



УКРАЇНА

(19) UA (11) 74887 (13) C2
(51) МПК
C07H 17/08 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) КРИСТАЛІЧНА ФОРМА АЗИТРОМІЦИНУ

1

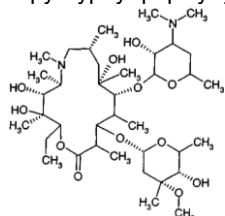
(21) 20031110541
(22) 01.05.2002
(24) 15.02.2006
(86) РСТ/IB02/01570, 01.05.2002
(31) 60/292.565
(32) 22.05.2001
(33) US
(31) 60/297.741
(32) 12.06.2001
(33) US
(31) 60/343.041
(32) 21.12.2001
(33) US
(46) 15.02.2006, Бюл. № 2, 2006 р.
(72) Лі Женг Джан, US, Траск Ендрю Вінсент, US
(73) ПФАЙЗЕР ПРОДАКТС ІНК., US
(56) EP 0298650 A 11.01.1989
EP 1 103 558 A 30.05.2001
WO 01 00640 A 04.01.2001
CA 2 245 398 A 21.02.2000
WO 00 32203 A 08.06.2000
CN 1 093 370 A 12.10.1994
WO 98 04574 A 05.02.1998
WO 00 14099 A 16.03.2000
(57) 1. Кристалічна форма азитроміцину, що вибирають з групи, яка містить форми D, E, по суті, чисту F, по суті, чисту G, H, J, M, по суті, вільну від дигідрату азитроміцину, N, O, P, Q і R.
2. Кристалічна форма азитроміцину згідно з пунктом 1, де згадана форма є формою D і, крім того, характеризується твердотільним ¹³C ЯМР спектром, що має піки з хімічними зсувами приблизно при 178,1м.ч., 103,9м.ч., 95,1м.ч., 84,2м.ч., 10,6м.ч., 9,0м.ч. і 8,6м.ч..
3. Кристалічна форма азитроміцину згідно з пунктом 1, де згадана форма є формою E.
4. Кристалічна форма азитроміцину згідно з пунктом 1, де згадана форма є, по суті, чистою формою F і яка, крім того, характеризується твердотільним ¹³C ЯМР спектром, що має піки з хімічними зсувами приблизно при 179,5м.ч., 178,6м.ч., 58,0м.ч., 10,1м.ч. 9,8м.ч., 9,3м.ч., 7,9м.ч. і 6,6м.ч..
5. Кристалічна форма азитроміцину згідно з пунктом 4, де згаданий азитроміцин містить 90 або

2

більше вагових % форми F азитроміцину.
6. Кристалічна форма згідно з пунктом 1, де згадана форма є, по суті, чистою формою G і яка, крім того, характеризується твердотільним ¹³C ЯМР спектром, що має піки з хімічними зсувами приблизно при 179,5м.ч., 10,4м.ч., 9,9м.ч., 9,3м.ч., 7,6м.ч. і 6,5м.ч..
7. Кристалічна форма азитроміцину згідно з пунктом 6, де згаданий азитроміцин містить 90 або більше вагових % форми G азитроміцину.
8. Кристалічна форма згідно з пунктом 1, де згадана форма є формою H і яка, крім того, характеризується твердотільним ¹³C ЯМР спектром, що має піки з хімічними зсувами приблизно при 179,5м.ч., 178,7м.ч., 9,9м.ч., 9,1м.ч., 7,9м.ч. і 7,0м.ч..
9. Кристалічна форма згідно з пунктом 1, де згадана форма є формою J і яка, крім того, характеризується твердотільним ¹³C ЯМР спектром, що має піки з хімічними зсувами приблизно при 179,6м.ч., 178,4м.ч., 25,2м.ч., 11,5м.ч., 10,0м.ч. 9,3м.ч., 8,1м.ч. і 6,8м.ч..
10. Кристалічна форма згідно з пунктом 1, де згадана форма є формою M, по суті, вільною від дигідрату азитроміцину і яка, крім того, характеризується твердотільним ¹³C ЯМР спектром, що має піки з хімічними зсувами приблизно при 179,6м.ч., 41,9м.ч., 26,0м.ч., 16,3м.ч., 10,3м.ч., 9,6м.ч., 9,3м.ч., 7,7м.ч. і 7,1м.ч..
11. Кристалічна форма згідно з пунктом 1, де згадана форма є формою N і яка, крім того, характеризується твердотільним ¹³C ЯМР спектром, що має піки з хімічними зсувами приблизно при 179,6м.ч., 178,7м.ч., 105,6м.ч., 58,1м.ч., 26,0м.ч., 9,9м.ч., 9,4м.ч., 7,9м.ч. і 6,6м.ч..
12. Кристалічна форма згідно з пунктом 1, де згадана форма є формою O.
13. Кристалічна форма згідно з пунктом 1, де згадана форма є формою P.
14. Кристалічна форма згідно з пунктом 1, де згадана форма є формою Q.
15. Кристалічна форма згідно з пунктом 1, де згадана форма є формою R і яка, крім того, характеризується ¹³C ЯМР спектром, що має піки з хімічними зсувами приблизно при 177,9м.ч., 103,6м.ч., 95,3м.ч., 10,3м.ч., 9,6м.ч., 8,9м.ч. і 8,6м.ч..

(13) C2
(11) 74887
(19) UA

Цей винахід стосується кристалічних форм азитроміцину. Азитроміцин є комерційно доступним і ефективним антибіотиком для лікування широкого переліку бактеріальних інфекцій. Кристалічна форма цього винаходу також є корисними як антибіотики для ссавців, включаючи людей, також як і для риб і птахів. Азитроміцин має наступну структурну формулу:



Азитроміцин описаний і заявлений [в патентах US 4,517,359 і 4,474,768]. Він також відомий як 9-деоксо-9а-аза-9а-метил-9а-гомеоеритроміцин А.

Іншими патентами або заявками на патенти, які безпосередньо або безпосередньо стосуються азитроміцину є: [EP 298,650], який стосується дигідрату азитроміцину; [патент US 4,963,531], який стосується способу лікування видів штаму *Toxoplasma gondii*; [патент US 5,633,006], який стосується жувальних таблеток або рідких суспензій, що мають зменшену гіркоту; [патент US 5,686,587], який стосується проміжної сполуки корисної у одержанні азитроміцину; [патент US 5,605,889], який стосується оральної дозованої форми із зменшеним "харчовий ефект" обумовленим введенням азитроміцину; [патент US 6,068,859], який стосується дозованої форми з контрольованим вивільненням, що містить азитроміцин; [патент US 5,498,699], який стосується композиції, що містить азитроміцин в комбінації з бівалентними або тривалентними металами; [EP 925,789], який стосується способу лікування інфекцій очей; заявка [на китайський патент CN 1123279A], яка стосується водорозчинних солей азитроміцину; заявка на [китайський патент CN 1046945C, яка стосується подвійної дигідрофосфатно натрової солі азитроміцину; заявка [на китайський патент CN 1114960A], яка стосується кристалів азитроміцину, заявка [на китайський патент CN 1161971A], яка стосується кристалів азитроміцину; заявка [на китайський патент CN 1205338A], яка стосується способу одержання водорозчинних солей азитроміцину; [міжнародна заявка WO 00/32203], яка стосується етанолату азитроміцину; і [Європейська заявка на патент EP 984,020], яка стосується моногідрату клатратізопропанолу азитроміцину.

Представлений винахід стосується кристалічних форм азитроміцину. Як тут використовується, термін "кристалічна форма(и)" або форма(и), якщо не вказано інше, означає одну або більшу кількість кристалічних форм азитроміцину.

Зокрема, представлений винахід стосується кристалічної форми азитроміцину. В де згадану кристалічну форму вибирають з форм С, D, E, F, G, H, J, M, N, O, P, Q і R, де згадані форми є такими як визначено тут. Форми F, G, H, J, M, N, O і P належать до родини I азитроміцину і належать до моноклінної просторової групи $P2_1$ з розмірами

комірки $a=16,3\pm0,3$ Å, $b=16,2\pm0,3$ Å, $c=18,4\pm0,3$ Å і $\beta=109\pm2^\circ$. Форми С, D, E і R належать до родини II азитроміцину і належать до орторомбічної просторової групи $P2_12_12_1$ з розмірами комірки $a=8,9\pm0,4$ Å, $b=12,3\pm0,5$ Å і $c=45,8\pm0,5$ Å. Форма Q відрізняється від форм родин I і II.

Форма F азитроміцину має формулу $C_{38}H_{72}N_2O_{12}\cdot H_2O\cdot 0,5C_2H_5OH$ в монокристалічній структурі і є моногідратом гемі-етанолового сольвату азитроміцину. Крім того, Форма F характеризується вмістом 2-5ваг.% води і 1-4ваг.% етанолу в порошкових зразках і має 20 піки в порошковій дифрактограмі як визначено в Таблиці 9. Спектр ^{13}C тТЯМР (твердотільний ядерний магнітний резонанс) форми F має два піки з хімічним зсувом приблизно при 179+1м.ч., є при 179,5±0,2м.ч. і 178,6±0,2м.ч., групу з п'яти піків між 6,4-11,0м.ч., піки етанолу при 58,0±0,5м.ч. і 17,2±0,5м.ч.. Піки розчинника можуть бути широкими і мати відносно слабку інтенсивність.

Винахід також стосується, по суті, чистої форми F азитроміцину, форми F азитроміцину, по суті, вільної від форми G азитроміцину і форми F азитроміцину, по суті, вільної від дигідрату азитроміцину.

Винахід, крім того, стосується способів одержання форми F азитроміцину шляхом обробки азитроміцину етанолом до повного розчинення при 40-70°C і охолодження із зменшенням вмісту етанолу або додавання води для викликання кристалізації. Також включає способи виготовлення, по суті, чистої форми F азитроміцину, форми F азитроміцину, по суті, вільної від форми G азитроміцину і форми F азитроміцину, по суті, і вільної від дигідрату азитроміцину.

Форма G азитроміцин має формулу $C_{38}H_{72}N_2O_{12}\cdot 1,5H_2O$ в монокристалічній структурі і є сесквігідратом азитроміцину. Крім того, форма G характеризується вмістом 2,5-6ваг.% води і <1ваг.% органічного розчинника(ів) в порошкових зразках і має 20 піки в порошковій дифрактограмі як визначено в Таблиці 9. Спектр ^{13}C тТЯМР форми G має один пік з хімічним зсувом приблизно при 179±1м.ч., пік при 179,5±0,2м.ч. (може бути присутнє розщеплення <0,3м.ч.), і групу з п'яти піків між 6,3 і 11,0м.ч..

Винахід також стосується, по суті, чистої форми G азитроміцину, і форми G азитроміцину, по суті, вільну від дигідрату азитроміцину.

Винахід, крім того, стосується способів одержання, по суті, чистої форми G азитроміцину і форми G азитроміцину, по суті, вільної від дигідрату азитроміцину шляхом обробки азитроміцину сумішшю метанолу і води або ацетону і води до повного розчинення при 40-60°C і охолодження для викликання кристалізації.

Форма H азитроміцину має формулу $C_{38}H_{72}N_2O_{12}\cdot H_2O\cdot C_3H_8OH_2$ є моногідратом гемі-1,2-пропандіольного сольвату азитроміцину.

Форма J азитроміцину має формулу $C_{38}H_{72}N_2O_{12}\cdot H_2O\cdot 0,5C_3H_7OH$ в монокристалічній структурі, і є моногідратом гемі-н-пропанольного сольвату азитроміцину. Крім того, форма J характеризується присутністю 2-5ваг.% води і 1-5ваг.% 1-пропанолу в порошкових зразках і має 20 піки в

порошковій дифрактограмі як визначено в Таблиці 9. Спектр ^{13}C тТЯМР форми J має два піки з хімічним зсувом приблизно при $179,6 \pm 0,2$ м.ч., що є $179,6 \pm 0,2$ м.ч. і $178,4 \pm 0,2$ м.ч., групу з п'яти піків між $6,6$ і $11,7$ м.ч. і піком н-пропанолу при $25,2 \pm 0,4$ м.ч.. Пік розчинника може бути широким і мати відносно слабку інтенсивність.

Винахід, крім того, стосується способів одержання форми J шляхом обробки азитроміцину н-пропанолом до повного розчинення при $25-55^\circ\text{C}$ і охолодження шляхом додавання води для викликання кристалізації.

Форма M азитроміцину має формулу $\text{C}_{38}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot 0,5\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$ і є моногідратом геміізопропанольного сольвату азитроміцину. Крім того, форма M характеризується вмістом 2-5 ваг.% води і 1-4 ваг.% 2-пропанолу в порошкових зразках і має 20 піки в порошковій дифрактограмі як визначено в Таблиці 9. Спектр ^{13}C тТЯМР форми M має один пік з хімічним зсувом приблизно при 179 ± 1 м.ч., що знаходиться при $179,6 \pm 0,2$ м.ч., пік при $41,9 \pm 0,2$ м.ч. і групу з шести піків між $6,9$ і $16,4$ м.ч. і пік ізопропанолу при $26,0 \pm 0,4$ м.ч.. Пік розчинника може бути широким і мати відносно слабку інтенсивність.

Винахід також стосується, по суті, чистої форми M азитроміцину, форми M азитроміцину, по суті, вільної від форми G азитроміцину і форми M азитроміцину, по суті, вільної від дигідрату азитроміцину.

Винахід, крім того, стосується способів одержання по суті, чистої форми M азитроміцину, форми M азитроміцину, по суті, вільної від форми G азитроміцину і форми M азитроміцину, по суті, вільної від дигідрату азитроміцину шляхом обробки азитроміцину ізопропанолом до повного розчинення при $40-60^\circ\text{C}$ і зменшення кількості ізопропанолу з наступним охолодженням або охолодженням з наступним додаванням води для викликання кристалізації.

Форма N азитроміцину є сумішшю ізоморфічних форм Родини I. Суміш може містити різний відсотковий вміст ізоморф F, G, H, J, M і інші, і різні кількості води і органічних розчинників, таких як етанол, ізопропанол, н-пропанол, пропіленгліколь, ацетон, ацетонітрил, бутанол, пентанол і т.і. Ваговий відсоток води може знаходитись в інтервалі від 1-5% і загальний ваговий відсоток органічних розчинників може становити 2-5% з вмістом кожного розчинника від 0,5 до 4%. Зразки форми N мають всі характеристичні піки членів Родини I в різних пропорціях. Форма N може бути охарактеризована як "змішані кристали" або "кристалічний розчин" ізоморфів Родини I.

Форма N має хімічні зсуви як комбінація ізоморфів Родини I. Розташування піків може змінюватись в хімічних зсувах в м.ч. в межах $\pm 0,2$ м.ч. і відносних інтенсивностях і ширинах, що відповідають сумішам з різними вмістами ізоморфів, що входять до складу кристалічного розчину форми N.

Форма P азитроміцину має формулу $\text{C}_{38}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot 0,5\text{C}_5\text{H}_{11}\text{OH}$ і є моногідратом геміпентанольного сольвату азитроміцину.

