



SUOMI-FINLAND
(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

[B] (11) KUULUTUSJULKAISU 67704
UTLÄGGNINGSSKRIFT

C (45) Patentti myönnetty 10 05 1985
Patent meddelat

(51) Kv.lk./Int.Cl.⁴ C 07 D 501/22

(21) Patentihakemus — Patentansökning 771339

(22) Hakemispäivä — Ansökningsdag 27.04.77

(23) Alkupäivä — Giltighetsdag 27.04.77

(41) Tullut julkiseksi — Blivit offentlig 28.10.77

(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. —
Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad 31.01.85

(32)(33)(31) Pyydetty etuoikeus — Begärd prioritet 27.04.76

07.03.77 Englanti-England(GB) 17028/76
17028/76

(71) Bristol-Myers Company, 345 Park Avenue, New York, N.Y. 10022, USA(US)

(72) Daniel Bouzard, Franconville, Abraham Weber, Paris, Jaques Stemer,
Paris, Ranska-Frankrike(FR)

(74) Oy Kolster Ab

(54) Menetelmä uuden terapeuttisesti käytettävän, kiteisen 7- \sqrt{D} - α -amino- α -(p-
-hydroksifenyyli)asetamido $\sqrt{7}$ -3-metyyli-3-kefem-4-karboksyylihapon mono-
hydraatin valmistamiseksi - Förfarande för framställning av ett nytt
terapeutiskt användbart, kristallint monohydrat av 7- \sqrt{D} - α -amino- α -(p-
-hydroksifenyl)acetamido $\sqrt{7}$ -3-metyl-3-cefem-4-karboxylsyra

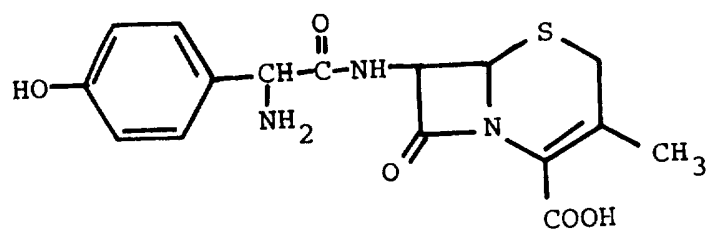
Keksinnön kohteena on menetelmä uuden terapeuttisesti käytettävän, kiteisen 7- \sqrt{D} - α -amino- α -(p-hydroksifenyyli)asetamido $\sqrt{7}$ -3-metyyli-3-kefem-4-karboksyylihapon monohydraatin valmistamiseksi, jolla on seuraavat röntgensäde-diffraktio-ominaisuudet:

<u>Viiva</u>	<u>Välimatka d (Å)</u>	<u>Suhteellinen intensiteetti</u>
1	8,84	100
2	7,88	40
3	7,27	42
4	6,89	15
5	6,08	70
6	5,56	5
7	5,35	63
8	4,98	38

(jatkuu)

<u>Viiva</u>	<u>Välimatka d (Å)</u>	<u>Suhteellinen intensiteetti</u>
9	4,73	26
10	4,43	18
11	4,10	61
12	3,95	5
13	3,79	70
14	3,66	5
15	3,55	12
16	3,45	74
17	3,30	11
18	3,18	14
19	3,09	16
20	3,03	29
21	2,93	8
22	2,85	26
23	2,76	19
24	2,67	9
25	2,59	28
26	2,51	12
27	2,46	13
28	2,41	2
29	2,35	12
30	2,30	2
31	2,20	15
32	2,17	11
33	2,12	7
34	2,05	4
35	1,99	4
36	1,95	14
37	1,90	10

7- β -D- α -amino- α -(p-hydroksifenyyl)asetamido]-3-metyyli-3-kefem-4-karboksyylihappo eli kefadroksiili on esitetty GB-patentissa 1 240 687, ja sillä on seuraava rakennekaava



Keksinnön mukaiselle menetelmälle on tunnusomaista, että

1) kefadroksiili-liuoksen pH nostetaan dimetyyliformamidin ylimäärän läsnäollessa, jolloin muodostuu 7- β -D- α -amino- α -(p-hydroksifenyyli)asetamido]-3-metyyli-3-kefem-4-karboksyylihapon dimetyyliformamidi-solvaatti; liuotetaan saatu solvaatti happameksi tehtyyn veteen tai happameksi tehdyn veden ja asetonitriilin seokseen, ja muodostuneen liuoksen pH-arvoa nostetaan niin, että haluttu kiteinen monohydraatti saostuu,

2) kefadroksiili-liuoksen pH nostetaan dimetyyliformamidin ylimäärän läsnäollessa, jolloin muodostuu 7- β -D- α -amino- α -(p-hydroksifenyyli)asetamido]-3-metyyli-3-kefem-4-karboksyylihapon dimetyyliformamidi-solvaatti, ja yhdistetään saatu solvaatti veden tai osittain vettä sisältävän väliaineen kanssa, jotta haluttu kiteinen monohydraatti saostuu, tai

3) kefadroksiili-liuoksen pH nostetaan, jolloin muodostuu 7- β -D- α -amino- α -(p-hydroksifenyyli)asetamido]-3-metyyli-3-kefem-4-karboksyylihappo, ja yhdistetään mainittu happo veden tai osittain vettä sisältävän väliaineen kanssa, jotta saadaan aikaan halutun monohydraatin kiteytyminen.

Kefadroksiilin uusi kiteinen monohydraatti on laajavaikutteinen antibiootti, joka on tehokas torjuttaessa gram-positiivisten ja gram-negatiivisten mikro-organismien useiden lajien aiheuttamia tauteja. Sillä on erityisesti merkitystä suun kautta nautittavana kefalosporiini-antibioottina.

GB-patentti 1 240 687 esittää kefadroksiilin valmistusmenetelmän, jossa asyloidaan 7-aminodesasetoksikefalosporaanihappo (7-ADCA) amino-ryhmällä suojatulla D-(-)- α -amino- α -(p-hydroksifenyyli)etikkahapon johdannaisella. Erilaisista aminoryhmällä suojatuista asyloimisaineista, jotka on esitetty, suurimmat saannot saatiin D-(-)- α -(p-hydroksifenyyli)- α -(t-butoksykarbonyyliamino)-etikkahapolla, niinsanotun t-BOC-menetelmän avulla. US-patentti 3 985 741 esittää kefadroksiilin valmistusmenetelmän, jossa asyloidaan 7-ADCA D-(-)- α -(p-hydroksifenyyli)glysiinin seosanhydridillä, jolloin viimeksimainitun α -aminoryhmä on suojattu β -keto-yhdisteellä kuten metyyliasetoasetaatilla. Tämä menetelmä, samalla kun sillä on eräitä määrättyjä etuja t-BOC-menetelmään nähden, ei vielä ole niin tehokas kuin on toivottavaa kaupallisesti toteutettavissa olevaa tuotantomenetelmää ajatellen.

67704

BE-patentissa 829 758 on esitetty kefadroksiilin tuottaminen hydrolysoimalla entsyymaattisesti sen 0-asetyyli-johdannainen.

