

CAVELIER

ABOGADOS

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4 No. 72 - 35
BOGOTÁ 8, COLOMBIA

Teléfono: (57-1) 347 3611
Telefax: (57-1) 211 8650
(57-1) 700 4814
Fax in U.S.A.: (1-305) 675 7743

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-053905- -00007-0000

Fecha: 2011-11-03 16:38:30 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 20

Señor Director

DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

Trámite : 011

Evento : 378

Actuación : 444

Referencia : Expediente No. 07.053.905
Asunto : Solicitud de patente para:
**CLORHIDRATO DE (S)-(-)-1-(4-FLUOROISOQUINOLIN-5-IL)
SULFONIL-2-METIL 1,4 HOMOPIPERAZINA**
Solicitante : KOWA CO., LTD. AND D. WESTERN THERAPEUTICS INSTITUTE,
INC.
Fecha de Solicitud : 29 de Mayo de 2007

1. Yo, Luz Clemencia de PAEZ, obrando como apoderada de la sociedad solicitante de la patente de la referencia, me refiero al oficio No. 12523 notificado por fijación en lista del 12 de agosto de 2011.

2. Mediante oficio No. 12523 se puso en conocimiento del solicitante el informe que contiene las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente. Las observaciones realizadas en el oficio son las siguientes:

2.1. De la Solicitud de Patente

El Examinador afirma que la reivindicación 9 hace referencia a un uso dado al producto reivindicado.

2.2. Nivel Inventivo

Para este requisito, el Examinador considera que la persona del oficio normalmente versada en la materia incluiría la forma solvatada clorhidrato en el compuesto de D1, obteniendo así el objeto de la reivindicación 1.

Así mismo, menciona que no existe una ventaja sorprendente o inesperada en la utilización de un clorhidrato dihidratado del compuesto más allá de la esperada de una sal hidratada, cuya estabilidad frente a la absorción de agua es mayor que la forma anhidra."

3. Respuesta a las objeciones

De este modo y con el objeto de atender las objeciones arriba mencionadas, se desean poner de presente las siguientes modificaciones, aclaraciones y argumentos:

3.1. Modificación de una solicitud en trámite y aclaraciones

De acuerdo con el artículo 34 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, donde se establece que la modificación de una solicitud es posible en cualquier momento del trámite mientras no implique una ampliación de la solicitud inicial, me permito presentar un nuevo pliego reivindicatorio conformado por 9 reivindicaciones.

En este sentido, se desea poner de presente que, partiendo de las observaciones realizadas por el Señor Examinador, la reivindicación 9 no ha sido incluida en el nuevo pliego reivindicatorio.

Por consiguiente, se considera que con las modificaciones realizadas se deben tener por superadas las objeciones formuladas con base en el incumplimiento de las disposiciones del artículo 30 de la Decisión 486. Igualmente, la materia reclamada definida en el nuevo pliego reivindicatorio se encuentra plenamente sustentada en la memoria descriptiva.

3.2. Argumentos a favor del nivel inventivo de la solicitud

En concordancia con el Artículo 18 de la Decisión 486, una invención se considerará inventiva si la misma no hubiese resultado obvia a partir del arte previo, para una persona del oficio normalmente versada en la materia.

Esto a su vez implica que el Examinador a cargo de esta evaluación debe colocarse en el momento exacto en el que el inventor buscaba resolver el problema técnico contemplado en la solicitud y para el cual poseía la literatura y el conocimiento disponibles en dicho momento.

Siguiendo entonces los lineamientos de la Jurisprudencia aplicable al análisis del nivel inventivo de una solicitud de patente, se considera que una anterioridad o una combinación de dos anterioridades puede afectar dicho requerimiento de patentabilidad, si una persona medianamente versada en la materia encuentra enseñanzas o sugerencias claras que le indiquen cómo llegar a la invención reivindicada.

Ahora bien, con respecto a la objeción formulada por el Señor Examinador, deseamos poner de presente lo siguiente:

Inicialmente, deseamos poner de presente que no estamos de acuerdo con el Examinador en cuanto a que la presente solicitud carece de nivel inventivo en vista de las enseñanzas encontradas en los documentos D1 (WO99/20620) y D2 (US 6 153 608).

Con relación a lo anterior, le solicitamos a su Despacho de la manera más respetuosa, tener en cuenta las conclusiones del artículo "*Studies on the Relationship between Physico-chemical Properties and Crystalline Forms of Tulobuterol Hydrochloride. (III¹) Hygroscopic Properties of Polymorphs of Tulobuterol Hydrochloride²*", el cual se anexa a la presente respuesta. Dicho artículo compara el comportamiento higroscópico de las 5 formas cristalinas del compuesto clorhidrato de tulobuterol, dentro de las cuales se encuentran tres tipos de anhidros, una forma amorfa, y una forma monohidrato (favor referirse a la traducción al Inglés del resumen de dicho artículo).

Los resultados obtenidos en el estudio arriba mencionado claramente demuestran que la forma polimórfica anhidra I es la más estable, incluso frente a un rango amplio de humedad, como puede ser observado en las figuras 1 a 4, así como en la tabla 2 de dicho documento. De la misma manera, puede ser observado que la forma monohidrato del clorhidrato de tulobuterol presenta un aumento significativo de peso bajo humedades altas, mientras que exhibe un comportamiento de deshidratación frente a condiciones de humedad baja.

De acuerdo a lo anterior, queda demostrado que no es necesariamente apropiado afirmar que el hecho que el clorhidrato dihidrato muestre una estabilidad superior frente a la absorción del agua cuando este es comparado con la forma anhidra es algo esperado por una persona medianamente versada en la materia, puesto que las **propiedades higroscópicas dependen de la forma cristalina de cada compuesto de manera independiente**.

Adicionalmente, se trae a colación el reporte: "*Effect on circulatory dynamics in rats of (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-yl) sulfonyl-2-methyl-1,4-homopiperazine hydrochloride dehydrate vs. (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-yl) sulfonyl-2-methyl-1,4-homopiperazine hydrochloride anhydrate*", realizado por mi Representada, y cuya copia también se anexa al presente memorial. Dicha estudio evalúa específicamente las propiedades fármaco-dinámicas de la forma anhidra y del dihidrato del compuesto clorhidrato de (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-il)sulfonil-2-metil-1,4-homopiperazina, con respecto al efecto alcanzado sobre la presión sanguínea y sobre el ritmo cardiaco de un ratón saludable (prueba *in vivo*).

