

РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ



(19) **BG**

(11) **108370 A**
7(51) C 07 H 17/08

ЗАЯВКА ЗА ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Регистров № 108370
(22) Заявено на 18.11.2003
(24) Начало на действие
на патента от:

Приоритетни данни

(31) 292565	(32) 22.05.2001	(33) US
297741	12.06.2001	US
343041	21.12.2001	US

(41) Публикувана заявка в
бюлетин № 11 на 30.11.2004

(45) Отпечатано на

(46) Публикувано в бюлетин №
на

(56) Информационни източници:

(62) Разделена заявка от рег. №

(71) Заявител(и):

PFIZER PRODUCTS INC., GROTON, CT (US)

(72) Изобретател(и):

Zheng Jane Li

Andrew Vincent Trask, Groton, CT (US)

(74) Представител по индустриална
собственост:

Румяна Стефанова Слабова, 1124 София,
ул. "Леонардо да Винчи" 3

(86) № и дата на РСТ заявка:

PCT/IB2002/001570, 01.05.2002

(87) № и дата на РСТ публикация:

WO2002/094843, 28.11.2002

(54) КРИСТАЛНИ ФОРМИ НА АЗИТРОМИЦИН

(57) Изобретението се отнася до нови кристални форми на азитромицин и до антибиотици, подходящи за лечение на инфекции.

15 претенции, 33 фигури

BG 108370 A

КРИСТАЛНИ ФОРМИ НА АЗИТРОМИЦИН

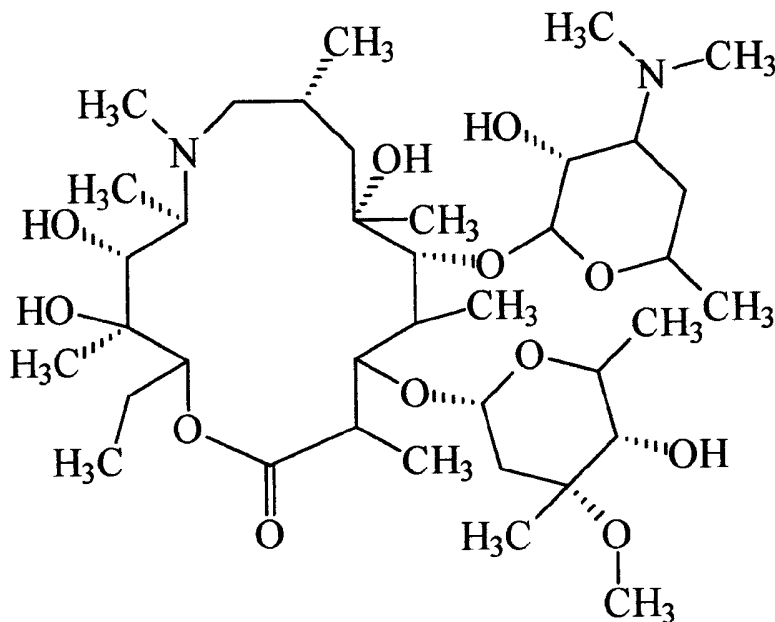
ТЕХНИЧЕСКА СЪЩНОСТ НА ИЗОБРЕТЕНИЕТО

Изобретението се отнася до кристални форми на азитромицин, до методи за получаването им, както и използването им при лечение на бактериални и протозойни инфекции.

ПРЕДШЕСТВАЩО СЪСТОЯНИЕ НА ТЕХНИКАТА

Азитромицинът е търговски продукт и е един ефективен антибиотик при лечение на широк кръг бактериални инфекции. Кристалните форми от изобретението са също така подходящи като антибиотични средства при бозайници, включително хора, както и при риби и птици.

Азитромицинът има следната структурна формула:



Азитромицинът е описан и защитен с US Patents 4,517,359 и 4,474,768. Известен е също като 9-деоксо-9а-аза-9а-метил-9а-хомоеритромицин А.

Други патенти и заявки за патенти, които директно или индиректно се отнасят до азитромицина са: EP 298650, който защитава азитромицин

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100

дихидрат; US Patent 4963531, който защитава метод за лечение от щамове от вида *Toxoplasma gondii*; US Patent 5633006, който защитава дъвчащи таблетки или течни суспензионни фармацевтични състави с понижена горчивина; US Patent 5686587, който защитава междинни съединения, подходящи при получаването на азитромицин; US Patent 5605889, който защитава форма за дозиране, редуцираща “хранителния ефект”, свързан с прилагането на азитромицин; US Patent 6068859, който защитава форми за дозиране с контролирано освобождаване, съдържащи азитромицин; US Patent 5498699, който защитава състав, съдържащ азитромицин в комбинация с двувалентни и тривалентни метали; EP 925789, който защитава метод за лечение на очни инфекции; заявка CN 1123279A, която се отнася до водоразтворими соли на азитромицин; заявка CN 1046945C, която се отнася до двойни соли на азитромицин с натриев дихидрогенфосфат; заявка CN 1114960A, която се отнася до кристали азитромицин; заявка CN 1161971A, която се отнася до кристали азитромицин; заявка CN 1205338A, която се отнася до метод за получаване на водоразтворими соли на азитромицин; международна заявка WO 00/32203, която се отнася до един етанолат на азитромицин и EP 984020, която се отнася до азитромицин монохидрат изопропанол клатрат.

ТЕХНИЧЕСКА СЪЩНОСТ НА ИЗОБРЕТЕНИЕТО

Кратко описание на изобретението

Настоящото изобретение се отнася до кристални форми на азитромицин. Както е използван тук, терминът “кристална(и) форма(и)” или “форма(и)”, ако не е отбелязано друго означава една или повече кристални форми на азитромицин.

По-специално, настоящото изобретение се отнася до кристална форма на азитромицин, при което посочената кристална форма е избрана от групата, състояща се от следните форми C, D, E, F, G, H, J, M, N, O, P, Q и R, при което посочените форми са както са дефинирани тук. Формите F, G, H, J, M,

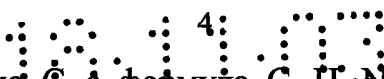


N, O и P принадлежат към Група I азитромицин и спадат към моноклинична $P2_1$ пространствена група с размери на кристалната клетка $a=16.3\pm0.3\text{\AA}$, $b=16.2\pm0.3\text{\AA}$, $c=18.4\pm0.3\text{\AA}$ и $\beta=109\pm2^\circ$. Формите C, D, E и R принадлежат към Група II азитромицин и спадат към орторомбична $P2_1 2_1 2_1$ пространствена група с размери на кристалната клетка $a=8.9\pm0.4\text{\AA}$, $b=12.3\pm0.5\text{\AA}$, $c=45.8\pm0.5\text{\AA}$. Кристална форма Q е различна от Група I и Група II.

Форма F азитромицин е с формула $C_{38}H_{72}N_2O_{12}\cdot H_2O\cdot 0.5C_2H_5OH$, с единична кристална структура, и представлява азитромицин монохидрат хеми-етанол солват. Прахообразни образци от форма F, съдържащи 2-5% тегл. вода и 1-4% тегл. етанол са допълнително охарактеризирани и имат пикове на праховата рентгенова дифрактограма при 2θ , както са отразени в Таблица 9. ^{13}C ssNMR (solid state Nuclear Magnetic Resonance) спектри на твърдо тяло имат два пика на химично отместване при приблизително 179 ± 1 ppm, онези от 179.5 ± 0.2 ppm и 178.6 ± 0.2 ppm, серия от пет пика между 6.4 и 11.0 ppm и пикове на етанола при 58.0 ± 0.5 ppm и $17.2\pm$ ppm. Пиковите на разтворителя могат да бъдат широки и относително слабо изразени по интензивност.

Изобретението също се отнася и до практически чист азитромицин форма F, до азитромицин форма F практически свободен от азитромицин форма G и до азитромицин форма F практически свободен от азитромицин дихидрат.

Допълнително изобретението се отнася до методи за получаване на азитромицин форма F чрез обработка на азитромицин с етанол до пълно разтваряне при $40-70^\circ\text{C}$ и охлаждане с намаляване на количеството на етанола или прибавяне на вода, за предизвикване на кристализация. Включени са също и методи за получаване на практически чист азитромицин форма F, азитромицин форма F практически свободен от азитромицин форма G и азитромицин форма F практически свободен от азитромицин дихидрат.



Азитромицин форма G е с формула $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 1.5H_2O$ е с единична кристална структура, и представлява азитромицин сескихидрат. Прахообразни образци от форма G, съдържащи 2.5-6% тегл. вода и <1% тегл. органичен(и) разтворител(и) са допълнително охарактеризирани и имат пикове на праховата рентгенова дифрактограма при 2θ , както са отразени в Таблица 9. ^{13}C ssNMR спектрите на форма G имат един пик на химично отместване при приблизително 179 ± 1 ppm, онези от 179.5 ± 0.2 ppm (може да се наблюдава разцепване < 0.3 ppm) и серия от пикове между 6.3 и 11.0 ppm.

Изобретението се отнася също и до практически чист азитромицин форма G и до азитромицин форма G, практически свободен от азитромицин дихидрат.

Допълнително изобретението се отнася до методи за получаване на азитромицин форма G и азитромицин форма G, практически свободен от азитромицин дихидрат чрез обработка на азитромицин със смес от метанол и вода или ацетон до пълно разтваряне при $40-60^\circ C$ и охлаждане за предизвикване на кристализация.

Азитромицин форма H е с формула $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_3H_8O_2$ и представлява азитромицин монохидрат хеми-1,2 пропандиол солват.

Азитромицин форма J е с формула $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_3H_7OH$ и с единична кристална структура и представлява азитромицин монохидрат хеми-n-пропанол солват. Прахообразни образци от форма J, съдържащи 2-5% тегл. вода и 1-5% тегл. 1-пропанол са допълнително охарактеризирани и имат пикове на праховата рентгенова дифрактограма при 2θ , както са отразени в Таблица 9. ^{13}C ssNMR спектрите на твърдо тяло имат два пика на химично отместване при приблизително 179 ± 1 ppm, онези от 179.6 ± 0.2 ppm и 178.4 ± 0.2 ppm, серия от пет пика между 6.6 и 11.7 ppm и пикове на n-пропанол при 25.2 ± 0.4 ppm. Пиковите на разтворителя могат да бъдат широки и относително слабо изразени по интензивност.

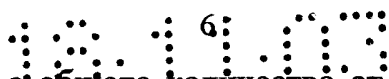
Изобретението допълнително се отнася до методи за получаване на азитромицин форма J чрез обработка с n-пропанол до пълно разтваряне при 25-55°C и охлаждане с прибавяне на вода за предизвикване на кристализация.

Азитромицин форма M е с формула $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_3H_7OH$ представлява азитромицин монохидрат хеми-изо-пропанол солват. Прахообразни образци от форма M, съдържащи 2-5% тегл. вода и 1-4% тегл. 2-пропанол са допълнително охарактеризирани и имат пикове на праховата рентгенова дифрактограма при 2θ , както са отразени в Таблица 9. ^{13}C ssNMR спектрите имат един пик на химично отместване при приблизително 179 ± 1 ppm, онзи от 179.6 ± 0.2 ppm, пик при 41.9 ± 0.2 ppm и серия от шест пика между 6.9 и 16.4 ppm и пикове на изо-пропанол при 26.0 ± 0.4 ppm. Пиковите на разтворителя могат да бъдат широки и относително слабо изразени по интензивност.

Изобретението също се отнася и до практически чист азитромицин форма M, до азитромицин форма M практически свободен от азитромицин форма G и до азитромицин форма M практически свободен от азитромицин дихидрат.

Допълнително изобретението се отнася до методи за получаване на практически чист азитромицин форма F, азитромицин форма F практически свободен от азитромицин форма G и азитромицин форма F практически свободен от азитромицин дихидрат чрез обработка на азитромицин с изопропанол до пълно разтваряне при 40-60°C и намаляване на количеството на изопропанола с последващо охлаждане или охлаждане с последващо прибавяне на вода, за предизвикване на кристализация.

