



УКРАЇНА

(19) UA (11) 46723 (13) C2

(51) 6 C07D309/28, A61K31/351

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) 5-АЦЕТАМІДО-2,3,4,5-ТЕТРАДЕОКСИ-4-ГУАНІДИНО-D-ГЛІЦЕРО-D-ГАЛАКТОНОН-2-ЕНОПИРАНОЗОНОВА КИСЛОТА У КРИСТАЛІЧНІЙ ФОРМІ, СПОСІБ ЇЇ ОТРИМАННЯ, АНТИВІРУСНА ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ І СПОСІБ ЇЇ ОТРИМАННЯ

1

2

(21) 96062328
(22) 15 12 1994
(24) 17 06 2002
(86) PCT/EP94/04154, 15 12 1994
(31) 9325841 6
(32) 17 12 1993
(33) GB
(46) 17 06 2002, Бюл. № 6, 2002 р.
(72) Уільямсон Крістофер, GB, Уайт Уільям Джеймс, GB, Патель Віпкулмар, GB
(73) БІОТА САЙЕНТІФІК МЕНЕДЖМЕНТ ПТІ ЛТД, AU
(56) EP 0539204 A, 28 04 1993
WO 91 16320 A, 21 10 1991
(57) 1 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновая кислота в кристаллической форме
2 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновая кислота в кристаллической форме по п. 1, кристаллы которой имеют низкое размерное соотношение
3 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновая кислота в кристаллической форме по п. 2, кристаллы которой являются пластинчатыми
4 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновая кислота в кристаллической форме по любому из пп 1-3, в которой практически вся кристаллизационная вода теряется приблизительно при 80-90° С
5 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновая кислота в кристаллической форме по любому из пп 1-4, характеризующаяся следующими рентгеноструктурными данными
d(Å)-I(%)
10,06-30,25
6,77-69,81
6,63-89,61
6,35-12,69
6,05-54,56
5,38-25,11
5,05-98,58
4,61-12,58
4,42-100,00

4,31-8,28
4,17-11,67
3,98-75,00
3,90-52,61
3,77-20,33
3,69-36,17
3,48-26,53
3,41-53,25
3,37-17,61
3,16-18,39
3,02-31,08
2,98-9,25
2,92-6,28
2,87-13,58
2,82-10,78
2,78-6,78
2,74-18,03
2,69-15,33
2,65-6,25
2,63-6,44
2,59-11,44
2,49-14,31
2,45-18,81
2,41-8,64
2,35-11,36
2,19-5,42
2,13-12,25
2,11-6,56
2,02-8,33
1,98-5,47
6 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновая кислота в кристаллической форме по п. 1, кристаллы которой имеют высокое размерное соотношение
7 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновая кислота в кристаллической форме по п. 6, кристаллы которой имеют игольчатую форму
8 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновая кислота в кристаллической форме по любому из пп 1, 6 или 7, в которой содержание воды является стабильным в широком интервале значений относительной влажности
9 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновая ки-

(13) C2

(11) 46723

(19) UA

слота в кристаллической форме по любому из пп 1, 6-8, в которой 1 моль кристаллизационной воды теряется приблизительно при 84-90°C и еще 1 моль кристаллизационной воды теряется приблизительно при 135-143°C

10 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновая кислота в кристаллической форме по любому из пп 1, 6-9, характеризующаяся следующими рентгеноструктурными данными

d(Å)-I(%)

16,88-66,34

10,38-50,60

9,50-16,08

8,47-40,46

7,12-100,00

5,84-11,78

5,33-18,83

5,21-33,99

4,78-12,94

4,57-75,81

4,32-16,37

4,25-18,49

4,14-43,26

3,96-10,33

3,76-22,11

3,64-25,16

3,57-37,04

3,52-15,69

3,40-16,85

3,34-21,20

3,17-13,52

3,13-17,04

3,06-7,48

2,94-10,19

2,92-8,45

2,86-9,17

2,76-9,56

2,72-9,22

2,67-6,81

2,64-8,08

2,60-5,46

2,58-6,52

2,51-5,31

2,49-6,66

2,45-5,55

2,43-5,89

2,39-15,93

2,38-10,38

2,31-8,40

2,22-5,94

2,16-5,36

2,11-6,28

2,03-7,24

1,91-6,57

11 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновая кислота в кристаллической форме по любому из пп 2-5, практически свободная от кристаллической формы по любому из пп 6-10