Así mas cosas, si bien es cierto que ambos compuestos permiten obtener la misma disminución en la presión sanguínea y el mismo aumento del ritmo cardiaco, existe una diferencia significativa en

¹ SAITO, Masaru; YAMAZAKI, Masahiro; MATSUMURA, Kugako; KATO, Hideo; ITO, Yasuo; KAWASHIMA, Yoshiaki; TAKENAKA, Hideo: article "*Studies on the Relationship between Physico-chemical Properties and Crystalline Forms of Tulobuterol Hydrochloride. (III¹) Hygroscopic Properties of Polymorphs of Tulobuterol Hydrochloride²*"; YAKUGAKU ZASSHI 103(3) 336-341 (1983).

los tiempos que toman alcanzar dichos efectos, en donde la respuesta alcanzada por el anhido se logró mucho antes que para el dihidrato. Así mas cosas, la sal dihidrato demostró un perfil más largo de duración de los efectos deseados cuando se compara frente a la sal anhidra. Las figuras 1 y 2 a continuación sirven de evidencia de lo previamente afirmado.

Fig. 1 Efecto sobre la presión sanguínea sistólica del dihidrato y del anhido en una rata con tensión normal (Media $\pm$ SD (N=5))

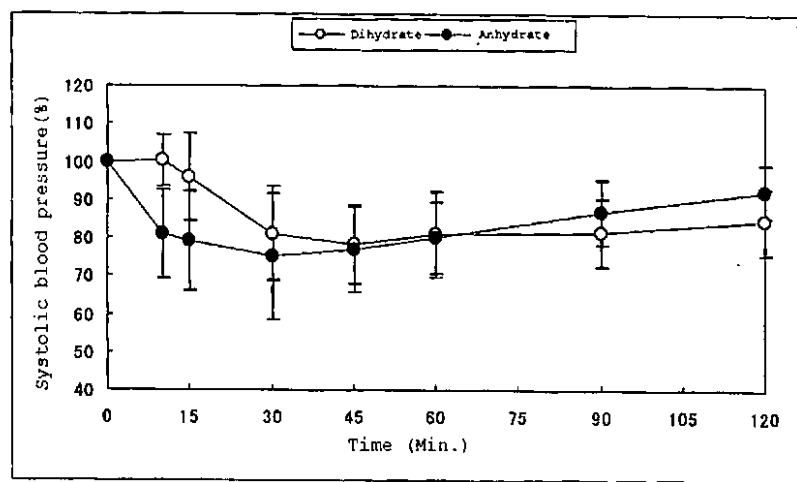
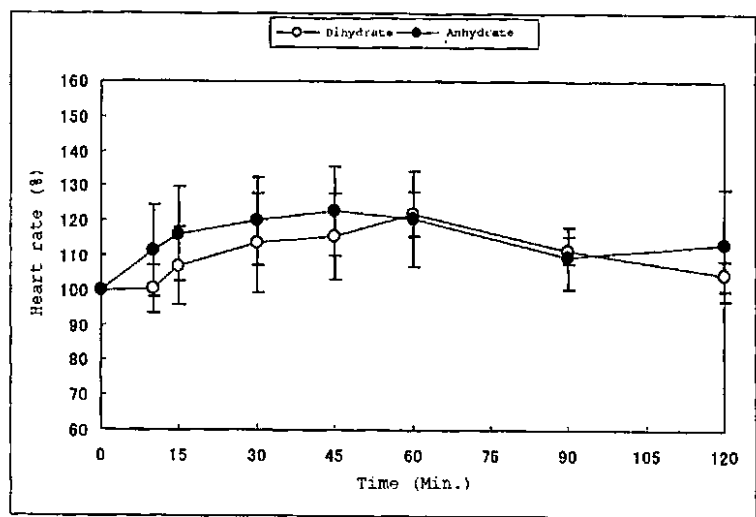


Fig. 2 Efecto sobre el ritmo cardiaco del dihidrato y del anhido en una rata con tensión normal (Media $\pm$ SD (N=5))



Por las razones arriba expuestas, es entonces un resultado sorprendente de la presente invención que el clorhidrato dihidrato de (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-il) sulfonil-2-metil-1,4-homopiperazina muestra una mayor duración de los efectos deseados sobre otras formas de clorhidrato dicho compuesto.

Por lo tanto, las anterioridades arriba mencionadas no presentan indicio alguno que permita que un experto en la materia concluir de manera obvia que la forma dihidrato del compuesto presenta propiedades ventajosas frente a otras formas cristalinas, específicamente en cuanto al perfil higroscópico y frente a una mayor duración de los efectos deseados.

Por lo tanto, los documentos D1 y D2, no pueden ser considerados como anterioridades válidas capaces de afectar el nivel inventivo de la presente solicitud, toda vez que estos no describen o dan sugerencia alguna de la forma específica del clorhidrato dihidrato (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-il)sulfonil-2-metil-1,4-homopiperazina, tal y como es reclamado en la presente solicitud. Por consiguiente, consideramos que la presente invención presenta nivel inventivo a la luz del arte previo.

4. Conclusiones

Puesto que se han atendido a cabalidad las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente, respetuosamente solicito se continúe con su tramitación. Sin embargo, en el evento que el Despacho considere que una modificación adicional es necesaria, respetuosamente le solicito hacer uso de la facultad que le otorga el artículo 45 inciso 2 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina a efecto de requerir nuevamente de nuestra parte cualquier complementación o aclaración.

5. Anexos

- Copia del artículo: "*Studies on the Relationship between Physico-chemical Properties and Crystalline Forms of Tulobuterol Hydrochloride. (III¹) Hygroscopic Properties of Polymorphs of Tulobuteron Hydrochloride²*"
- Copia del reporte: "*Effect on circulatory dynamics in rats of (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-yl)sulfonyl-2-methyl-1,4-homopiperazine hydrochloride dehydrate vs. (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-yl) sulfonyl-2-methyl-1,4-homopiperazine hydrochloride anhydrate*"
- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por nueve (9) reivindicaciones.
- Formulario para modificaciones.

Señor Director,


LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ

C.C. No. 35.456.344 de Usaquén

T.P.A. No. 23.555

COLO-15943-841-001-5

 LLGILLGID-203837WPC15943
No. M-2011-203837LLG

**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación

FORMULARIO UNICO DE CORRECCIONES Y MODIFICACIONES

1

SOLICITUD DE:☐

Corrección de Error Material

☒

Modificación a una solicitud

2

SOLICITANTE**Nombre:** KOWA CO., LTD y D. WESTERN THERAPEUTICS INSTITUTE, INC.

Sociedades constituidas y existentes bajo las leyes de Japón.