Азитромицин форма N е смес от изоморфни форми от Група I. Сместа може да съдържа различни процентни отнoшения от изоморфните форми F, G, H, J, M и други, или различни количества вода и органични разтворители като етанол, изопропанол, n-пропанол, пропилен гликол, ацетон, ацетонитрил, бутанол, пентанол и т.н. Съдържанието на вода може да варира



в интервала от 1 до 5%, а общото количество от органичните разтворители може да бъде от 2 до 5% със съдържание на всеки разтворител от 0.5 до 4%. Образците от азитромицин форма N показват пиковите на членовете на Група I в различни пропорции. Азитромицин форма N може да бъде характеризирана като “смесени кристали” или “разтвори на твърди кристали” на изоморфните форми от Група I.

Азитромицин форма N показва изместване като комбинация от изоморфните форми от Група I. Пиковите могат да се променят по химическо отместване в рамките на ± 0.2 ppm и по относителна интензивност и ширина, поради смесването на различни пропорции от изоморфните форми, съдържащи се в разтвора на твърди кристали азитромицин форма N.

Азитромицин форма P е с формула $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_5H_{12}O$ и представлява азитромицин монохидрат хеми-п-пентанол солват.

Азитромицин форма Q е с формула $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_4H_8O$ и представлява азитромицин монохидрат хеми-тетрахидрофуран солват.

Азитромицин форма R е с формула $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_5H_{12}O$ и представлява азитромицин монохидрат моно-метил tert-бутилов етер солват.

Азитромицин форма D е с формула $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_6H_{12}$ и представлява азитромицин монохидрат моноциклохексан солват. Прахообразни образци от форма D, съдържащи 2-6% тегл. вода и 3-12% тегл. циклохексан са допълнително охарактеризирани и имат пикове на праховата рентгенова дифрактограма при 2θ , както са отразени в Таблица 9. ^{13}C ssNMR спектрите на форма D имат един пик на химично отместване при приблизително 179 ± 1 ppm, онзи от 178.6 ± 0.2 ppm, пикове при 103.9 ± 0.2 ppm, 95.1 ± 0.2 ppm 84.2 ± 0.2 ppm и серия от три пика между 8.4 и 11 ppm.

Изобретението се отнася и до методи за получаване на азитромицин форма D чрез суспендиране на азитромицин дихидрат с циклохексан.

Азитромицин форма E е с формула $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_4H_8O$ и представлява азитромицин монохидрат моно-тетрахидрофуран солват.

Изобретението също се отнася и до азитромицин в аморфно състояние и метод за получаване на аморфен азитромицин, който включва отделяне на вода и/или разтворители от кристалната решетка на азитромицина. Рентгеновата дифрактограма на прахообразни образци от аморфен азитромицин показва липса на остри 2θ пикове, но има два широки обли пика. Първият пик се наблюдава между 4° и 13° . Вторият пик се наблюдава между 13° и 25° .

Изобретението също се отнася и до фармацевтични състави за лечение на бактериални инфекции или протозойни инфекции при бозайници, риби или птици, които включват терапевтично ефективни количества от кристалните съединения, описани по-горе или аморфен азитромицин и фармацевтично приемлив носител.

Изобретението също се отнася до метод за лечение на бактериални инфекции или протозойни инфекции при бозайници, риби или птици, който включва прилагането върху посочените бозайници, риби или птици на терапевтично ефективно количество от кристалните съединения, описани по-горе или аморфен азитромицин.

Настоящото изобретение се отнася също и до методи за получаване на кристални форми на азитромицин, който включва суспендиране на азитромицин в подходящ разтворител или разтваряне на азитромицин в загрят органичен разтворител или разтвор органичен разтворител/вода и утаяване на кристалния азитромицин чрез охлаждане на разтвора с намаляване на количеството на разтворителя, или чрез разтваряне на азитромицин в разтворител или разтворителна смес и утаяване на кристалния азитромицин чрез прибавяне на вода към разтвора. Азитромицин в аморфно състояние се получава чрез загряване на кристалния азитромицин под вакуум.

Терминът "лечение", както е използван тук, ако не е отбелязано друго, означава лечението или профилактиката на бактериални инфекции или

протозойни инфекции, както е описано в методите на настоящото изобретение, включително лечение, подтискане на симптомите или забавяне на развитието на посочените инфекции. Термините “лекувам” и “лекуване” са дефинирани в съответствие с предшестващия термин “лечение”.

Терминът “практически свободен” когато се отнася до посочените кристални форми на азитромицин означава, че има наличие на по-малко от 20% тегловни от посочената(ите) кристална(и) форма(и), за предпочитане има наличие на по-малко от 10% тегловни от посочената(ите) кристална(и) форма(и), още по-предпочетено е наличие на по-малко от 5% тегловни от посочената(ите) кристална(и) форма(и) и най-предпочетено е наличие на по-малко от 1% тегловен от посочената(ите) кристална(и) форма(и). Например азитромицин форма F практически свободен от азитромицин дихидрат означава форма F с 20% (тегловни) или по-малко от азитромицин дихидрат, по-предпочетено е 10% (тегловни) или по-малко наличие на азитромицин дихидрат, най-предпочетено е 1% (тегловен) или по-малко наличие на азитромицин дихидрат.

Терминът “практически чист” когато се отнася до посочените кристални форми на азитромицин означава, че посочената кристална форма съдържа по-малко от 20% (тегловни) от остатъчни компоненти като друга(и) полиморфна(и) или изоморфна(и) кристална(и) форма(и) азитромицин. За предпочитане е практически чистата кристална форма азитромицин да съдържа по-малко от 10%(тегловни) друга(и) полиморфна(и) или изоморфна(и) кристална(и) форма(и) азитромицин, по-предпочетено е наличие на по-малко от 5%(тегловни) друга(и) полиморфна(и) или изоморфна(и) кристална(и) форма(и) азитромицин, а най-предпочетено е наличие на по-малко от 1%(тегловен) друга(и) полиморфна(и) или изоморфна(и) кристална(и) форма(и) азитромицин.

Терминът “практически без азитромицин дихидрат” когато се отнася до кристален азитромицин в насипно състояние или до състав, съдържащ

10 11 9

кристален азитромицин, означава, че кристалният азитромицин съдържа по-малко от около 5% (тегловни) от азитромицин дихидрат, по-предпочетено е съдържание под 3% (тегловни) от азитромицин дихидрат и най-предпочетено е количество от 1% (тегловен) азитромицин дихидрат.

Както е употребен тук, освен ако друго не е отбелязано, терминът “бактериална(и) инфекция(и)” или “протозойна инфекция” включва бактериални инфекции и протозойни инфекции и заболявания, предизвикани от такива инфекции, които се срещат при бозайници, риби и птици, както и разстройства, свързани с бактериални инфекции и протозойни инфекции, които могат да бъдат лекувани или предотвратени чрез прилагане на антибиотици като съединенията от настоящото изобретение. Такива бактериални инфекции и протозойни инфекции и разстройства свързани с такива инфекции включват, но не се ограничават до: пневмония, отит на средното ухо, синусит, бронхит, тонзилит и мастоидит, свързани с инфекция от *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus* или *Peptostreptococcus spp.*; фарингит, ревматична треска, гломерулонефрит, свързани с инфекции от *Streptococcus pyogenes*, стрептококи Група С и G, *Clostridium diphtheriae* или *Actinobacillus haemolyticum*; инфекции на респираторния тракт, свързани с инфекции от *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* или *Chlamydia pneumoniae*; неусложнени кожни и леки тъканни инфекции, абсцеси и остеомиелити и плеврални възпаления, свързани с инфекции от *Staphylococcus aureus*, coagulase-positive staphylococci (например *S. epidermidis*, *S. hemolyticus*, etc.), *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, Стрептококови групи C-F (minute-colony streptococci), viridans streptococci, *Corynebacterium minutissimum*, *Clostridium spp.*, или *Bartonella henselae*; неусложнени остри инфекции на уринарния тракт, свързани с инфекции, причинени от *Staphylococcus saprophyticus* или *Enterococcus spp.*; уретрит и цервицит; полово предавани болести, свързани с

инфекции, причинени от *Chlamydia trachomatis*, *Haemophilus ducreyi*, *Treponema pallidum*, *Ureaplasma urealyticum*, или *Neisseria gonorrhoeae*; токсични заболявания, свързани с инфекции, причинени от *S. aureus* (хранителни отравяния и токсичен шок синдром), или Групи А, В и С стрептококи; язви свързани с инфекции, причинени от *Helicobacter pylori*; общи фебрилни състояния, свързани с инфекции, причинени от *Borrelia recurrentis*, заболяване на Lyme, свързано с инфекции, причинени от *Borrelia burgdorferi*; конюнктивит, кератит и дакриоцистит, свързани с инфекции, причинени от *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *H. influenzae* или *Listeria spp.*; дизсеминирано *Mycobacterium avium complex* (MAC) заболяване, свързано с инфекция, причинена от *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*; гастроентерит, свързан с инфекция, причинена от *Campylobacter jejuni*; чревна протозоа, свързана с инфекция, причинена от *Cryptosporidium spp.*; одонтогенни инфекции, свързани с инфекции, причинени от viridans streptococci; упорита кашлица, свързана с инфекция, причинена от *Bordetella pertussis*; газова гангрена, свързана с инфекция, причинена от *Clostridium perfringens* или *Bacteroides spp.*; и атеросклероза, свързана с инфекция, причинена от *Helicobacter pylori* или *Chlamydia pneumoniae*. Включени са също атеросклероза и малария. Бактериалните инфекции и протозойните инфекции и разстройствата, свързани с такива инфекции, които могат да се лекуват или предотвратят при животни, включват, но не се ограничават до респираторни заболявания при воловете, свързани с инфекции, причинени от *P. haem*, *P. multocida*, *Mycoplasma bovis* или *Bordetella spp.*; ентерични заболявания при крави, свързани с инфекции, причинени от *E. Coli* или *protozoa* (например coccidia, cryptosporidia и т.н.); мастити при млечни крави, свързани с инфекции, причинени от *Staph. aureus*, *Strep. uberis*, *Strep. agalactiae*, *Strep. dysgalactiae*, *Klebsiella spp.*, *Corynebacterium* или *Enterococcus spp.*; респираторни заболявания при свине, свързани с

инфекции, причинени от *A. pleuro*, *P. multocida* или *Mycoplasma spp.*; ентерични заболявания при свине, свързани с инфекции причинени от *E. coli*, *Lawsonia intracellularis*, *Salmonella* или *Seprulina hyodysinteriae*; гниене на краката при кравите, свързан с инфекция, причинена от *Fusobacterium spp.*; метрит при кравите свързан с инфекция, причинена от *E. coli*; окосмени брадавици при кравите свързани с инфекции, причинени от *Fusobacterium necrophorum* или *Bacteroides nodosus*; розови очи при кравите, свързани с инфекции, причинени от *Moraxella bovis*; преждевременно раждане при кравите, свързано с протозойни инфекции, (например neosporium); инфекции на уринарния тракт при кучета и котки, свързани с инфекции, причинени от *E. coli*; инфекции на кожата и меките тъкани при кучета и котки, свързани с инфекции, причинени от *Staph. Epidermidis*, *Staph. Intermedius*, *coagulase neg. Staph.* или *P. multocida*; инфекции на зъбите и устата при кучета и котки, свързани с инфекции, причинени от *Alcaligenes spp.*, *Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.*, *Enterobacter spp.*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas* или *Prevotella*. Други бактериални инфекции и протозойни инфекции и разстройства, свързани с такива инфекции, които могат да бъдат лекувани или предотвратявани съгласно методите на настоящото изобретение са описани от J. P. Stanford et al., "The Stanford Guide To Antimicrobial Therapy", 26th Edition, (Antimicrobial Therapy, Inc., 1996).