12 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновая кислота в кристаллической форме по любому из пп 6-10, практически свободная от кристаллической формы по любому из пп 2-5

13 Способ получения 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновой кислоты в кристаллической форме, отличающийся тем, что осуществляют кристаллизацию 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновой кислоты из водного раствора

14 Способ по п 13, получения кристаллической формы по любому из пп 2-5

15 Способ по п 14, в котором температуру водного раствора поддерживают выше чем примерно 50°C

16 Способ по п 15, в котором температуру водного раствора поддерживают в интервале от 50 до 55°C

17 Способ по любому из пп 14-16, в котором в водный раствор вводят затравку кристаллов кристаллической формы по любому из пп 2-5

18 Способ по п 13 получения кристаллической формы по любому из пп 6-10

19 Способ по п 18, в котором температуру водного раствора поддерживают менее чем примерно 40°C

20 Способ по п 19, в котором температуру водного раствора поддерживают в интервале от 20 до 30°C

21 Способ по любому из пп 18-20, в котором в водный раствор вводят затравку кристаллов кристаллической формы по любому из пп 6-10

22 Способ по любому из пп 13-21, в котором добавляют противорастворитель в водный раствор

23 Способ по п 22, в котором в качестве противорастворителя используют кетон или алканол

24 Способ по п 23, в котором в качестве противорастворителя используют ацетон

25 Способ получения кристаллической формы по любому из пп 2-5, который включает взаимопревращение кристаллической формы по любому из пп 6-10

26 Способ по п 25, в котором взаимопревращение осуществляют путем старения водного раствора

27 Способ по п 25, в котором взаимопревращение осуществляют путем добавления основания к водному раствору

28 Способ получения кристаллической формы по любому из пп 6-10, в котором добавляют водный раствор 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновой кислоты к аналогичному объему противорастворителя

29 Способ по п 28, в котором в качестве противорастворителя используют ацетон

30 Фармацевтическая композиция, обладающая действием противовирусного агента и содержащая в качестве активного компонента 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновую кислоту в кристаллической форме и фармацевтически приемлемый носитель для нее

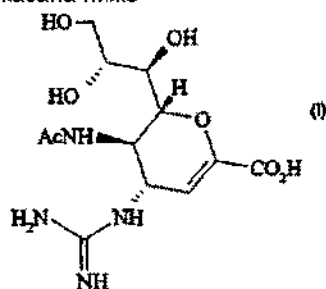
31 Фармацевтическая композиция по п 30, в форме порошка

32 Способ получения фармацевтической композиции в виде водного раствора или суспензии, который включает растворение в воде кристаллической 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-

Настоящее изобретение относится к производным N-ацетил-нейраминовой кислоты и их использованию в медицине. Более конкретно, изобретение связано с конкретными физическими формами 5-ацетиамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты (4-гуанидиновый аналог ДАНА, также известен как 5-(ацетиламино)-2,6-ангидро-3,4,5-тридеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-еновая кислота), их фармацевтическими рецептурами и их использованию в терапии.

В опубликованной заявке РСТ/AU 91/00161 (публикация No WO 91/16320) описан ряд производных 5-(ацетиламино)-2,3,5-тридеокси-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты (2,3-дидеокси-2,3-дидегидро-N-ацетил-нейраминовая кислота, ДАНА), включая 4-гуанидиновый аналог ДАНА. 4-Гуанидиновый аналог ДАНА получают путем взаимодействия соответствующего O-ацил-защитенного 4-аминового аналога ДАНА с S-метилизомочевинной, с последующим удалением защиты, хроматографической очисткой и сушкой с вымораживанием.

Структура 4-гуанидинового аналога ДАНА показана ниже.



4-гуанидиновый аналог ДАНА

Заявители обнаружили, что соединение формулы (1) может быть получено в кристаллической форме.