Dirección: 6-29, Nishiki 3-Chome
Naka-ku
Aichi 460-8625
Japón

y

1-18-11, Nishiki,
Naka-ku,
Nagoya -shi,
Aichi 460-0003
Japón

Respectivamente

Domicilio: Aichi,
Japón

Respectivamente

Teléfono: 546 09 70 **Fax:** 249 40 70**E-mail:** clientes@cavelier.com**IDENTIFICACION**

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐**Número:** _____

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO****Nombre:** Luz Clemencia de PAEZ**Dirección:** Carrera 4ª No. 72-35**Teléfono:** 347 36 11 **Fax:** 217 92 11**E-mail:** cavelier@cavelier.com**IDENTIFICACION**

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐**Número:** 35.456.344 TP 23.555

4

Número de expediente: 07.053.905

5

Descripción de la corrección o modificación solicitada:

Presento nuevo capítulo reivindicatorio compuesto por 9 reivindicaciones con el fin de superar las objeciones hechas por Su Despacho a la presente solicitud de patente y pido respetuosamente que el examen de patentabilidad sea realizado sobre estas nuevas reivindicaciones presentadas.

6

Comprobante de pago No. _____ **Fecha:** _____

7

Anexos

- ☐ Comprobante de pago de la tasa por \$118.000, por concepto de modificaciones.
- ☐ Comprobante de pago por reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por.
- ☐ Poderes, si fuere el caso
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal de las partes, cuando sean personas jurídicas.
- ☐ Copia auténtica de la sustitución que del poder otorgado por la Sociedad Solicitante hizo el Doctor EMILIO FERRERO a mi favor, y para lo cual solicito me sea reconocida personería para continuar con el trámite del asunto de la referencia.

8

NOMBRE:

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

FIRMA:

Luz Clemencia de Paez

C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P.A. 23.555

LLG

REIVINDICACIONES

1. Clorhidrato dihidrato de (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-il)sulfonil-2-metil-1,4-homopiperazina.
2. Clorhidrato dihidrato de (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-il)sulfonil-2-metil-1,4-homopiperazina como se describió en la reivindicación 1, que tiene un contenido de agua de 8.80 a 9.40%, determinado a través del método Karl Fischer.
3. Clorhidrato dihidrato de (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-il)sulfonil-2-metil-1,4-homopiperazina como se describió en la reivindicación 1 o 2, que exhibe picos característicos, en un patrón de difracción de rayos X en polvo, a un ángulo de difracción (2θ) de 8.660, 15.240, 17.180, 25.100, 25.780, 26.780, 28.100, 30.060, y 33.200°.
4. Clorhidrato dihidrato de (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-il)sulfonil-2-metil-1,4-homopiperazina como se describió en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que exhibe picos de absorción característicos, en un espectro de absorción infrarrojo, cerca de 854, 974, 1146, 1323, y 3418 cm^{-1} .
5. Un método para producir Clorhidrato dihidrato de (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-il)sulfonil-2-metil-1,4-homopiperazina como se cita en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende disolver Clorhidrato dihidrato de (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-il)sulfonil-2-metil-1,4-homopiperazina en agua a 50 a 100°C, subsecuentemente, agregar un solvente orgánico hidrofílico a la solución, y enfriar la mezcla a 0 a 30°C.
6. Un método para producir Clorhidrato dihidrato de (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-il)sulfonil-2-metil-1,4-homopiperazina como se describió en la reivindicación 5, en donde se utiliza agua en una cantidad de 1.0 a 2.0 veces en peso con respecto al Clorhidrato de (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-il)sulfonil-2-metil-1,4-homopiperazina.
7. Un método para producir Clorhidrato dihidrato de (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-il)sulfonil-2-metil-1,4-homopiperazina como se describió en la reivindicación 5 o 6, en donde la proporción en peso del agua al solvente orgánico hidrofílico es 1:2 a 1:6.
8. Una composición de droga que comprende Clorhidrato dihidrato de (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-il)sulfonil-2-metil-1,4-homopiperazina y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
9. Una medicina que comprende Clorhidrato dihidrato de (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-il)sulfonil-2-metil-1,4-homopiperazina.

YAKUGAKU ZASSHI 103(3) 336-341 (1983)

Studies on the Relationship between Physico-chemical Properties and
Crystalline Forms of Tulobuterol Hydrochloride.(III¹⁾)
Hygroscopic Properties of Polymorphs of Tulobuterol Hydrochloride²⁾

Partial English translation of YAKUGAKU ZASSHI 103(3) 336-341 (1983)

Dehydration behavior of monohydrate

A monohydrate form of tulobuterol hydrochloride indicated the drastic weight increase at 96% R.H., but indicated the time-dependent weight decrease under less than 59% R.H (see Fig.4).

From the result, it appropriate to preserve the monohydrates under high humidity (75-91% R.H.) in order to keep it stable. Fig. 5 shows the time-dependent change of the water weight after preservation of the monohydrates under 0% R.H. at 30, 40 and 50°C in a phosphorus pentoxide desiccator to observe dehydration behavior. At each temperature, each monohydrate shows the time-dependent decrease in its weight to be transformed into the anhydrate.

薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
103 (3) 336-341 (1983)

塩酸ツロブテロールの性状と結晶形との相関に関する研究 (第3報¹⁾)

塩酸ツロブテロール多形の吸湿特性²⁾

斉藤 勝,^{a,c} 山崎昌弘,^a 松村卓子,^a 加藤日出男,^a
伊藤安夫,^a 川島嘉明,^b 竹中英雄^b

北陸製薬株式会社 中央研究所,^a 岐阜薬科大学^b

Studies on the Relationship between Physico-chemical Properties and Crystalline
Forms of Tulobuterol Hydrochloride. III.¹⁾ Hygroscopic Properties
of Polymorphs of Tulobuterol Hydrochloride²⁾

MASARU SAITO,^{a,c} MASAHIRO YAMAZAKI,^a KUGAKO MATSUMURA,^a HIDEO KATO,^a
YASUO ITO,^a YOSHIAKI KAWASHIMA^b and HIDEO TAKENAKA^b

Research Laboratories, Hokuriku Seiyaku Co., Ltd.,^a Inokuchi, Katsuyama, Fukui,
911, Japan and Gifu College of Pharmacy,^b Mitahara, Gifu, 502, Japan

(Received September 20, 1982)

The hygroscopic behavior of five polymorphic forms (forms I, II, III, a monohydrate and an amorphous form) of tulobuterol hydrochloride was compared under various relative humidities (R.H.) at 30°C.

Form I uptook moisture above 91% R.H., while forms II and III uptook it above 75% R.H. They immediately transformed into the monohydrates after uptaking moisture. The transformation kinetics was represented by the model of Avrami-Erofeev and it was found that form I was highly dependent on the relative humidity than forms II and III. No difference in the hygroscopic rate constants was found among them.