Настоящото изобретение включва също маркирани с изотопи съединения, при които един или повече атоми са заместени с атом, чиято атомна маса или номер се различават от атомната маса или номер, обикновено срещан в природата. Примери за изотопи, които могат да бъдат включени в съединенията от изобретението са изотопите на водорода, въглерода, азота, кислорода, фосфора, сярата, флуора и хлора, като например ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O и ^{17}O . Такива радиомаркирани, или маркирани със стабилни изотопи съединения са подходящи от изследователска или от диагностична гледна точка.

ОПИСАНИЕ НА ПРИЛОЖЕНИТЕ ФИГУРИ

Фигура 1 е изчислена рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма А. Абсцисната ос е градуси 2-тата (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 2 е експериментална рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма А. Абсцисната ос е градуси 2-тата (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 3 е наслагване на Фигури 1 и 2 с изчислената рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма А (Фигура 1) отдолу и експерименталната рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма А (Фигура 2) отгоре. Абсцисната ос е градуси 2-тата (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 4 е изчислена рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма С. Абсцисната ос е градуси 2-тата (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 5 е изчислена рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма D. Абсцисната ос е градуси 2-тата (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 6 е експериментална рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма D. Абсцисната ос е градуси 2-тата (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 7 е наслагване на Фигури 5 и 6 с изчислената рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма D (Фигура 5) отдолу и експерименталната рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма D (Фигура 6) отгоре. Абсцисната ос е градуси 2-тата (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 8 е изчислена рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма Е. Абсцисната ос е градуси 2-тата (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 9 е изчислена рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма F. Абсцисната ос е градуси 2-тита (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 10 е експериментална рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма F. Абсцисната ос е градуси 2-тита (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 11 е наслагване на Фигури 9 и 10 с изчислената рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма F (Фигура 9) отдолу и експерименталната рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма F (Фигура 10) отгоре. Абсцисната ос е градуси 2-тита (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 12 е изчислена рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма G. Абсцисната ос е градуси 2-тита (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 13 е експериментална рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма G. Абсцисната ос е градуси 2-тита (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 14 е наслагване на Фигури 12 и 13 с изчислената рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма G (Фигура 12) отдолу и експерименталната рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма G (Фигура 13) отгоре. Абсцисната ос е градуси 2-тита (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 15 е изчислена рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма J. Абсцисната ос е градуси 2-тита (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 16 е експериментална рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма J. Абсцисната ос е градуси 2-тита (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 17 е наслагване на Фигури 15 и 16 с изчислената рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма J (Фигура 15) отдолу и експерименталната рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма J (Фигура 16) отгоре. Абсцисната ос е градуси 2-тита (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 18 е експериментална рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма M. Абсцисната ос е градуси 2-тита (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 19 е експериментална рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма N. Абсцисната ос е градуси 2-тита (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 20 е експериментална рентгенова дифрактограма на прахообразен образец от аморфен азитромицин. Абсцисната ос е градуси 2-тита (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 21 е ^{13}C NMR спектър на образец от азитромицин Форма A в твърдо състояние.

Фигура 22 е ^{13}C NMR спектър на образец от азитромицин Форма D в твърдо състояние.

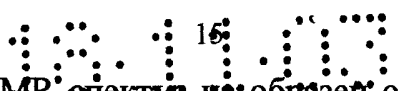
Фигура 23 е ^{13}C NMR спектър на образец от азитромицин Форма F в твърдо състояние.

Фигура 24 е ^{13}C NMR спектър на образец от азитромицин Форма G в твърдо състояние.

Фигура 25 е ^{13}C NMR спектър на образец от азитромицин Форма J в твърдо състояние.

Фигура 26 е ^{13}C NMR спектър на образец от азитромицин Форма M в твърдо състояние.

Фигура 27 е ^{13}C NMR спектър на образец от азитромицин Форма N в твърдо състояние.



Фигура 28 е ^{13}C NMR спектър на образец от аморфен азитромицин в твърдо състояние.

Фигура 29 е ^{13}C NMR спектър на фармацевтична таблета, съдържаща азитромицин Форма G.

Фигура 30 е експериментална рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма Q. Абсцисната ос е градуси 2-тата (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 31 е експериментална рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма R. Абсцисната ос е градуси 2-тата (2θ). Ординатната ос е интензитета в бройки.

Фигура 32 е ^{13}C NMR спектър на образец от азитромицин Форма H в твърдо състояние.

Фигура 33 е ^{13}C NMR спектър на образец от азитромицин Форма R в твърдо състояние.

Подробно описание на изобретението

Установено е, че азитромицинът съществува в различни кристални форми. В EP 298650 и US 4512359 са описани съответно дихидрат, Форма A и нестехиометричен хидрат, Форма B. Установени са шестнадесет други форми, а именно Форми C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q и R. Тези форми са или хидрати или хидрат/солвати на азитромицин свободна база. Форми L и K са метастабилни нисши хидратни форми на Форма A, установени при висока температура. Кристалните структури на Форми A, C, D, E, F, G, H, J и O са разтворени. Структурните данни на тези кристални форми са дадени по-долу:

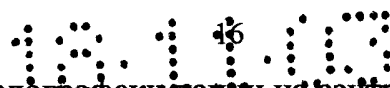


Таблица 1: Кристалографски данни на азитромицин Форма А.

	Форма А
Емпирична формула	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 2H_2O$
Молекулно тегло (по формула)	785.2
Размер на кристала (мм)	0.19 x 0.24 x 0.36
Пространствена група	$P2_12_12_1$ орторомбична
Размери на единичната клетка	$a=14.735(5)$ Е $b=16.844(7)$ Е $c=17.81(1)$ Е $\alpha=90^\circ$ $\beta=90^\circ$ $\gamma=90^\circ$
Z (за формула)	4
Плътност (g/cm^3)	1.18
R	0.060

Таблица 2: Кристалографски данни на азитромицин Форма С.

	Форма С
Емпирична формула	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O$
Молекулно тегло (по формула)	767.15
Размер на кристала (мм)	0.16 x 0.16 x 0.19
Пространствена група	$P2_12_12_1$ орторомбична
Размери на единичната клетка	$a=8.809(3)$ Е $b=12.4750(8)$ Е $c=45.59(3)$ Е $\alpha=90^\circ$ $\beta=90^\circ$ $\gamma=90^\circ$
Z (за формула)	4
Плътност (g/cm^3)	1.01
R	0.106

18 · 11 · 17 · 10

Таблица 3: Кристалографски данни на азитромицин Форма D.

	Форма D
Емпирична формула	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_4H_{12}$
Молекулно тегло (по формула)	851.15
Размер на кристала (мм)	0.52 x 0.32 x 0.16
Пространствена група	$P2_12_12_1$ орторомбична
Размери на единичната клетка	$a=8.8710(10) \text{ \AA}$ $b=12.506(2) \text{ \AA}$ $c=45.697(7) \text{ \AA}$ $\alpha=90^\circ$ $\beta=90^\circ$ $\gamma=90^\circ$
Z (за формула)	4
Плътност (г/см^3)	1.12
R	0.0663

Таблица 4: Кристалографски данни на азитромицин Форма E.

	Форма E
Емпирична формула	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_4H_8O$
Молекулно тегло (по формула)	839.2
Размер на кристала (мм)	0.17 x 0.19 x 0.20
Пространствена група	$P2_12_12_1$ орторомбична
Размери на единичната клетка	$a=8.869(3) \text{ \AA}$ $b=12.086(3) \text{ \AA}$ $c=46.00(1) \text{ \AA}$ $\alpha=90^\circ$ $\beta=90^\circ$ $\gamma=90^\circ$
Z (за формула)	4
Плътност (г/см^3)	1.13
R	0.087

Таблица 5: Кристалографски данни на азитромицин Форма F.

	Форма F
Емпирична формула	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_2H_6O$
Молекулно тегло (по формула)	790.2
Размер на кристала (мм)	0.14 x 0.20 x 0.24
Пространствена група	$P2_1$ моноклинна
Размери на единичната клетка	$a=16.281(2)$ Е $b=16.293(1)$ Е $c=18.490(3)$ Е $\alpha=90^\circ$ $\beta=109.33(1)^\circ$ $\gamma=90^\circ$
Z (за формула)	4
Плътност (g/cm^3)	1.13
R	0.0688

Таблица 6: Кристалографски данни на азитромицин Форма G.

	Форма G
Емпирична формула	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 1.5H_2O$
Молекулно тегло (по формула)	776.0
Размер на кристала (мм)	0.04 x 0.20 x 0.24
Пространствена група	$P2_1$ моноклинна
Размери на единичната клетка	$a=16.4069(8)$ Е $b=16.2922(8)$ Е $c=18.3830(9)$ Е $\alpha=90^\circ$ $\beta=110.212(2)^\circ$ $\gamma=90^\circ$
Z (за формула)	4
Плътност (g/cm^3)	1.12
R	0.0785

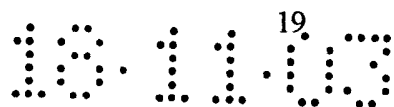


Таблица 7: Кристалографски данни на азитромицин Форма Н.

	Форма Н
Емпирична формула	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_3H_8O_2$
Молекулно тегло (по формула)	805.0
Размер на кристала (мм)	0.04 x 0.20 x 0.24
Пространствена група	$P2_1$ моноклинна
Размери на единичната клетка	$a=16.177(1)$ Е $b=16.241(2)$ Е $c=18.614(1)$ Е $\alpha=90^\circ$ $\beta=108.34(1)^\circ$ $\gamma=90^\circ$
Z (за формула)	4
Плътност (g/cm^3)	1.15
R	0.0687

Таблица 8: Кристалографски данни на азитромицин Форма J.

	Форма J
Емпирична формула	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 0.5C_3H_8O$
Молекулно тегло (по формула)	796.0
Размер на кристала (мм)	0.40 x 0.36 x 0.20
Пространствена група	$P2_1$ моноклинна
Размери на единичната клетка	$a=16.191(6)$ Е $b=16.237(10)$ Е $c=18.595(14)$ Е $\alpha=90^\circ$ $\beta=108.92(4)^\circ$ $\gamma=90^\circ$
Z (за формула)	4
Плътност (g/cm^3)	1.14
R	0.0789

Таблица 8А: Кристалографски данни на азитромицин Форма О.

	Форма О
Емпирична формула	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 0.5H_2O \cdot C_4H_{10}O$
Молекулно тегло (по формула)	795.04
Размер на кристала (мм)	0.40 x 0.36 x 0.20
Пространствена група	$P2_1$ моноклинна
Размери на единичната клетка	$a=16.3602(11) \text{ \AA}$ $b=16.2042(11) \text{ \AA}$ $c=18.5459(12) \text{ \AA}$ $\alpha=90^\circ$ $\beta=109.66(10)^\circ$ $\gamma=90^\circ$
Z (за формула)	4
Плътност (г/см^3)	1.14
R	0.0421

Сред тези шестнадесет кристални форми са определени две изоморфни групи. Група I включва форми F, G, H, J, M, N, O и P. Група II включва формите C, D, E и R. Форма Q е различна от Групи I и II. Формите в отделните групи са изоморфи, които кристализират в същите пространствени структури с малки различия в параметрите на кристалната клетка и включват близки химични структури, но с различен елементен състав. В този случай промените в химичния състав между изоморфите възникват от включването на различни молекули вода/разтворител. Следователно, изоморфите показват подобни, но не идентични рентгенови дифрактограми и NMR-спектри на твърди образци. Други техники като например спектроскопия в близката инфрачервена област (NIR), диференциално сканираща калориметрия (DSC), газ хроматография (GC), термогравиметричен анализ (TGA) или термогравиметричен анализ/инфрачервена спектроскопия (TG-IR), анализ за вода по Karl Fischer (KF) и молекулно моделиране/визуализация, осигуряват данни, потвърждаващи идентификацията на изоморфите. Температурите на

21

дехидратиране/десолватиране са определени чрез DSC при скорост на нагряване 5°C/минута.

