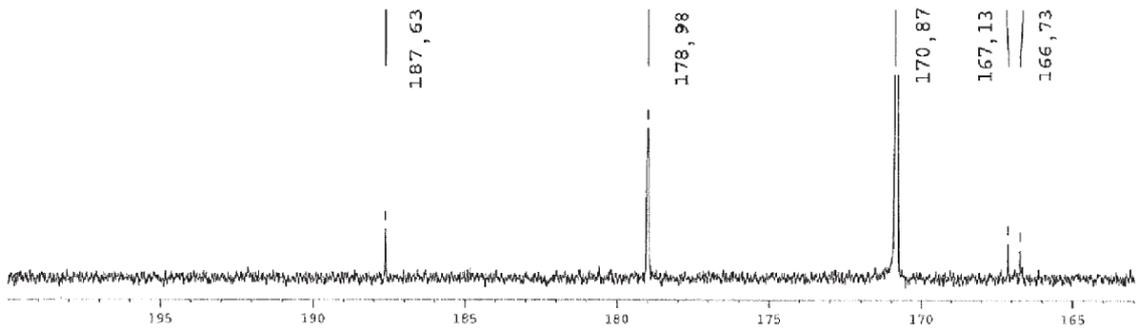
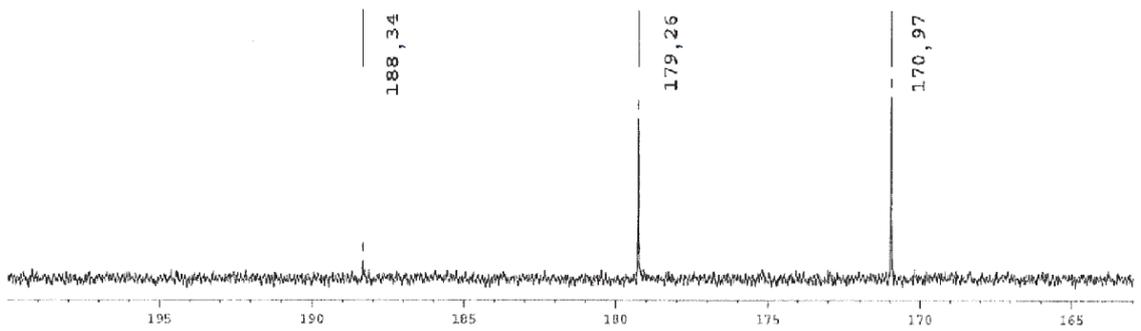


Fig.3

BASE LIBRE DE ARBEKACINA + CARBONATO DE SODIO (15 eq.)



BASE LIBRE DE ARBEKACINA + CARBONATO DE SODIO (3 eq.)