The monohydrate was stable under pretty high humidity, i.e. 75-91% R.H., but was dehydrated under less than 59% R.H. The dehydration kinetics at 0% R.H. was described by the first-order rate process, the activation energy of which was 20.0 kcal/mol.

The amorphous form revealed the characteristic behavior of hygroscopicity. This form uptook moisture rapidly above 59% R.H. at the initial stage, then transformed into form II at 59% R.H. Above 75% R.H., the amorphous form transformed into monohydrate via form II.

In conclusion, form I was the most stable over the wide range of humidity.

Keywords—tulobuterol hydrochloride; polymorphism; hygroscopicity; phase transformation; kinetics of hydration-dehydration

医薬品の多くに多形の存在することはよく知られており、結晶形により溶解性、熱安定性、吸湿性等が異なり、その結果、医薬品の安定化や製剤化、生物学的利用率に関して特に問題となることが多い。¹⁻⁷⁾

これまで、持続性の気管支拡張剤である塩酸ツロブテロール (C-78) には、少なくとも4種の結晶形 (I, II, III型と1水和物) と無定形の存在することを、粉末 X 線回折、赤外線吸収 (IR) スペクトルおよび熱分析 (DSC-TG) により確認し、さらに加熱や粉碎、加圧による機械的処理により II 型が安定形であることを報告した。⁸⁾ また、これら4種の結晶形の結晶構造解析を行い、各結晶形間の相転移を結晶構造の面から説明した。¹⁾

今回、著者らは C-78 の5種の多形 (I型, II型, III型, 無定形, 1水和物) の吸湿特性について検討を行ったので報告する。

実 験 の 部

試料 C-78 の各結晶形は前報の方法⁸⁾ により調製した。結晶粒子はいずれも篩過により 74-149 μ にそろえたものを用いた。

粉末 X 線回折 理学電機 Geigerflex 2013 型を使用。Ni フィルター付 $\text{CuK}\alpha$ 線 (波長 1.5418 Å) を用い、試料は粉砕せず、アルミ製ホルダーに圧着して測定した。

吸湿性 試料約 0.1 g を秤量びん (内径 3 cm, 深さ 3.5 cm) に精密にはかり、30°C において各種の塩類飽和水溶液²⁾ を入れ、相対湿度 (R.H.) を一定に保ったデシケーター中に保持し、経時的に重量変化を測定した。

結晶形の含量測定 I, II および III 型が吸湿により 1 水和物に転移する際のこれら無水物と 1 水和物の含量割合は、粉末 X 線回折により内部標準法を用いて求めた。吸湿実験中に経時的に取り出したサンプルに内部標準物質として沈降炭酸カルシウム 20 mg、希釈剤としてアラビアゴム末 100 mg を秤り、十分に混合した後、X 線回折測定を行った。検量線は $2\theta = 12.0^\circ$ (I 型), 23.6° (II 型), 19.8° (III 型), 25.8° (I, II 型の 1 水和物) または 17.2° (III 型の 1 水和物)³⁾ および 29.4° (CaCO_3) における回折線を採用した。各検量線は全て良好な相関性を示し、相関係数は 0.984—0.999 の間であった。

結果と考察

I 型, II 型, III 型の吸湿挙動

I 型, II 型および III 型を 30°C で 32%, 59%, 75%, 84%, 91 % および 96% の各相対湿度下に放置したと

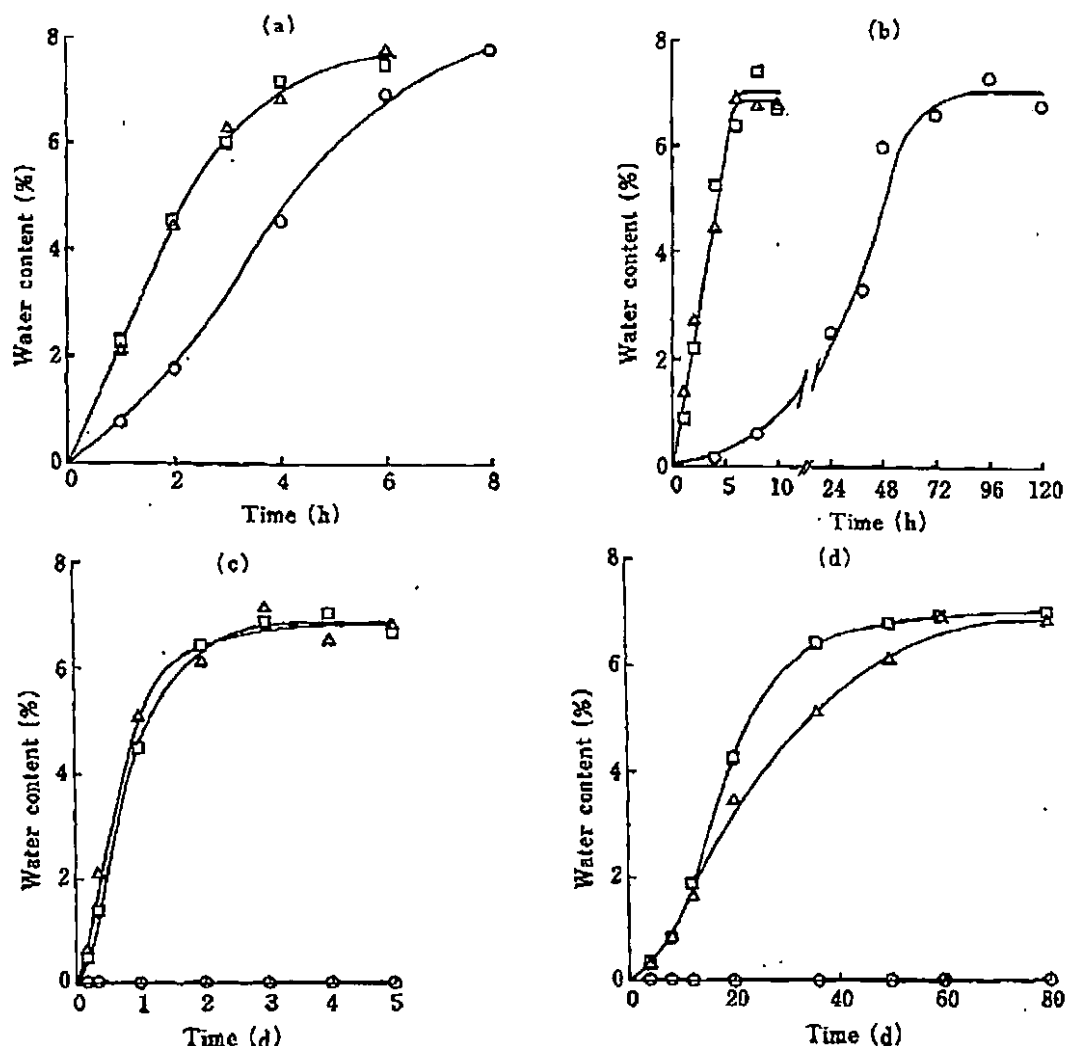


Fig. 1. Changes of Water Content of Tulobuterol Hydrochloride Polymorphs under Various Relative Humidity at 30°C

(a): 96% R.H., (b): 91% R.H., (c): 84% R.H., (d): 75% R.H.;
○: form I, △: form II, □: form III.