Форма Q азитроміцину має формулу $\text{C}_{38}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot 0,5\text{C}_4\text{H}_8\text{OH}$ і є моногідратом гемітетрагідрофуранового сольвату азитроміцину.

Форма R азитроміцину має формулу $\text{C}_{38}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{C}_5\text{H}_{11}\text{O}$ і є моногідратом монометил-трет-бутил етерового сольвату азитроміцину.

Форма D азитроміцину має формулу $\text{C}_{38}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{C}_6\text{H}_{12}$ і його монокристалічна структура є моногідратом моноциклогексанового сольвату азитроміцину. Крім того, форма D характеризується вмістом 2-6 ваг.% води і 3-12 ваг.% циклогексану в порошкових зразках і має характерні 20 піки в порошковій дифрактограмі як визначено в Таблиці 9. Спектр ^{13}C тТЯМР форми D має один пік з хімічним зсувом приблизно при 179 ± 1 м.ч., що є при $178,1 \pm 0,2$ м.ч. і піки при $103,9 \pm 0,2$ м.ч., $95,1 \pm 0,2$ м.ч., $84,2 \pm 0,2$ м.ч., і групу з 3 піків між $8,4$ і 11 м.ч..

Винахід, крім того, стосується способів одержання форми D шляхом суспендування дигідрату азитроміцину в циклогексані.

Форма E азитроміцину має формулу $\text{C}_{38}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{C}_4\text{H}_8\text{O}$ є моногідратом монотетрагідрофуранового сольвату азитроміцину.

Винахід, крім того, стосується азитроміцину в аморфному стані і способу одержання аморфного азитроміцину, що полягає у видаленні води і/або розчинників з кристалічної решітки азитроміцину. Порошкова дифрактограма аморфного азитроміцину не показала гострих піків 2 θ , але мають два широкі закруглені піки. Перший пік знаходиться між 4° і 13° . Другий пік знаходиться між 13° і 25° .

Винахід також стосується фармацевтичних композицій для лікування бактеріальної інфекції або протозойної інфекції у ссавця, риби або птаха, які містять терапевтично ефективну кількість кристалічних сполук згаданих вище або аморфного азитроміцину і фармацевтично прийнятний носій.

Винахід також стосується способу лікування бактеріальної інфекції або протозойної інфекції у ссавця, риби або птаха, який полягає у введенні згаданому ссавцю, рибі або птаху терапевтично ефективної кількості кристалічних сполук згаданих вище або аморфного азитроміцину.

Представлений винахід також стосується способів одержання кристалічних форм азитроміцину, який полягає у суспендуванні азитроміцину в прийнятному розчиннику або розчиненні азитроміцину в нагрітому органічному розчиннику або розчині органічний розчинник/вода і висаджуванні кристалічного азитроміцину шляхом охолодження розчину із зменшенням об'єму розчинника або шляхом розчинення азитроміцину в розчиннику або суміші розчинників і висаджування кристалічного азитроміцину шляхом додавання води до розчину. Азитроміцин в аморфному стані одержують шляхом нагрівання кристалічного азитроміцину у вакуумі.

Під терміном "лікування", що використовується тут, якщо не вказано інше, розуміють лікування або попередження бактеріальної інфекції або протозойної інфекції, як забезпечується способом представленого винаходу, включаючи зцілення, зменшення симптомів або уповільнення розвитку згаданої інфекції. Термін "терапія" стосується дій пов'язаних з лікуванням.

Термін "по суті, вільний", коли стосується вказаної кристалічної форми азитроміцину, означає, що присутньо менше ніж 20% (вагових) вказаної

кристалічної форм(и), більш переважно, що присутньо менше ніж 10% (вагових) вказаної кристалічної форм(и), більш переважно, що присутньо менше ніж 5% (вагових) вказаної кристалічної форм(и) і, найбільш переважно, що присутньо менше ніж 1% (вагових) вказаної кристалічної форм(и). Наприклад, вираз "форма F азитроміцину, по суті, вільна від дигідрату азитроміцину" стосується форми F з 20% (вагових) або менше дигідрату азитроміцину, більш переважно, 10% (вагових) або менше дигідрату азитроміцину, найбільш переважно, 1% (вагових) дигідрату азитроміцину.

Термін "по суті, чистий", коли стосується вказаної кристалічної форми азитроміцину, означає, що присутньо менше ніж 20% (вагових) залишкових компонентів, таких як альтернативна поліморфна форма або ізоморфна кристалічна форма(и) азитроміцину. Переважно, що, по суті, чиста форма азитроміцину містить менше ніж 10% (вагових) альтернативної поліморфної форми або ізоморфних кристалічних форм азитроміцину, більш переважно менше ніж 5% (вагових) альтернативної поліморфної форми або ізоморфних кристалічних форм азитроміцину, і, найбільш переважно, менше ніж 1% (вагових) альтернативної поліморфної форми або ізоморфних кристалічних форм азитроміцину.

Термін "по суті, відсутній дигідрат азитроміцину", коли стосується маси кристалічного азитроміцину або композиції, що містить кристалічний азитроміцин, означає кристалічний азитроміцин, що містить менше ніж приблизно 5% (вагових) дигідрату азитроміцину, більш переважно менше ніж приблизно 3% (вагових) дигідрату азитроміцину, і найбільш переважно менше ніж 1% (вагових) дигідрату азитроміцину.

Як тут використовується, якщо не вказано інше, термін "бактеріальна інфекція(ї)" або "протозойна інфекція" включає бактеріальні інфекції і протозойні інфекції і захворювання викликані такими інфекціями, що зустрічаються у ссавців, риб і птахів, також як розлади викликані бактеріальними інфекціями і протозойними інфекціями, що можуть бути вилікувані або попереджені шляхом введення антибіотиків, таких як сполука представленого винаходу. Такими бактеріальними інфекціями і протозойними інфекціями і розладами обумовленими такими інфекціями є, але не обмежується, наступні: пневмонія, отит середньої оболонки стінки кровоносної судини, синусит, бронхіт, тонзиліт або мастоїдит, що викликані інфекціями *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus* або *Peptostreptococcus* spp.: фарингіт, ревматоїдна лихоманка або гломерулонефрит, що викликані інфекцією *Streptococcus pyogenes*, стрептококами Груп C і G, *Clostridium diphtheriae* або *Actinobacillus haemolyticum*; респіраторне захворювання, що викликане інфекціями *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* або *Chlamydia pneumoniae*; нескладна інфекція шкіри і м'яких тканин, гнійник або остеомієліт, або пологова лихоманка, що викликані інфекціями *Staphylococcus aureus*, зкоагульованими позитивними стафілококами (напри-

клад, *S.epidermidis*, *S.hemolyticus*, та і.), *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, стрептококальними групами C-F (мілкі-колонії стрептококів), віридансними стрептококами, *Corynebacterium minutissimum*, *Clostridium* spp., або *Bartonella henselae*; нескладна гостра інфекція сечовивідних шляхів, що викликана *Staphylococcus saprophyticus* або *Enterococcus* spp.; уретрит і цервецит; і захворювання, що передається статевим шляхом, що викликані інфекціями *Chlamydia trachomatis*, *Haemophilus ducreyi*, *Treponema pallidum*, *Ureaplasma urealyticum* або *Neisseria gonorrhoeae*; захворювання, що викликане токсінами наступних інфекцій *S. aureus* (харчове отруєння і синдром токсичного отруєння), або стрептококи Групи A, B і C; виразковикликаєма інфекція *Helicobacter pylori*; синдром постійної лихоманки, викликаний інфекцією *Sorrelia recurrentis*; хвороба Ліма, що викликана інфекцією *Borrelia burgdorferi*; кон'юнктивіт, кератит і дакроцистит, що викликані інфекціями *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *S.aureus*, *S.pneumoniae*, *S.pyogenes*, *H.influenzae* або *Listeria* spp.: захворювання розсіювання *Mycobacterium avium* комплексу (MAC), що викликані інфекцією *Mycobacterium avium* або *Mycobacterium intracellulare*; гастроентерит, що викликаний інфекцією *Campylobacter jejuni*; кишкова протозоа викликана інфекцією *Cryptosporidium* spp.; одонтогенна інфекція, що викликана інфекцією віридансних стрептококів; постійний кашель, що викликаний інфекцією *Bordetella pertussis*; газова гангрена, що викликана інфекцією *Clostridium perfringens* або *Bacteroides* spp.; і атеросклероз або кардіоваскулярне захворювання, що викликані інфекцією *Chlamydia pneumoniae*. Бактеріальні інфекції і протозойні інфекції і захворювання, що викликаються такими інфекціями, можуть бути вилікувані або попереджені у тварин і такими захворюваннями є: бичаче респіраторне захворювання, що викликане інфекцією *P.haemolyticus*, *P.multocida*, *Mycoplasma bovis* або *Bordetella* spp.; захворювання на брюшний тиф самиць, що викликане інфекцією *E.coli* або протозойним (наприклад, кокадія, криптоспоридія, та і.); мастит молочних залоз, що викликаний інфекцією *Staph. aureus*, *Strep. uberis*, *Strep. agalactiae*, *Strep. dysgalactiae*, *Klebsiella* spp., *Corynebacterium* або *Enterococcus* spp.; респіраторне захворювання свиней, що викликане *A. pleuro.*, *P. Multocida* або *Mycoplasma* spp.; захворювання очередини свиней, що викликане інфекцією *E.coli*, *Lawsonia intracellularis*, *Salmonella* або *Serpulina hyodysenteriae*; гнійня копит, що викликане інфекцією *Fusobacterium* spp.; метрит самиць, що викликаний інфекцією *E.coli*; волосяні нарости, що викликані інфекцією *Fusobacterium necrophorum* або *Bacteroides nodosus*; почервоніння очей, що викликане інфекцією *Moraxella bovis*; передчасні пологи, що викликані протозойними (наприклад, неоспоріум); інфекції сечовивідних шляхів у собак і котів, що викликані інфекцією *E.coli*; інфікування шкіри і м'яких тканин у собак і котів, що викликане інфекцією *Staph. epidermidis*, *Staph. Vitermedius*, *coagulase neg. Staph* або *P. multocida* і інфекції зубів і ротової порожнини у собак і котів, що викликані інфекцією *Alcaligenes* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp.,

Enterobacter spp., *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas* або *Prevotella*. Інші бактеріальні інфекції і протозойні інфекції і захворювання, що викликаються такими інфекціями, можуть виникати або попереджатись згідно із способом представленого винаходу відповідно до описаного J.P. Sanford et al., "The Sanford Guide To Antimicrobial Therapy", 26th Edition, (Antimicrobial Therapy, Inc., 1996).

Представлений винахід також стосується сполук мічених ізотопами, в яких один або більша кількість атомів замінена атомами, що мають атомну масу або масове число, що відрізняється від атомної маси і масового числа, що зазвичай зустрічається у природі. Прикладами ізотопів, що можуть бути включені в сполуки винаходу є ізотопи водню, вуглецю, азоту, кисню, фосфору, сірки, фтору і хлору, такі як ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O і ^{17}O . Такі радіомічені сполуки мічені стабільними ізотопами корисні для дослідницьких цілей або як діагностичні інструменти.

Фіг.1 розрахована порошкова рентгенограма форми А азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.2 експериментальна порошкова рентгенограма форми А азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.3 накладення Фіг.1 і 2 розрахованої дифрактограми форми А азитроміцину (Фіг.1) знизу і експериментальної дифрактограми форми А азитроміцину (Фіг.2) зверху. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.4 розрахована порошкова рентгенограма форми С азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.5 розрахована порошкова рентгенограма форми D азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.6 експериментальна порошкова рентгенограма форми D азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.7 накладення Фіг.5 і 6 розрахованої дифрактограми форму D азитроміцину (Фіг.5) знизу і експериментальної дифрактограми форму D азитроміцину (Фіг.6) зверху. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.8 розрахована порошкова рентгенограма форму E азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.9 розрахована порошкова рентгенограма форми F азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.10 експериментальна порошкова рентгенограма форми F азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.11 накладення Фіг.9 і 10 розрахованої дифрактограми форми F азитроміцину (Фіг.9) знизу і експериментальної дифрактограми форми F азитроміцину (Фіг.10) зверху. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.12 розрахована порошкова рентгенограма

форми G азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.13 експериментальна порошкова рентгенограма форми G азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.14 накладення Фіг.12 і 13 розрахованої дифрактограми форми G азитроміцину (Фіг.12) знизу і експериментальної дифрактограми форми G азитроміцину (Фіг.13) зверху. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.15 розрахована порошкова рентгенограма форми J азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.16 експериментальна порошкова рентгенограма форми J азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.17 накладення Фіг.15 і 16 розрахованої дифрактограми форми J азитроміцину (Фіг.15) знизу і експериментальної дифрактограми форми J азитроміцину (Фіг.16) зверху. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.18 експериментальна порошкова рентгенограма форми M азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.19 експериментальна порошкова рентгенограма форми N азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.20 експериментальна порошкова рентгенограма аморфного азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.21 є ^{13}C спектром твердотілого ЯМР форми А азитроміцину.

Фіг. 22 є ^{13}C спектром твердотілого ЯМР форми D азитроміцину.

Фіг.23 є ^{13}C спектром твердотілого ЯМР форми F азитроміцину.

Фіг.24 є ^{13}C спектром твердотілого ЯМР форми G азитроміцину.

Фіг.25 є ^{13}C спектром твердотілого ЯМР форми J азитроміцину.

Фіг.26 є ^{13}C спектром твердотілого ЯМР форми M азитроміцину.

Фіг.27 є ^{13}C спектром твердотілого ЯМР форми N азитроміцину.

Фіг.28 є ^{13}C спектром твердотілого ЯМР аморфного азитроміцину.

Фіг.29 є ^{13}C спектром твердотілого ЯМР фармaceutичної таблетки, що містить форму G азитроміцину.

Фіг.30 експериментальна порошкова рентгенограма форми Q азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.31 експериментальна порошкова рентгенограма форми R азитроміцину. Шкала абсцис є градусами 2-тета (2θ). Ордината є інтенсивністю в імпульсах.

Фіг.32 є ^{13}C спектром твердотілого ЯМР форми Н азитроміцину.

Фіг.33 є ^{13}C спектром твердотілого ЯМР форми R азитроміцину.