Таким образом, согласно первому аспекту изобретения предоставляется 5-ацетиамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновая кислота в кристаллической форме.

Далее мы обнаружили, что вещество формулы (1) может быть получено путем кристаллизации при определенных условиях в виде кристаллического гидрата (в последующем Гидрат I). Гидрат I существует в виде кристаллов, имеющих малые размерные соотношения, например пластинчатые кристаллы, которые являются благоприятными для фармацевтических рецептур из-за их физических свойств, например хороших характеристик текучести. Содержание воды в Гидрате I определяется относительной влажностью (RH). Поглощение воды Гидратом I изменяется от нуля при нулевой относительной влажности до 10% при относительной влажности 90 – 100%.

Соединение формулы (1) также может кристаллизоваться в виде дигидрата (в последующем Гидрат II). Гидрат II существует в виде кристаллов, имеющих большие размерные соотношения, например игольчатые кристаллы. Содержание воды в этих кристаллах остается практически постоянным в широком интервале значений относительной влажности (RH примерно 10 – 90%). Стабильное содержание воды в Гидрате II является преимуществом данной кристаллической формы при использовании в фармацевтике.

Таким образом, согласно дополнительному аспекту изобретения, предоставляется 5-ацетиамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновая кислота в форме кристаллов, имеющих малые размерные соотношения, таких как пластинчатые кристаллы.

Согласно следующему аспекту изобретения предоставляется 5-ацетиамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновая кислота в форме кристаллов, имеющих большие размерные соотношения, например, игольчатых кристаллов.

Хотя пластинчатые кристаллы считаются типичной формой Гидрата I, а игольчатые кристаллы считаются типичной формой Гидрата II, понятно конечно, что нельзя исключить возможность существования при определенных условиях либо Гидрата I, либо Гидрата II в альтернативных формах или кристаллах. Следует понимать, что все такие альтернативные формы или альтернативный склад кристаллов охватываются объемом настоящего изобретения.

Кроме того, предоставляется 5-ацетиамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновая кислота в форме кристаллов, имеющих стабильное содержание воды в широком интервале значений относительной влажности, например 10 – 30%.

Гидрат I теряет практически всю свою кристаллизационную воду приблизительно при 80 – 90°C. Разложение происходит при 299°C.

Гидрат II теряет один моль кристаллизационной воды приблизительно при 84 – 90°C и еще один моль кристаллизационной воды приблизительно при 135 – 143°C.

Согласно дополнительному аспекту изобретения предоставляется 5-ацетиамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновая кислота в форме кристаллогидрата, который теряет практически всю свою кристаллизационную воду приблизительно при 80 – 90°C.

Согласно еще одному аспекту изобретения предоставляется 5-ацетиамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галактонон-2-енопиранозоновая кислота в форме кристаллогидрата, который теряет один моль кристаллизационной воды приблизительно при 84 –

90°C и еще один моль кристаллизационной воды приблизительно при 135-143°C

В предпочтительном аспекте изобретение представляет 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновую кислоту в форме Гидрата I, как он определен в изобретении, практически не содержащую Гидрата II, как он определен в изобретении

В дополнительном предпочтительном аспекте изобретение предоставляет 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновую кислоту в форме Гидрата II, как он определен в изобретении, практически не содержащую Гидрата I, как он определен в изобретении

Термин "практически не содержащая" или "практически свободная от" означает, что содержание альтернативного гидрата составляет менее 5%, как, например, менее 2%, например, менее 1% альтернативного гидрата

5-йцетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновая кислота может быть получена в кристаллической форме путем кристаллизации соединения из водного раствора

Каждый из Гидратов I или II может быть получен в чистом виде, свободном от альтернативного гидрата, путем регулирования концентрации раствора и температуры, при которых происходит кристаллизация

Обычно 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновая кислота может быть получена в форме Гидрата I, путем кристаллизации вещества из водного раствора при температуре выше, чем приблизительно 50°C, предпочтительно при 50 - 55°C

Обычно 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновая кислота может быть получена в форме Гидрата II, путем кристаллизации соединения из водного раствора при температуре выше, чем приблизительно 40°C, предпочтительно при 20 - 30°C