TABLE I. Equilibrium Water Content of Forms I, II and III of Tulobuterol Hydrochloride at 30°C under Various Relative Humidity

Form	R.H.(%)	Equilibrium water content (%)	
		Weight gain	Amount of water ^{a)}
I	91	7.03	6.78
	91	6.82	6.67
II	84	6.80	6.89
	75	6.87	6.76
III	91	7.03	6.88
	84	6.82	6.65
	75	6.92	6.71

a) Karl-Fisher method.

ころ、Fig. 1 に示すように、I 型は 91% R.H. 以上で、また II 型、III 型は 75% R.H. 以上でそれぞれ吸湿し、経時的な重量増加を示した。I 型、II 型、III 型とも 96% R.H. 以上を除いて吸湿平衡に達し、それらの値は 3 結晶形ともほぼ等しく、1 水和物相当量の約 6.8% を示した (Table I)。この時の粉末 X 線回折パターンおよび IR スペクトルは全て 1 水和物に一致し、3 結晶形とも吸湿により 1 水和物に転移することが明らかとなった。96% R.H. では経時的に重量増加を続けることより、生成した 1 水和物の C.R.H. は 91–96% R.H. の間に存在するものと思われる。また、II 型、III 型の吸湿性は I 型に比べて極めて速やかであり、それらのパターンは良く似ていた。

次にこれら 3 結晶形の吸湿に伴う経時的な 1 水和物の生成量を粉末 X 線回折法により定量した。

Fig. 2 は 91% R.H. における経時的な結晶形の含量変化を示したものである。3 種の無水物の含量は吸湿に伴い速やかに減少し、1 水和物の割合は増加してきている。そして、1 水和物の含量増加曲線が、破線で示した吸湿曲線にはほぼ一致していることより、これら 3 種の無水物から 1 水和物への転移は吸湿と同時に速やかに起こるものと推察された。このような結晶形の転移パターンは他の相対湿度下でも同様に認められた。これらの吸湿の初期においては、粒子表面に微量の水分が物理吸着し、それが増加するに従い表面に過飽和溶液部を生じ、ついで 1 水和物の核が発生し結晶が成長するものと思われる。Fig. 1 の I 型 (96% および 91% R.H.)、II および III 型 (75% R.H.) の吸湿曲線は S 字形を示した。この結果は核発生の速度は遅く、いったん結晶が生成しはじめると結晶成長は水分の吸湿によって著しく促進されることによるものと思われる。

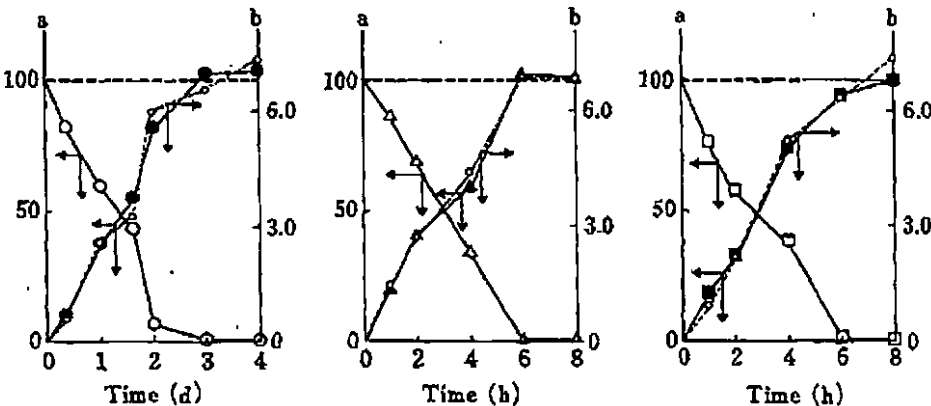


Fig. 2. Time-Dependent Phase Transformation from Anhydrate into Hydrate under 91% R.H. at 30°C

a axis: content of crystal form (%).
b axis: water content (%);
○: form I, △: form II, □: form III;
●, ▲, ■: hydrate, —○—: water content.

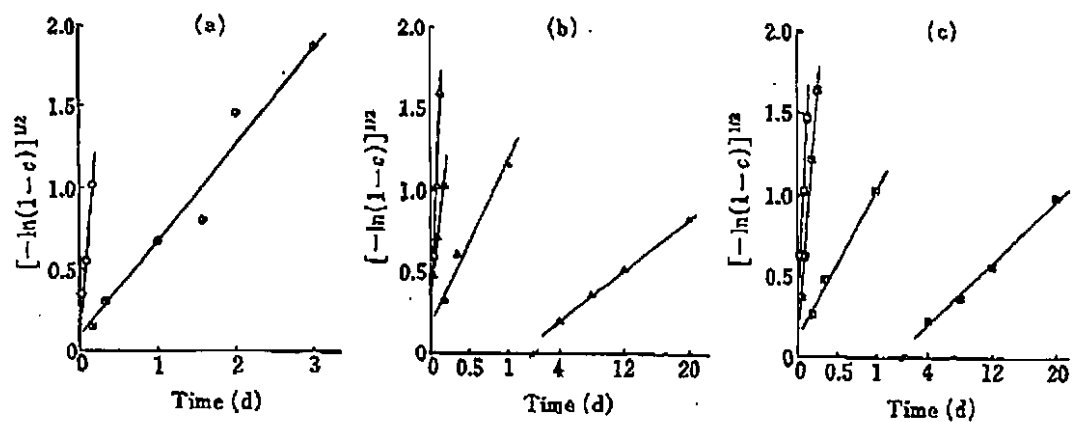


Fig. 3. Hydration Kinetics of Tulobuterol Hydrochloride Polymorphs at 30°C
(a): form I, (b): form II, (c): form III;
○, △, □: 96% R.H.; ●, ▲, ■: 91% R.H.; △, ■: 84% R.H.; ▲, ■: 75% R.H.