Röntgensäde-diffraktio-analyysi suoritettiin seuraavalla tavalla:

Pieni määrä kutakin näytettä suljettiin joko 0,2 mm:n tai 0,5 mm:n läpimittaiseen, alhaisen hajonnan omaavaan lasikapillaari-putkeen, joka kiinnitettiin valotusta varten halkaisijaltaan 114,6 mm:n Debye-Scherrer diffraktioanalyysikameraan. Valotusaika oli 3 tuntia Norelco-röntgensäde-generaattorilla, joka toimi 35 KV:lla -20 mA:lla ja jossa oli standardi polttopiste kupariantikatodi röntgensädeputki (painotettu Cu $K\alpha$ aallonpituus $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$). Käytettiin Kodak No-Screen röntgensädefilmiä ja sen kehitysaika oli 3 minuuttia 20°C:ssa Kodakin nestemäisessä röntgensädekehittäessä (Kodak Liquid X-Ray Developer).

Joihinkin näytteisiin sekoitettiin pieni määrä kiteistä natriumfluoridia sisäistä kalibrointia varten.

Samassa tarkoituksessa myös näyte puhdasta NaF:a käsiteltiin samalla tavalla.

Filmit luettiin Norelco Debye-Scherrer filminlukijalla, joka taltioi diffraktiorenkaiden asemat, kun renkaiden pienin etäisyys oli 0,05 mm. Tulokset korjattiin filmin kutistumisen suhteen ja tasojen väliset etäisyydet määrättiin korjatuista tiedoista. Tietokoneohjelmaa (XRAY, tekijä P. Zugenmaier) käytettiin kaikkiin laskutoimituksiin. d-välimatkan arvoja koskevien tulosten tarkkuus oli ~ 1 %.

Kaikien filmien intensiteetin tallentaminen tehtiin Joyce-Loeble Mark IIIC Recording mikrodensitometrillä (ajosuhde (scan ratio) 5:1, 0,1 O.D. kiila). Kaikkien tunnistettavissa olevien diffraktiorenkaiden suhteelliset intensiteetit määrättiin mittakaavassa 1 - 100 käyttäen maksimi-intensiteettejä, jotka oli korjattu taustalukeman suhteen.

Näyte kiteistä monohydraattituotetta tutkittiin infrapuna-analyysin avulla ja näytteen spektri (KBr kide) on esitetty kuvassa 1.

Uusi kiteinen monohydraatti voidaan valmistaa useilla vaihtoehtoisilla tavoilla.

Eräässä menetelmässä kefadroksiilin liuos solvolyyysivaiheen jälkeen neutraloidaan emäksisellä aineella, esim. tertiäärisellä amiiniemäksellä, kuten trietyyliamiinilla, dimetyyliformamidin ylimäärän läsnäollessa, kunnes kefadroksiilin dimetyyliformamidisolvaatti saostuu liuoksesta. Solvaatti kerätään ja pestään (mieluummin sitä ei kuivata), jotta muodostuu kiteinen aine, joka on identtinen aineen kanssa, jota koskevat tiedot on julkaistu US-patentissa 3 985 741 (esimerkki 6A). Kefadroksiilidimetyyliformamidisolvaatti muutetaan halutuksi kefadroksiilimonohydraatiksi liuottamalla solvaatti happameksi tehtyyn veteen tai happameksi tehdyn veden ja asetonitriilin seokseen ja sitten neutraloimalla happameksi tehty liuos monohydraattituotteen saostamiseksi.

Kefadroksiilidimetyyliformamidisolvaatti liukenee pH-alueella 2 - 2,4, mikä saadaan aikaan lisäämällä mineraalihappoa, esimerkiksi suolahappoa, solvaatin ja veden seokseen tai solvaatin ja asetonitriilin ja veden seokseen. Kiinteät epäpuhtaudet voidaan poistaa menetelmän tässä vaiheessa suodattamalla happameksi tehty liuos sen jälkeen kun se on käsitelty aktiivihielellä ja/tai suodatuksen apuaineella.

Tämän jälkeen happameksi tehty liuos neutraloidaan, mieluummin ravistellen ja lämmittäen 35 - 60°C:seen, lisäämällä sopivaa emästä, esim. alifaattista tertiääristä amiinia, kuten trietyyliamiinia, jotta liuoksen pH nousee arvoon, jossa kefadroksiilimonohydraatti kiteytyy liuoksesta.

Neutraloinnin aikana lisätään liuokseen edullisesti asetonitriiliä, joka toimii liukenemistä estävänä aineena (saostavana aineena), jolloin saavutetaan halutun tuotteen mahdollisimman hyvä talteenotto. Saannot paranevat myös kun liuokseen lisätään halutun monohydraatin ympäyskiteitä, joko ennen lopullista neutralointivaihetta ja/tai sen aikana.

Edellä esitettyssä menetelmässä, kiteisen kefadroksiilimonohydraatin vaihtoehtoiseen valmistusmenetelmään sisältyy kefadroksiilidimetyyliformamidisolvaatin valmistaminen, kuten edellä on kuvattu, ja mainitun solvaatin yhdistäminen veden tai osittain vettä sisältävän väliaineen kanssa, kunnes haluttu monohydraatti kiteytyy liuotinjärjestelmästä.

Kefadroksiilidimetyyliformamidisolvaatti liuotetaan veteen tai veden ja orgaanisen liuottimen, kuten asetonitriilin, asetonin, C₁-C₅-alkoholin (metanoli, etanoli, n-propanoli, isopropanoli, n-butanoli, amyylialkoholi, jne.) seokseen, tai mainittujen orgaanisten liuottimien seokseen. Pidetään parempana käyttää osittain vettä sisältäviä orgaanisia liuotinjärjestelmiä, koska orgaaniset liuottimet liuottavat itseensä epäpuhtauksia, ja saadaan puhtaampi lopputuote.

Kun käytetään veden ja orgaanisten liuottimien seoksia, liuotinkomponenttien suhteet saattavat vaihdella laajalla alueella ilman vakavia haittavaikutuksia. Useille, osittain vettä sisältäville liuotinjärjestelmille on määritetty edulliset liuotinsuhteet, ja ne ovat seuraavat (til./til.):

- vesi:asetoni (1:3)
- vesi:isopropanoli (1:3)
- vesi:asetonitriili (1:3)
- vesi:n-butanoli (1:1)

Kun kysymyksessä on vesi:asetonitriili-seos, pidetään parempana lisätä n-butanolia (mieluummin solvaatin liuottamisen jälkeen), jotta varmistutaan siitä, että liuotinjärjestelmä säilyy homogeenisena faasina kiteyttämisen aikana. Kiteyttämisympäristöön lisätään mieluummin riittävästi n-butanolia niin, että saavutetaan lopullinen vesi/asetonitriili/n-butanoli-liuotinsuhde (1:2:1) (til./til.).

Solvaatin pitoisuus vettä tai osittain vettä sisältävässä kiteyttämisympäristössä ei ole kriittinen. Parhaimmat saannot kuitenkin saadaan, kun käytetään liuoksia, joiden pitoisuudet ovat noin 400 - 800 g/l. Solvaatti lisätään liuotinjärjestelmään mieluummin vähitellen ja sekoittaen, ajanjakson aikana, joka on riippuvainen käytetyn solvaatin määrästä, ts. ajanjaksona, joka kestää joistakin minuuteista useisiin tunteihin.

Kiteyttäminen voidaan suorittaa laajalla lämpötila-alueella, ts. huoneen lämpötilasta liuotinsysteemin kiehumispisteeseen. Hyviä tuloksia saadaan noin 35 - 60°C:n, ja parhaimmat tulokset 40 - 45°C:n lämpötila-alueella.