Форма С: Тази кристална форма е идентифициран като единична кристална структура (Таблица 2) – монохидрат на азитромицин. Тя притежава пространствена група $P2_12_12_1$ и параметри на клетката, подобни на тези от Форма D и E, следователно тя принадлежи към изоморфите от Група II. Изчислените и параметри са подобни на тези от Форми D и E.

Форма D: Форма D кристализира от циклохексан. Единичната кристална структура на Форма D показва стехиометрия на монохидрат/моноциклохексан солвата на азитромицин (Таблица 3). Установено е, че молекулите на циклохексана могат да се намерят в кристалната решетка. От данните за монокристала, изчисленото съдържание на вода и циклохексан във Форма D са съответно 2.1% и 9.9%. Експерименталните и изчислените дифрактограми на Форма D са подобни на тези от Форми С и E. Праховите образци на Форма D показват ендотерма на десолватация/дехидратация с начална температура при около 87°C и широка ендотерма между 200-280°C (на деструкция) при DSC анализ със скорост на нагряване 5°C/минута в температурния интервал от 30 °C до 300°C.

Форма D се получава чрез суспендиране на азитромицин в циклохексан в продължение на 2 – 4 дни. Твърдият азитромицин Форма D се изолира чрез филтруване и сушене.

Форма E: Форма E се получава като единичен кристал при изолиране от среда тетраhydroфуран/вода. При анализ на кристала е установено, че тя е монохидрат и монотетраhydroфуран солват (Таблица 4). По своята кристална структура на клетката, изчислените параметри са подобни на тези от Форми С и D, което я прави изоморф от Група II.

Форма E се получава чрез разтваряне на азитромицин в тетраhydroфуран. Пропускането на водни пари през наситения разтвор на

азитромицин в тетраhydroфурат (THF), води до получаване на кристали от Форма Е.

Форма F: Единичният кристал от Форма F кристализира като моноклинна пространствена група $P2_1$ с асиметрична клетка, която съдържа две молекули азитромицин, две молекули вода и една молекула етанол във вид на монохидрат/хеми-етанолат (Таблица 5). Тя е изоморфна на всички кристални форми азитромицин от Група I. Изчислените параметри на тази форма са подобни на онези от другите изоморфи от Група I. Теоретичното съдържание на вода и етанол е съответно 2.3% и 2.9%. Прахообразните образци показват ендотерма на дехидратация/десолватация при начална температура между 110-125°C. Форма F се получава чрез разтваряне на азитромицин в етанол (1-3 обема спрямо теглото) при температура от около 50-70°C. Непосредствено след пълното разтваряне, разтворът се охлажда до температури под обикновената, което предизвиква утаяване. Количеството на етанола може да се намали чрез вакуум дестилация с разбъркване в продължение на 1-2 часа, което повишава добива. Като алтернатива, може да бъде добавена вода (по избор охладена до 0-20°C) около 0.1-2 обема с изолиране на твърдия продукт 30 минути след прибавяне на водата. Охлаждането на етанолния разтвор на азитромицин преди прибавянето на вода до под 20°C, за предпочитане до под 15°C, по-предпочетено до под 10°C и най-предпочетено до под 5°C, води до получаването на практически чист азитромицин Форма F. Твърдият азитромицин Форма F се изолира чрез филтруване и сушене.

Форма G: Единичната кристална структура на Форма G се състои от две молекули азитромицин и три молекули вода на асиметрична клетка (Таблица 6). Тя съответства на сескихидрат с теоретично съдържание на вода 3.5%. Съдържанието на вода в прахообразни образци от Форма G се изменя от 2.5% до 6%. Общото количество на остатъчния органичен разтворител е под 1% от съответния разтворител, използван при кристализация, което е под



стехиометричното количество на солвата. Тази форма дехидратира при температури около 110°C-120°C.

Форма G може да се получи чрез прибавяне на азитромицин към предварително приготвена смес органичен разтворител/вода (1/1 обемно), като органичният разтворител може да бъде метанол, ацетон, ацетонитрил, етанол или изопропанол. Сместа се разбърква и нагрява до повишена температура, например 45°C-55°C в продължение на 4-6 часа, което предизвиква разтваряне. Утаяването се осъществява при охлаждане до обикновена температура. Твърдият азитромицин Форма G се изолира чрез филтруване и сушене.

Форма H: Тази форма представлява монохидрат/неми-пропилен гликол солват на азитромицин свободна база (Таблица 7). Тя се изолира от формиращ разтвор, съдържащ пропилен гликол. Кристалната структура е изоморфна на кристални форми от Група I.

Азитромицин форма H се получава чрез разтваряне на азитромицин дихидрат в 6 обема пропилен гликол. Към полученият разтвор на азитромицин в пропилен гликол се прибавят два обема вода, при което започва утаяване. Суспензията се разбърква в продължение на 24 часа, след което твърдият продукт се филтрува и се суши на въздух при обикновена температура като се получава кристална форма H.

Форма J: Форма J е монохидрат/хеми n-пропанол солват (Таблица 8). Изчисленото съдържание на разтворител е около 3.8% n-пропанол и около 2.3% вода. Експерименталните данни показват съдържание на n-пропанол от около 2.5% до около 4.0% и съдържание на вода от около 2.5% до около 3% в прахообразни образци. Кристалографските данни са много близки до тези на изоморфите F, G, H, M и N. Подобно на Форми F и G, прахообразните образци показват ендотерма на дехидратиране/десолватация при 115°C-125°C.

Форма J се получава чрез разтваряне на азитромицин в 4 обема n-пропанол при температура около 25-55°C. Прибавя се вода около 6-7 обема при стайна температура и получената суспензия се разбърква непрекъснато в продължение на 0.5-2 часа. Твърдият азитромицин Форма J се изолира чрез филтруване и сушене.

Форма K: Кристалографските данни на Форма K са установени на смес от азитромицин Форма A и микрокристален восък след наляване при 95°C в продължение на 3 часа. Азитромицин Форма K представлява нисш хидрат на Форма A и е метастабилна високотемпературна форма.

Форма L: Тази форма е установена единствено при наляване на дихидрат, Форма A. При изследване на рентгеноструктурна дифракция с променлива температура, се наблюдава нова рентгенова дифрактограма на прахообразни образци, когато азитромицин Форма A се налява до около 90°C. Новата форма, означена като Форма L е нисш хидрат на Форма A, тъй като Форма A губи около 2.5% тегл. при 90°C (установено термогравиметрично), което съответства на превръщането и в монохидрат. При охлаждане до обикновена температура, Форма L бързо се връща към Форма A.

Форма M: Изолираната от суспензия с изопропанол/вода, Форма M включва както вода, така и изопропанол. Нейните рентгенова дифрактограма и NMR спектър на твърдо тяло са подобни на изоморфите от Група I, което показва, че тя принадлежи към Група I. По аналогия на известните кристални структури на изоморфите от Група I, единичната кристална структура на Форма M би трябвало да бъде монохидрат/хеми-изопропанолат. Температурата на дехидратация/десолватация на Форма M е около 115°C-125°C.

Форма M може да се получи чрез разтваряне на азитромицин в 2-3 обема изопропанол при 40-50°C. Разтворът се охлажда до под 15°C, за предпочитане до под 10°C, по-предпочетено до под 5°C, след което се

18 25 110

прибавят 2-4 обема студена вода с температура около 5°C, за да се предизвика утаяване. В началото на кристализацията могат да се прибавят зародиши на кристали от азитромицин Форма М. Суспензията се разбърква по-малко от 5 часа, за предпочитане по-малко от 3 часа, по-предпочетено е по-малко от 1 час и най-предпочетено около 30 минути и по-малко и твърдият продукт се изолира чрез филтруване. Твърдият продукт може да се суспендира отново в изопропанол. Тази процедура осигурява Форма М практически без азитромицин дихидрат.

Форма N: Изолираните от суспензията на азитромицин Форма А в смес от вода/етанол/изопропанол, кристали азитромицин Форма N могат да съдържат различни количества кристализационни разтворители и вода. Тяхното съдържание на вода варира от около 3.4 до около 5.3 тегловни процента. Анализът с газхроматограф GC Headspace показва променливо съдържание на разтворител етанол и изопропанол. Общото съдържание на разтворител на образци от Форма N обикновено е по-ниско от около 5% и зависи от условията на получаване и сушене. Рентгеноструктурните дифрактограми на образци от Форма N са подобни на изоморфни Форми F, G, H, J и M от Група I. Изотермите на дехидратация/десолватация на образци от Форма N могат да бъдат по-широки и могат да варират между 110-130°C.

Азитромицин Форма N може да се получи чрез рекристализация на смес от кристали азитромицин, включващи в кристалната клетка органичен разтворител и вода, такива като етанол, изопропанол, n-пропанол, ацетон, ацетонитрил и др. Сместа от разтворители се нагрява до 45-60°C, след което към горещата смес от разтворители се прибавя азитромицин общо до около 4 обема. Непосредствено след разтварянето се прибавят 1-3 обема вода при непрекъснато разбъркване при температура 45-60°C. Азитромицин Форма N се утаява във вид на бял твърд продукт. Суспензията се оставя да се охлади до обикновена температура при непрекъснато разбъркване. Твърдият азитромицин Форма N се изолира чрез филтруване и сушене.

Форма О: Тази кристална форма е хемихидрат хеми-п-бутанол солват на азитромицин свободна база с определени кристалографски данни (Таблица 8А). Тя се получава от разтвор на азитромицин в п-бутанол при дифузия на утаител. Кристалната структура на Форма О е изоморфна на кристалните форми от Група I.

Азитромицинът се разтваря напълно в п-бутанол. Прибавянето на утаител, като хексан, вода, изопропилов етер или друг утаител чрез дифузия, води до утаяване на Форма О.

Форма Р: Това е предполагаема кристална форма, представляваща хемихидрат хеми-п-пентанол солват на азитромицин свободна база. Може да се получи от разтвор на азитромицин в п-пентанол при дифузия на утаител. Кристалната структура на Форма Р е изоморфна на кристалните форми от Група I.

Форма Р може да се получи както следва: Азитромицинът се разтваря напълно в п-пентанол; прибавянето на утаител като хексан, вода, изопропилов етер или друг утаител чрез дифузия, води до утаяване на Форма Р.

Форма Q: Кристалната Форма Q на азитромицин показва уникална рентгенова дифрактограма на прахообразния образец. Тя съдържа около 4% вода и около 4.5% тетраhydroфуран, като представлява хидрат хеми-тетраhydroфуран солват. Основната температура на дехидратация/десолватация е от около 80°C до около 110°C.

Азитромицин дихидрат се разтварят в 6 обема тетраhydroфуран, след което се прибавят 2 обема вода. Разтворът се оставя да се изпари до сухо при обикновени условия, при което се получава кристална Форма Q.

Форма R: Тази кристална форма се получава чрез прибавяне на аморфен азитромицин към 2.5 обема tert-бутил метил етер (MTBE). Получената плътна бяла суспензия се разбърква три дни при обикновени условия. Твърдият продукт се изолира чрез вакуум филтруване и се суши на

27.
въздух. Получената маса азитромицин. Форма R има теоретично съдържание на вода 2.1% тегловни и теоретично съдържание на метил tert-бутил етер 10.3% тегловни.

Поради подобие на техните структури, изоморфите имат склонност да образуват смеси от различни Форми в Групата, понякога определяни като “смесени кристали” или “твърди разтвори на кристали”. Форма N е такъв твърд разтвор на кристали и чрез състави разтворител и данни от ss-NMR е установено, че представлява смес от изоморфи от Група I.

Изоморфите от Група I и Група II са хидрати и/или солвати на азитромицин. Молекулите на разтворителя от кухините имат склонност да се обменят между разтворителя и водата при специфични условия. Следователно, съдържанието на разтворител/вода в изоморфа може да се изменя в широка степен.