В типичном случае, кристаллизация 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты из водного раствора при температуре в интервале приблизительно 40-50аС, приводит к образованию смеси кристаллов пластинчатой и игольчатой формы. Такие смеси неблагоприятны для приготовления фармацевтических рецептур из-за различных физических свойств Гидрата I и Гидрата II, в частности свойств их текучести

Введение в водный раствор 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты затравки кристаллов Гидрата I или Гидрата II может привести к кристаллизации затравочного гидрата. Поэтому получение Гидрата I или Гидрата II необходимо осуществлять в отсутствие затравки нежелательного гидрата. Наоборот, Гидрат I может быть получен путем введения в водный раствор 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой ки-

слоты затравки кристаллов Гидрата I, а Гидрат II может быть получен путем введения затравки кристаллов Гидрата II в водный раствор 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой ки-слоты

Для получения Гидрата II предпочтительно применять относительно разбавленный водный раствор, например, раствор 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты в 15 -30 объем воды, например, в 20 объемах воды. Гидрат I может удобно кристаллизироваться из относительно концентрированного водного раствора, например, раствора 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты в 12 - 20 объемах воды, как например в 12-15 объемах воды

Мы обнаружили, что Гидрат II может превращаться в Гидрат I в водной суспензии или насыщенном растворе. Такое взаимное превращение может быть осуществлено путем длительного старения водной суспензии или насыщенного раствора Гидрата II, например, старения в течение ряда дней, например, более 10 суток, например, около 15 суток. Альтернативно, взаимное превращение может быть осуществлено в присутствии основания, например, органического основания, такого как имидазол

Выделение либо Гидрата I, либо Гидрата II из водного раствора может быть усилено путем добавления в раствор подходящего противорастворителя. Подходящими противорастворителями являются смешивающиеся с водой растворители, в которых соединение формулы (I) имеет низкую растворимость. Удобно, чтобы этот противорастворитель был кетоном, таким как ацетон, или алканолом, таким как пропанол-2. Предпочтительным противорастворителем является ацетон

Мы также обнаружили, что добавление водного раствора 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты к аналогичному объему противорастворителя, который определен выше, приводит к осаждению Гидрата II. Например, добавление водного раствора 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты в 12 - 15 объемах воды к 12 - 20 объемам ацетона дает кристаллы Гидрата II

Описанные здесь способы получения кристаллического материала, и, в частности, способы получения Гидрата I и Гидрата II, составляют дополнительные аспекты настоящего изобретения

5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновая кислота в кристаллической форме может применяться в качестве противовирусного агента, как описано в заявке WO 91/16320, ссылка на которую приведена для сведения

5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновая кислота в кристаллической форме может входить в состав фармацевтической композиции для ис-

пользования в качестве противовирусного агента, как описано в заявке WO 91/16320

Предпочтительные фармацевтические рецептуры или готовые препаративные формы 5-ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты включают порошкообразные составы и водные растворы или суспензии. Для приготовления предпочтительных порошкообразных составов требуется микронное измельчение лекарственного вещества. Хорошие свойства текучести Гидрата I делают его особенно пригодным для микронного измельчения. Гидрат II обладает адекватными свойствами текучести, а также особенно быстрой скоростью растворения в воде. Эти свойства Гидрата II делают его особенно благоприятным для приготовления водных растворов или суспензий.

Гидраты I и II подвергались исследованию порошковой дифракции рентгеновских лучей. Дифрактограммы были получены при использовании дифрактометра Сименс D-500 и излучения $\text{CuK}\alpha$. Интенсивности рентгеновского излучения измеряли с увеличением на 0,02 градуса с 5 секундными интервалами с использованием сцинтилляционного счетчика в интервале величин между 5 и 55°2 θ . В таблицах 1 и 2 соответственно приведены расстояния d и интенсивности I, полученные для Гидрата I и Гидрата II.