Monohydraatin saannot paranevat ympäällä dimetyyliformamidi-liuos kefadroksiilimonohydraatin ympäyskriteillä.

Toisen monohydraatin valmistusmenetelmän mukaan raakaa kefadroksiilia käsitellään vedellä tai veden ja sopivan orgaanisen liuottimen, ensisijaisesti asetonitriilin, asetonin, C₁-C₅-alkoholin (esim. metanolin, etanolin, n-propanolin, iso-propanolin, n-butanolin, amylyli-alkoholin, jne.) seoksella, kunnes kefadroksiili-monohydraatti kiteytyy liuoksesta.

Kuten dimetyyliformamidisolvaatin kiteyttämismenetelmän yhteydessä, parhaimpana pidetty liuotinjärjestelmä on vesi/asetonitriili/n-butanoli (1:2:1) (til./til.). Parhaimpana pidetty suoritusmuoto on kiteisen kefadroksiilimonohydraatin valmistusmenetelmä joko kefadroksiilidimetyyliformamidisolvaatista tai raa'asta kefadroksiilista seuraavien vaiheiden kautta:

a) liuotetaan 7- β -D- α -amino- α -(p-hydroksifenyyli)asetamido-7-3-metyyli-3-kefem-4-karboksyylihapon dimetyyliformamidisolvaatti happameksi tehtyyn veteen tai happameksi tehdyn veden ja asetonitriilin seokseen, ja nostetaan mainitun happameksi tehdyn liuoksen pH, kunnes monohydraatti kiteytyy liuoksesta, tai

b) yhdistetään 7- β -D- α -amino- α -(p-hydroksifenyyli)asetamido-7-3-metyyli-3-kefem-4-karboksyylihappo tai sen dimetyyliformamidisolvaatti veden kanssa tai osittain vettä sisältävän väliaineen kanssa, kunnes monohydraatti kiteytyy liuoksesta.

Yllämainitussa menetelmässä käytettyä dimetyyliformamidisolvaattia ja kefadroksiililähtöainetta valmistetaan tunnetuilla menetelmillä (ks. GB-patentti 1 240 687, US-patentti 3 985 741 ja BE-patentti 829 758).

Farmakologiset kokeet ja niiden tulokset

Tutkittiin erilaisia kefadroksiili- ja kefaleksiinimonohydraatteja. Kokeissa 1 - 3 (ks. taulukko) käytettiin vanhoja kefadroksiilimonohydraatteja, ja kokeessa 4 uutta kefadroksiilimonohydraattia. Koeryhmiin kuului 12 - 16 kumpaakin sukupuolta edustavaa vapaaehtoista, ikäryhmässä 19 - 50 vuotta. Tutkittava yhdiste annettiin suun kautta klo 8.00 aamulla yön yli kestäneen paastoamisen jälkeen. Annos oli 250, 500 ja 1000 mg. Jokaiselle koehenkilölle annettiin kukin yhdiste 6 vrk:n lepoajan välein. Verinäytteet otettiin juuri ennen yhdisteen antamista ja sen jälkeen tietyin aikavälein. Yhdisteen pitoisuus veriseerumissa määritettiin mikro-organismin Sarcina lutea avulla käyttäen agar-levyjä.

Keskimääräinen seerumipitoisuusarvo kullakin aikajaksolla laskettiin kullekin verinäytteelle määritetyistä arvoista ja piirrettiin käyrä seerumipitoisuudesta aikaa vastaan. Käyristä määritettiin tutkittujen yhdisteiden maksimiseerumipitoisuus kussakin kokeessa, sekä seerumipitoisuus vs. aika-käyrän alapuolinen pinta-ala (määritettiin trapetsoidimallia käyttäen).

Tulokset on esitetty seuraavassa taulukossa.

Maksimiseerumipitoisuus ($\mu\text{g/ml}$) ja
seerumipitoisuus 6 tunnin aikana ($\mu\text{g/ml} \times \text{h}$)

Koe n:o	Annos		Kefadroksiili- monohydraatti	Kefaleksiini- monohydraatti	Seerumipitoisuuksien suhde
1	250 mg	Maksimiseerumipitoisuus	7,65	12,22	0,63
		Seerumipitoisuus (6 h)	23,78	19,03	1,25
2	500 mg	Maksimiseerumipitoisuus	15,10	19,90	0,76
		Seerumipitoisuus (6 h)	46,21	35,9	1,28
3	1000 mg	Maksimiseerumipitoisuus	23,04	35,24	0,65
		Seerumipitoisuus (6 h)	77,8	74,5	1,04
4	500 mg	Maksimiseerumipitoisuus	15,72	17,19	0,92
		Seerumipitoisuus (6 h)	46,96	34,23	1,37

Viimeisessä sarakkeessa olevat seerumipitoisuuksien suhteet ilmaisevat eri kefadroksiili-näytteiden suhteelliset seerumipitoisuudet ja vaikutuksen keston verrattuna kefaleksiiniin. Taulukosta ilmenee, että uuden kefadroksiilimonohydraatin kesto on 37 % pitempi kuin kefaleksiinimonohydraatin ja sillä on lähes sama maksimiseerumipitoisuus. Nämä arvot ovat korkeampia kuin vanhoilla kefadroksiilimonohydraateilla saadut arvot.

Seuraavat esimerkit kuvaavat keksintöä. Kaikki lämpötilat on ilmaistu Celsius-asteissa. 7-aminodesasetoksefalosporaanihapo on lyhennetty 7-ADCA:ksi, trietyyliamiini TEA:ksi, dimetyylianiiliini DMA:ksi ja dimetyyliformamidi DMF:ksi.

Esimerkki 1

Kefadroksiilin kiteisen monohydraatin valmistaminen

A. Kefadroksiilidimetyyliformamidisolvaatti

Sekoittajalla ja lämpömittarilla varustettuun kolmikaulaiseen pulloon lisättiin 2250 ml metyleenikloridia (K F 0,05 %), 7-ADCA (100 g), dimetyylianiiliinia (80,5 g) ja trimetyylikloorisilaania (105 g). Tähän reaktioseokseen lisättiin sitten 18,1 g trietyyliamiinia sekoittaen, noin 20 - 30 minuutin aikana. Lämpötila pidettiin 25 - 27°C:n välillä TEA-lisäyksen aikana. Reaktioseosta sekoitettiin 60 minuutin ajan 25 - 27°C:ssa, jonka jälkeen lisättiin metyleenikloridin liuosta, joka sisälsi 33 % p/p DMA.HCl:a (K F \leq 0,1 %). Liuoksen lämpötila säädettiin 4 - 6°C:seen ja 128,5 g D-(-)-(p-hydroksifenyyli)glysylikloridin hydrokloridia lisättiin viitenä yhtä suurena osana 10 minuutin välein. Asyloimisaineen lisäyksen jälkeen reaktioseosta sekoitettiin vielä 60 minuuttia 4 - 6°C:ssa. Asyloimiseokseen lisättiin sitten 500 ml vettä ja liuosta sekoitettiin 20 minuutin ajan. Reaktioseos suodatettiin Dicalite-kerroksen läpi (Great Lakes Carbon Corporation) ja pestiin 150 ml:lla vettä ja 300 ml:lla metyleenikloridia. Vesifaasi säilytettiin ja siihen lisättiin 20°C:ssa 1100 ml isopropanolia ja riittävästi trietyyliamiinia, jolla liuoksen pH säädettiin arvoon 4,4 - 4,5. Liuosta kuumennettiin 24 - 26°C:ssa ja dimetyyliformamidi (2250 ml) lisättiin hitaasti (ravistellen) 20 minuutissa. Reaktioseos jäähdytettiin 60 minuutin kuluttua 3°C:seen ja sitä ravisteltiin tämän jälkeen vielä 120 minuuttia. Kefadroksiilidimetyyliformamidisolvaatti kiteytyi liuksesta ja se koottiin suodattamalla ja pestiin 400 ml:lla dimetyyliformamidia.