TABLE II. The Values of k_1 and n estimated from Moisture Uptake Curves of Forms I, II and III of Tulobuterol Hydrochloride		
Form	k_1 (h ⁻¹)	n
I	0.83	41
II	0.65	23
III	0.67	22

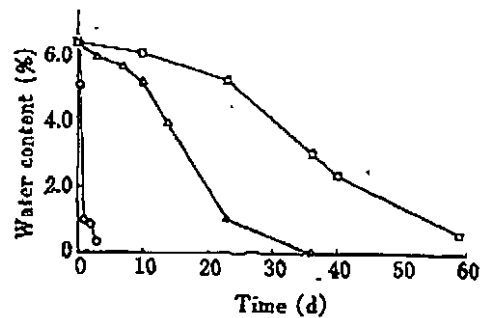


Fig. 4. Change of Water Content of Tulobuterol Hydrochloride Hydrate under Various Relative Humidity at 30°C
○: 0% R.H., △: 82% R.H., □: 59% R.H.

この吸湿過程を Avrami-Erofeev¹⁰⁾ の二次元核成長モデルと仮定して吸湿速度の解析を試みた。二次元核成長モデルと仮定すると $[-\ln(1-c)]^{1/n} = k_1(R.H.)^{n-1}t$ —①— と表わせる。ここで k_1 は吸湿速度定数、 c は時間 t における吸湿率である。96%, 91%, 84% および 75% R.H. において、この関係を図示したものが Fig. 3 である。Fig. 3 より吸湿初期では ① 式が成立した。それらの直線の傾きよりみかけの速度定数 ($k_1(R.H.)^n$) を求め、その対数と (R.H.) の対数との間の直線関係より k_1 および n を算出した (Table II)。

その結果、吸湿速度定数 (k_1) は I, II および III 型において大差はないが、I 型の n が II 型, III 型に比べて約 2 倍大きい値を示した。このことは I 型の吸湿速度の相対湿度に対する依存性が大きいことを示している。従って I 型は湿度の低下に伴って極めて安定となることが明らかとなった。

1 水和物の脱水挙動

1 水和物は 96% R.H. では急激な重量増加を、また 59% R.H. 以下では Fig. 4 に示すように、経時的な重量の減少を示した。このことより 1 水和物は高湿度 (75—91% R.H.) で保存することが、安定に保つためには適当であると考えられる。Fig. 5 は脱水挙動を観察するため、1 水和物を 30°C, 40°C, 50°C で 0% R.H. (五酸化リンデシケーター¹¹⁾) 下に保存し、経時的な水分量の変化を測定したものである。いずれの温度でも 1 水和物の重量は経時的に単調に減少し、無水物に転換した。

1 水和物の脱水過程は一次過程と仮定して脱水の活性化エネルギーの算出を行った。一次過程とすると $\log(W_t/W_\infty) = -k_2t$ —②— と表わされる。ここで k_2 は脱水速度定数、 W_t は時間 t における水分量、 W_∞ は 1 水和物の水分量 (6.40%) を示す。この式を 30°C, 40°C, 50°C における脱水挙動に適用すると Fig. 6 のようになっ

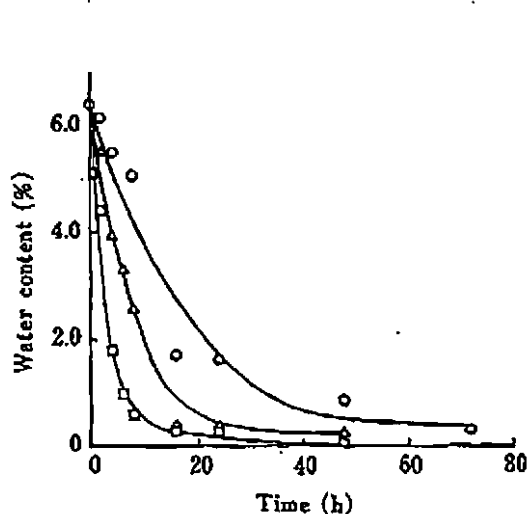


Fig. 5. Dehydration Behavior of Tulobuterol Hydrochloride Hydrate at Various Temperature under 0% R.H.

○: 30°C, △: 40°C, □: 50°C.

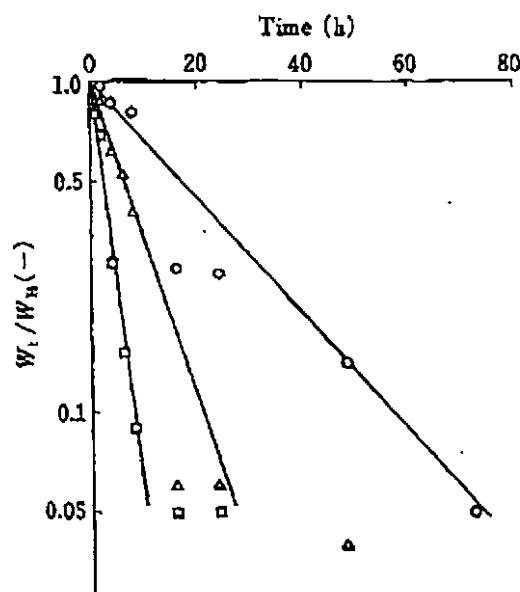


Fig. 6. Dehydration Kinetics of Tulobuterol Hydrochloride Hydrate under 0% R.H.

○: 30°C, △: 40°C, □: 50°C.

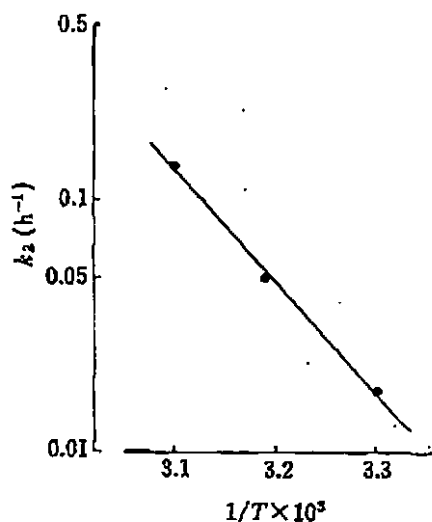


Fig. 7. Arrhenius Plot for Dehydration of Tulobuterol Hydrochloride Hydrate

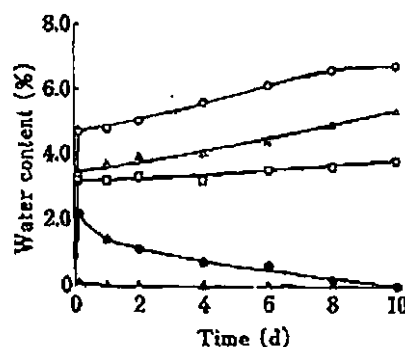


Fig. 8. Change of Water Content of Tulobuterol Hydrochloride Amorphous Form under Various Humidity at 30°C

○: 91% R.H., △: 84% R.H., □: 75% R.H., ●: 59% R.H., ▲: 33% R.H.