Було встановлено, що азитроміцин існує в різних кристалічних формах. Дигідрат, форма А, і нестехіометричний гідрат, Форма Б, [описані в Європейському патенті EP 298 650 і патенті US 4,512,359, відповідно]. Були відкриті шістнадцять інших форм, що називаються форми С, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q і R. Ці форми є або гідратами, або гідрат/сольватами вільної основи азитроміцину. Форми L і K є метастабільними низькогідратованими формами форми А, що існують при високій температурі. Були встановлені кристалічні структури форм А, С, D, E, F, G, H, J і O. Структурні дані цих кристалічних форм приведені нижче:

Таблиця 1

Кристалографічні дані форми А азитроміцину

	Форма А
Емпірична формула	$\text{C}_{38}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Вага	785,2
Розмір кристалу (мм)	0,19×0,24×0,36
Просторова група	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ орторомбічна
Розміри елементарної комірки	a=14,735 (5) Å b=16,844 (7) Å c=17,81 (1) Å α=90° β=90° γ=90°
Z (на формулу)	4
Щільність (г/см ³)	1,18
R	0,060

Таблиця 2

Кристалографічні дані форми С азитроміцину

	Форма В
Емпірична формула	$\text{C}_{38}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot \text{H}_2\text{O}$
Вага	767,15
Розмір кристалу (мм)	0,16×0,16×0,19
Просторова група	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ орторомбічна
Розміри елементарної комірки	a=8,809 (3) Å b=12,4750 (8) Å c=45,59 (3) Å α=90° β=90° γ=90°
Z (на формулу)	4
Щільність (г/см ³)	1,01
R	0,106

Таблиця 3

Кристалографічні дані форми D азитроміцину

	Форма D
Емпірична формула	$\text{C}_{38}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{C}_6\text{H}_{12}$
Вага	851,15
Розмір кристалу (мм)	0,52×0,32×0,16
Просторова група	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ орторомбічна
Розміри елементарної комірки	a=8,8710 (10) Å b=12,506 (2) Å c=45,697 (7) Å α=90° β=90° γ=90°
Z (на формулу)	4
Щільність (г/см ³)	1,12
R	0,0663

Таблиця 4

Кристалографічні дані форми Е азитроміцину

	Форма Е
Емпірична формула	$\text{C}_{38}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{C}_4\text{H}_8\text{O}$
Вага	839,2
Розмір кристалу (мм)	0,17×0,19×0,20
Просторова група	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ орторомбічна
Розміри елементарної комірки	a=8,869 (3) Å b=12,086(3) Å c=46,00(1) Å α=90° β=90° γ=90°
Z (на формулу)	4
Щільність (г/см ³)	1,13
R	0,087

Таблиця 5

Кристалографічні дані форми F азитроміцину

	Форма F
Емпірична формула	$\text{C}_{38}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot 0,5\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$
Розмір кристалу (мм)	0,14×0,20×0,24
Вага	790,2
Просторова група	P2 ₁ моноклінна
Розміри елементарної комірки	a=16,281 (2) Å b=16,293(1) Å c=18,490(3) Å α=90° β=109,33(1)° γ=90°
Z (на формулу)	4
Щільність (г/см ³)	1,13
R	0,0688

Таблиця 6

Кристалографічні дані форми G азитроміцину

	Форма G
Формула	$\text{C}_{38}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$
Вага	776,0
Розмір кристалу (мм)	0,04×0,20×0,24
Просторова група	P2 ₁ моноклінна
Розміри елементарної комірки	a=16,4069(8) Å b=16,2922(8) Å c=18,3830(9) Å α=90° β=110,212(2)° γ=90°
Z (на формулу)	4
Щільність (г/см ³)	1,12
R	0,0785

Таблиця 7

Кристалографічні дані форми H азитроміцину

	Форма H
Емпірична формула	$\text{C}_{38}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot 0,5\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_2$
Розмір кристалу (мм)	0,14×0,20×0,24
Вага	805,0
Просторова група	P2 ₁ моноклінна
Розміри елементарної комірки	a=16,177(1) Å b=16,241(2) Å c=18,614(1) Å α=90° β=108,34(1)° γ=90°
Z (на формулу)	4
Щільність (г/см ³)	1,15
R	0,0687

Таблиця 8

Кристалографічні дані форми J азитроміцину

-	Форма J
Формула	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0,5C_3H_8O$
Вага	796,0
Розмір кристалу (мм)	0,40×0,36×0,20
Просторова група	P2 ₁ моноклінна
Розміри елементарної комірки	a=16,191(6) Å b=16,237(10) Å c=18,595(14) Å α=90° β=108,92(4)° γ=90°
Z (на формулу)	4
Щільність (г/см ³)	1,14
R	0,0789

Таблиця 8А

Кристалографічні дані форми О азитроміцину

-	Форма О
Формула	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0,5C_3H_8O$
Вага	795,04
Розмір кристалу (мм)	0,40×0,36×0,20
Просторова група	P2 ₁ моноклінна
Розміри елементарної комірки	a=16,3602(11) Å b=16,2042(11) Å c=18,5459(12) Å α=90° β=109,66(10)° γ=90°
Z (на формулу)	4
Щільність (г/см ³)	1,14
R	0,0421

Серед цих шістнадцяти кристалічних форм було ідентифіковано дві ізоморфні родини. Родина I включає форми F, G, H, J, M, N, O і P. Родина II включає форми C, D, E і R. Форма Q є окремою формою, що не входить до складу родин I і II. Форми в межах родини є ізоморфами, що кристалізуються в ту ж саму просторову групу з незначними варіаціями параметрів комірки і складають хімічно схожі структури, але з різним елементним складом. В цьому випадку, варіації хімічних складів серед ізоморфів виникають завдяки включенню різної кількості молекул води/розчинника. Тому, ізоморфи мають подібні, але не ідентичні дифрактограми і спектри твердотілого ЯМР (тТЯМР). інші методики, такі як близька інфрачервона спектроскопія (БІЧ), диференціальна скануюча калориметрія (ДСК), газова хроматографія (ГХ), термальногравіметричний аналіз (ТГА) або термальногравіметричний аналіз/інфрачервона спектроскопія (ТГ-ІЧ), аналіз води Карла-Фішера (КФ) і молекулярне модулювання/візуалізація одержаних даних забезпечує ідентифікування ізоморфів. Температури дегідрування/десольватації визначали за допомогою ДСК при нагріванні із швидкістю 5°C/хв.

Форма В

Ця кристалічна форма була ідентифікована з структури монокристалу (Таблиця 2) - моногідрат азитроміцину. Вона має просторову групу P2₁2₁2₁ і подібні параметри комірки як і форми D і E; тому, вона належить до Родини II ізоморфів. Її розрахована рентгенограма є подібною до рентгенограм форм D і E. Форма D

Форму D кристалізували з циклогексану. Структура

монокристалу форми D показує стехіометричний сольват моногідрат/моноциклогексан азитроміцину (Таблиця 3). Молекули циклогексану безсистемно розташовані в кристалічній решітці. З даних монокристалу, розраховували вміст води і циклогексану в формі D, що складає 2,1 і 9,9%, відповідно, і експериментальна рентгенограма, і розрахована порошкова рентгенограма форми D є подібними до тих, що були приведені для форм C і E. Порошкові зразки форми D мають ендотерму з температурою початку десольватації/дегідрування приблизно при 87°C і широкую ендотерму між 200-280°C (розкладання) в ДСК аналізі при 5°C/хв. від 30-300°C.

Форму D одержують суспендуванням азитроміцину в циклогексані протягом 2-4 днів. Тверду форму D азитроміцину збирають шляхом фільтрування і висушування.

Форма Е

Форму Е одержували як монокристал, що утворюється в суміші ТГФ/вода. Вона є моногідратом і моно-ТГФ сольватом, що визначено за допомогою аналізу монокристалу (Таблиця 4). З її структури монокристалу, розрахована крива ПДРП є подібною до рентгенограм форми C і форми D, що робить її приналежною до родини II ізоморфу.

Форму Е одержують розчиненням азитроміцину в ТГФ (тетрагідрофуран). Дифундуванням парів води крізь насичений ТГФ розчин азитроміцину протягом часу достатнього для одержання кристалів форми Е.

Форма F

Монокристал форми F кристалізувався у моноклінну просторову групу, P2₁, з асиметричною коміркою, що містить дві молекули азитроміцину, дві молекули води і одну молекулу етанолу, як моногідрат/гемі-етанолат (Таблиця 5). Вона є ізоморфною до всіх кристалічних форм родини I азитроміцину. Розрахована крива ПДРП цієї форми є подібною до всіх інших ізоморфів родини I. Теоретичний вміст води і етанолу становить 2,3 і 2,9%, відповідно. Зразки порошку мають температуру початку на ендотермі дегідратації/десольватації між 110-125°C. Форму F одержують розчиненням азитроміцину в етанолі (1-3 об'ємів вагових) при температурі приблизно 50-70°C. Після повного розчинення, розчин охолоджують до низької температури викликаючи осадження. Об'єм етанолу можна зменшити вакуумною перегонкою при перемішуванні протягом 1-2 годин для збільшення виходу. Альтернативно, можна додати воду (необов'язково охолоджену до 0-20°C) приблизно 0,1-2 об'ємів і зібрати тверді речовини через 30 хвилин після додавання води. Охолодження розчину етанолу азитроміцину перед додаванням води нижче 20°C, переважно нижче 15°C, більш переважно нижче 10, і найбільш переважно 5°C призводить до, по суті, чистої форми F азитроміцину. Тверду форму F азитроміцину збирають фільтруванням і висушуванням.

Форма G

Структура монокристалу форми G містить дві молекули азитроміцину і три молекули води на асиметричну комірку (Таблиця 6). Це відповідає сесквігідрату з теоретичним вмістом води 3,5%.

Вміст води в зразках порошку форми G знаходиться в інтервалі від приблизно 2,5 до приблизно 6%. Загальний вміст залишкового органічного розчинника менше ніж 1%, що відповідає розчиннику, який використовувався для кристалізації, і який буде нижче стехіометричної кількості сольвату. Ця форма дегідратується при температурі приблизно 110-120°C.

Форму G можна одержати шляхом додавання азитроміцину до суміші органічний розчинник/вода (1/1 об'ємних), де органічним розчинником може бути метанол, ацетон, ацетонітрил, етанол або ізопропанол. Суміш перемішують і нагрівають при підвищеній температурі, наприклад 45-55°C протягом 4-6 годин до розчинення. Осадження відбувається при охолодженні до кімнатної температури. Тверду форму G азитроміцину збирали фільтруванням і сушили.

Форма H

Ця кристалічна форма є моногідрат/гемі-пропіленглікольним сольватом вільної основи азитроміцину (Таблиця 7). Вона була виділена з розчину, що містить пропіленгліколь. Структура кристалу форми H є ізоморфною кристалічним формам Родини I.

Форму H азитроміцину одержують розчиненням дигідрату азитроміцину в 6 об'ємах пропіленгліколю. До одержаного пропіленгліколевого розчину азитроміцину додають 2 об'єми води і відбувається осадження. Суспензію перемішують протягом 24 години і тверді речовини фільтрують і сушать на повітрі при кімнатній температурі одержуючи кристалічну Форму H.

Форма J

Форма J є моногідрат/гемі-н-пропанол сольватом (Таблиця 8). Розрахований вміст розчинника становить приблизно 3,8% н-пропанолу і приблизно 2,3% води. Експериментальні дані показали присутність від приблизно 2,5 до приблизно 4,0% н-пропанолу і від приблизно 2,5 до приблизно 3% води в зразках порошоків. Її крива ПДРП є дуже подібною кривій ізоморфів F, G, H, M і N. Подібно F і G, зразки порошоків мають ендотерму дегідратації/десольватації при 115-125°C.

Форма J одержують розчиненням азитроміцину в 4 об'ємах н-пропанолу при температурі приблизно 25-55°C. Додавали воду, приблизно 6-7 об'ємів, при кімнатній температурі і суспензію постійно перемішували протягом 0,5-2 годин. Тверду форму J азитроміцину збирали фільтруванням і сушили.

Форма K

Крива ПДРП форми K була знайдена в суміші азитроміцину форма A і мікрокристалічного воску після отжигу при 95°C протягом 3 годин. Вона є меншим гідратом форми A і є метастабільною високотемпературною формою.

Форма L

Ця форма спостерігається тільки при нагріванні дигідрату; форма A. В дослідженнях дифракції рентгенівських променів на порошок із різними температурами (РТ-ПДРП), нова порошкова рентгенограма з'являється, коли форму A нагрівають до приблизно 90°C. Нова форма, позначена як форма L, є менш гідратованою ніж форма A, оскільки форма A втрачає приблизно 2,5ваг.% при

90°C за ТГА, і таким чином відповідає перетворенню у моногідрат. Форма L швидко повертається до форми A, коли її охолодити до кімнатної температури.

Форма M

Виділена з суспензії ізопропанол/вода, форма M включає як воду, так і ізопропанол. Її крива ПДРП і спектр тТЯМР є дуже подібною до даних ізоморфів Родини I, вказуючи, що вона належить до Родини I. За аналогією до відомих кристалічних структур ізоморфів Родини I, структура монокристалу форми M буде моногідрат/гемі-ізопропанолом. Температура дегідратації/десольватації форми M становить приблизно 115-125°C.

Форму M можна одержати розчиненням азитроміцину в 2-3 об'ємах ізопропанолу (IPA) при 40-50°C. Розчин охолоджують нижче 15°C, переважно нижче 10°C, більш переважно приблизно до 5°C і додають 2-4 об'єми холодної води приблизно 5°C для утворення осаду. Може бути додана кристалічна затравка форми M для стимулювання кристалізації. Суспензію перемішують менше ніж приблизно 5 годин, переважно менше ніж приблизно 3 години, більш переважно менше ніж приблизно 1 годину і найбільш переважно приблизно 30 хвилин або менше і тверду речовину збирають фільтруванням. Тверду речовину можна ресуспендувати у ізопропанолі. Ця методика забезпечує форму M, по суті, вільну від дигідрату азитроміцину.

Форма N

Виділені з суспензії вода/етанол/ізопропанол форми A, кристали форми N можуть містити різні кількості кристалізованих розчинників і води. Вміст води змінюється від приблизно 3,4 до приблизно 5,3ваг.%. Аналіз за допомогою ГХ Headspace вказує на змінюваність вмісту етанолу і ізопропанолу. Загальний вміст розчинників у зразках форми N зазвичай нижче ніж приблизно 5%, в залежності від умов одержання і висушування. Крива ПДРП форми N є подібною до кривих ізоморфів форм F, G, H, J і M Родини I. Ендотерма(и) дегідратації/десольватації зразків форми N може бути ширкою і може змінюватись в межах 110-130°C.

Форму N азитроміцину можна одержати шляхом перекристалізації азитроміцину з суміші кристалічного азитроміцину і включених у решітку органічних розчинників і води, таких як етанол, ізопропанол, н-пропанол, ацетон, ацетонітрил і т.і. Суміш розчинників нагрівають до 45-60°C і додають азитроміцин до нагрітої суміші розчинників, загалом приблизно до 4 об'ємів. Після розчинення, додають 1-3 об'єми води при постійному перемішуванні при 45-60°C. Форма N азитроміцину висихується як біла тверда речовина. Суспензію залишають охолоджуватись до кімнатної температури при перемішуванні. Тверду форму N азитроміцину виділяють фільтруванням і висушуванням.

Форма O

Ця кристалічна форма є гемігідратом гемі-н-бутанолового сольвату вільної основи азитроміцину, що визначено з даних структури монокристалу (Таблиця 8A). Її було виділено з н-бутанольного розчину азитроміцину з дифузії нерозчинника. Кристалічна структура форми O є ізоморфною до

кристалічних форм Родини І.