B. Kefadroksiili-DMF-solvaatin muuttaminen kefadroksiilin monohydraatiksi

200 ml:n dekantterilasiin lisättiin sekoittaen 20 - 25°C:ssa vettä (225 ml), asetonitriiliä (700 ml), kefadroksiilidimetyyliformamidi (joka oli saatu A-osassa) märkänä, 10 g aktiivihiltä (Darco KB, Atlas Chemical Industries, Inc:n valmistama), 30 g Dicalite:ä ja

riittävästi 6-n kloorivetyhappoa reaktioseoksen liuottamiseksi (pH 2,0 - 2,4). Liuosta sekoitettiin 15 minuutin ajan ja se suodatettiin Dicalite:lla. Suodattava kerros (Dicalite) pestiin 460 ml:lla seosta, joka sisälsi 110 ml vettä ja 350 ml asetonitriiliä. Sen jälkeen kun liuosta ja pesuliuoksia oli kuumennettu 35 - 37°C:ssa, lisättiin (ravistellen) 10 minuutissa niin paljon trietyyliamiinia, että pH nousi arvoon 2,2 - 2,3, ja lopuksi 600 ml asetonitriiliä. Liuosta sekoitettiin 35 - 37°C:ssa 30 - 40 minuutin ajan. Tämän jälkeen lisättiin 600 ml asetonitriiliä 10 minuutissa, jonka jälkeen lisättiin (ravistellen) niin paljon trietyyliamiinia 40 minuutissa, että pH nousi arvoon 4,4 - 4,5. Reaktioseosta sekoitettiin yli 30 minuutin ajan (35 - 37°C), jonka jälkeen lisättiin (ravistellen) 900 ml asetonitriiliä 20 minuutissa, lämpötilassa 35 - 37°C. Puolentoista tunnin kuluttua seos jäähdytettiin 20°C:seen ja sitä sekoitettiin 120 minuutin ajan. Kefadroksiilimonohydraattikiteet erotettiin suodattamalla, pestiin 400 ml:lla veden (100 ml) ja asetonitriilin (300 ml) seosta ja kuivattiin kuivausuunissa 16 tunnin ajan. Saatiin 94,7 g kiteistä kefadroksiilimonohydraattia, jolla oli seuraavat ominaisuudet:

Ulkonäkö: kiteinen, kellahtava, valkoinen jauhe

Infrapunaspektri: kuten kuviossa 1

Kosteus (K F): 5,1 %

pH: 4,5

Ominaiskiertokyky: + 158°

Kemiallinen määrittely (jodometrinen): 952 µg/mg

Biologinen määrittely: 922 µg/mg

Esimerkki 2

Kiteisen kefadroksiilimonohydraatin valmistaminen

A. Kefadroksiilidimetyyliformamidisolvaatti

Reaktoriin, jonka tilavuus oli 6 litraa, lisättiin sekoittaen 3,5 litraa vedetöntä metyleenikloridia, 7-ADCA:a (149,8 g, 0,693 moolia), trimetyylikloorisilaania (189 ml, 1,5 moolia) ja dimetyylianiiliinia (87 g, 0,717 moolia). Trietyyliamiini (196 ml, 1,40 moolia) lisättiin 20 minuutissa (sekoittaen) lämpötilassa alle 25°C. Seosta sekoitettiin 1 tunnin ajan 20 - 25°C:ssa ja jäähdytettiin sitten 0 - 5°C:seen. Liuokseen lisättiin DMA:HCl:a (30 % p/p metyleenikloridissa, 91 ml, 0,717 moolia), jonka jälkeen siihen li-

sättiin D-(-)-(p-hydroksifenyyli)glysyylidikloridihydrokloridia (177,6 g, 0,64 moolia) viidessä osassa (sekoittaen) 1 tunnissa. Seosta sekoitettiin 2 tunnin ajan 0 - 5°C:ssa, ja lisättiin 70 ml metanolia 15 minuutissa jonka jälkeen lisättiin 800 ml vettä. Sekoitettiin 15 minuuttia, ja pH säädettiin arvoon 2,3 120 ml:lla TEA:a. Vesiliuos erotettiin, suodatettiin Celite:llä (piimaa; valmistanut Johnson-Maanville Products Corporation) (pesuliuokset = 200 ml), ja pH säädettiin arvoon 4,5 TEA:lla. Lisättiin isopropanolia (1,7 l) ja sen jälkeen DMF:ää (3,4 l). Kefadroksiili-DMF-solvaatti kiteytyi muutamien minuuttien kuluttua, ja suspensiota sekoitettiin sitten 3 tuntia, ja jätettiin sitten seisomaan yön yli. Kiinteä aine kerättiin, pestiin kerran DMF:llä ja kaksi kertaa asetonilla ja kuivattiin 24 tuntia 50°C:ssa, jolloin saanto oli 267 g.

Analyysitulokset

Ominaiskiertokyky: $D_D (1\%, H_2O) = +124^\circ$

Kosteus (K F): 1,83 %

Kemiallinen määrittely (jodometrinen): 765 ug/mg

Aktiivisuuden mukainen saanto: 80 %

Infrapunaspektri: identtinen spektrin kanssa, joka on julkaistu US-patentin 3 925 418 esimerkissä 6A.

B. Kefadroksiilimonohydraatti

Kefadroksiili-DMF-solvaatti (50 g, 0,105 moolia) liuotettiin 150 ml:aan vettä, johon lisättiin 8,8 ml suolahappoa (36-%). Aktiivihieltä (2,7 g) ja Celite:ä (1,32 g) lisättiin sen jälkeen. Sekoitettiin 30 minuuttia, seos suodatettiin Celite-kerroksen läpi ja pestiin vedellä. Suodatettu liuos kuumennettiin 40°C:seen ja pH säädettiin arvoon 2,5 trietyyliamiinilla. Seos ympätettiin sitten kefadroksiilimonohydraatti-kiteillä ja pH säädettiin arvoon 4,5 trietyyliamiinilla. Suspensiota sekoitettiin tunnin ajan 50°C:ssa, jonka jälkeen jäähdytettiin hitaasti huoneen lämpötilaan. Lopuksi seos pidettiin tunnin ajan 0...5°C:ssa. Kiteinen kefadroksiilimonohydraatti erotettiin, pestiin kaksi kertaa kylmällä vedellä ja kuivattiin 40°C:ssa, jolloin tuotteen saanto oli 30,8 g (~ 76 - 77 %:n saanto) ja tuotteella oli samat fysikaaliset ominaisuudet kuin on kuvattu esimerkissä 1.

Esimerkki 3

Kefadroksiilimonohydraatin valmistaminen (edullisin kiteytämismenetelmä, jossa käytetään vesi/asetonitriili/n-butanoli-seosta (1:2:1)).