た。脱水初期においては②式が成立しており、この直線の傾きより k_2 を算出し、アレニウスプロットより脱水の活性化エネルギーを求めると約 20.0 kcal/mol であった (Fig. 7)。水和物の脱水エネルギーに関して、グルクロン酸カリウム 1 水和物のそれは 18.5 kcal/mol⁽¹²⁾ であり、今回の結果はほぼ妥当なものと思われる。この結晶水は温度、湿度の影響を受けて容易に脱水現象を示し、また、DSC 測定⁽⁹⁾ にみられたように 50—80°C の比較的低い温度で脱水することから、結合の比較的弱いことが推測された。

無定形の吸湿挙動

無定形は極めて特徴的な吸湿挙動を示した。Fig. 8 にみられるように 75% R.H. 以上では初期に速やかな吸湿性を示すが、その後は緩やかに重量が増加した。これに反し 59% R.H. では初期には一旦急激な吸湿性を示したものの、時間の経過とともに重量は減少した。

TABLE III. Changes of Water Content and Polymorphic Form of the Amorphous Form of Tulobuterol Hydrochloride at 30°C under Various Relative Humidity

R.H. (%)	After 4 h		After 10 d	
	Water content (%)	Form	Water content (%)	Form
91	4.7	II+hydrate	6.7	Hydrate
84	3.4	II+hydrate	5.3	II+hydrate
75	3.2	II+hydrate	3.8	II+hydrate
59	2.2	— ^{a)}	0.0	II
32	0.1	Amorphous	0.0	Amorphous

a) Since the sample was grassy, X-ray powder diffraction analysis was impossible.

無定形は結晶形に比べてランダムな分子配列の状態にあり、この分子配列の乱れが水との親和性を高め、初期に急激な吸湿性を示したものと思われる。

しかし、続いてみられた特徴的な吸湿挙動は無定形から結晶形への転移を示唆した。Table III に示すごとく、4時間後と10日後のX線回折の結果から、75% R.H. 以上では速やかに吸湿してII型が生成し、生じたII型はさらに吸湿してI水和物へと転移するが、II型に転移した後はII型の吸湿速度が律速となるため、吸湿は緩徐となるものと思われる。一方59% R.H. では、硫酸ジヒドロストロプトマイシン¹¹⁾や塩酸アセプトロール¹⁴⁾にみられた現象と同様、生成したII型は吸湿性を示さないため、この転移に伴い吸湿した水分が徐々に放出されたものと思われる。

以上、C-78の5種の多形の吸湿特性を検討した結果、I型が相対湿度の広い範囲にわたって最も安定であることが明らかとなった。

謝辞 本実験に協力された殿 晴夫氏に感謝します。

引用文献および注

- 1) 第2報：Y. Harada, M. Saito, K. Matsumura, H. Kato, Y. Iitaka, *Chem. Pharm. Bull.*, 30, 2301 (1982).
- 2) 本研究の一部は日本薬学会第102年会で発表、大阪、1982年4月。
- 3) J. Haleblan, W. McCrone, *J. Pharm. Sci.*, 58, 911 (1969).
- 4) J.K. Haleblan, *J. Pharm. Sci.*, 64, 1269 (1975).
- 5) S.A. Khalil, M.A. Moustafa, A.R. Ebian, M.M. Motawi, *J. Pharm. Sci.*, 61, 1615 (1972).
- 6) 宮崎正三, 堀 了平, 有田隆一, *薬誌*, 95, 629 (1975).
- 7) 大塚 威, 金庭延慶, *薬誌*, 102, 359 (1982).
- 8) M. Saito, H. Yabu, M. Yamazaki, K. Matsumura, H. Kato, *Chem. Pharm. Bull.*, 30, 652 (1982).
- 9) H.M. Spencer, *International Critical Tables*, 1, 67 (1926).
- 10) H.G. Elias, "Thermal Analysis: Organic and Macromolecular Chemistry," Vol. 3, ed. by H.G. Wiedemann, Birkhäuser Verlag, Inc., Basel, 1972, pp.342-343; 神戸博太郎編, "熱分析," 講談社, 東京, 1975, pp.112-113.
- 11) 五酸化リンデシケーターで乾燥した空気 40000 l 中には 1 mg の水が残存する (緒方 章, 孤田太郎, 新延 信吉, "化学実験操作法," 南江堂, 東京, 1973, p.23).
- 12) 堀越 勇, 氷室育三, *薬誌*, 86, 319 (1966).
- 13) 村上正治, 菅木勝夫, 松倉義治, *薬剤学*, 23, 115 (1969).
- 14) 栗田則男, 山本恵一, 中川 寛, 杉本 功, 坂田英彦, 佐藤 久, *薬誌*, 99, 141 (1979).

Report

Effect on circulatory dynamics in rats of
(S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-yl)sulfonyl-2-methyl-1,4-homopiperazine
hydrochloride dihydrate vs.
(S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-yl)sulfonyl-2-methyl-1,4-homopiperazine
hydrochloride anhydrate

Kowa Co., Ltd.
Tokyo New Drug Research Laboratories

1. Title

Effects on circulatory dynamics in rats of

(S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-yl)sulfonyl-2-methyl-1,4-homopiperazine hydrochloride dihydrate vs.

(S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-yl)sulfonyl-2-methyl-1,4-homopiperazine hydrochloride anhydrate

2. Objects

Comparison between

(S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-yl)sulfonyl-2-methyl-1,4-homopiperazine hydrochloride dihydrate(hereinafter, referred to a dihydrate) and

(S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-yl)sulfonyl-2-methyl-1,4-homopiperazine hydrochloride anhydrate (hereinafter, referred to an anhydrate) was performed as an index of action strength and pattern (with time) on rat blood pressure and heart rate in order to respond to the outstanding office action of the present patent application.

3. Introduction

This test was performed in order to demonstrate differences in pharmacodynamic properties between a dihydrate and an anhydrate by comparing between both in terms of the action on blood pressure and heart rate of normal rat.

4. Materials and Method

(1) Employed drugs

1) Test compounds:

(S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-yl)sulfonyl-2-methyl-1,4-homopiperazine hydrochloride dihydrate; and

(S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-yl)sulfonyl-2-methyl-1,4-homopiperazine hydrochloride anhydrate

(2) Employed animal

1) Employed animal: Sprague-Dawley(Crl:CD) male rats (10-week-old male rats) were purchased from Japan Charles River Laboratories and employed.