Азитроміцин повністю розчиняли в н-бутанолі. Додавали нерозчинник, такий як гексан, вода, ІРЕ або інші нерозчинники, викликаючи дифузійне осадження Форми О.

Форма Р

Ця форма, як припускають, є гемідратом гемі-н-пентанолового сольвату вільної основи азитроміцину. Її було виділено з н-пентанольного розчину азитроміцину з дифузією нерозчинника. Кристалічна структура форми Р є ізоморфною до кристалічних форм Родини І.

Форму Р азитроміцину можна одержати наступним чином: Азитроміцин повністю розчиняють в н-пентанолі; додають нерозчинник, такий як гексан, вода, ізопропіловий етер (ІРЕ) або інший нерозчинник, викликаючи дифузійне осадження Форми Р.

Форма Q

Кристалічна форма Q має унікальну порошкову рентгенограму. Вона містить приблизно 4% води і приблизно 4,5% ТГФ, і є гідратом гемі ТГФ сольвату. Основні процеси дегідратації/десольватації відбуваються при температурі від приблизно 80 до приблизно 110°C.

Дигідрат азитроміцину розчиняли в 6 об'ємах ТГФ і додавали 2 об'єми води. Розчин випарювали до суха при нормальних умовах що забезпечувало кристалізацію Форми Q.

Форма R

Цю кристалічну форму одержують додаючи аморфний азитроміцин до 2,5 об'ємів трет-бутилметилового етеру (МТВЕ). Одержану мутно-білу суспензію перемішують 3 дні при нормальних умовах. Тверду речовину збирають вакуумним фільтруванням і висушуванням на повітрі. Одержана форма R азитроміцину має теоретичний вміст води 2,1ваг.% і теоретичний вміст метилрет-бутилового етеру 10,3ваг.%.

Завдяки подібності їх структур, ізоморфи мають схильність до утворення сумішей з форм родини, іноді використовується термін "змішані кристали" або "кристалічний розчин". Форма N є таким кристалічним розчином і як було встановлено за допомогою визначення вмісту розчинників і даних твердотілого ЯМР є сумішшю ізоморфіє Родини І.

Ізоморфи І Родини І, і Родини ІІ є гідратами і/або сольватами азитроміцину. Молекули розчинника у впадинах мають тенденцію змінюватись за особливих умов з одного на інший. Таким чином, вміст розчинник/вода в ізоморфах може змінюватись до деякої міри.

Кристалічна форма ізоморфної Родини І є більш стабільними ніж форма А, коли піддається нагріванню. Форми F, G, H, J, M і N мають вищі температури початку дегідратації при 110-125°C, ніж форма А з початком температури дегідратації при температурі від приблизно 90 до приблизно 110°C і одночасно зазнає твердофазного переходу у форму L приблизно при 90°C.

Аморфний азитроміцин

Всі кристалічна форма азитроміцину містять воду або розчинник(и) або і воду, і розчинник(и). Коли воду і розчинник(и) видалити з кристалічної речовини, азитроміцин стає аморфним. Аморфні

речовини мають перевагу, що полягає у високій початковій швидкості розчинення.

Вихідним матеріалом для синтезу різних кристалічних форм прикладів приведених нижче був дигідрат азитроміцину, якщо не вказано інше. Можуть бути використані інші форми азитроміцину, такі як аморфний азитроміцин або інші недигідратні кристалічна форма азитроміцину.

Приклади

Приклад 1: Одержання Форми D

Форму D одержували суспендуванням дигідрату азитроміцину в циклогексані протягом 2-4 днів при підвищеній температурі, наприклад 25-50°C. Кристалічну тверду речовину форми D збирали фільтруванням і сушили.

Приклад 2: Одержання Форми F

2А. Дигідрат азитроміцину повільно додавали до одного об'єму нагрітого етанолу, приблизно 70°C, і перемішували до повного розчинення при 65-70°C. Розчин залишали для повільного охолодження до 2-5°C і додавали один об'єм охолодженої води. Кристалічну тверду речовину швидко збирали (переважно менше ніж 30 хвилин), після додавання води, за допомогою вакуумного фільтрування.

2Б. Дигідрат азитроміцину повільно додавали до одного об'єму нагрітого етанолу, приблизно 70°C, і перемішували до повного розчинення при 65-70°C. Розчин залишали для повільного охолодження до 2-5°C і об'єм етанолу зменшували вакуумною перегонкою. Для полегшення кристалізації може бути введена затравка Форми F 1-2ваг.%. Після перемішування до 2 годин кристалічні тверді речовини збирали за допомогою вакуумного фільтрування. Виділені кристали давали, по суті, чисту форму F азитроміцину, форму F азитроміцину, по суті, вільну від форми G азитроміцину і форму F азитроміцину, по суті, вільну від дигідрату азитроміцину.

Приклад 3: Одержання Форми G

У реакційну колбу завантажували форму А азитроміцину. В окремій колбі, змішували 1,5 об'ємів метанолу і 1,5 об'ємів води. Суміш розчинників додавали до реакційної колби, що містить форму А азитроміцину. Суспензію перемішували при нагріванні 50°C протягом приблизно 5 годин. Нагрівання припиняли і суспензію залишали охолоджуватись при перемішуванні до кімнатної температури. Форму G азитроміцину збирали фільтруванням і залишали висихати на повітрі протягом приблизно 30 хвилин. Зібрану форму G азитроміцину потім сушили у вакуумній печі при 45°C. Ця методика давала, по суті, чисту форму G азитроміцину, і форму G азитроміцину, по суті, вільну від дигідрату азитроміцину.

Приклад 4: Одержання Форми J

Форму J одержували розчиненням азитроміцину в 4 об'ємах н-пропанолу при температурі приблизно 25°C. Додавали воду (6,7 об'ємів) і суспензію постійно перемішували протягом 1 години, після чого охолоджували до приблизно 0°C. Тверду форму J азитроміцину збирали фільтруванням і сушили.

Приклад 5: Одержання Форми M, по суті, вільної від дигідрату азитроміцину

5А. Дигідрат азитроміцину повільно розчиняли

в 2 об'ємах гарячого ізопропанолу 40-50°C. Для сприяння кристалізації можна, необов'язково, додати затравку форми М. Потім розчин охолоджували до 0-5°C і додавали 4 об'єми охолодженої води як нерозчинника і тверду речовину збирали фільтруванням у вакуумі. Тверду речовину ресуспендували в 1 об'ємі ізопропанолу протягом 3-5 годин при 40-45°C і потім охолоджували до 0-5°C. Кристалічну тверду речовину швидко збирали (приблизно 15 хвилин) після додавання води за допомогою вакуумного фільтрування. Тверду речовину ресуспендували в 0,5-1 об'ємах ізопропанолу при 25-40°C і охолоджували до приблизно 5°C після чого фільтрували одержуючи тверду форму М.

5Б: Азитроміцину дигідрат (1940 грам) повністю розчиняли в 2 об'ємах гарячого ізопропанолу (45°C). Одержаний прозорий розчин фільтрували крізь лінійний 0,2 фільтр в чисту колбу. Температуру підтримували в межах 45°C і до розчину додавали кристали форми М. Протягом 8 хвилин додавали 7,8л гарячої води. Розчин охолоджували до 5°C і утворювалась тонка суспензія. Тверді речовини виділяли за допомогою вакуумного фільтрування і переносили у чисту колбу. Кристалічний азитроміцин суспендували в 1 об'ємі ізопропанолу при нагріванні до 35°C. Потім суспензію охолоджували до 5°C протягом 30 хвилин і твердий кристалічний матеріал відфільтровували.

Ці методики дають, по суті, чисту форму М азитроміцину, форму М азитроміцину, по суті, вільну від форми G азитроміцину і форму М азитроміцину, по суті, вільну від дигідрату азитроміцину.

Приклад 6: Одержання форми N

Два об'єми етанолу і 2 об'єми ізопропанолу додавали до реакційної колби і нагрівали до 50°C. При перемішуванні до нагрітої суміші етанол/ізопропанол додавали форму А азитроміцину одержуючи прозорий розчин. У реакційну колбу завантажували 2 об'єми дистильованої води (кімнатна температура). Перемішування продовжували при 50°C і тверда форма N азитроміцину випадала через приблизно 1 годину. Нагрівання завершували через 5 годин після додавання води. Суспензію залишали охолоджуватись до кімнатної температури. Осаджену форму N азитроміцину збирали фільтруванням і сушили протягом 4 годин у вакуумній печі при 45°C.

Приклад 7: Одержання аморфного азитроміцину

Кристалічну форму А азитроміцину нагрівали при 110-120°C у вакуумній печі протягом ночі. Аморфну тверду речовину збирали і зберігали з десикантом як необхідно.

Приклад 8: Одержання форми H

Дигідрат азитроміцину або інші кристалічна форма розчиняли в 6 об'ємах пропіленгліколю. До одержаного пропіленгліколевого розчину азитроміцину додавали 2 об'єми води і утворювався осад. Суспензію перемішували протягом 24 години і тверді речовини відфільтровували і сушили на повітрі при кімнатній температурі одержуючи кристалічну форму H.

Приклад 9: Одержання форми Q

Кристалічний порошок одержували розчиненням 500мг азитроміцину Форма А в 2мл ТГФ. До прозорого безбарвного розчину при кімнатній температурі додавали 1мл води. Коли розчин став мутним додавали ще 1мл ТГФ до повного розчинення азитроміцину і розчин перемішували при кімнатній температурі. Розчинник залишали випаровуватись на 7 днів, після чого сухі тверді речовини збирали і аналізували.

Приклад 10: Порошкова дифрактограма

Порошкові дифрактограми знімали використовуючи дифрактометр Bruker D5000 (Madison, Wis.) споряджений мідним джерелом випромінювання, з фіксованими щілинами (1,0, 1,0, 0,6мм), і твердотільним детектором Кевекс. Дані знімали від 3,0 до 40,0 градусів в 2 тета з розміром кроку 0,04 градусів і часом кроку 1,0 секунд. Результати зведені в Таблиці 9.

Експериментальна крива ПДРП азитроміцину форми А приведена на Фіг.2.

Експериментальна крива ПДРП азитроміцину форми D приведена на Фіг.6.

Експериментальна крива ПДРП азитроміцину форми F приведена на Фіг.10.

Експериментальна крива ПДРП азитроміцину форми G приведена на Фіг.13.

Експериментальна крива ПДРП азитроміцину форми J приведена на Фіг.16.

Експериментальна крива ПДРП азитроміцину форми M приведена на Фіг.18.

Експериментальна крива ПДРП азитроміцину форми N приведена на Фіг.19.

Експериментальна крива ПДРП аморфного азитроміцину приведена на Фіг.20.

Експериментальна крива ПДРП азитроміцину форми Q приведена на Фіг.30.

Експериментальна крива ПДРП азитроміцину форми R приведена на Фіг.31.

Експериментальні коливання значень від зразка до зразка становлять приблизно $\pm 0,2^\circ$ в 2 тета і ті ж самі зміни спостерігаються між розрахованою кривою з структури монокристалу і експериментальними даними. Детальний аналіз показав, що ізоморфи в Родині I можуть бути розпізнані за допомогою ПДРП за розташуванням характеристичних піків приведених в Таблиці 9.

Таблиця 9

Піки в 2-тета $\pm 0,2^\circ$ порошкової дифрактограми азитроміцину

A	D	F	G	J	M	N	Q
7,2	3,9	5,7	5,0	5,0	5,0	6,2	5,7
7,9	7,3	6,2	5,8	5,7	5,6	7,3	6,1
9,3	7,7	7,4	6,2	6,2	6,2	7,8	6,8
9,9	10,1	7,8	7,4	7,3	7,3	9,8	8,4
11,2	10,6	8,9	7,9	7,8	7,8	11,2	9,5
12,0	11,5	9,8	9,8	8,2	8,2	11,9	10,6
12,7	12,3	10,3	10,2	9,7	9,8	12,5	11,2

Продовження таблиці 9

13,0	12,8	11,2	10,8	10,3	10,2	14,0	11,5
14,0	13,6	11,5	11,2	11,2	11,2	14,3	12,4
15,6	14,5	11,9	11,6	11,4	11,9	14,7	12,7
16,0	15,4	12,2	12,0	11,9	12,2	15,3	13,4
16,4	15,6	12,5	12,5	12,3	12,5	15,7	13,6
16,8	16,9	13,9	13,3	12,5	14,0	16,1	14,1
17,5	18,3	14,3	14,0	13,9	14,6	16,6	14,4
18,2	19,0	14,7	14,4	14,2	15,3	17,1	14,9
18,7	19,9	14,8	14,6	14,6	15,9	17,4	16,3
19,1	20,8	15,3	14,9	15,3	16,6	18,5	17,2
19,8	21,4	15,7	15,3	15,7	17,7	19,0	18,2
20,5	21,6	16,2	15,7	16,0	17,5	19,6	19,0
20,9	22,0	16,6	16,3	16,6	18,4	20,0	19,5
21,2	23,0	17,1	16,6	17,0	18,5	20,4	19,8
21,6	23,3	17,2	17,2	17,2	19,1	21,0	20,2
21,8		17,7	17,4	17,5	19,6	21,8	20,5
24,0		18,0	17,8	18,1	20,0	22,5	21,1
		18,5	18,1	18,5	20,4	23,5	21,6
		19,0	18,6	19,0	20,9		21,9
		19,6	19,0	19,7	21,7		22,2
		20,0	19,6	20,0	22,5		23,6
		20,5	20,0	20,4	23,2		25,1
		21,0	20,5	20,9	23,6		
		21,7	21,1	21,7			
		22,0	21,8	22,4			
		22,4	22,5	22,6			
		22,6	23,5	23,3			
		23,1		23,5			
		23,5					
A	D	F	G	J	M	N	Q

Підкреслені піки є характеристичними піками форм A, D, Родини I і Q.

Значення написані курсивом і підкреслені є положеннями піків, що є характеристичними для ізоморфів Родини I.

Ізоморфи Родини I мають наступні загальні характеристичні піки: дифракційні піки при 6,2, 11,2, 21,0±0,1 і 22,5±0,1° в 2-тета. Кожен ізоморф має характерний набір розташування дифракційних піків приведених далі і кожен набір має характеристичні відстані між піками.

Приведені розташування дифракційних піків вірні в межах ±0,2 градусів 2-тета.

Характеристична крива ПДРП форми A показаний на Фіг.2. Форма A має піки при 9,3, 13,0 і 18,7 градусах 2-тета.

Характеристична крива ПДРП форми D показана на Фіг.6. Форма D має піки при 3,9, 10,1, 10,6 і 21,4 градусів 2-тета.

Характеристична крива ПДРП форми F показана на Фіг.10. Форма F має характеристичні піки Родини I і три набори піків, набір 1 при 2-тета 11,2 і 11,5; набір 2 при 2-тета 13,9, 14,3, 14,7 і 14,8; набір 3 при 2-тета 16,2, 16,6, 17,1, 17,2 і 17,7.