Deionoidun veden (370 ml) ja asetonitriilin (370 ml) sekoitettuu liuokseen 40 - 45°C:ssa lisätään hitaasti 50 - 60 g raakaa kefadroksiilia (biologinen aktiivisuus = 840 µg/mg) 10 minuutissa. Tuloksena oleva kirkas liuos ympätään kefadroksiilimonohydraattikiteillä. Sekoitetaan 10 minuuttia, jolloin muodostuu kiteinen liete, jota sekoitetaan vielä 5 minuuttia. Raakaa kefadroksiilia lisätään hitaasti (~40 - 50 g lisätty/5 - 6 minuuttia), kunnes koko kefadroksiilimäärä (1000 g) on lisätty. Lietettä sekoitetaan sitten 40 - 45°C:ssa noin 30 minuutin ajan. Asetonitriiliä (370 ml) lisätään kiteiseen lietteeseen hitaasti (15 minuuttia) ja lietettä sekoitetaan vielä 5 minuutin ajan. Lisätään hitaasti (15 minuuttia) n-butanolia (370 ml), jonka jälkeen lietettä sekoitetaan ja se jäähdytetään hitaasti 25°C:seen 1 tunnissa. Liete jäähdytetään sitten noin 0...3°C:seen tunnin aikana ja pidetään tässä lämpötilassa noin 30 minuuttia. Lopullinen vesi-asetonitriili-n-butanoli-liuotinsuhde on 1:2:1. Liete suodatetaan ja suotopuristuskakku pestään ~1150 ml:lla vesi/asetonitriili (1:3) (til./til.)-seosta ja kuivataan 50°C:ssa noin 12 tunnin ajan kiertoilmaunissa.

Saadaan 745 g valkoista kiteistä kefadroksiilimonohydraattia. Biologinen aktiivisuus = 940 µg/mg. KF. = 4,6 %.

Suodoksessa vielä oleva aktiiviaine voidaan helposti ottaa talteen hyvälaatuisena kefadroksiilidimetyyliformamidisolvaattina, joka sekin voidaan muuttaa kefadroksiilimonohydraatiksi toistamalla ylläesitetty menettely, kuten on esitetty seuraavassa.

1. Tyhjössä 50°C:een alapuolella väkevöidään suodos sakeaksi siirapiksi.

2. Lisätään 430 ml DMF:a siirappiin ja lämmitetään 45°C:seen. Seosta sekoitetaan, kunnes se on täysin homogeenista. Ympätään kefadroksiili DMF-solvaatin kiteillä ja lisätään 145 ml isopropanolia. Sekoitetaan, ja jäähdytetään 25°C:seen kahdessa tunnissa. Lietettä sekoitetaan 20 - 25°C:ssa 3 tunnin ajan ja sitten jäähdytetään 0...3°C:seen ja pidetään tässä lämpötilassa 3 tunnin ajan.

3. Liete suodatetaan ja kakku pestään ~200 ml:lla DMF:a.

4. Kakku pestään 500 ml:lla asetonia.
5. Kakku kuivataan 45 - 50°C:ssa kiertoilmaunissa ~12 tunnin ajan.
6. Tällöin tulisi saada 91 g:n saanto DMF-solvaattia.
Biologinen aktiivisuus = 750 µg/mg.
7. Jos DMF-solvaattia käytetään lähtöaineena, se voidaan muuttaa kefadroksiilimonohydraatiksi siten, että biologisen aktiivisuuden määrittämiseen perustuva saanto on 86,7 %. Biologinen aktiivisuus = 925 µg/mg. KF = 5,0 %. Täten monohydraattia voidaan saada lisää ~64 g, eli saavutetaan noin 90-% monohydraatin kokonaissaanto raa'asta kefadroksiilista laskettuna.

Esimerkki 4

Kefadroksiilimonohydraatti (vesi-asetonitriili-n-butanoli-järjestelmä)

Raaka kefadroksiili (27,0 g) kiteytettiin vesi-asetonitriili-n-butanoli-liuotinjärjestelmästä seuraavan kaavion mukaan:

67704

<u>Kefadroksiilin</u> <u>lisäys</u>	<u>Aika</u> <u>(min)</u>	<u>Lämpötila</u> <u>(°C)</u>	
2	0	50	alussa liuotin-järjestelmä si- sälsi 10 ml vettä ja 4 ml ase- tonitriiliä
2	6	50	ympätty kefadroksiilimonohyd- raatti-kiteillä
2	12	50	lisätty 6 ml:aan asetonitriiliä
2	17	50	
2	23	45	
2	29	47	
2	36	50	
2	42	51	
2	47	52	lisätty 3 ml:aan asetonitriiliä
2	58	51	
2	63	50	
2	69	47	lisätty 2 ml:aan asetonitriiliä
2	79	47	
1	83	49	lisätty 1 ml asetonitriiliä
	98	47	lisätty 4 ml asetonitriiliä
	118	42	lisätty 10 ml n-butanolia ja lämmittäminen keskeytetty
	178	27	
	198	15	
	218	12	
	278	3	suodatettu

Kaikkiaan käytettiin 20 ml asetonitriiliä ja 10 ml n-butanolia. Kiteinen liete suodatettiin ja suotopuristuskakku pestiin 30 ml:lla asetonitriili/vesi (3:1) (til./til.)-seosta ja kuivattiin, jolloin saatiin 22,0 g (81,3 %) monohydraattituotetta. Biologinen aktiivisuus = 960 µg/mg.

Esimerkki 5

Kefadroksiilimonohydraatti (kiteyttäminen vedestä)

Kefadroksiili (28 g) lisättiin vähitellen lämmitettyyn veteen (55°C) ja kiteytettiin seuraavan kaavion mukaan:

Kefadroksiilin

<u>jaksottainen lisäys (g)</u>	<u>Aika (min)</u>	<u>Lämpötila (°C)</u>	
2	0	55	aluksi käytetty vettä 25 ml
2	6	55	ympätty kefadroksiilimonohydraatti-kiteillä
1	9	55	
1	14	55	
3	29	52	
4	39	52	
2	44	52	
2	46	52	
1	49	52	lisätty vettä 10 ml
2	74	52	
1	79	52	lisätty vettä 5 ml ja lämmitäminen lopetettu. Annettu jäähtyä huoneen lämpötilaan. Pantu jäähauteelle ja sekoitettu vielä noin 1 tunnin ajan.

Käytetyn veden kokonaismäärä oli 50 ml. Kiteinen liete suodatettiin ja suotopuristuskakku pestiin 35 ml:lla jäävettä ja kuivattiin, jolloin saatiin 20,65 g (79 %) otsikon mukaista yhdistettä. Biologinen aktiivisuus = 960 µg/mg. DMA <2 ppm. KF = 4,5 %. Klettväri = 375 (10-% liuos). Kemiallinen aktiivisuus = 963 µg/mg.

Esimerkki 6

Kefadroksiilimonohydraatti (kiteyttäminen vesi-asetonitriilistä)

Raaka kefadroksiilia (8,0 g) lisättiin 1 g:n lisäyksinä seokseen, jossa oli 5 ml vettä ja 5 ml asetonitriiliä 40°C:ssa 45 minuutin aikana. Liuos ympättiin aluksi lisäämällä kefadroksiilimonohydraatti-kiteitä. Reaktioseosta sekoitettiin 15 minuutin ajan, jonka jälkeen lisättiin 10 ml asetonitriiliä 15 minuutin aikana. Kiteisen sakan annettiin jäähtyä huoneen lämpötilaan (keskimäärin 3 tunnin ajan), jonka jälkeen se suodatettiin. Suotopuristuskakku pestiin 7 ml:lla asetonitriili/vesi (3:1)-seosta ja kuivattiin, jolloin saatiin 6,25 g (81,5 %) otsikon mukaista yhdistettä. Biologinen aktiivisuus = 950 µg/mg. KF = 4,7 %. Kemiallinen aktiivisuus = 965 µg/mg.