Таблица 1

d (Å)	I (%)
10,06	30,25
6,77	69,81
6,63	89,61
6,35	12,69
6,05	54,56
5,38	25,11
5,05	98,58
4,61	12,58
4,42	100,00
4,31	8,28
4,17	11,67
3,98	75,00
3,90	52,61
3,77	20,33
3,69	38,17
3,48	26,53
3,41	53,25
3,37	17,61
3,16	18,39
3,02	31,08
2,98	9,25
2,92	6,28
2,87	13,58
2,82	10,78
2,78	6,78
2,74	18,03
2,69	15,33
2,65	6,25
2,63	6,44
2,59	11,44
2,49	14,31
2,45	18,81

2,41	8,64
2,35	11,36
2,19	5,42
2,13	12,25
2,11	6,56
2,02	8,33
1,98	5,47

Таблица 2

d (Å)	I (%)
16,88	66,34
10,38	50,60
9,50	16,08
8,47	40,46
7,12	100,00
5,84	11,78
5,33	18,83
5,21	33,99
4,78	12,94
4,57	75,81
4,32	16,37
4,25	18,49
4,14	43,26
3,96	10,33
3,76	22,11
3,64	25,16
3,57	37,04
3,52	15,69
3,40	16,85
3,34	21,20
3,17	13,52
3,13	17,04
3,06	7,48
2,94	10,19
2,92	8,45
2,86	9,17
2,76	9,56
2,72	9,22
2,67	6,81
2,64	8,06
2,60	5,46
2,58	6,52
2,51	5,31
2,49	6,66
2,45	5,55
2,43	5,89
2,39	15,93
2,38	10,38
2,31	8,40
2,22	5,94
2,16	5,36
2,11	6,28
2,03	7,24
1,91	6,57

Следующие примеры иллюстрируют изобретение, однако они не предназначены для ограничения его. Все температуры даны в °C.

Пример 1. Получение Гидрата I.

Смесь 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты (5,0г) и 60мл воды

нагревают до 100°C, чтобы получить прозрачный раствор. Раствор охлаждают в течение 30 минут до 55°C и выдерживают между 55 и 50°C в течение 4 часов, получая суспензию кристаллов. В течение 90 минут добавляют 80мл ацетона, причем температуру поддерживают между 48 и 55°C. Образовавшуюся суспензию перемешивают 1 час, давая температуре снизиться примерно до 20°C, затем суспензию оставляют стоять в течение 17 часов при комнатной температуре. Продукт собирают с помощью вакуумной фильтрации, и осадок на фильтре промывают 2 раза смесью 4 : 1 ацетона и воды (по 10мл) и затем 10мл ацетона. Продукт сушат на воздухе при комнатной температуре и влажности, получая 4,5г Гидрата I (пластинчатые кристаллы).

Спектр ПМР (D_2O) 2,04 (3H, c), 3,67 (2H, m), 4,23 (1H, m), 4,42 (2H, m), 5,63 (1H, d, J = 2,5 Гц)

ИК - спектр (Нуйоп) 3248, 3338, 3253, NH, OH 1692, 1666, 1646, 1619, 1575, CO (CH_3CONH , CO_2), CN

Содержание воды – 8,4вес % в расчете на $C_{12}H_{20}N_4O_7 \cdot 1,7H_2O$

Пример 2 Получение Гидрата I

Смесь 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты (15,0г) и 180мл воды нагревают до 100°C, получая прозрачный раствор. Раствор осветляют путем вакуумной фильтрации через фильтровальную бумагу, затем охлаждают приблизительно до 55°C и выдерживают при температуре между 55 и 50°C в течение 4 часов, чтобы обеспечить начало кристаллизации. В течение 120 минут добавляют 210мл ацетона, причем температуру поддерживают между 48 и 55°C. Образующуюся суспензию перемешивают и охлаждают до 30°C и затем суспензии дают стоять в течение 17 часов при комнатной температуре. Продукт отфильтровывают и промывают 2 раза смесью 4 : 1 ацетона и воды (по 30мл) и затем 30мл ацетона. Твердое вещество сушат на воздухе при комнатной температуре и влажности, получая 12,0г Гидрата I (пластинчатые кристаллы).