Кристалните форми на изоморфна Група I са по-стабилни от Форма A, когато се подлагат на нагряване. Форми F, G, H, J, M и N показват по-висока начална температура на дехидратация при 110-125°C, отколкото Форма A с начална температура на дехидратация от около 90 до около 110°C и едновременно твърдофазно превръщане във Форма L при около 90°C.

Аморфен азитромицин: Всички кристални форми азитромицин съдържат вода или разтворител(и) или вода и разтворител(и). Когато водата и разтворителят(ите) се отделят от твърдия кристален продукт, азитромицинът се превръща в аморфен. Аморфният твърд продукт има предимството на висока начална скорост на разтваряне.

Изходният продукт за синтез на различни кристални форми в примерите по-долу е азитромицин дихидрат, ако друго не е отбелязано. Могат да бъдат използвани и други форми на азитромицин като аморфен азитромицин или други не-дихидратни кристални форми на азитромицин.

ПРИМЕРИ ЗА ИЗПЪЛНЕНИЕ НА ИЗОБРЕТЕНИЕТО

Пример 1: Получаване на Форма D

Форма D се получава чрез суспендиране на азитромицин дихидрат в циклохексан в продължение на 2 – 4 дни при повишена температура, например 25-50°C. Кристалният твърд продукт на Форма D се изолира чрез филтруване и сушене.

Пример 2: Получаване на Форма F

2A: Към един обем топъл етанол, около 70°C, бавно се прибавя азитромицин дихидрат като разбъркването при 65-70°C продължава до пълното разтваряне. За да се улесни кристализацията могат да се прибавят 1-2% тегл. зародиши на Форма F. Разтворът се оставя да се охлади постепенно до 2-5°C и се прибавя един обем леденостудена вода. Кристалният твърд продукт се изолира веднага (за предпочитане по-малко от 30 минути) след прибавяне на водата чрез вакуум филтруване.

2B : Към един обем топъл етанол, около 70°C, бавно се прибавя азитромицин дихидрат като разбъркването при 65-70°C продължава до пълното разтваряне. За да се улесни кристализацията могат да се прибавят 1-2% тегл. зародиши на Форма F. Разтворът се оставя да се охлади постепенно до 2-5°C и количеството на етанола може да се намали чрез вакуум дестилация. Изолирането на кристалите дава практически чист азитромицин Форма F, азитромицин Форма F практически чист от азитромицин Форма G и азитромицин Форма F практически чист от азитромицин дихидрат.

Пример 3: Получаване на Форма G

Реакционна колба се зарежда с азитромицин Форма A. В отделна колба се смесват 1.5 обема метанол и 1.5 обема вода. Сместа от разтворители се прибавя към реакционната колба, съдържаща азитромицин Форма A.

Суспензията се разбърква при ²⁰нагряване до 50°C в продължение на приблизително 5 часа. Нагряването се прекъсва и суспензията се оставя да изстине при разбъркване до обикновена температура. Азитромицин Форма G се изолира чрез филтруване и се оставя да се суши на въздуха в продължение на приблизително 30 минути. Събраният азитромицин Форма G допълнително се суши във вакуум сушилня при 45°C. Тази процедура води до получаването на практически чист азитромицин Форма G и азитромицин Форма G практически чиста от азитромицин дихидрат.

Пример 4: Получаване на Форма J

Форма J се получава чрез разтваряне на азитромицин в 4 обема n-пропанол при температура около 25°C. Прибавя се вода (6.7 обема) и суспензията се разбърква непрекъснато в продължение на 1 час, след което се охлажда до около 0°C. Твърдият продукт азитромицин Форма J се изолира чрез филтруване и сушене.

Пример 5: Получаване на Форма M, практически чиста от азитромицин дихидрат

5A: Азитромицин дихидрат се разтваря напълно в 2 обема топъл изопропанол 40 – 50°C. По избор могат да бъдат прибавени зародиши от азитромицин Форма M, за да се улесни кристализацията. След това разтворът се охлажда до 0-5°C и като утайтел се прибавят 4 обема леденостудена вода. Твърдият продукт се изолира чрез вакуум филтруване. Твърдият продукт се суспендира отново в 1 обем изопропанол в продължение на 3-5 часа при 40-45°C и след това се охлажда до 0-5°C. Кристалният твърд продукт се изолира веднага (около 15 минути) след прибавянето на водата чрез вакуум филтруване. Твърдият продукт се суспендира отново в 0.5 до 1 обем изопропанол при 25-40°C, охлажда се до около 5°C, след което чрез вакуум филтруване се изолира твърдия азитромицин Форма M.

30.
(1940 г.) се разтваря на



Пример 6: Получаване на Форма N

Пример 7: Получаване на аморфен азитромицин

Кристален азитромицин Форма А се нагрява под вакуум в сушилня до 110-120°C за едно денонощие. Ако е необходимо, аморфният твърд продукт се изолира и съхранява в ексикатор в присъствие на сушител.

Пример 8: Получаване на Форма Н

Азитромицин дихидрат или друга кристална форма се разтваря в 6 обема пропилен гликол. Към полученият разтвор на азитромицин в пропилен гликол се прибавят два обема вода, което предизвиква утаяване. Суспензията се разбърква в продължение на 24 часа, твърдият продукт се филтрува и се суши на въздух при обикновена температура, при което се получава кристална Форма Н.

Пример 9: Получаване на Форма Q

Кристалният прах се получава чрез разтваряне на 500 мг азитромицин Форма А в два обема тетраhydroфуран. Към бистрият безцветен разтвор при стайна температура се прибавя 1 мл вода. Когато разтворът помътнее, се прибавя 1 мл тетраhydroфуран, за да разтвори напълно азитромицина и разтворът се разбърква при обикновена температура. Разтворителят се оставя да се изпарява около 7 дни, след което сухият твърд продукт се изолира и характеризира.

Пример 10: Рентгеноструктурен (X-Ray) дифракционен анализ на прахообразни образци

Праховите дифрактограми се получават като се използва дифрактометър Bruker D5000 (Madison, Wisconsin), снабден с меден катод, фиксирани визьори (1.0, 1.0, 0.6 мм) и детектор Kevex. Данните са събрани при 2θ от 3.0 до 40.0 градуса, при използван размер на стъпката 0.04 градуса и на интервали от 1.0 секунди. Резултатите са отразени в Таблица 9.

32
Експерименталната рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма А е дадена на Фигура 2.

Експерименталната рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма D е дадена на Фигура 6.

Експерименталната рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма F е дадена на Фигура 10.

Експерименталната рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма G е дадена на Фигура 13.

Експерименталната рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма J е дадена на Фигура 16.

Експерименталната рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма M е дадена на Фигура 18.

Експерименталната рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма H е дадена на Фигура 19.

Експерименталната рентгенова дифрактограма на прахообразен образец аморфен азитромицин е дадена на Фигура 20.

Експерименталната рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма Q е дадена на Фигура 30.

Експерименталната рентгенова дифрактограма на прахообразен образец азитромицин Форма R е дадена на Фигура 31.

Експерименталното разсейване на резултатите от образец до образец е около $2\theta \pm 0.2^\circ$ като същото разсейване се наблюдава и между изчислените стойности на кристалната структура на единичния кристал и експерименталните данни. Подробният анализ показва, че изоморфите от Група I могат да бъдат различени по праховите рентгеноструктурни дифрактограми по стойностите на характерните пикове, дадени в Таблица 9.

Таблица 9. Пикове на рентгенова дифракция в $2\theta \pm 0.2^\circ$ на азитромицин

A	D	F	G	H	M	N	Q
7.2	<u>3.9</u>	5.7	5.0	5.0	5.0	<u>6.2</u>	5.7
7.9	7.3	<u>6.2</u>	5.8	5.7	5.6	7.3	6.1
<u>9.3</u>	7.7	7.4	<u>6.2</u>	<u>6.2</u>	<u>6.2</u>	7.8	<u>6.8</u>
9.9	<u>10.1</u>	7.8	7.4	7.3	7.3	9.8	<u>8.4</u>
11.2	<u>10.6</u>	8.9	7.9	7.8	7.8	<u>11.2</u>	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
<u>13.0</u>	12.8	<u>11.2</u>	10.8	10.3	10.2	<u>14.0</u>	11.5
14.0	13.6	<u>11.5</u>	<u>11.2</u>	<u>11.2</u>	<u>11.2</u>	<u>14.3</u>	12.4
15.6	14.5	11.9	<u>11.6</u>	<u>11.4</u>	11.9	<u>14.7</u>	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	<u>13.9</u>	13.3	12.5	<u>14.0</u>	<u>16.1</u>	14.1
17.5	18.3	<u>14.3</u>	<u>14.0</u>	<u>13.9</u>	<u>14.6</u>	<u>16.6</u>	14.4
18.2	19.0	<u>14.7</u>	<u>14.4</u>	<u>14.2</u>	15.3	<u>17.1</u>	14.9
<u>18.7</u>	19.9	<u>14.8</u>	<u>14.6</u>	<u>14.6</u>	<u>15.9</u>	<u>17.4</u>	16.3
19.1	20.8	15.3	<u>14.9</u>	15.3	<u>16.6</u>	18.5	17.2
19.8	<u>21.4</u>	15.7	15.3	15.7	<u>17.1</u>	19.0	18.2
20.5	21.6	<u>16.2</u>	15.7	<u>16.0</u>	<u>17.5</u>	19.6	19.0
20.9	22.0	<u>16.6</u>	<u>16.3</u>	<u>16.6</u>	18.4	20.0	19.5
21.2	23.0	<u>17.1</u>	<u>16.6</u>	<u>17.0</u>	18.5	20.4	19.8
21.6	23.3	<u>17.2</u>	<u>17.2</u>	<u>17.2</u>	19.1	<u>21.0</u>	<u>20.2</u>
21.8		<u>17.7</u>	<u>17.4</u>	<u>17.5</u>	19.6	21.8	20.5
24.0		18.0	<u>17.8</u>	18.1	20.0	<u>22.5</u>	21.1
		18.5	18.1	18.5	20.4	23.5	21.6
		19.0	18.6	19.0	<u>20.9</u>		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
		<u>21.0</u>	20.5	<u>20.9</u>	23.6		
		21.7	<u>21.1</u>	21.7			
		22.0	21.8	22.4			
		<u>22.4</u>	<u>22.5</u>	<u>22.6</u>			
		22.6	23.5	23.3			
		23.1		23.5			
		23.5					
A	D	F	G	J	M	N	Q

Подчертаните пикове са характерни за Форми А, D, Група I и Q.

Подчертаните пикове в стил *Italic* са групата пикове, които са характерни за изоморфите от Група I.

Изоморфите от Група I имат следните общи характеристики: дифракционни пикове при 2θ 6.2, 11.2, 21.0 ± 0.1 и 22.5 ± 0.1 градуса. Всеки изоморф притежава представителна група от дифракционни пикове, дадени по-нататък и всяка група притежава характерни разстояния между пиковите. Местата на дифракционните пикове са описани с точност за $2\theta \pm 0.2$ градуса.

Характерните рентгеноструктурни дифракционни пикове на образци от Форма А са дадени на Фигура 2. Форма А показва пикове при 2θ 9.3, 13.0 и 18.7 градуса.

Характерните рентгеноструктурни дифракционни пикове на образци от Форма D са дадени на Фигура 6. Форма D показва пикове при 2θ 3.9, 10.1, 10.6 и 21.4 градуса.

Характерните рентгеноструктурни дифракционни пикове на образци от Форма F са дадени на Фигура 10. Форма F показва пикове за Група I и три групи пикове: група пикове 1 при 2θ 11.2 и 11.5 градуса; група пикове 2 при

35

2 θ 13.9, 14.3, 14.7 и 14.8 градуса; група пикове 3 при 2 θ 16.2, 17.1, 17.2 и 17.7 градуса.