BASE LIBRE DE ARBEKACINA

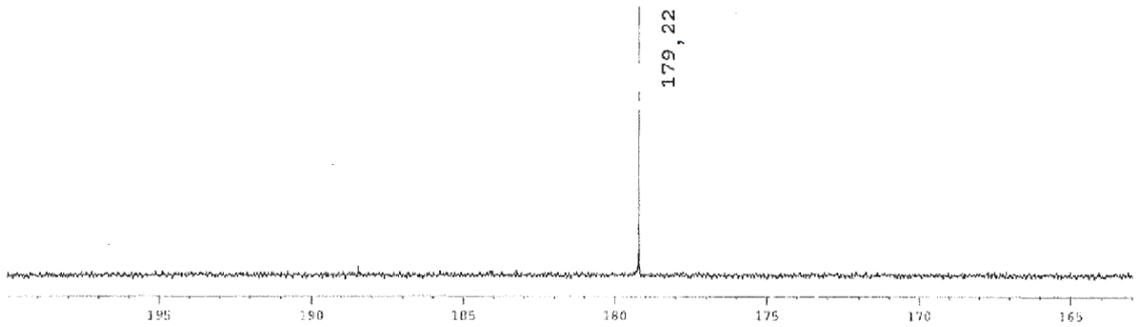


Fig.4

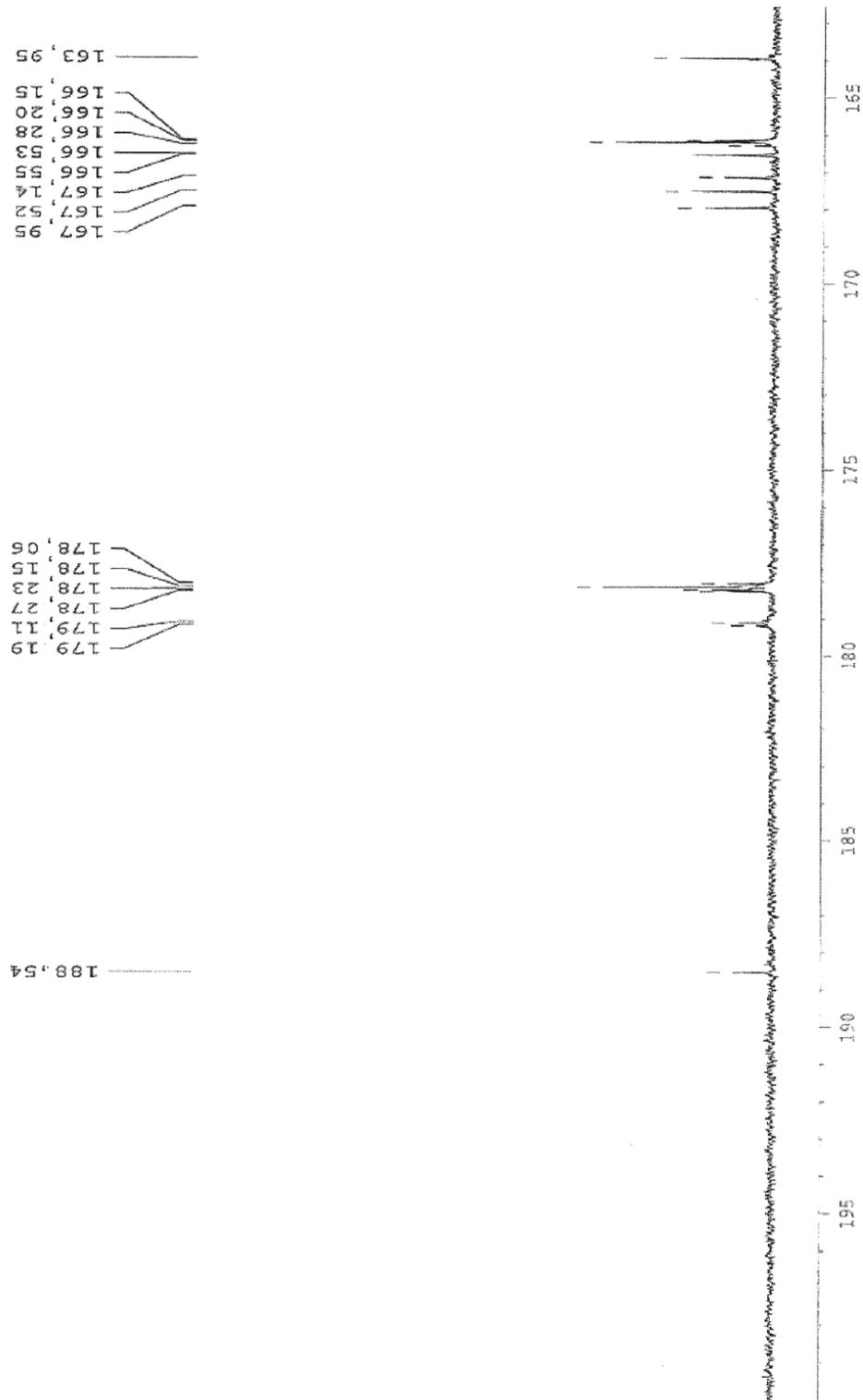


Fig.5

BASE LIBRE DE ARBEKACINA + DIÓXIDO DE CARBONO