Esimerkki 7

Kefadroksiilimonohydraatti (kiteyttäminen butanoli-vedestä)

Raaka kefadroksiili (11,7 g) lisättiin 48°C:iseen seokseen, jossa oli 8,35 ml vettä ja 7,0 ml n-butanolia, 1 g:n suuruisina lisäyksinä kahden tunnin aikana. Aluksi reaktioseos ympättiin kefadroksiilimonohydraatti-kiteillä ja sitä sekoitettiin kahden tunnin lisäsvaiheen ajan. Kiteisen lietteen annettiin jäähtyä huoneen lämpötilaan (noin kaksi tuntia) ja se suodatettiin. Suotopuristuskakku pestiin n-butanolilla, vedellä ja isopropanolilla ja kuivattiin, jolloin saatiin 9,4 g (82,7 %) otsikon mukaista tuotetta. Biologinen aktiivisuus = 940 µg/mg. KF = 5,3 %. Kemiallinen aktiivisuus = 966 µg/mg.

Esimerkki 8

Kefadroksiilimonohydraatti (kefadroksiili-DMF-solvaatista käyttäen vesi-asetonitriili-n-butanoli-kiteytystä)

Kefadroksiilidimetyyliformamidisolvaatti (27,0 g) lisättiin asteittain sekoitettuun liuotinjärjestelmään, joka aluksi sisälsi 100 ml vettä ja 3 ml asetonitriiliä, ja kiteytettiin seuraavan kation mukaan:

67704

<u>Lisätty</u> <u>kefadroksiili-</u> <u>DMF-määrä (g)</u>	<u>Aika</u> <u>(min)</u>	<u>Lämpötila</u> <u>(°C)</u>	
2	0	25	
2	4	45	ympätty kefadroksiilimonohyd- raatti-kiteillä, lisätty 2 ml asetonitriiliä
2	13	42	
2	23	45	lisätty 5 ml asetonitriiliä
2	33	43	
2	39	42	
2	44	42	
2	50	42	
2	57	42	
2	65	42	
2	71	43	
2	83	43	
2	90	42	
1	98	42	
	128	42	lisätty 10 ml asetonitriiliä
	156	39	lisätty 10 ml n-butanolia
	198	27	jäähdytys jää-hauteella
	263		suodatettu

Kaikkiaan 20 ml asetonitriiliä ja 10 ml n-butanolia käytettiin. Kiteinen liete suodatettiin ja suodatuskakku pestiin 30 ml:lla asetonitriili/vesi (4:1)-seosta. Kuivattaessa suodatuskakkua saatiin 18,85 g (86,7 %) monohydraattituotetta. Biologinen aktiivisuus = 925 µg/mg. KF = 5,0 %. DMF = 0,1 %; asetonitriili = 0,2 %; n-butanoli = 0,1 %. Klett-väri = 98 (10-% liuos). Kemiallinen aktiivisuus = 963 µg/mg.

67704

Esimerkki 9

Kefadroksiilimonohydraatti (kiteyttäminen vesi/isopropanolista)

Raaka kefadroksiili (700 g) lisättiin vähitellen sekoitettuun liuotinjärjestelmään, joka alussa sisälsi 260 ml vettä ja 260 ml isopropanolia ja kiteytettiin seuraavan kaavion mukaan:

<u>Kefadroksiilin lisäys (g)</u>	<u>Aika (min)</u>	<u>Lämpötila (°C)</u>	
56,26	0	45	ympätty kefadroksiilimonohydraatilla
57,87	4	50	
56,00	11	45	
69,62	20	55	
67,95	28	57	
64,93	39	54	
70,82	55	48	
64,11	65	44	
17,00	70	42	
72,41	110	47	
52,87	120	50	
28,90	128	50	
21,80	135	49	
	155	42	
	160	42	lisättiin 260 ml isopropanolia
	177	41	lisättiin 260 ml isopropanolia
	290		jäähdytys jäähauteella
	325	17	suodatettiin

Käytetyn isopropanolin kokonaismäärä oli 780 ml. Kiteinen liete suodatettiin ja suodatuskakku pestiin 800 ml:lla isopropanoli/vesi (3:1)-seosta. Koska kakku oli väriltään tumma, se lietettiin kaksi kertaa uudelleen 800 ml:aan isopropanoli/vesi (3:1)-seosta,

suodatettiin, pestiin (3:1 isopropanoli/vesi) ja kuivattiin, jolloin saatiin 520,95 g otsikon mukaista yhdistettä. Biologinen aktiivisuus = 955 µg/mg. KF = 5,0 %. Klett-väri = 226 (10-% liuos). Isopropanoli = 1,2 %. Kemiallinen aktiivisuus = 917 µg/mg.

Esimerkki 10

Kefadroksiilimonohydraatti (kiteyttäminen vesi/asetonitriili/n-butanolista)

Raaka kefadroksiili (700 g) lisättiin vähitellen sekoitettuun liuotinjärjestelmään, joka aluksi sisälsi 260 ml vettä ja 260 ml asetonitriiliä, seuraavan kaavion mukaisesti:

<u>Kefadroksiili-</u> <u>lisäys (g)</u>	<u>Aika</u> <u>(min)</u>	<u>Lämpötila</u> <u>(°C)</u>	
17,22	0	25	
15,67	5	25	
30,01	10	45	ympätty kefadroksiilimonohydraatilla
23,94	17	45	
26,06	25	45	
33,67	29	44	
35,28	37	43	
34,66	43	41	
41,80	49	40	
43,22	59	37	
55,00	68	35	
55,70	77	35	
54,70			
52,92			
54,94	108	35	
55,71	228	30	
46,00	253	30	
	323		lisätty 260 ml asetonitriiliä
	333		lisätty 260 ml n-butanolia
	413	26	jäähdytys jäähauteella
	473	3	suodatettiin

Käytetyn asetonitriilin kokonaismäärä oli 520 ml ja n-butanolin 260 ml. Kiteinen liete suodatettiin ja suotopuristuskakku pestiin 100 ml:lla asetonitriili/vesi (3:1)-seosta ja 700 ml:lla asetonitriili/vesi (4:1)-seosta. Kuivattaessa kakusta saatu saanto oli 521,5 g (83,5 %) monohydraattituotetta. Biologinen aktiivisuus = 905 µg/mg. KF = 4,6 %. Klett-väri = 87 (10-% liuos). Asetonitriili = 0,5 %. n-butanoli = 0,1 %. Kemiallinen aktiivisuus = 940 µg/mg.