Характеристики вещества см. выше

Пример 3 Получение Гидрата II

Смесь 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты (10,0г) и 100мл воды нагревают до 95°C. Полученный раствор осветляют путем вакуумной фильтрации. Затем раствор охлаждают до 30°C и добавляют при перемешивании в течение 5 минут 250мл ацетона. Образовавшейся густой белой суспензии дают стоять в течение 20 час при комнатной температуре. Методом вакуумной фильтрации собирают твердое вещество и промывают 2 раза смесью 4 : 1 ацетона и воды (по 20мл) и затем 20мл ацетона. Твердое вещество сушат в течение 24 час в вакуумном шкафу при 35°C и затем доводят до равновесия с атмосферной влагой при комнатной температуре и влажности, получая 8,16г Гидрата II (игольчатые кристаллы).

Характеристики вещества см. выше

Содержание воды - 10,6вес %, в расчете на $C_{12}H_{20}N_4O_7 \cdot H_2O$ - 9,8%

Пример 4 Получение Гидрата II

Смесь 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты (10,0г) и 400мл воды нагревают 2час при 20°C. Полученный раствор осветляют путем вакуумной фильтрации. Добавляют 110мл ацетона, и твердое вещество начинает кристаллизоваться. Образовавшуюся суспензию перемешивают в течение 2,5час при 20°C. Твердое вещество собирают методом вакуумной фильтрации и промывают 2 раза смесью 4 : 1 ацетона и воды (по 20мл) и затем 20мл ацетона. Твердое вещество сушат 24час в вакуумном шкафу при 30°C и затем доводят до равновесной влажности при комнатной температуре и влажности, получая 7,7г Гидрата II (игольчатые кристаллы).

Характеристики вещества см. выше

Содержание воды - 11,1вес % в расчете на $C_{12}H_{20}N_4O_7 \cdot H_2O$ - 9,8%

Пример 5 Получение Гидрата II

Смесь 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты (50,0г) и 1150мл воды нагревают до 75°C. Полученный раствор осветляют путем вакуумной фильтрации и промывают его 100мл воды. Затем раствор охлаждают до 7°C в течение 1час и добавляют 500мл ацетона. Образовавшийся раствор медленно перемешивают 0,5час, и в течение этого времени начинает кристаллизоваться твердое вещество. Затем добавляют в течение 2час 750мл ацетона, поддерживая температуру от 5 до 10°C. Продукт собирают методом вакуумной фильтрации и промывают 2 раза смесью 4 : 1 ацетона и воды (по 100мл) и затем 100мл ацетона. Твердое вещество сушат на воздухе при комнатной температуре и влажности, получая 46,0г Гидрата II (игольчатые кристаллы).

Содержание воды - 9,8вес %, в расчете на $C_{12}H_{20}N_4O_7 \cdot 2H_2O$ - 9,8%

Данные рентгеноструктурного анализа согласуются со структурой Гидрата II (>99%)

Пример 6 Осаждение Гидрата II

Смесь 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты (50,0г) и 600мл воды нагревают до 100°C. Полученный горячий осветленный раствор добавляют в течение 8 минут к 700мл ацетона, быстро перемешиваемого при комнатной температуре, что вызывает повышение температуры смеси от 20 до 56°C и осаждение твердого вещества. Образовавшейся суспензии дают охладиться до 20°C при перемешивании, затем твердое вещество собирают методом вакуумной фильтрации и промывают 2 раза смесью 4 : 1 ацетона и воды (по 100мл) и затем 100мл ацетона. Твердое вещество сушат на воздухе при комнатной температуре и влажности, получая 47,9г Гидрата II (игольчатые кристаллы).

Содержание воды - 10,0вес %, в расчете на $C_{12}H_{20}N_4O_7 \cdot 2H_2O$ - 9,8%

Данные рентгеноструктурного анализа согласуются со структурой Гидрата II (>99%)

Пример 7 Кристаллизация Гидрата I из воды

Смесь 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-

енопиранозоновой кислоты (35,7г) и 350 мл воды нагревают до 95°C, получая прозрачный раствор. Значение pH раствора доводят до 7,0 (от pH 6,4) водной уксусной кислотой (100мкл, 10об %). Образовавшемуся раствору дают охладиться до комнатной температуры при перемешивании, получая суспензию кристаллов. Продукт собирают методом вакуумной фильтрации, затем сушат в вакууме при комнатной температуре, получая 28,9г Гидрата I (пластинчатые кристаллы).