Характерните рентгеноструктурни дифракционни пикове на образци от Форма G са дадени на Фигура 13. Форма G показва пикове за Група I и три групи пикове: група пикове 1 при 2 θ 11.2 и 11.6 градуса; група пикове 2 при 2 θ 14.0, 14.4, 14.6 и 14.9 градуса; група пикове 3 при 2 θ 16.3, 16.6, 17.2, 17.4 и 17.8 градуса.

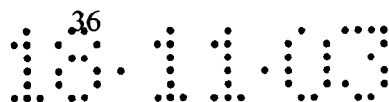
Характерните рентгеноструктурни дифракционни пикове на образци от Форма J са дадени на Фигура 16. Форма J показва пикове за Група I и три групи пикове: група пикове 1 при 2 θ 11.2 и 11.4 градуса; група пикове 2 при 2 θ 13.9, 14.2 и 14.6 градуса; група пикове 3 при 2 θ 16.0, 16.6, 17.0, 17.2 и 17.5 градуса.

Характерните рентгеноструктурни дифракционни пикове на образци от Форма M са дадени на Фигура 18. Форма F показва пикове за Група I и три групи пикове: група пикове 1 при 2 θ 11.2 градуса; група пикове 2 при 2 θ 14.0 и 14.6 градуса; група пикове 3 при 2 θ 15.9, 16.6, 17.1 и 17.5 градуса.

Характерните рентгеноструктурни дифракционни пикове на образци от Форма N са дадени на Фигура 10. Форма F показва пикове за Група I. Групите пикове са подобни на тези на Форми F, G, J и M: група пикове 1 при 2 θ от 11.2 до 11.6 градуса; група пикове 2 при 2 θ от 13.9 до 15.0 градуса; група пикове 3 при 2 θ от 15.9 до 17.9 градуса като пиковите могат да са изместени леко по място, интензитет и ширина, поради смесването на различни пропорции изоморфи от Група I.

Характерните рентгеноструктурни дифракционни пикове на образци от Форма Q са дадени на Фигура 30. Форма Q показва пикове при 2 θ 6.8, 8.4 и 20.2 градуса.

Характерните рентгеноструктурни дифракционни пикове на образци от Форма R са дадени на Фигура 31.



Пример 11: Рентгеноструктурен анализ на единичен кристал

Данните са получени от изследване при стайна температура, като е използван рентгенов дифрактометър Bruker, оборудван с меден катод и графитни монохроматори. Структурите са определени като са използвани директни методи. Необходимите кристалографски изчисления и молекулни структури са осъществени на компютър SHELXTL, осигурен от Bruker AXS (SHELXTL™ Reference Manual, Version 5.1, Bruker AXS, Madison, Wisconsin, USA (1997)).

Пример 12: Изчисление на рентгеноструктурни дифракционни пикове на образци от данните за единичен кристал

За да се сравнят резултатите между единичен кристал и прахов образец, изчисленияте прахови параметри могат да се получат от резултатите за единичен кристал. За осъществяване на изчислението са използвани компютърните програми XFOG и XPOW, осигурени като част от компютърната библиотека на SHELXTL. Сравнявайки изчисленияте с експерименталните данни за прахообразни образци, може да се потвърди дали прахообразния образец съответства на определената кристална структура на единичния кристал (Таблица 9А). Процедурата е осъществена за азитромицин кристални форми А, D, F, G и J.

Изчислената рентгеноструктурна дифрактограма на азитромицин Форма А е дадена на Фигура 1.

Изчислената рентгеноструктурна дифрактограма на азитромицин Форма D е дадена на Фигура 5.

Изчислената рентгеноструктурна дифрактограма на азитромицин Форма F е дадена на Фигура 9.

Изчислената рентгеноструктурна дифрактограма на азитромицин Форма G е дадена на Фигура 12.



Изчислената рентгеноструктурна дифрактограма на азитромицин Форма J е дадена на Фигура 15.

Резултатите са дадени заедно с дифрактограмите на праховите образци на Форми A, D, F, G и J на Фигури 3, 7, 11, 14 и 17 съответно. Долните дифрактограми съответстват на изчислените прахови образци (от резултатите за единичния кристал), а горните съответстват на експериментални прахови образци. Съответствието между двата типа дифрактограми показва връзката между праховия образец и съответната структура на единичния кристал.

Таблица 9А: Изчислени и експериментални дифракционни пикове на изоморфи от Група I

F изчислено	F опитно	G изчислено	G опитно	J изчислено	J опитно	M опитно
		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		1.2	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	липсва
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	Липсва

38. 14.4 14.4 14.4 14.4

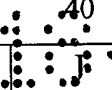
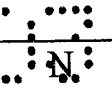
		14.4	14.4	14.4	14.4	
14.7	14.7	14.7	14.6	14.7	14.6	14.6
14.9	14.8	14.9	14.9	14.8		
15.4	15.3	15.4	15.3	15.3	15.3	15.3
15.8	15.7	15.7	15.7	15.8	15.7	15.9
16.2	16.2	16.3	16.3	16.0	16.0	Липсва
16.6	16.6	16.6	16.6	16.7	16.6	16.6
17.1	17.2	17.1		17.1	17.0	17.1
17.3	17.3	17.3	17.2	17.4	17.2	Липсва
17.5	17.4	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
21.5	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	22.8	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

Пример 13: NMR анализ на твърдо тяло

NMR анализ на твърдо тяло:

Всички ^{13}C NMR спектри на твърдо тяло са получени на спектометър 11.75 T (Bruker Biospin, Inc., Billerica, MA), съответстващ на честота 125 MHz ^{13}C . Пробите са получени като е използван “cross-polarization magic angle spinning (CPMAS) probe”, работещ при обикновени температура и налягане. В зависимост от количеството на анализирания образец, може да бъде използвана сонда Bruker 7 мм BL или 4 мм BL, с вместимост 300 мг и 75 мг от образца и максимална скорост 7 kHz и 15 kHz съответно. Данните са обработени с експоненциално разширяваща се функция при 5.0 Hz. Използвано е протонно разделяне при 65 kHz и 100 kHz за проби 7 мм и 4 мм съответно. Усреднени са голям брой резултати, за да се получи адекватно съотношение сигнал-шум за всички пикове. Обикновено, провеждани са 600 сканирания със закъснение от 3.0 секунди, което съответства приблизително на 30 минути време за анализ. Сондата “Magic angle” е калибрирана, като е използван прах от KBr, съгласно стандартната практика за NMR. Спектрите са еталонирани или спрямо метилния резонанс на хексаметилбензен при 17.3 ppm или спрямо резонанса на адамантан при 29.5 ppm. Калибрираните с хексаметилбензен спектри показват химично отместване надолу на всички пикове с 0.08 ppm в сравнение със същите спектри, калибрирани спрямо адамантан. Спектралния прозорец включва до минимум спектралната област от 190 до 0 ppm. Резултатите са отразени в Таблица 10. NMR спектрите на твърдо тяло за Форми М, Н и R са калибрирани спрямо адамантан. NMR спектри на твърдо тяло за Форми А, D, G, F, J и N са калибрирани спрямо хексаметилбензен. Форми Н и R са въртени със скорост 15 kHz.

Таблица 10. Химични отмествания на азитромицин при ^{13}C NMR анализ на твърдо тяло (± 0.2 ppm).

A	D	G	F				H	R
<u>178.1</u>	<u>178.1</u>	<u>179.5*</u>	<u>179.5</u>	<u>179.6</u>	<u>179.6</u>	<u>179.6</u>	<u>179.5</u>	<u>177.9</u>
<u>104.1</u>	<u>103.9</u>	<u>105.5</u>	<u>178.6</u>	<u>178.4</u>	<u>105.6</u>	<u>178.7</u>	<u>178.7</u>	104.6
<u>98.4</u>	<u>95.1</u>	<u>103.5</u>	<u>105.5</u>	<u>105.5</u>	<u>103.4</u>	<u>105.6</u>	<u>105.4</u>	<u>103.6</u>
<u>84.6</u>	<u>84.2</u>	95.0	103.4	103.4	94.9	103.6	103.2	<u>95.3</u>
82.6	79.4	82.6	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	<u>58.1</u>	66.1	45.7
35.4	36.4	63.3	<u>58.0</u>	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
<u>26.9</u>	29.3	46.9	47.0	45.9	44.7	46.0	49.9	40.4
<u>26.3</u>	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
<u>13.2</u>	<u>10.6</u>	33.6	33.6	33.5	28.1	30.4	36.3	20.8
<u>11.3</u>	<u>9.0</u>	30.0	30.3	30.4	27.2	28.1	33.7	18.7
<u>7.2</u>	<u>8.6</u>	27.9	28.0	28.0	<u>26.0</u>	27.2	33.3	16.5
		27.3	27.1	27.1	23.2	<u>26.0</u>	30.5*	16.1
		23.1	23.2	<u>25.2</u>	22.8	23.2	27.9	15.7
		22.5	22.6	23.2	22.5	22.6	27.1	<u>10.3</u>
		21.9	21.9	22.5**	21.8	22.0	23.1	<u>9.6</u>

Химичните отмествания, отбелязани in bold и подчертани са пикове или групи от пикове, които са характерни за всяка форма. Химичните отмествания, отбелязани in italic са пиковите на разтворителя, които могат да бъдат уширени и променливи (± 0.4 ppm). Химичните отмествания, отбелязани с единична звезда, показват разцепване < 0.3 ppm. Химичните отмествания, отбелязани с двойна звезда, показват промяна ± 0.3 ppm.

Таблица 10 (продължение). Химични отмествания на азитромицин при ^{13}C NMR анализ на твърдо тяло (± 0.2 ppm).

A	D	G	F	J	M	N	H	R
		20.9	20.8	21.9**	20.2	20.8	22.6	<u>8.9</u>
		20.2	20.4	20.7	18.9	19.0	22.3	<u>8.6</u>
		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	<u>17.2</u>	15.6**	15.5	12.2	20.3	
		12.2	15.7	12.1	12.1	<u>9.9</u>	18.8	
		<u>10.4</u>	12.2	<u>11.5</u>	<u>10.3</u>	<u>9.4</u>	17.1	
		<u>9.9</u>	<u>10.1</u>	12.1	<u>9.6</u>	<u>7.9</u>	16.6	

		<u>9.3</u>	<u>9.8</u>	<u>10.0</u>	<u>9.3</u>	<u>6.6</u>	15.8	
		<u>7.6</u>	<u>9.3</u>	<u>9.3</u>	<u>7.7</u>		15.4	
		<u>6.5</u>	<u>7.9</u>	<u>8.1</u>	<u>7.1</u>		12.0	
			<u>6.6</u>	<u>6.8**</u>			<u>9.9</u>	
							<u>9.1</u>	
							<u>7.9</u>	
							<u>7.0</u>	

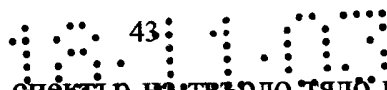
Химичните отмествания, отбелязани in bold и подчертани са пикове или групи от пикове, които са характерни за всяка форма. Химичните отмествания, отбелязани in italic са пиковите на разтворителя, които могат да бъдат уширени и променливи (± 0.4 ppm). Химичните отмествания, отбелязани с единична звезда, показват разцепване < 0.3 ppm. Химичните отмествания, отбелязани с двойна звезда, показват промяна ± 0.3 ppm.

Посочените химични отмествания са с точност в рамките на ± 0.2 ppm, ако друго не е посочено.

Характерният ^{13}C NMR спектър на твърдо тяло на азитромицин Форма А е показан на Фигура 21. Форма А притежава пик при 178.1 ppm и пикове при 104.1, 98.4, 84.6, 26.9, 13.2, 11.3 и 7.2 ppm.

Характерният ^{13}C NMR спектър на твърдо тяло на азитромицин Форма D е показан на Фигура 22. Форма D притежава най-висок пик на химично отместване при 178.1 ppm и пикове на химично отместване при 103.9, 95.1, 84.2, 10.6 и 8.6 ppm.