Esimerkki 11

Kefadroksiilimonohydraatti (kiteyttäminen vesi/asetoniliuoksesta)

Raaka kefadroksiili (700 g) lisättiin vähitellen sekoitettuun liuotinjärjestelmään, joka alussa sisälsi 260 ml vettä ja 260 ml asetonia, ja kiteytettiin seuraavan kaavion mukaan:

<u>Kefadroksiili-</u> <u>lisäys (g)</u>	<u>Aika</u> <u>(min)</u>	<u>Lämpötila</u> <u>(°C)</u>	
79,84	0	55	ympätty kefadroksiilimonohydraatilla
54,99	10	49	
54,43	18	47	
58,62	28	44	
61,60	39	44	
54,25	50	43	
58,39	62	43	
50,63	75	43	
53,11	89	43	
53,37	101	43	
50,59	113	43	
44,45	127	43	
27,07	137	42	
	154	42	lisätty 260 ml asetonia
	169	39	lisätty 260 ml asetonia
	274	26	jäähdytetty 10 - 12°C:seen ja pidetty siinä 1/2 - 1 tuntia ennen suodatusta

Käytetyn asetonin kokonaismäärä oli 780 ml. Kiteinen liete suodatettiin ja suotopuristuskakku pestiin 900 ml:lla asetoni/vesi (3:1)-seosta ja kuivattiin, jolloin saatiin 507,21 g otsikon mukaista yhdistettä. Biologinen aktiivisuus = 945 µg/mg. KF = 5,2 %. Klett-väri = 190 (10-% liuos). Asetoni = 1,47 %. Kemiallinen aktiivisuus = 928 µg/mg.

Patenttivaatimus

Menetelmä uuden terapeuttisesti käytettävän, kiteisen 7- β - α -amino- α -(p-hydroksifenyyli)asetamido]-3-metyyli-3-kefem-4-karboksylihapon monohydraatin valmistamiseksi, jolla on seuraavat röntgensäde-diffraktio-ominaisuudet:

<u>Viiva</u>	<u>Välimatka d (Å)</u>	<u>Suhteellinen intensiteetti</u>
1	8,84	100
2	7,88	40
3	7,27	42
4	6,89	15
5	6,08	70
6	5,56	5
7	5,35	63
8	4,98	38
9	4,73	26
10	4,43	18
11	4,10	61
12	3,95	5
13	3,79	70
14	3,66	5
15	3,55	12
16	3,45	74
17	3,30	11
18	3,18	14
19	3,09	16
20	3,03	29
21	2,93	8
22	2,85	26
23	2,76	19
24	2,67	9
25	2,59	28
26	2,51	12
27	2,46	13
28	2,41	2
29	2,35	12
30	2,30	2
31	2,20	15

<u>Viiva</u>	<u>Välimatka d (Å)</u>	<u>Suhteellinen intensiteetti</u>
32	2,17	11
33	2,12	7
34	2,05	4
35	1,99	4
36	1,95	14
37	1,90	10

t u n n e t t u siitä, että

1) kefadroksiili-liuoksen pH nostetaan dimetyyliformamidin ylimäärän läsnäollessa, jolloin muodostuu 7- \sqrt{D} - α -amino- α -(p-hydroksifenyyli)asetamido $\sqrt{7}$ -3-metyyli-3-kefem-4-karboksyylihapon dimetyyli-formamidi-solvaatti; liuotetaan saatu solvaatti happameksi tehtyyn veteen tai happameksi tehdyn veden ja asetonitriilin seokseen, ja muodostuneen liuoksen pH-arvoa nostetaan niin, että haluttu kiteinen monohydraatti saostuu,

2) kefadroksiili-liuoksen pH nostetaan dimetyyliformamidin ylimäärän läsnäollessa, jolloin muodostuu 7- \sqrt{D} - α -amino- α -(p-hydroksifenyyli)asetamido $\sqrt{7}$ -3-metyyli-3-kefem-4-karboksyylihapon dimetyyli-formamidi-solvaatti, ja yhdistetään saatu solvaatti veden tai osittain vettä sisältävän väliaineen kanssa, jotta haluttu kiteinen monohydraatti saostuu, tai

3) kefadroksiili-liuoksen pH nostetaan, jolloin muodostuu 7- \sqrt{D} - α -amino- α -(p-hydroksifenyyli)asetamido $\sqrt{7}$ -3-metyyli-3-kefem-4-karboksyylihappo, ja yhdistetään mainittu happo veden tai osittain vettä sisältävän väliaineen kanssa, jotta saadaan aikaan halutun monohydraatin kiteytyminen.

Patentkrav

Förfarande för framställning av ett nytt terapeutiskt användbart kristallint monohydrat av 7- α -amino- α -(p-hydroxifenyl)-acetamido]-3-metyl-3-cefem-4-karboxylsyra, vilket har följande röntgendiffraktionsegenskaper:

<u>Linje</u>	<u>Avstånd d (Å)</u>	<u>Relativ intensitet</u>
1	8,84	100
2	7,88	40
3	7,27	42
4	6,89	15
5	6,08	70
6	5,56	5
7	5,35	63
8	4,98	38
9	4,73	26
10	4,43	18
11	4,10	61
12	3,95	5
13	3,79	70
14	3,66	5
15	3,55	12
16	3,45	74
17	3,30	11
18	3,18	14
19	3,09	16
20	3,03	29
21	2,93	8
22	2,85	26
23	2,76	19
24	2,67	9
25	2,59	28
26	2,51	12
27	2,46	13
28	2,41	2
29	2,35	12
30	2,30	2

<u>Linje</u>	<u>Avstånd d (Å)</u>	<u>Relativ intensitet</u>
31	2,20	15
32	2,17	11
33	2,12	7
34	2,05	4
35	1,99	4
36	1,95	14
37	1,90	10

k ä n n e t e c k n a t därav, att

1) pH-värdet i en cefadroxillösning höjes i närvaro av ett överskott av dimetylformamid, varvid bildas ett dimetylformamid-solvat av 7- $\sqrt{D-\alpha}$ -amino- α -(p-hydroxifenyl)acetamido]-3-metyl-3-cefem-4-karboxylsyra; det erhållna solvatet upplöses i surgjort vatten eller i en blandning av surgjort vatten och acetonitril, och den erhållna lösningens pH-värde höjes så att det önskade kristallina monohydratet utfälls,

2) pH-värdet i en cefadroxillösning höjes i närvaro av ett överskott av dimetylformamid, varvid bildas ett dimetylformamid-solvat av 7- $\sqrt{D-\alpha}$ -amino- α -(p-hydroxifenyl)acetamido]-3-metyl-3-cefem-4-karboxylsyra, och det erhållna solvatet bringas i kontakt med vatten eller med ett delvis vattenhaltigt medium, för utfällning av det önskade kristallina monohydratet, eller

3) pH-värdet i en cefadroxillösning höjes, varvid bildas 7- $\sqrt{D-\alpha}$ -amino- α -(p-hydroxifenyl)acetamido]-3-metyl-3-cefem-4-karboxylsyra, och den nämnda syran bringas i kontakt med vatten eller med ett delvis vattenhaltigt medium, för kristallisation av det önskade monohydratet.

Viitejulkaisuja-Anförda publikationer

Kuulutusjulkaisuja:-Utläggningsskrifter: Ruotsi-Sverige(SE) 414 176 (C 07 D 501/22, 501/10).

Patenttijulkaisuja:-Patentskrifter: Suomi-Finland(FI) 41 652 (C 07 d 99/18), 42 332 (C 07 d 99/24).