Характеристична крива ПДРП форми G показана на Фіг.13. Форма G має характеристичні піки Родини I і три набори піків, набір 1 при 2-тета 11,2 і 11,6 2; набір 2 при 2-тета 14,0, 14,4, 14,6 і 14,9; набір 3 при 2-тета 16,3, 16,6, 17,2, 17,4 і 17,8.

Характеристична крива ПДРП форми J показана на Фіг.16. Форма J має характеристичні піки Родини I і три набори піків, набір 1 при 2-тета 11,2 і 11,4; набір 2 при 2-тета 13,9, 14,2 і 14,6; набір 3 при 2-тета 16,0, 16,6, 17,0, 17,2 і 17,5.

Характеристична крива ПДРП форми M показана на Фіг.18. Форма M має характеристичні піки Родини I і три набори піків, набір 1 при 2-тета 11,2; набір 2 при 2-тета 14,0 і 14,6; набір 3 при 2-тета 15,9, 16,6, 17,1 і 17,5.

Характеристична крива ПДРП форми N показана на Фіг.10. Форма N має характеристичні піки Родини I. Набори піків форми N є подібними наборам форм F, G, J і M, набір 1 при 2-тета 11,2-11,6; набір 2 при 2-тета 13,9 - 15,0; і набір 3 при 2-тета 15,9 - 17,9, де піки можуть незначно змінюватись у розташуванні, інтенсивності і ширині завдяки присутності в суміші різних співвідношень ізоморфів Родини I.

Характеристична крива ПДРП форми Q показана на Фіг.30. Форма Q має піки при 2-тета 6,8, 8,4 і 20,2 градуси.

Характеристична крива ПДРП форми R показана на Фіг.31.

Приклад 11: Рентгеноструктурний аналіз монокристалу

Дані знімали при кімнатній температурі використовуючи рентгенодифрактометри Bruker споряджені мідним джерелом випромінювання і графітовими монохроматорами. Структури встановлювали використовуючи безпосередні методи. Комп'ютерна бібліотека SHELXTL, що поставляється Bruker AXS, Inc, полегшує всі необхідні кристалографічні розрахунки і молекулярні відбитки (SHELXTL™ Reference Manual, Version 5/1, Bruker AXS, Madison, Wis., U.S.A. (1997)).

Приклад 12: Розрахована крива ПДРП з даних для монокристалу Порівнюючи результати для монокристалу і порошкового зразку, можна одержати розраховану порошкову дифрактограму з результатів для монокристалу. Комп'ютерні програми XFOG і XPOW, що складають частину комп'ютерної бібліотеки SHELXTL, використовували для полегшення цих розрахунків. Порівняння роз-

рахованої дифрактограми з експериментальною кривою підтверджує, що порошковий зразок відповідає структурі монокристалу (Таблиця 9А). Цю процедуру проводили для кристалічних форм азитроміцину А, D, F, G, і J.

Розрахована крива ПДРП азитроміцину форми А приведена на Фіг.1.

Розрахована крива ПДРП азитроміцину форми D приведена на Фіг.5.

Розрахована крива ПДРП азитроміцину форми F приведена на Фіг.9.

Розрахована крива ПДРП азитроміцину форми

G приведена на Фіг.12.

Розрахована крива ПДРП азитроміцину форми J приведена на Фіг.15.

Результати накладення порошкових рентгенограм форм А, D, F, G і J приведені на Фіг.3, 7, 11, 14 і 17, відповідно. Нижні криві відповідають розрахованим порошковим рентгенограмам (з результатів для монокристалу) і верхня крива відповідає характеристичній експериментальній порошковій рентгенограмі. Порівняння двох кривих вказує на узгоджуваність між порошковим зразком і структурою монокристалу.

Таблиця 9А

Розраховані і експериментальні піки ПДРП ізоморфів Родина І

F розрахована	F експериментальна	G розрахована	G експериментальна	J розрахована	J експериментальна	M експериментальна
		5,2	5,0			
		5,7	5,8	5,8	5,7	5,6
6,3	6,2	6,2	6,2	6,3	6,2	6,2
7,4	7,4	7,5	7,4	7,4	7,3	7,3
7,9	7,8	7,9	7,9	7,9	7,8	7,8
8,8	8,9	8,9	9,3	8,3	8,2	8,2
9,9	9,8	9,9	9,9	9,8	9,7	9,8
10,3	10,3		10,2	10,4	10,3	10,2
10,9		10,9	10,8			
11,3	11,2	11,3	11,2	11,2	11,2	11,2
11,5	11,4	11,6	11,6	11,4	11,4	відсутній
12,0	11,9	12,0	11,9	12,0	11,9	11,9
12,3	12,2	12,3		12,3	12,3	12,2
12,6	12,5	12,5	12,5	12,6	12,5	12,5
14,0	14,0	13,4	13,3	14,0	13,9	14,0
14,3	14,3	14,1	14,0	14,2	14,2	відсутній
14,4	14,4					
14,7	14,7	14,7	14,6	14,7	14,6	14,6
14,9	14,8	14,9	14,9	14,8		
15,4	15,3	15,4	15,3	15,3	15,3	15,3
15,8	15,7	15,7	15,7	15,8	15,7	15,9
16,2	16,2	16,3	16,3	16,0	16,0	відсутній
16,6	16,6	16,6	16,6	16,7	16,6	16,6
17,1	17,2	17,1		17,1	17,0	17,1
17,3	17,3	17,3	17,2	17,4	17,2	відсутній
17,5	17,4	17,5	17,4	17,6	17,5	17,5
17,7	17,7	17,9	17,8	17,9		
18,0	18,0	18,1	18,1	18,2	18,1	18,4
18,6	18,5	18,7	18,7	18,5	18,5	18,5
19,1	19,0	19,1	19,0	19,1	19,0	19,1
19,7	19,6	19,6	19,6	19,8	19,7	19,6
20,0	20,0	20,0	20,0	20,1	20,0	20,0
20,5	20,4	20,6	20,5	20,5	20,4	20,4
21,1	21,0	21,2	21,0	20,8	20,9	20,9
21,8	21,7		21,6	21,6	21,7	21,7
22,1	22,0	21,8	21,8	21,8		
22,5	22,4	22,3	22,2	22,5	22,4	22,5
22,7	22,6	22,5	22,5	22,8	22,6	
23,1	23,1	22,9		23,4	23,3	23,2
23,6	23,5	23,5	23,5	23,7	23,5	23,6

Приклад 13: Твердотільний ЯМР аналіз

Твердотільний ЯМР аналіз

Всі твердотільні ЯМР спектри ^{13}C знімали на 11,75 Т спектрометрі (Bruker Biospin, inc., Bitterica, Mass.), з частотою 125MHz ^{13}C . Спектри знімали використовуючи зонд з крос-поляризаційним обертанням під магнічним кутом (КПОМК) при кімнатній температурі і тиску. В залежності від кількості зразку, що аналізується, використовували зонди 7мм BL або 4мм BL Bruker, що вміщують 300мг і 75мг зразка з максимальною швидкістю 7кГц і 15кГц, відповідно. Дані обробляли використовуючи експоненціальну криву з функцією розширення 5,0Гц. Протонну розв'язку проводили при 65кГц і 100кГц

використовуючи 7мм і 4мм зонди, відповідно. Достатню кількість даних усереднювали одержуючи адекватні співвідношення сигнал-до-шуму для всіх піків. Зазвичай, проводять 600 сканувань з повторною затримкою 3,0с (секунд), що відповідає приблизно 30 хвилинам зняття даних. Магічний кут задавали використовуючи порошок KBr згідно з стандартною практикою ЯМР. Спектр виражали відносно або сигналу метилу гексаметилбензолу (ГМБ) при 17,3м.ч., або відносно адамантану (АДМ) при 29,5м.ч.. Спектр відносно ГМБ має хімічні зсуви всіх піків зсунуті вниз на 0,08м.ч. відносно того ж самого спектру відносно АДМ. Спектральне вікно мінімально включає спектральну

область від 190 до 0м.ч.. Результати зведені в Таблиці 10. тт-ЯМР спектр для форм М, Н і R знімали відносно ADM. "Тт-ЯМР спектри для форм А,

D, G, F, J і N знімали відносно ГМБ. Форми Н і R обертали із швидкістю 15кГц.

Таблиця 10

¹³C тт-ЯМР хімічні зсуви азитроміцину (±0,2м.ч.)

A	D	G	F	J	M	N	H	R
178,1	178,1	179,5*	179,5	179,6	179,6	179,6	179,5	177,9
104,1	103,9	105,5	178,6	178,4	105,6	178,7	178,7	104,3
98,4	95,1	103,5	105,5	105,5	103,4	105,6	105,4	103,6
84,6	84,2	95,0	103,4	103,4	94,9	103,6	103,2	95,3
82,6	79,4	86,2	94,9	95,0	86,7	95,0	95,0	85,4
79,3	78,9	83,1	86,4	86,4	82,9	86,5	86,4	84,0
78,3	75,7	78,9	83,0	82,9	79,3	83,1	82,7	79,4
75,6	74,6	78,2	79,1	79,2	78,1	79,0	79,2	79,0
74,7	74,0	77,6	78,1	78,1	77,0	77,9	78,3	75,6
73,9	72,9	76,4	77,9	76,8	76,7	76,5	78,0	74,5
73,5	71,9	75,7	76,5	76,2	74,7	74,8	76,4	73,9
70,8	71,0	74,7	74,7	74,7	74,2	74,2	74,7	73,9
68,0	69,4	74,3	74,1	74,1**	71,3	73,6	74,1	72,9
66,2	67,8	73,5	73,5	72,0	69,2	71,5	73,5	71,8
63,8	65,7	71,3	71,4	71,3	68,6	69,2	73,1	71,0
63,2	64,7	69,1	69,1	69,2	67,3	68,7	71,2	69,1
52,2	49,2	68,8	68,6	68,6	66,2	67,3	69,1	67,5
44,3	45,8	67,4	67,3	67,3**	65,5	66,2	68,4	65,6
42,6	43,1	65,9	66,1	66,2**	63,8	65,7	67,3	64,5
41,7	40,6	65,2	65,6	65,5**	63,3	63,7	66,9	49,4
39,1	37,1	64,0	63,6	63,7	50,0	58,1	66,1	45,7
35,4	36,4	63,3	58,0	50,0	47,1	50,1	65,5*	42,9
34,6	29,6	50,0	50,0	46,9	45,9	47,1	63,7*	41,6
26,9	29,3	46,9	47,0	45,9	44,7	46,0	49,3	40,4
26,3	28,0	46,0	45,9	44,7	43,8	44,8	46,8	37,0
23,7	27,7	44,5	44,7	43,7	41,9	43,8	45,9	36,2
23,3	22,1	43,7	43,7	41,6	41,1	41,5	44,5	29,4
21,7	21,1	41,5	41,5	41,0	37,4	41,1	43,8*	29,0
19,5	18,6	40,8	41,1	37,1	36,2	37,3	41,7	28,2
17,5	16,7	37,5	37,3	36,5**	33,6	36,5	40,9	27,4
15,9	16,1	36,5	36,4	35,4**	30,1	33,7	37,1	21,4
13,2	10,6	33,6	33,6	33,5	28,1	30,4	36,3	20,8
11,3	9,0	30,0	30,3	30,4	27,2	28,1	33,7	18,7
7,2	8,6	27,9	28,0	28,0	26,0	27,2	33,3	16,5
		27,3	27,1	27,1	23,2	26,0	30,5*	16,1
		23,1	23,2	25,2	22,8	23,2	27,9	15,7
		22,5	22,6	23,2	22,5	22,6	27,1	10,3
		21,9	21,9	22,5**	21,8	22,0	23,1	9,6
		20,9	20,8	21,9**	20,2	20,8	22,6	8,9
-		20,2	20,4	20,7	18,9	19,0	22,3	8,6
		18,8	18,9	18,9	17,4	16,9	21,9	
		17,0	16,8	16,8	16,3	15,8	20,7	
		16,0	17,2	15,6**	15,5	12,2	20,3	
		12,2	15,7	12,1	12,1	9,9	18,8	
		10,4	12,2	11,5	10,3	9,4	17,1	
		9,9	10,1	12,1	9,6	7,9	16,6	
		9,3	9,8	10,0	9,3	6,6	15,8	
		7,6	9,3	9,3	7,7		15,4	
		6,5	7,9	8,1	7,1		12,0	
			6,6	6,8**			9,9	
							9,1	
							7,9	
							7,0	

Підкреслені значення хімічних зсувів є піками або наборами піків характерними для кожної форми. Значення хімічних зсувів приведені курсивом є піками розчинника, що може бути широким і змінюються (±0,4м.ч.). Хімічні зсуви позначені однією зірочкою можуть показувати розщеплення <0,3м.ч.. Хімічні зсуви позначені двома зірочками можуть змінювати положення в межах ±0,3м.ч..

Приведені хімічні зсуви вірні в межах ±0,2м.ч., якщо не вказано інше. Характеристичний ¹³C ттЯМР спектр форми А показаний на Фіг.21. Форма А має піки при 178,1м.ч., і піки при 104,1, 98,4, 84,6,26,9, 13,2, 11,3 і 7,2м.ч..

Характеристичний ¹³C ттЯМР спектр форми D показаний на Фіг.22. Форма D має найвищий пік з хімічним зсувом при 178,1м.ч. і піки з хімічними зсувами 103,9, 95,1, 84,2, 10,6, 9,0 і 8,6м.ч..

Характеристичний ¹³C ттЯМР спектр форми F показаний на Фіг.23. Форма F має два хімічні піки з хімічними зсувами приблизно при 179,1±2м.ч., 179,5м.ч. і 178,6м.ч., і набір з 5 піків при 10,1, 9,8, 9,3, 7,9, і 6,6м.ч., і піки етанолу при 58,0±0,5м.ч. і 17,2±0,5м.ч.. Піки розчинника можуть бути широкими і мати відносно слабку інтенсивність.

Характеристичний ¹³C ттЯМР спектр форми G показаний на Фіг.24. Форма G має найвищий пік з

хімічним зсувом при 179,5м.ч., окремий пік з можливим розщепленням <0,3м.ч. і набір з 5 піків при 10,4, 9,9, 9,3, 7,6, 6,5м.ч..

Характеристичний ^{13}C тТЯМР спектр форми J показаний на Фіг.25. Форма J має два хімічні піки з хімічними зсувами приблизно при 179,1±2м.ч., 179,6м.ч. і 178,4м.ч., набір з 4 піки при 10,0, 9,3, 8,1 і 6,8м.ч. і піки н-пропанолу при 11,5±0,5м.ч. і 25,2±0,5м.ч.. Пік розчинника може бути широким і мати відносно слабку інтенсивність.