Характерният ^{13}C NMR спектър на твърдо тяло на азитромицин Форма F е показан на Фигура 23. Форма F притежава два пика на химично отместване приблизително при 179.1 ± 2 ppm, които представляват пикове при 179.5 ppm и 178.6 ppm и група от пет пика при 10.1, 9.8, 9.3, 7.9 и 6.6 ppm и пикове на етанола при 58.0 ± 0.5 ppm и 17.2 ± 0.5 ppm. Пиковите на разтворителя могат да бъдат уширени и относително слаби по интензитет.



Характерният ^{13}C NMR спектър на твърдо тяло на азитромицин Форма G е показан на Фигура 24. Форма G притежава най-висок пик на химично отместване при 179.5 ppm, който представлява единичен пик с възможно разцепване < 0.3 ppm и група от пет пика при 10.4, 9.9, 9.3, 7.6 и 6.5 ppm.

Характерният ^{13}C NMR спектър на твърдо тяло на азитромицин Форма J е показан на Фигура 25. Форма J притежава два пика на химично отместване приблизително при 179.1 ± 2 ppm, които представляват пикове при 179.6 ppm и 178.4 ppm и група от четири пика при 10.0, 9.3, 8.1 и 6.8 ppm и пикове на n-пропанол при 11.5 ± 0.5 ppm и 25.2 ± 0.5 ppm. Пиковите на разтворителя могат да бъдат уширени и относително слаби по интензитет.

Характерният ^{13}C NMR спектър на твърдо тяло на азитромицин Форма M е показан на Фигура 26. Форма M притежава един пик на химично отместване при 179.1 ± 2 ppm, който представлява пик при 179.6 ppm, пикове при 41.9 и 16.3 ppm и група от пет пика при 10.3, 9.6, 9.3, 7.7 и 7.1 ppm и пик на изопропанола при 26.0 ± 0.5 ppm. Пикът на разтворителя може да бъде уширен и относително слаб по интензитет.

Характерният ^{13}C NMR спектър на твърдо тяло на азитромицин Форма N е показан на Фигура 27. Форма N притежава химични отмествания като комбинация на изоморфите от Група I. Пиковите могат да се променят по химично отместване и по относителна интензивност и ширина поради смесването на различни пропорции от изоморфите, съдържащи се в твърдофазния кристален разтвор на Форма N.

Характерният ^{13}C NMR спектър на твърдо тяло на аморфната форма азитромицин е показан на Фигура 2. Аморфният азитромицин притежава уширени химични отмествания. Характерните химични отмествания имат място на пика при 179 и 11 ± 0.5 ppm.

Извлечение на наблюдаваните пикове от NMR анализи на твърдо тяло на кристални Форми A, D, F, G, H, J, M, N и R на азитромицин са дадени в Таблица 10.

Пример 14: NMR анализи на форми за дозиране

За демонстриране на възможността на ^{13}C NMR на твърдо тяло за идентифициране на кристалната форма на азитромицин във фармацевтични форми за дозиране, бяха приготвени покрити таблетки с азитромицин, съдържащи азитромицин Форма G и анализирани с ^{13}C NMR на твърдо тяло. Таблетите са приготвени чрез влажно гранулиране и таблетирание на F-Press (Manesty, Liverpool, UK) като е използвана пресформа с размери 0.262" x 0.531". Таблетите са таблетирани така, че да съдържат 250 мг азитромицин Форма G, при общо тегло на таблетите 450 мг като е използван състава, даден по-долу. Таблетите са равномерно покрити с pink Opadry II® (смес от лактоза монохидрат, хидроксипропилметилцелулоза, титанов диоксид, Drug & Cosmetic red # 30 и триацетин) (Colorcon, West Point, PA).

Продукт	Процентно съдържание	Партида (г)
Азитромицин Форма "G"	58.23	174.69
Предварително желатинирано царевично нишесте	6.0	18
Безводен дикалциев фосфат	30.85	92.55
Натриева кроскармелоза	2.00	6.00
Магнезиев стеарат с 10% натриев лаурил сулфат	2.92	8.76
Общо	100.00	300.00

Покритите таблетки са внимателно намачкани и прахообразният образец се пакетира с роторно устройство за пакетиране в твърдо състояние, съдържащ подложка от ^{13}C . Анализът на образците е осъществен при условията, описани в Пример 13.

Характерният ^{13}C NMR спектър на таблета, съдържаща азитромицин Форма G е дадена на Фигура 29.

Пример 15: Антимикробиална активност:

Активността на кристалните форми от настоящото изобретение срещу бактериални и протозойни патогени е демонстрирана чрез способността на съединенията да инхибират нарастването на определени видове човешки (Изпитване I) или животински (Изпитвания II и III) патогени.

Изпитване I

Изпитване I, описано по-долу, прилага конвенционална методика и критерии за интерпретация и е моделирано да осигури посоката на химическите модификации, които водят до получаването на съединения, преодоляващи определени механизми на макролидната резистентност. В Изпитване I една група бактериални видове са асамблирани така, че включват разнообразие от целеви патогенни щамове, включително представители на механизми на макролидна резистентност, които са характеризирани. Използването на такава група позволява да бъде определена връзката химична структура/активност във връзка с ефективността, спектъра на активност и структурните елементи или модификации, които могат да бъдат необходими за избягване на механизмите на резистентност. Бактериалните патогени, които включват наблюдаваната група са дадени в таблицата по-долу. В много случаи, както макролидно податливите първични щамове, така и макролидно резистентните щамове, получени от тях са подходящи за да се осигури по-точна оценка за способността на съединението да преодолее механизма на резистентност. Щамове, които съдържат ген с последователност *ermA/ermB/ermC* са резистентни на макролидни, линкосамидни и стрептограмин В антибиотици поради модификации (метиране) на 23S rRNA молекулите чрез Erm метилаза, като по този начин предотвратява свързването на трите структурни класа. Описани са два типа макролиден ефлукс; *msrA* кодира компонент от системата на ефлукс при

стафилококи, което предотвратява навлизането на макролиди и стрептограмини, докато *mefA/E* кодира трансмембрания протеин, което показва ефлукс само на макролиди. Дезактивирането на макролидните антибиотици може да се наблюдава и може да се медира или чрез фосфорилиране на 2'-хидроксил (*mph*) или чрез разцепване на макроцикличния лактон (естераза). Щамове могат да се характеризират като се използва конвенционална технология за полимеразна верижна реакция и/или чрез секвения на резистентните детерминанти. Използването на верижната реакция на полимераза в тази реакция е описано от J. Sutcliffe et al. "Detection of Erythromycin-Resistant Determinants by PCR", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40 (11), 2562-2566 (1996). Изследването е осъществено в кювети за микротитруване и интерпретирано съгласно Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test - Sixth Edition: Approved Standard, публикуван в ръководството на The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS); за сравняване на устойчивостта е използвана минималната концентрация за инхибиране. Кристалното съединение най-напред се разтваря в диметилсулфоксид като базов разтвор с концентрация 40 мг/мл.

Вид шам	Механизъм(и) на макролидна устойчивост
<i>Staphylococcus aureus</i> 1116	податлив родител
<i>Staphylococcus aureus</i> 1117	ErmB
<i>Staphylococcus aureus</i> 0052	податлив родител
<i>Staphylococcus aureus</i> 1120	ErmC
<i>Staphylococcus aureus</i> 1032	<i>msrA</i> , <i>mph</i> , естераза
<i>Staphylococcus hemolyticus</i> 1006	<i>msrA</i> , <i>mph</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i> 0203	чувствителен родител
<i>Streptococcus pyogenes</i> 1079	ErmB
<i>Streptococcus pyogenes</i> 1062	чувствителен родител
<i>Streptococcus pyogenes</i> 1061	ErmB
<i>Streptococcus pyogenes</i> 1064	ErmB

Streptococcus agalactiae 1024	Чувствителен родител
Streptococcus agalactiae 1023	ErmB
Streptococcus pneumoniae 1016	Чувствителен
Streptococcus pneumoniae 1046	ErmB
Streptococcus pneumoniae 1095	ErmB
Streptococcus pneumoniae 1175	MefE
Streptococcus pneumoniae 0085	Чувствителен
Haemophilus influenzae 0131	Чувствителен
Moraxella catarrhalis 0040	Чувствителен
Moraxella catarrhalis 1055	междинна устойчивост на erythromycin
Escherichia coli 0266	Чувствителен

Изпитване II е използвано за определяне на активността срещу *Pasteurella multocida*, а Изпитване III е използвано за определяне на активността срещу *Pasteurella haemolytica*.

Изпитване II

Това изследване се основава на метода на разреждане на течности в микро обеми. Единична колония от *P. multocida* (шам 59A067) се посява в сърдечно мозъчен бульон. Изпитваното съединение се приготвя чрез разтваряне на 1 мг от съединението в 125 µл диметилсулфоксид. Разреждането на изследваното съединение се извършва с посят сърдечно-мозъчен бульон. Концентрациите на използваното тествано съединение варират в границите от 200 µг/мл до 0.098 µг/мл чрез двукратно серийно разреждане. Посятият с *P. multocida* бульон се разрежда с непосят сърдечно мозъчен бульон до концентрация 10^4 клетъчна суспензия на 200 µл. Сърдечно-мозъчната клетъчна суспензия се смесва със съответните серийни разтвори от изпитваното съединение и стои в инкубатор при 37°C в продължение на 18 часа. Така определената чрез сравняване с незаразена контролна проба минимална концентрация за инхибиране е равна на концентрацията на съединението, показваща 100% инхибиране на развитието

на *P. multocida*.

18. 11. 03

Изпитване III

Изследването се основава на метода за разреждане на агар чрез използване на Steers Replicator. Две до пет колонии, изолирани от агарова пластина се посяват в сърдечномозъчен бульон и се оставят едно денонощие в инкубатор при температура 37°C и разклащане (200 об./мин.). На следващия ден 300 µл от напълно развитата пре-култура *P. Haemolytica* се посява в 3 мл свеж сърдечно мозъчен бульон и се оставя в инкубатор при 37°C с разклащане (200 об./мин.). Определените количества от тестваните съединения се разтварят в етанол и се приготвят серии от двукратни серии на разреждане. Два милилитра от съответният сериен разтвор се смесват с 18 мл стопен сърдечномозъчен инфузионен агар и се втвърдяват. Когато посятата *P. haemolytica* култура достигне стандартна плътност 0.5 McFarland, около 5 µл от *P. haemolytica* култура се посява върху пластина със сърдечномозъчен агар, съдържаща различни концентрации от изследваното съединение, като се използва Steers Replicator и се оставя в инкубатор при 37°C в продължение на 18 часа. Началните концентрации на изследваното съединение варират в границите 100 - 200 µг/мл. Така определената чрез сравняване с незаразена контролна проба минимална концентрация за инхибиране е равна на концентрацията на съединението, показваща 100% инхибиране на развитието на *P. haemolytica*.

Активността на кристалните форми от настоящото изобретение *in vivo* се определя чрез стандартни изследвания върху животни, добре известни на специалиста в областта, обикновено провеждани с мишки.

Мишките се групират в клетки (10 броя в клетка) при пристигането им и се оставят да аклиматизират в продължение на минимум 48 часа, преди да бъдат използвани. Животните се заразяват интраперитонално с 0.5 мл 3×10^3 CFU/мл бактериална суспензия (*P. multocida* щам 59A006). Всеки

експеримент включва поне 3: не-третиран с лекарство контролни групи, включително една инфектирана с 0.1 X пробната доза и две, инфектирани с 1 X пробната доза; могат да се използва и група с 10 X пробната доза. Най-общо всички мишки в настоящото изследване могат да бъдат дозирани, особено ако прилагане на дозата се използва автоматичен шприц (такъв като Cornwall® шприц). Първото лекарствено средство се прилага 30 минути, след като е започнало дозирането. Ако всички животни не са били дозирани до края на 30-те минути, необходимо е втори човек да започне дозирането на лекарственото средство. Начинът на прилагане е подкожно или орално дозиране. Подкожното дозиране се прилага върху свободната кожа на задната част на врата, докато оралните дози се дават с помощта на хранваща игла. В двата случая, за всяка мишка се използват 0.2 мл. Съединенията се прилагат 30 минути, 4 часа и 24 часа след дозиране. Във всеки тест по същия начин е включено и контролно съединение с известна ефективност. Животните се наблюдават ежедневно и се записва броя на оцелелите животни във всяка група. Моделът за наблюдение на *P. multicauda* продължава 96 часа (четири дни) след дозирането.