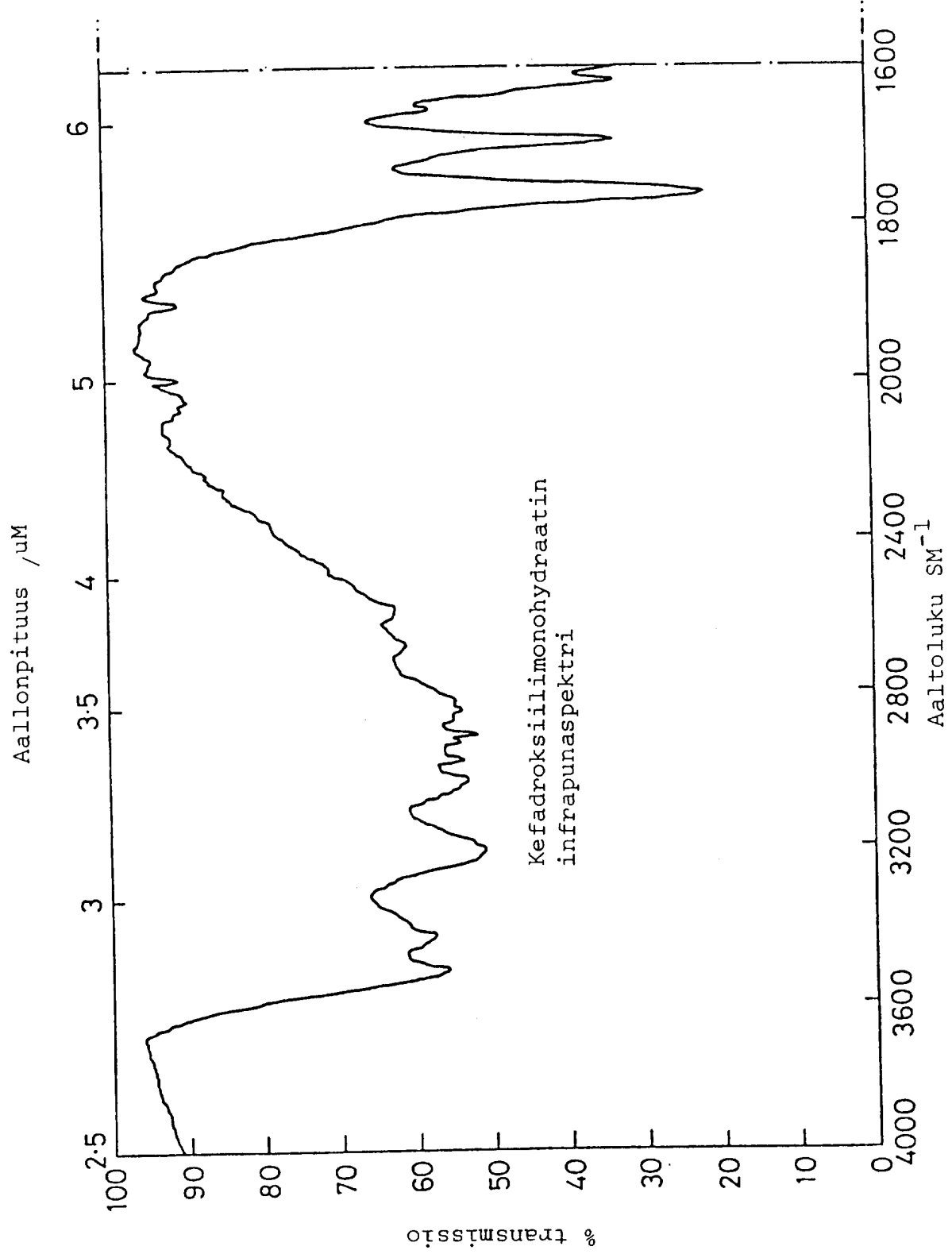


Fig. 1A

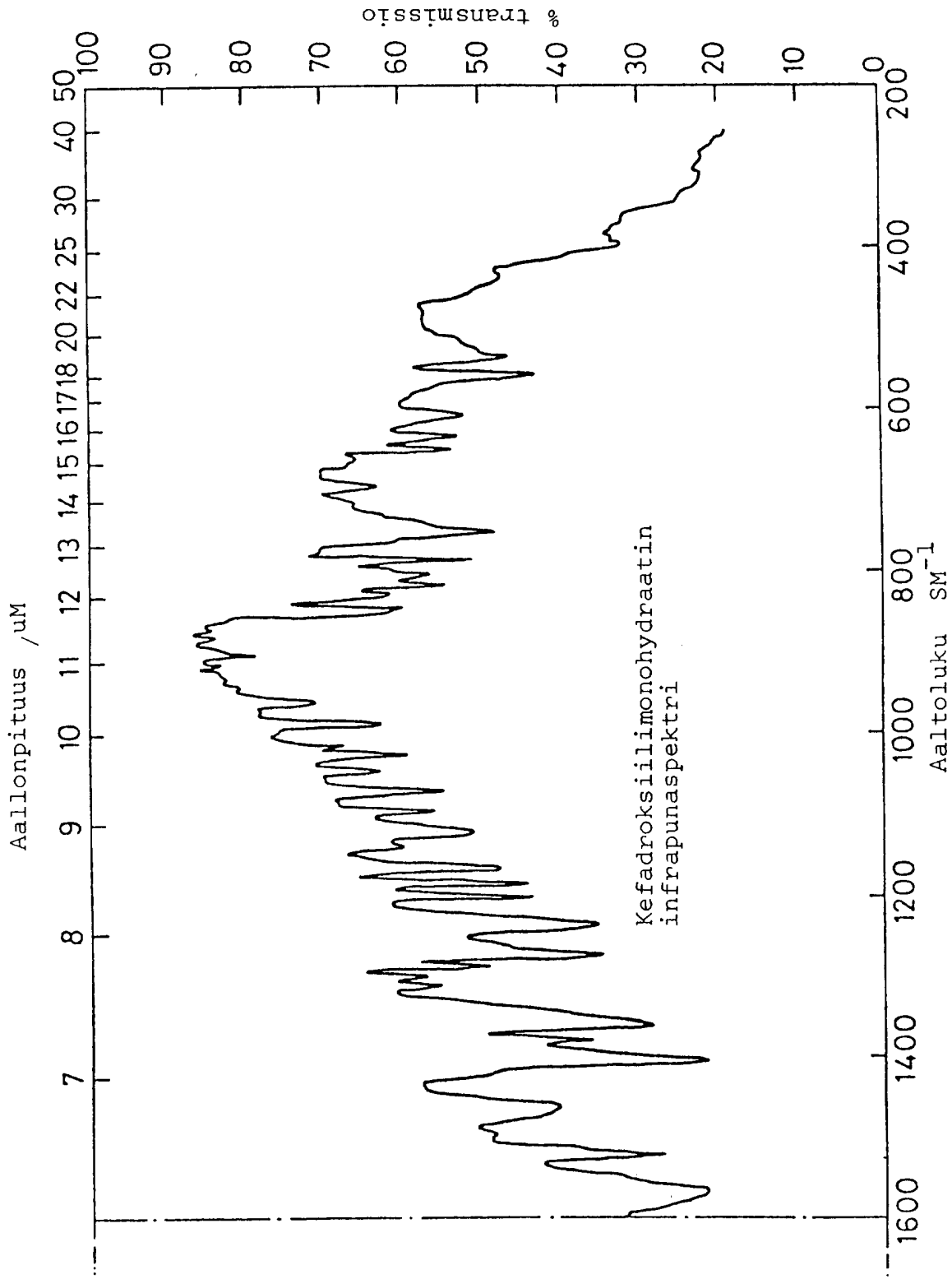


Fig. 1B