Характеристичний ^{13}C тТЯМР спектр форми M показаний на Фіг.26. Форма M має один пік з хімічним зсувом при 179±1м.ч., 179,6м.ч., піки при 41,9, і 16,3м.ч., набір з 5 піки при 10,3, 9,6, 9,3, 7,7 і 7,1м.ч. і пік ізопропанолу при 26,0±0,5м.ч.. Пік розчинника може бути широким і мати відносно слабку інтенсивність.

Характеристичний ^{13}C тТЯМР спектр форми N показаний на Фіг.27. Форма N має хімічні зсуви як комбінацію ізоморфів Родини I. Піки можуть піки можуть незначно змінюватись у розташуванні, інтенсивності і ширині завдяки присутності різних співвідношень ізоморфів, що містить кристалічний розчин форми N.

Характеристичний ^{13}C тТЯМР спектр аморфної форми показаний на Фіг.28. Аморфний азитроміцин має широкі хімічні зсуви. Характеристичні хімічні зсуви мають піки в положеннях 179 і 11±0,5м.ч..

тТЯМР піки, що спостерігаються, форм A, D, F, G, H, J, M, N і R азитроміцину приведені на Таблиці 10.

Приклад 14: ЯМР аналіз дозованої форми

Для демонстрації придатності ^{13}C тТЯМР для ідентифікування форми азитроміцину, що входить до складу фармацевтичної дозованої форми, одержували і аналізували за допомогою ^{13}C тТЯМР таблетки азитроміцину з покриттям, що містить форму G азитроміцину. Таблетки одержували вологим гранулюванням і таблетували на F-Press (Manesty, Liverpool, UK) використовуючи 0,262"×0,531" форму. Таблетки формували і таблетки містили 250мг форми G азитроміцину з загальною вагою 450мг використовуючи формулу приведену нижче. Таблетки рівномірно покривали рожевим Опадрі II® (суміш моногідрату лактози, гідроксипропілцелюлози, діоксиду титану, червоний Drug & Cosmetic #30 і триацетин) (Colorcon, West Point, Pa.).

Матеріал	Відсоток	Об'єм (г)
Азитроміцин, форма "G"	58,23	174,69
Попередньо желатинізований кукурудзяний крохмаль	6,00	18,00
Безводний дикальцій фосфат	30,85	92,55
Натрій кроскармелоза	2,00	6,00
Стеарат магнію з 10% лаурилсульфату натрію	2,92	8,76
Загалом	100,00	300,00

Таблетку з покриттям обережно подрібнювали і порошковий зразок запаковували з використанням пакувального пристрою у твердотільний ротор, що не містить домішок ^{13}C . Аналіз зразку проводили за умов приведених в Прикладі 13.

Характеристичний ^{13}C тТЯМР спектр таблетки, що містить форму G азитроміцину приведений на Фіг.29.

Приклад 15: Протимікробна активність

Активність кристалічних форм представленого винаходу проти бактеріальних і протозойних патогенів демонструється здатністю сполук інгібувати ріст згаданих штамів патогенів у людей (Дослідження I) або тварин (Дослідження II і III).

Дослідження I

В Дослідженні I, що описується нижче, використовували стандартну методологію і критерії інтерпретації, що розроблені для забезпечення безпосередньої хімічної модифікації, що можуть вести до одержання сполук, які обходять деякі механізми опору макролідам. У Дослідженні I, в перелік бактеріальних штамів були включені різноманітні цільові патогенні види, включаючи представників макролідних механізмів опору, що були охарактеризовані. Використання цього переліку дає можливість визначити зв'язок між хімічною структурою і активністю, спектром активності і структурним елементом або модифікацією, що може усунути механізм опору. Бактеріальні патогени, що включені в список для досліджень показані в таблиці нижче. У багатьох випадках, і макролід-сприймаємий материнський штам і макролід-стійкий штам одержаний з нього придатні для забезпечення більш точної оцінки здатності сполук обійти механізм захисту. Штами, що містять ген стійкості до макролідів, що позначається ermA/ermB/ermC, лінкозамідів і стрептограмін В антибіотиків, одержуються шляхом модифікації (метилування) 23S rPHK молекули Erm метилази, таким чином взагалі попереджаючи зв'язування всіх трьох структурних класів. Описані два типи макролідних продуктів; msrA кодує компонент системи виходу продукту в стафілококу, що перешкоджає входу макролідів і стрептограмінів, в той час як mefA/E кодує трансмембранний білок, який дозволяє входженню тільки макролідів. Інактивація макролідних антибіотиків може мати місце і може бути встановлена шляхом фосфорилуванням 2'-гідроксилу (mph) або розщепленням макроциклічного лактону (естеразою). Штами можуть бути охарактеризовані використовуючи стандартну технологію реакції ланцюгової полімерази (PCR) і/або встановленням послідовності детермінантним опором. Використана PCR технологія, що використана в цьому описі описується J.Sutcliffe et al., "Detection Of Erythromycin-Resistant Determinants By PCR", Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 40(11), 2562-2566 (1996). Дослідження проводили в мікротитрованих лотках і інтерпретували згідно Performance Standards for Antimicrobia) Disk Susceptibility Tests - Sixth Edition: Approved Standard, що опубліковано в The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) основні принципи; для того щоб порівняти штами використовувалась мінімальна концентрація інгібування (MKI). Сполуки спочатку розчиняли в диметилсульфоксиді (DMCO) з розрахунку 40мг/мл готового розчину.

Позначення штаму	Механізм(и) опору макроліду
<i>Staphylococcus aureus</i> 1116	сприйнятливий бачко
<i>Staphylococcus aureus</i> 1117	ErmB
<i>Staphylococcus aureus</i> 0052	сприйнятливий бачко
<i>Staphylococcus aureus</i> 1120	ErmC
<i>Staphylococcus aureus</i> 1032	msrA, mph, естераза
<i>Staphylococcus hemolyticus</i> 1006	msrA, mph
<i>Staphylococcus pyogenes</i> 0203	сприйнятливий бачко
<i>Staphylococcus pyogenes</i> 1079	ErmB
<i>Staphylococcus pyopenes</i> 1062	сприйнятливий бачко
<i>Staphylococcus pyogenes</i> 1061	ErmB
<i>Staphylococcus pyogenes</i> 1064	ErmB
<i>Staphylococcus agalactiae</i> 1024	сприйнятливий бачко
<i>Staphylococcus agalactiae</i> 1023	ErmB
<i>Staphylococcus pneumoniae</i> 1016	сприйнятливий
<i>Staphylococcus pneumoniae</i> 1046	ErmB
<i>Staphylococcus pneumoniae</i> 1095	ErmB
<i>Staphylococcus pneumoniae</i> 1175	MefE
<i>Staphylococcus pneumoniae</i> 0085	сприйнятливий
<i>Haemophilus influenzae</i> 0131	сприйнятливий
<i>Moraxella catarrhalis</i> 0040	сприйнятливий
<i>Moraxella catarrhalis</i> 1055	еритроміцин проміжний опір
<i>Escherichia coli</i> 0266	сприйнятливий

Дослідження II використовували для перевірки активності проти *Pasteurella multocida* і Дослідження III використовували для перевірки активності проти *Pasteurella haemolytica*.

Дослідження II

Це дослідження базується на методі рідинного розведення в мікролітрових об'ємах. Одиночку колонію *P. multocida* (штам 59A067) вводили в 5мл бульйону мізково-серцевої інфузії (ВНІ). Тестуєму сполуку одержували розчиненням 1мг сполуки в 125мкл диметилсульфоксиду (ДМСО). Розводячи тестуєму сполуку одержували придатний для використання бульйон мізково-серцевої інфузії (ВНІ). Концентрація тестуємої сполуки, що використовувалась лежала в інтервалі від 200мкг/мл до 0,098мкг/мл після двох окремих послідовних розведень. *P. multocida* вводили ВНІ розводячи з наведеним ВНІ бульйоном одержуючи 10^4 клітинну суспензію на 200мкл. ВНІ клітини суспензії змішували з відповідною серією розведення тестуємої сполуки і інкубували при температурі 37°C на протязі 18 годин. Мінімальна концентрація інгібування

(МКІ) дорівнює концентрації сполуки, що викликає 100% інгібування росту *P. multocida*, порівняно з неприцитим контрольним зразком.

Дослідження III

Це дослідження базується на методі розведення агару, використовуючи реплікатор Стірза. Від двох до п'яти колоній, що ізолювані на агарових пластинках на які прививали ВНІ бульйон і культивували на протязі ночі при температурі 37°C і струшуванні (200 обертів на хвилину). На наступний ранок 300мкл цілком розвинutoї *P. haemolytica* прекультури прививали до 3мл свіжого ВНІ бульйону і культивували при температурі 37°C і струшуванні (200 обертів на хвилину). Відповідні кількості тестуємих сполук розчиняли в етанолі і готували ряд подвійних серійних розведень. Два мл відповідного серійного розведення змішували з 18мл розплавленого ВНІ агару і давали затвердіти. Коли приви́та *P. haemolytica* культура досягала 0,5 стандарту щільності Макфарланда, приблизно 5мкл культури *P. haemolytica* прививали на ВНІ агарові пластинки, що містять різні концентрації тестуємої сполуки, використовуючи реплікатор Стірза і культивували протягом 18 годин при 37°C. Вихідні концентрації тестуємих сполук лежали в діапазоні від 100-200мкг/мл. Мінімальна концентрація інгібування (МКІ) дорівнює концентрації сполуки, що викликає 100% інгібування росту *P. haemolytica*, порівняно з неприцитим контрольним зразком.

In vivo активність сполук формули (I) може бути визначена звичайним вивченням захищеності тварин, за методиками що добре відомі для спеціалістів в цій галузі, і в яких зазвичай використовують мишей.

Мишей розділяли по клітках (10 у клітку) по мірі їх прибуття і дозволяли акліматизуватися, як мінімум 48 годин, перед використанням. Тваринам внутрішньочеревинно прививали по 0,5мл 3×10^3 CFU/мл суспензії бактерій (*P. multocida* штам 59A006). Кожний експеримент мав, принаймні, 3 контрольні групи, що не піддавались лікуванню, включаючи одну, інфіковану дозою введення 0,1X і дві інфіковані дозою введення 1X; може також використовуватись 10X група даних. Взагалі, усі миші в даному дослідженні можуть бути оскаржені в межах 30-90 хвилин, особливо, якщо використовується шприц для серійних упорскувань (типу шприц Корнуолла®, щоб керувати введенням. Починали через тридцять хвилин після введення, використовуючи першу сполуку. Могла б бути необхідна друга людина, щоб почати дозування сполуки, якщо усім тваринам не буде введена доза до 30 хвилин. Шляхи введення - підшкірне або ротове введення. Підшкірні дози вводили у вільну шкіру за горловиною, приймаючи до уваги, що ротові дози даються за допомогою голки, через яку вводили їжу. В обох випадках, використовували 0,2мл на мишу. Сполуки вводили через 30 хвилин, 4 години і 24 години після введення патогену. Контрольні сполуки з відомою ефективністю, призначали тим же самим шляхом, включаючи їх у кожний тест. За тваринами спостерігали кожний день і реєстрували кількість живих тварин, що залишились, у кожній групі. За моделлю *P. multocida* слід-

кували на протязі 96 годин (чотири дні) після введення патогену.

PD₅₀ - розрахована доза тестуємої сполуки, що 50% відсотків мишей з групи захищає від хвороби викликаной бактеріальною інфекцією, що була б смертельна у відсутності лікування.

Кристалічна форма представленого винаходу (надалі «активні(а) сполуки(а)»), можуть бути введені будь-яким шляхом - оральним, парентеральним, місцево або ректальним при лікуванні або попередженні бактеріальних або протозойних інфекцій. Загалом, ці сполуки найбільш бажано призначати у дозах в інтервалі від приблизно 0,2 мг на кг ваги тіла (мг/кг/день) до приблизно 200 мг/кг/день, в одиничній або розподіленій дозах (тобто від 1 до 4 доз на день), хоча зміни обов'язково будуть траплятися в залежності від виду, ваги та стану суб'єкту, якого лікують, та вибраного конкретного шляху призначення. Однак, найбільш бажано використовувати рівень доз, що лежить в інтервалі від приблизно 2 мг/кг/день до приблизно 50 мг/кг/день. Зміни, між тим, можуть траплятися в залежності від виду тварини, риби або птиці, яку лікують та її індивідуальної реакції на згаданий медикамент, а також від типу вибраної фармацевтичної композиції і періоду часу та інтервалу, в яких дане призначення проводять. В деяких випадках рівні доз, нижчі найнижчої межі вищезгаданого інтервалу, можуть бути більш ніж адекватними, в той час, як в інших випадках можуть бути застосовані ще вищі дози без викликання будь-якого шкідливого побічного ефекту, при умові, що такі вищі дози спочатку розподілені на декілька малих доз для призначення протягом дня.

Активна сполука може бути введена самостійно або в комбінації з фармацевтично прийнятними носіями або розріджувачами будь-яким з зазначених шляхів, і такі призначення можуть бути проведені за допомогою одноразової або багаторазових доз. Більш конкретно, активна сполука може бути введена у великій кількості різних дозованих форм, тобто вона може бути скомбінована з різними фармацевтично прийнятними носіями у формі таблеток, капсул, пігулок, пастилок, твердих льодяників, порошків, спреїв, кремів, бальзамів, супозиторіїв, желе, гелів, паст, лосьйонів, мазей, водних суспензій, розчинів для ін'єкцій, еліксирів, сиропів і т.і. Такі носії включають тверді розріджувачі або наповнювачі, стерильне водне середовище та різні нетоксичні органічні розчинники і т.д. Більш того, оральні фармацевтичні композиції можуть бути прийнятно підсолоджені і/або ароматизовані. Загалом, активна сполука даного винаходу присутня в таких дозованих формах з рівнями концентрації, що лежать в межах від приблизно 5,0 ваг.% до 70 ваг.%.

Для орального введення, таблетки, що містять різноманітні експікенти, такі як мікрокристалічна

целюлоза, цитрат натрію, карбонат кальцію, гідрофосфат кальцію та гліцин можуть бути використані разом з різноманітними дезінтегрантами, такими як крохмаль (переважно кукурудзяний, картопляний або тапіоковий крохмаль), алгінова кислота та певні комплекси силікатів, разом зі зв'язуючими гранулятами, такими як полівінілпіролідон, цукроза, желатин та акація. Додатково змашуючі агенти, такі як стеарат магнію, лаурилсульфат натрію та тальк, є часто дуже корисними для цілей таблетування. Тверді композиції подібного типу можуть також бути застосовані як наповнювач в желатинових капсулах; переважні матеріали, у цьому зв'язку, також включають лактозу або молочний цукор, а також поліетиленгліколи з великою молекулярною вагою. Коли для орального призначення бажані водні суспензії і/або еліксири, активна сполука може бути скомбінована з різноманітними підсолоджуючими або ароматизуючими агентами, забарвлюючими речовинами або барвниками і, якщо це бажано, емульсифікуючими і/або суспендуючими агентами, а також з разом з такими розбавниками, як вода, етанол, пропіленгліколь, гліцерин та різні подібні їх комбінації.