2) Administration method

Each drug was orally administered in a single dose by forced-feeding to rats using a miniature capsule feeder (KN-346-1: Natsume Seisakusho Co., Ltd.). Each drug was weighed in 10 mg/kg equivalent amount and then loaded into a miniature capsule for rats (KN-346-2: Natsume Seisakusho Co., Ltd.).

(3) Experimental method

In the experiment, 10-week-old male SD rats were employed. The measurements of blood pressure and heart rate were performed without anesthesia using an indirect blood pressure measuring device (BP-98A: Softlon Co., Ltd.). The blood pressure measurement was performed twice before administering each drug and then the measurement values were confirmed to be numerically stable. Subsequently, 10 mg/kg each of the dihydrate and the anhydrate was loaded into each capsule, each of which was orally administered by forced-feeding to the rat. The blood pressure measurement was performed at each point of 10, 15, 30, 45, 60, 90, and 120 minutes after administering each drug.

(4) Basis for dose setting

In a preliminary study using normotensive rats, when the rat was treated with 10mg/kg oral dose of dihydrate (solution), it was confirmed to show a clear blood-pressure-lowering effect and increased-heart-rate effect. Therefore, the comparison when 10mg/kg oral dose of each drug was performed was made between the dihydrate and the anhydrate.

(5) Statistical Analysis

Data was described in the mean and standard deviation. Statistical analysis was carried out using a Stat Preclinica (SAS Institute Inc.) at the significant level of 5% or less.

5. Results

In the dihydrate-administered group, a systolic blood pressure and heart rate before administration were 128 ± 8.1 mmHg and 371.5 ± 23.8 beats/min, respectively. In the anhydrate-administered group, these values were 138.2 ± 10.7 mmHg and 352.9 ± 18.0 beats/min, respectively. Thus, there was no difference between both administered groups (see Table 1). While the blood-pressure-lowering effect and increased heart rate effect in the dihydrate-administered group were the same level as these effects in the anhydrate-administered group, there was a difference in the time course of these effects between both groups. Although the time of onset of these effects in the anhydrate-administered group tended to be earlier than that in the dihydrate-administered group, the dihydrate-administered group tended to have a longer duration of these effects than the anhydrate-administered group (see Figs. 1 and 2).

6. Discussion

In normotensive rats, while the blood pressure lowering effect and the increased heart rate effect at the peak in the dihydrate-administered group was observed to be the same as those in the anhydrate-administered group, the time of onset of these effects in the anhydrate-administered group tended to be earlier than that in the dihydrate-administered group, and the dihydrate-administered group tended to have a longer duration of these effects than the anhydrate-administered group. A possible factor for the anhydrate-administered group having an earlier onset of these effects, comparing with the dihydrate-administered group, is considered that the anhydrate has better solubility in water than the dihydrate and therefore its solution rapidly can reach the absorption site. Although the dihydrate and the anhydrate have the same level of pharmacological action, it was confirmed that these compounds had a difference in pharmacodynamic property, reflecting its physiochemical property.

7. Conclusion

Effects on circulatory dynamics in rats of (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-yl)sulfonyl-2-methyl-1,4-homopiperazine hydrochloride dihydrate vs. (S)-(-)-1-(4-fluoroisoquinolin-5-yl)sulfonyl-2-methyl-1,4-homopiperazine hydrochloride anhydrate were studied. Pharmaceutical ingredients of both compounds were loaded into each capsule and normotensive rats were treated with 10mg/kg oral dose of each compound, and then the blood pressure and heart rate were measured using an indirect blood pressure measuring device. Both compounds indicated the same levels of the blood pressure lowering effect and the increased heart rate at the peak. However, there was a difference in the time course of these effects between both compounds, the time of onset of these effects in the anhydrate was earlier than that in the dihydrate, and the dihydrate had a longer duration of these effects than the anhydrate.

Table 1 Systolic blood pressure and heart rate before

	N	Systolic blood pressure (mmHg)	Heart rate (beats/min)
Dihydrate	5	128.0 ± 8.1	371.5 ± 23.8
Anhydrate	5	138.2 ± 10.7	352.9 ± 18.0

Fig. 1 Effect of dihydrate and anhydrate on systolic blood pressure of normotensive rat (Mean±SD (N=5))

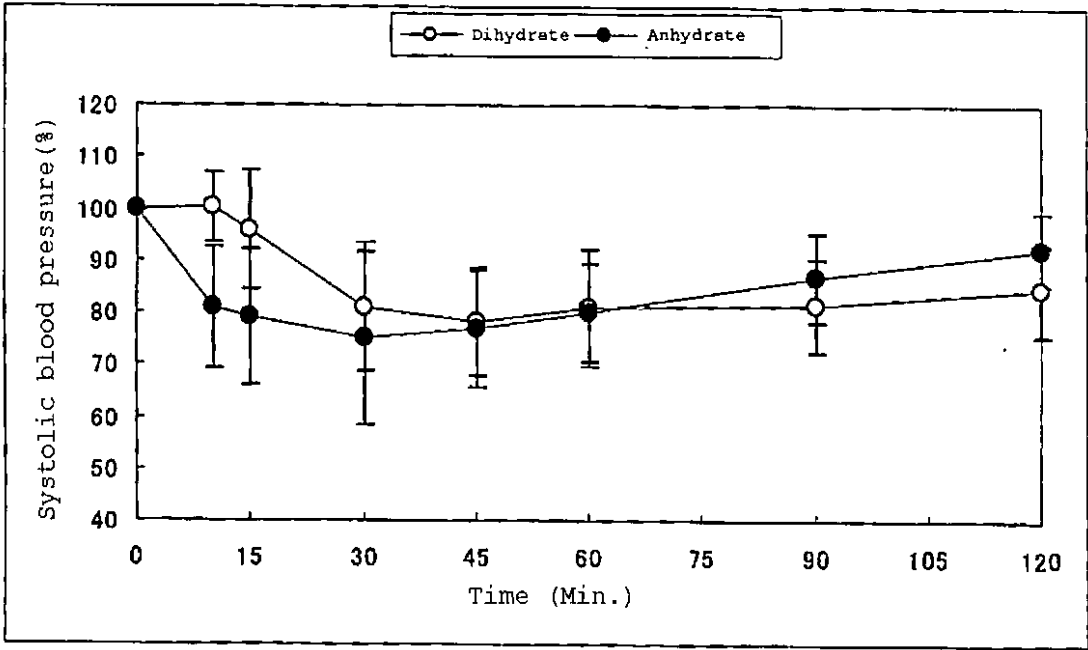


Fig. 2 Effect of dihydrate and anhydrate on heart rate of normotensive rat (Mean±SD (N=5))