ИК - спектр согласуется со структурой Гидрата I.

Пример 8. Получение Гидрата II путем добавления затравки.

Смесь 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты (30,0г) и 540мл воды нагревают при 75°C, получая раствор. Образовавшийся раствор осветляют путем вакуумной фильтрации и промывают его 54мл воды. Затем раствор нагревают до 100°C, охлаждают до 40°C, вводят затравку Гидрата II (0,3г). При дальнейшем понижении температуры до комнатной происходит кристаллизация. Образовавшуюся суспензию перемешивают 1 час при комнатной температуре, охлаждают до 5°C, затем в течение 1,5 часов добавляют 600мл ацетона. Твердое вещество собирают методом вакуумной фильтрации, и промывают 2 раза смесью 4 : 1 ацетона и воды (по 60мл) и затем 60мл ацетона. Твердое вещество сушат на воздухе при комнатной температуре и влажности, получая 26,5 г Гидрата II (игольчатые кристаллы).

Данные рентгеноструктурного анализа согласуются со структурой Гидрата II (90 – 95%), (5 – 10% Гидрата I).

Пример 9. Взаимное превращение Гидрата II в Гидрат I при старении.

Смесь 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты (10,0г) и 200 мл воды нагревают при 100°C, получая раствор. Раствор быстро охлаждают до 30°C, вносят затравку Гидрата II (0,05г) и затем выдерживают в течение ночи без перемешивания. В оптическом микроскопе наблюдали исключительно характерные иглы Гидрата II. Суспензию подвергают старению без перемешивания при комнатной температуре в течение 11 суток (когда в оптическом микроскопе наблюдали наличие нескольких кристаллов Гид-

рата I), затем суспензию перемешивают 3 суток. Добавляют 200мл ацетона, и суспензию перемешивают 1 час. Твердое вещество собирают методом вакуумной фильтрации, и промывают 2 раза смесью 4 : 1 ацетона и воды (по 20мл) и затем 20мл ацетона. Продукт сушат на воздухе при комнатной температуре и влажности, получая 9,0 г пластинчатых кристаллов Гидрата I.

Данные рентгеноструктурного анализа согласуются со структурой Гидрата II (>99%).

Пример 10. Взаимное превращение Гидрата II в Гидрат I при использовании основания.

Суспензию Гидрата II 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты (5,0г) и 30мл воды, содержащей 2,96г имидазола, перемешивают и нагревают при 30°C в течение 40 часов. Оставшееся твердое вещество собирают методом вакуумной фильтрации, и промывают водой (2 раза по 1мл и 2 раза по 5мл). Продукт сушат на воздухе при комнатной температуре и влажности, получая 3,93г Гидрата I (пластинчатые кристаллы).

ИК - спектр согласуется со структурой Гидрата I.

Пример 11. Получение Гидрата I путем добавления затравки.

Смесь 5-Ацетамидо-2,3,4,5-тетрадеокси-4-гуанидино-D-глицеро-D-галакто-нон-2-енопиранозоновой кислоты (5,0г) и 60мл воды нагревают при 100°C, получая раствор. Образовавшийся раствор осветляют путем вакуумной фильтрации. Затем полученный раствор охлаждают примерно до 50°C, вводят затравку Гидрата I и оставляют без перемешивания на 1 час при 50 - 55°C. Поддерживая температуру при 48 - 55°C, добавляют 70мл ацетона. Суспензию перемешивают 1 час при 50 - 55°C, затем подвергают старению в течение ночи при комнатной температуре без перемешивания. Твердое вещество собирают методом вакуумной фильтрации, и промывают 2 раза смесью 4 : 1 ацетона и воды (по 10мл) и затем 2 раза ацетоном (по 10мл). Продукт сушат в вакууме, затем доводят до равновесия при комнатной температуре и влажности, получая 3,8г Гидрата I (пластинчатые кристаллы).

Данные рентгеноструктурного анализа согласуются со структурой Гидрата I (> 99%).