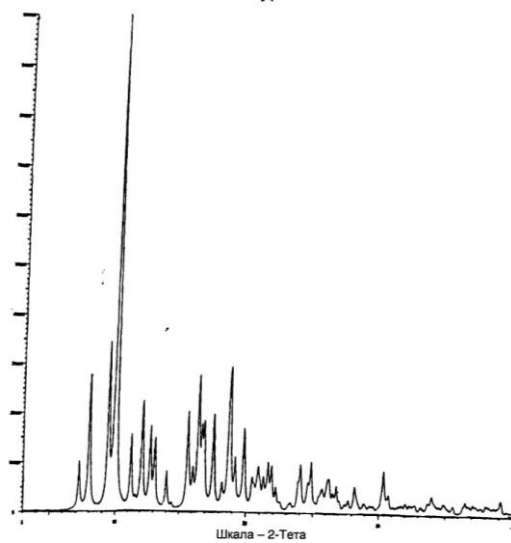
Для парентерального введення можуть бути застосовані розчини активної сполуки даного винаходу або в кунжутному, або в арахісовому маслі, або у водному пропіленгліколі. Водні розчини повинні бути придатно забуферені (переважно, рН більше, ніж 8), якщо це необхідно, і рідкий розріджувач спочатку робиться ізотонічним. Такі водні розчини придатні для призначення у вигляді внутрішньовенних ін'єкцій. Масляні розчини придатні для призначення у вигляді внутрішньосуглобових, внутрішньом'язових та підшкірних ін'єкцій. Одержання всіх цих розчинів в стерильних умовах виконується за стандартними фармацевтичними методиками, добре відомими фахівцям в даній галузі.

Крім того, також можливе введення активної сполуки даного винаходу місцево при лікуванні запальних захворювань шкіри, і це може бути зроблено шляхом застосування кремів, желе, гелів, паст, пластирів, мазей і т.і. у відповідності зі стандартною фармацевтичною практикою.

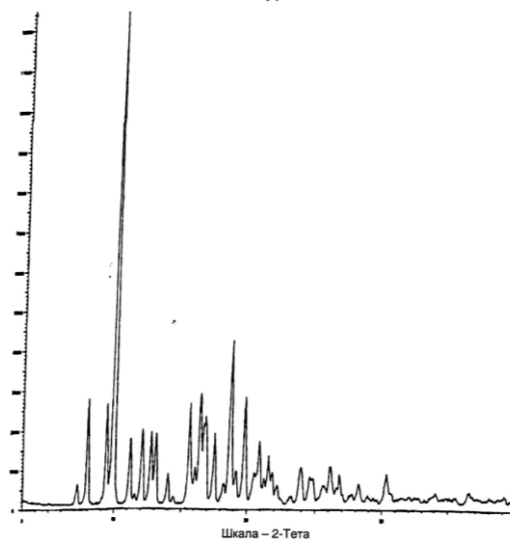
Для введення тваринам іншим ніж людина, таким як, велика рогата худоба або свійські тварини, активні сполуки можна вводити в їжу тварин або вводити орально у вигляді рідких композицій для вливання.

Активні сполуки можуть також призначатись у формі ліпосомної кормової системи, таких як, маленькі моношарові пухирці, великі моношарові пухирці і багатошарові пухирці. Ліпосоми можуть бути одержані з різноманітних фосфоліпідів, таких як, холестерол, стеариламін або фосфатидилхоліні.

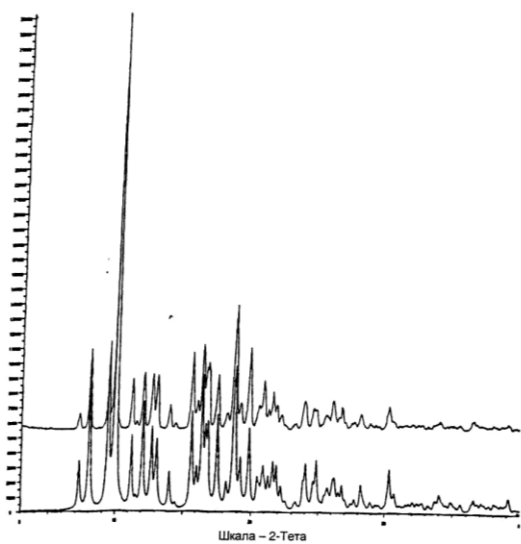
Фигура 1



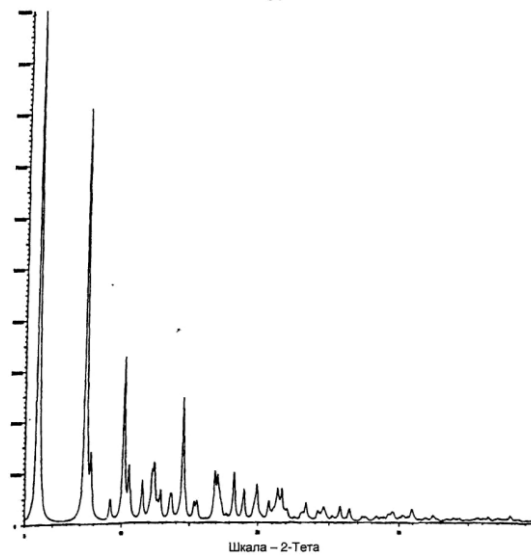
Фигура 2



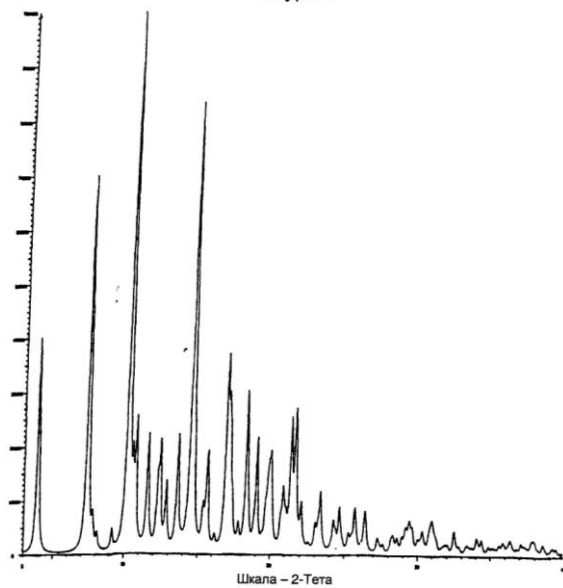
Фигура 3



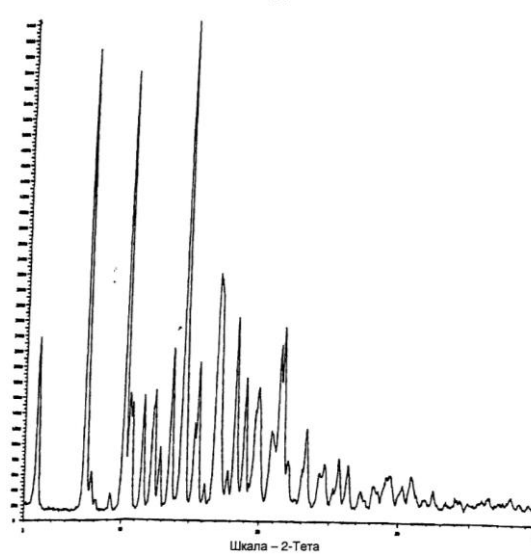
Фигура 4



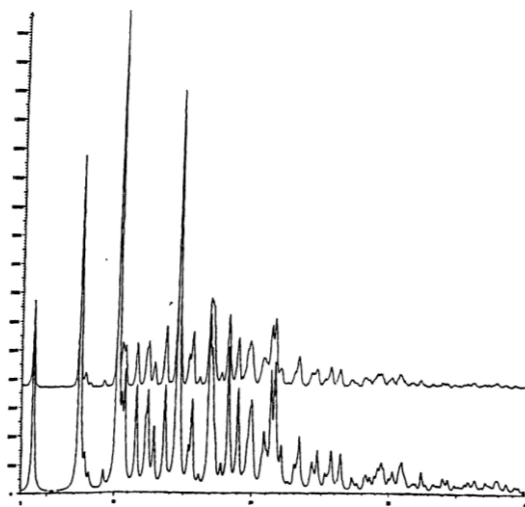
Фигура 5



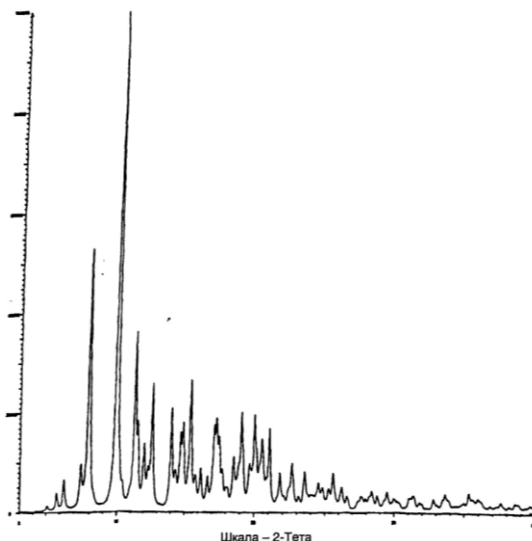
Фигура 6



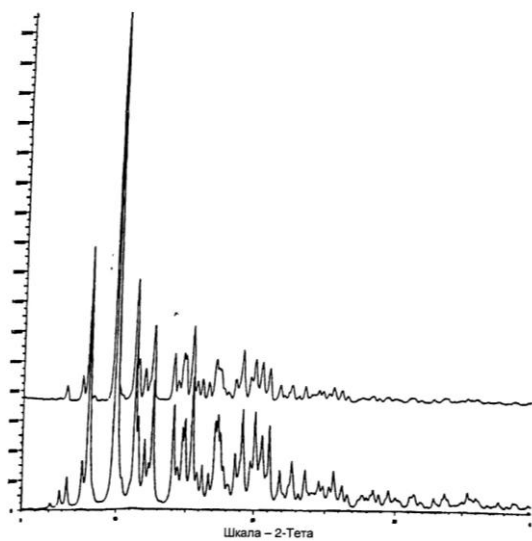
Φίγυρα 7



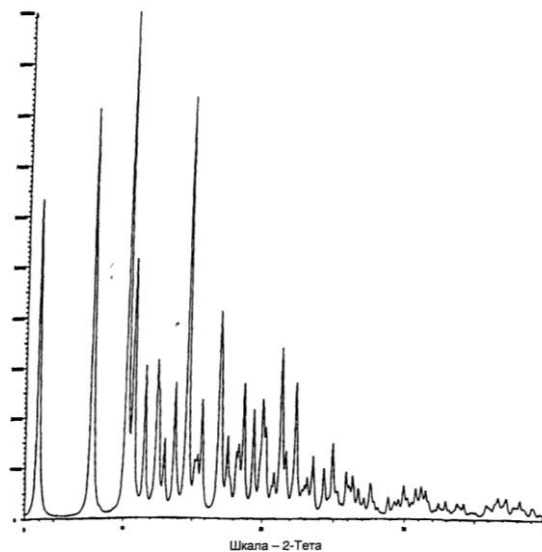
Φίγυρα 9



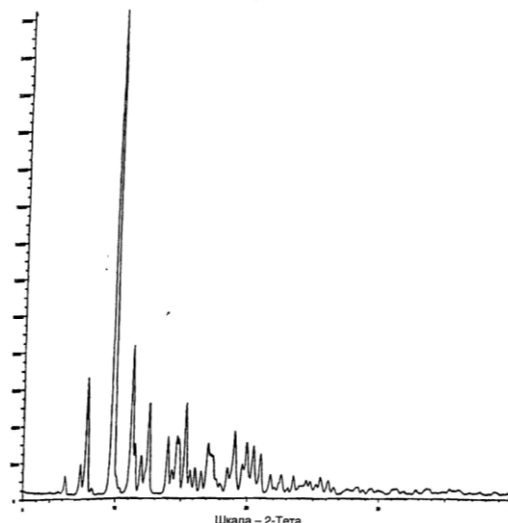
Φίγυρα 11



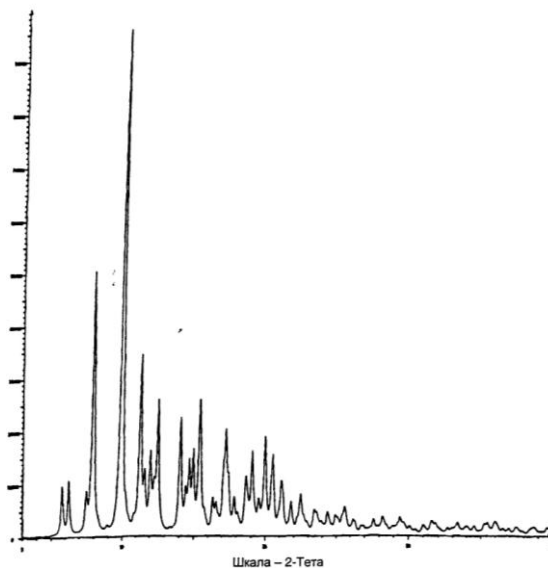
Φίγυρα 8



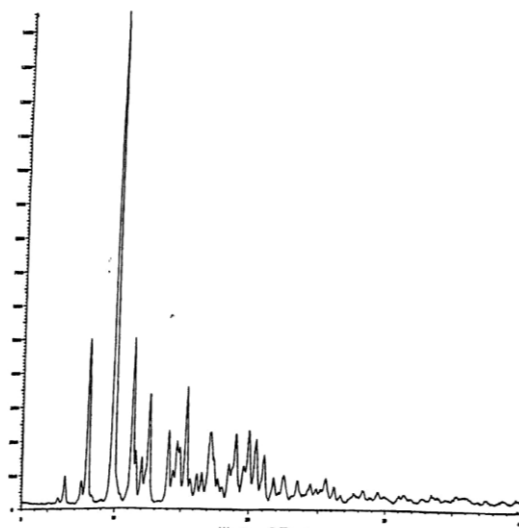
Φίγυρα 10



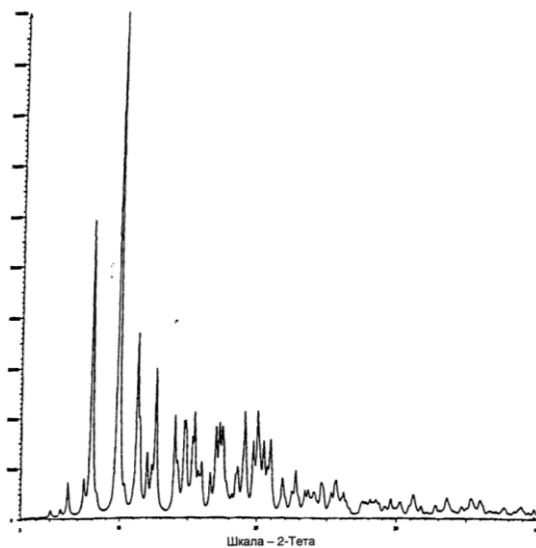
Φίγυρα 12



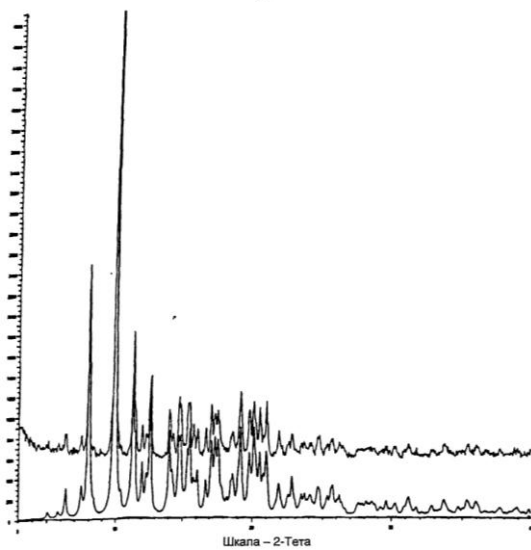
Фігура 13



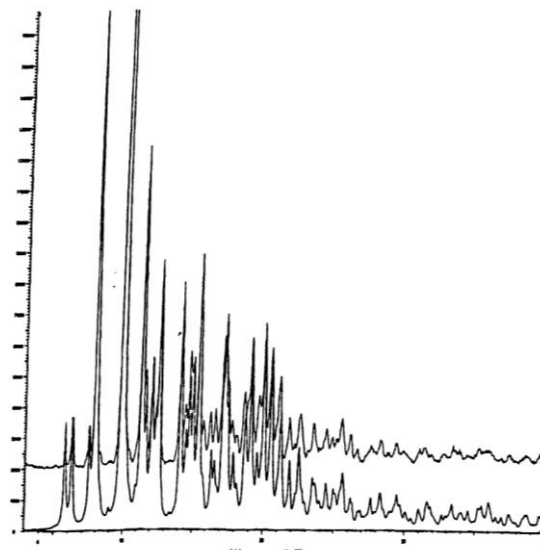
Фігура 15



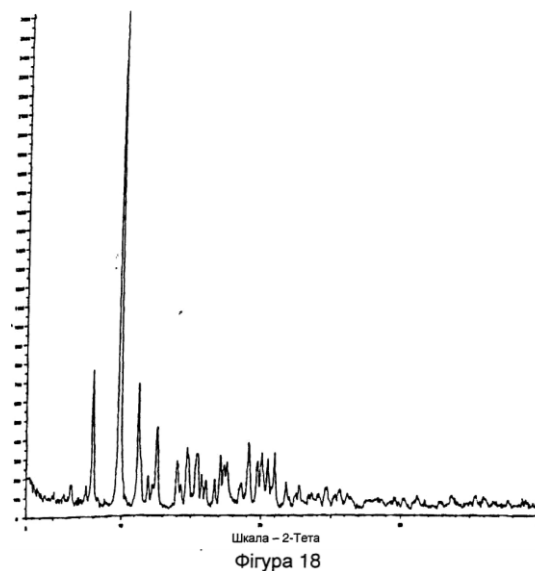
Фігура 17



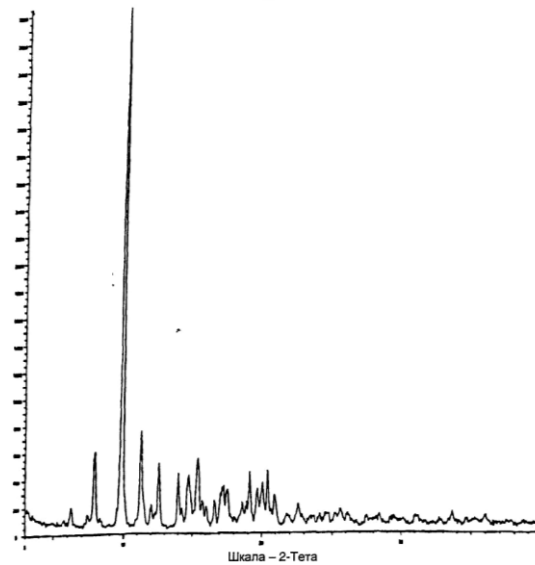
Фігура 14



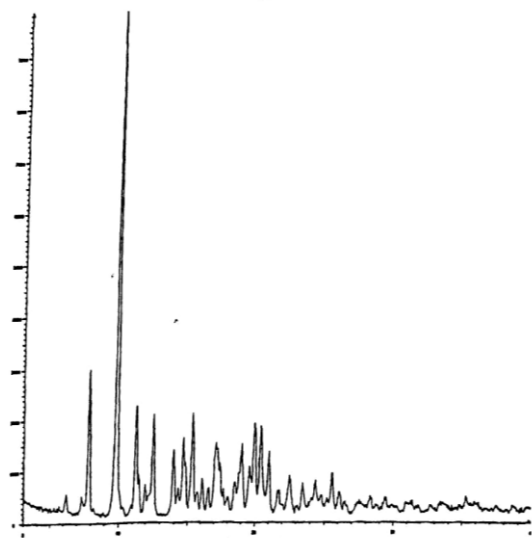
Фігура 16



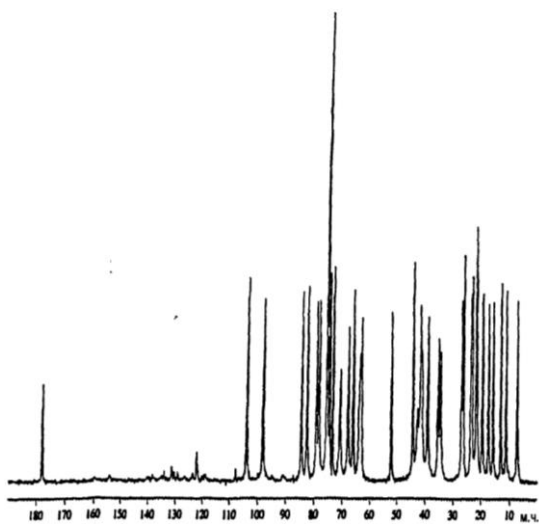
Фігура 18



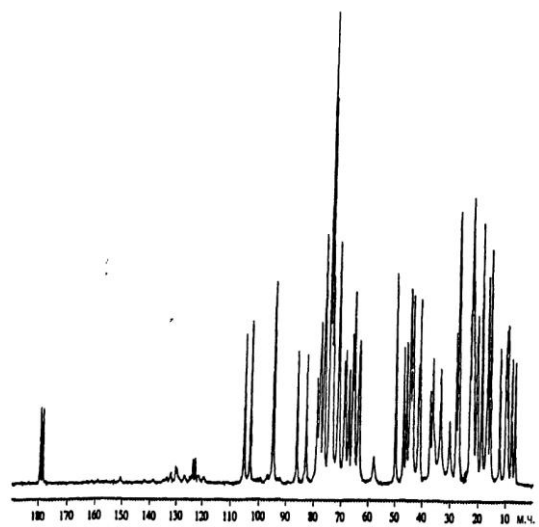
Фігура 19



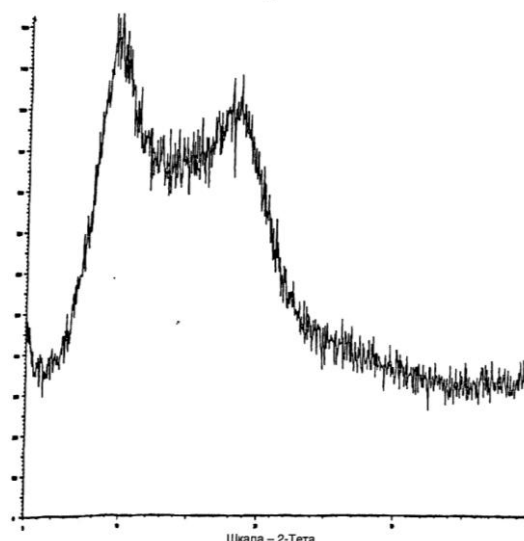
Фігура 21



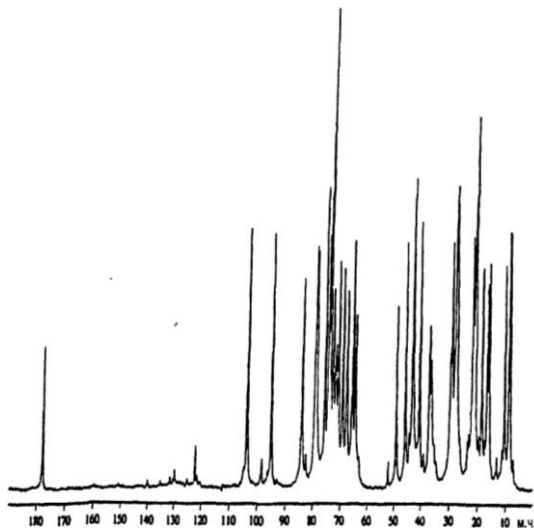
Фігура 23



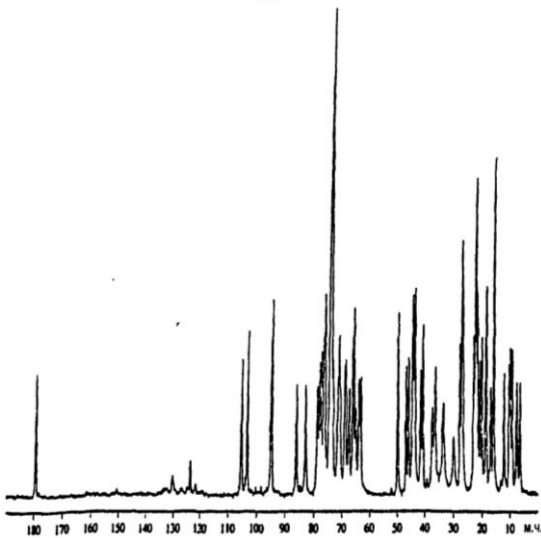
Фігура 20



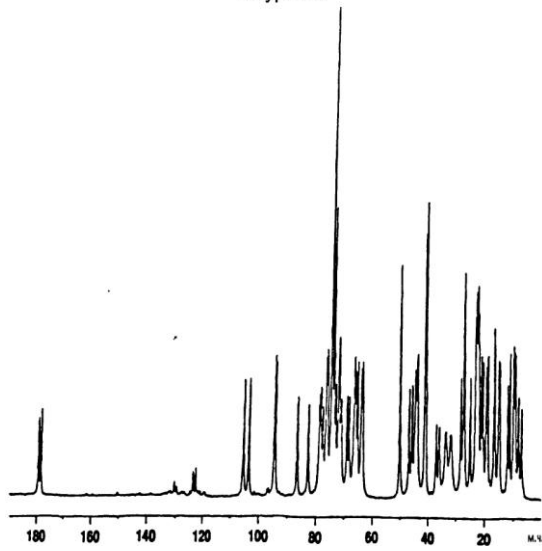
Фігура 22



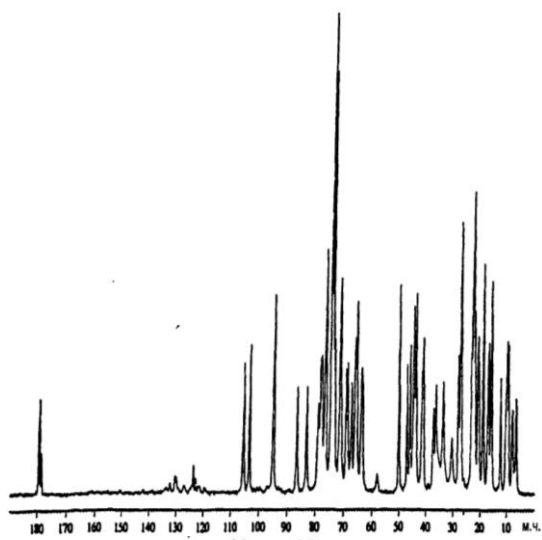
Фігура 24



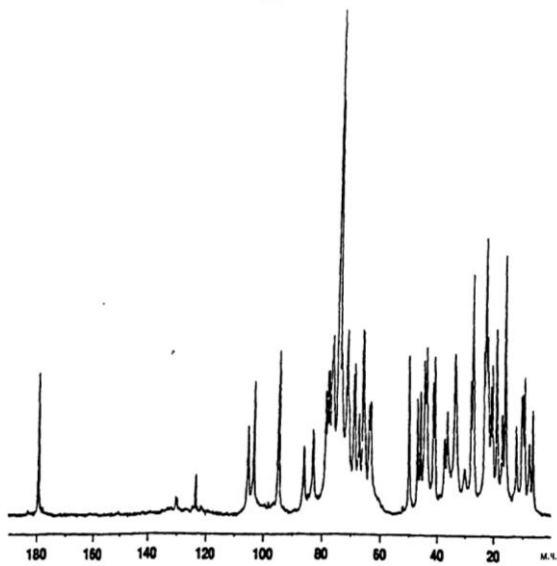
Фігура 25



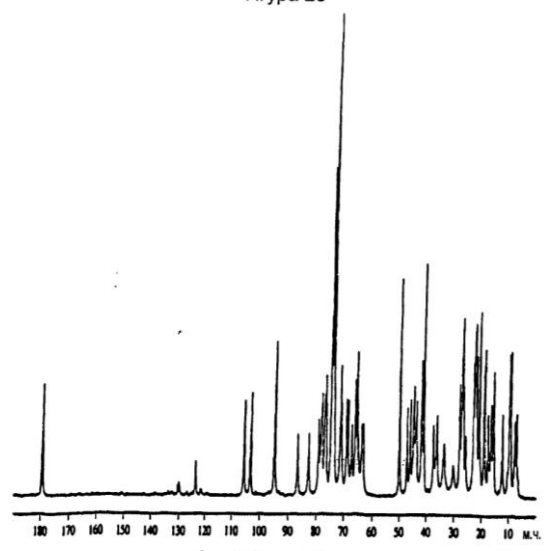
Фігура 27



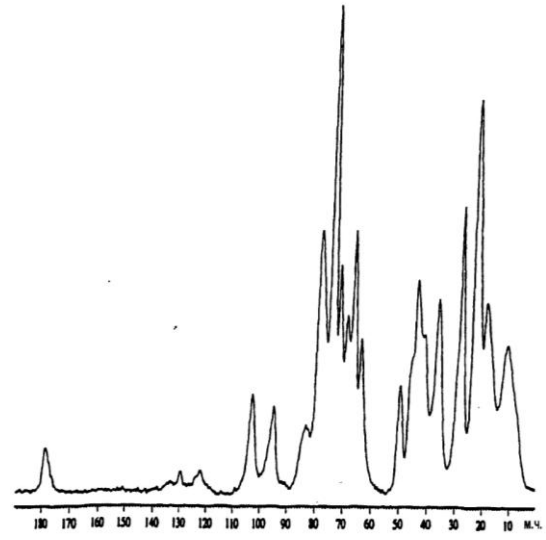
Фігура 29



Фігура 26



Фігура 28



Фігура 30