PD_{50} е изчислената доза, при която изследваното съединение защитава 50% от групата мишки от смърт поради бактериална инфекция, която би била летална в случай на липса на лекарствено лечение.

Кристалните форми от настоящото изобретение (понататък "активното(ите) съединение(я)") могат да бъдат прилагани орално, парентерално, локално или ректално при лечение или предотвратяване на бактериални или протозойни инфекции. Най-често активното съединение се прилага в дози от около 0.2 мг на кг телесно тегло на ден (мг/кг/ден) до около 200 мг/кг/ден на единичен или разпределен прием (например от 1 до 4 приема на ден), въпреки че вариантите възникват по необходимост в зависимост от вида, теглото и състоянието на обекта, който трябва да бъде лекуван и конкретно избраният начин на прилагане. Нива на дозиране, които

са в границите от около 2 мг/кг/ден до 50 мг/кг/ден са най-често използвани. Могат да възникнат варианти в зависимост от вида на бозайника, рибите или птиците, които трябва да бъдат лекувани и от техния индивидуален отговор към посочения медикамент, както и от вида на избрания фармацевтичен състав, периода време и интервала, на който се провежда прилагането. В някои случаи нива на дозиране под долната граница от горепосочените нива могат да бъдат повече от достатъчни, докато в други случаи могат да се използват по-големи дози, без да предизвикват вредни странични ефекти, като такива големи дози са предварително разделени в няколко малки дози за прилагане през деня.

Активното съединение може да бъде прилагано самостоятелно или в комбинация с фармацевтично приемливи носители или разредители по начини, които са предварително посочени, като такова прилагане може да бъде в единична или многократни дози. По-конкретно, активното съединение може да бъде прилагано в едно широко разнообразие от различни форми за дозиране, например те могат да бъдат комбинирани с различни фармацевтично приемливи инертни носители под форма на таблетки, капсули, пластири, лепенки, твърди бонбони, пудри, кремове, спрейове, мехлеми, свещички, желета, гелове, пасти, лосиони, мазила, сашета, прахчета за орални суспензии, водни суспензии, инжекционни разтвори, еликсири, сиропи и други подобни. Такива носители включват твърди разредители или пълнители, стерилна водна среда, различни нетоксични органични разтворители и др. Оралните фармацевтични състави могат да бъдат подходящо подсладени и ароматизирани. Обикновено активното съединение в такава форма за дозиране се намира в концентрационни нива от около 1.0% до около 70% тегл.

Таблетите за орално прилагане, съдържащи различни ексципиенти като микрокристална целулоза, натриев цитрат, калциев карбонат, дикалциев фосфат и глицин могат да се прилагат с различни дезинтегранти като

нишесте (за предпочитане царевично, картофено или нишесте от тапиока), алгинова киселина и известни силикатни комплекси, заедно с гранулиращи смоли като поливинилпиролidon, сукроза, желатин и акация. Допълнително, лубрикантни средства като магнезиев стеарат, натриев лаурил сулфат и талк са много често подходящи от гледна точка на таблетирането. Твърди състави от подобен тип могат да се използват като пълнители при желатинови капсули; за предпочитане продуктите от тази група включват също и лактоза или млечна захар, както и високомолекулни полиетилен гликоли. Когато за орално приемане е необходима водна суспензия и/или еликсир, активната субстанция може да се комбинира с различни подсладители или ароматизиращи средства заедно с разредители като вода, етанол, пропилен гликол, глицерин и различни техни комбинации.

При парентерално прилагане, могат да се използват разтвори на активното съединение в сусамово или фъстъчено масло, или във воден пропилен гликол. Ако е необходимо водният разтвор трябва да бъде подходящо буфериран (за предпочитане при рН над 8), а течният разредител най-напред се превръща в изотоничен. Тези водни разтвори са подходящи за интравенозно инжекционно прилагане. Масните разтвори са подходящи при интраартикуларно, интрамускулно и подкожно инжекционно прилагане. Получаването на всички тези разтвори в стерилни условия е напълно осъществимо по стандартни фармацевтични техники, които са известни на специалиста в областта.

Възможно е също прилагането на активното съединение местно и това е осъществимо чрез кремове, желета, гелове, пасти, лепенки, пластири и други подобни в съответствие със стандартната медицинска практика.

При прилагане на други животни, различни от човека като говеда или домашни животни, активното съединение може да се прилага чрез храната или орално във вид на доза лекарство за животно.

Активното съединение може да се прилага и във вид на липозомна

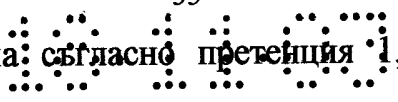
система за подаване, като малка униламеларна торбичка, голяма униламеларна торбичка или мултиламеларни торбички. Липозомите могат да се образуват от различни фосфолипиди, като например холестерол, стеариламин или фосфатидилхолини.

53

PATENTNI PRETENЦИИ

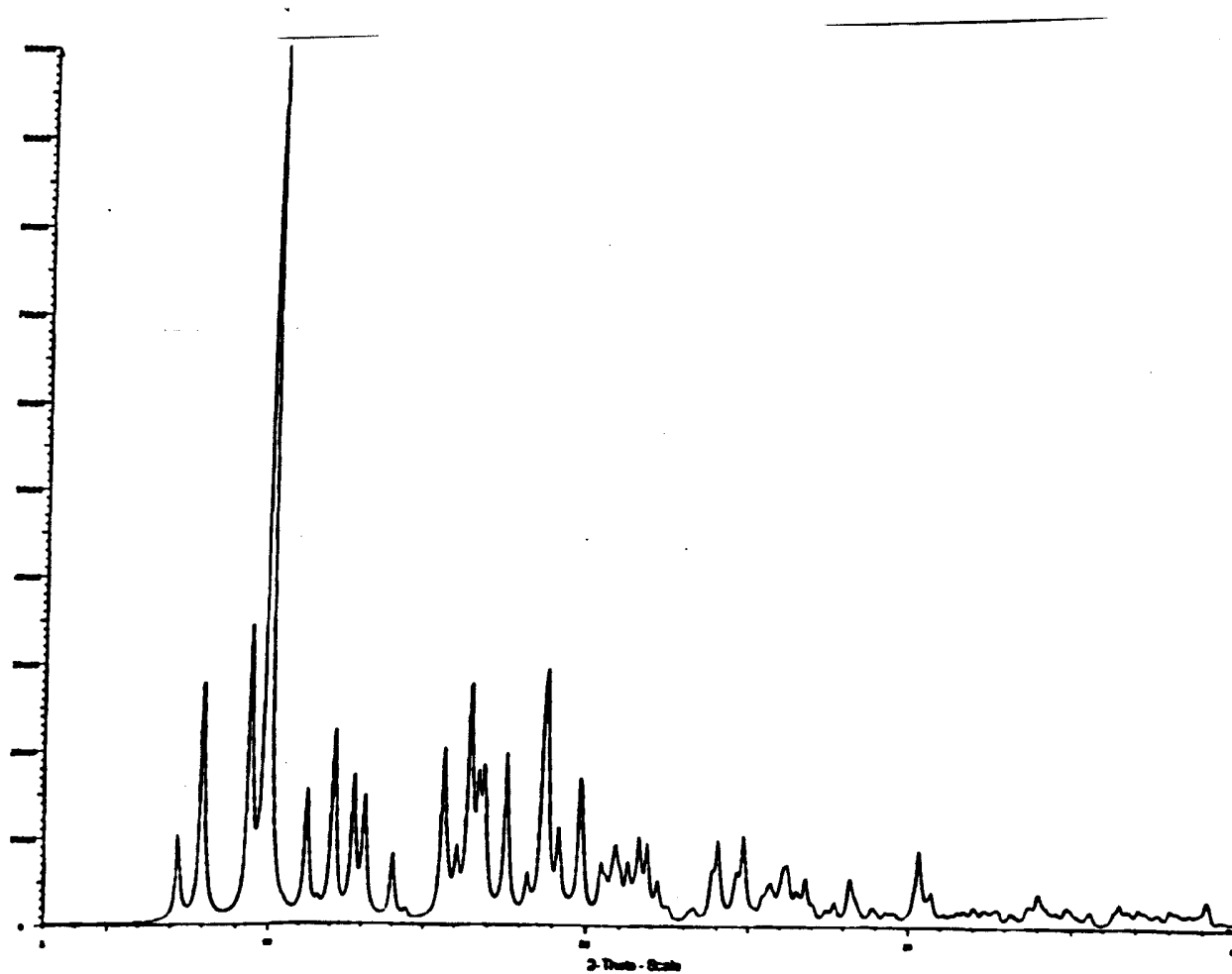
1. Кристална форма на азитромицин, избрана от групата състояща се от Форми D, E, практически чиста F, практически чиста G, H, J, M практически свободна от азитромицин дихидрат, N, O, P, Q и R.
2. Кристална форма на азитромицин съгласно претенция 1, при която посочената форма е Форма D и е допълнително характеризирана като притежаваща пикове на химични отмествания в ^{13}C твърдофазния NMR спектър при около 178.1 ppm, 103.9 ppm, 95.1 ppm, 84.2 ppm, 10.6 ppm, 9.0 ppm и 8.6 ppm.
3. Кристална форма на азитромицин съгласно претенция 1, при която посочената форма е Форма E.
4. Кристална форма на азитромицин съгласно претенция 1, при която посочената форма е практически чиста Форма F и е допълнително характеризирана като притежаваща пикове на химични отмествания в ^{13}C твърдофазния NMR спектър при около 179.5 ppm, 178.6 ppm, 58.0 ppm, 10.1 ppm, 9.8 ppm, 9.3 ppm, 7.9 ppm и 6.6 ppm.
5. Кристална форма на азитромицин съгласно претенция 4, при която посоченият азитромицин включва 90% тегл. или повече от азитромицин Форма F.
6. Кристална форма на азитромицин съгласно претенция 1, при която посочената форма е практически чиста Форма G и е допълнително характеризирана като притежаваща пикове на химични отмествания в ^{13}C твърдофазния NMR спектър при около 179.5 ppm, 10.4 ppm, 9.9 ppm, 9.3 ppm, 7.6 ppm и 6.5 ppm.

7. Кристална форма на азитромицин съгласно претенция 6, при която посоченият азитромицин включва 90% тегл. или повече от азитромицин Форма G.
8. Кристална форма на азитромицин съгласно претенция 1, при която посочената форма е Форма H и е допълнително характеризирана като притежаваща пикове на химични отмествания в ^{13}C твърдофазния NMR спектър при около 179.5 ppm, 178.7 ppm, 9.9 ppm, 9.1 ppm, 7.9 ppm и 7.0 ppm.
9. Кристална форма на азитромицин съгласно претенция 1, при която посочената форма е Форма J и е допълнително характеризирана като притежаваща пикове на химични отмествания в ^{13}C твърдофазния NMR спектър при около 179.6 ppm, 178.4 ppm, 25.2 ppm, 11.5 ppm, 10.0 ppm, 9.3 ppm, 8.1 ppm и 6.8 ppm.
10. Кристална форма на азитромицин съгласно претенция 1, при която посочената форма е Форма M, практически свободна от азитромицин дихидрат и е допълнително характеризирана като притежаваща пикове на химични отмествания в ^{13}C твърдофазния NMR спектър при около 179.6 ppm, 41.9 ppm, 26.0 ppm, 16.3 ppm, 10.3 ppm, 9.6 ppm, 9.3 ppm, 7.7 ppm и 7.1 ppm.
11. Кристална форма на азитромицин съгласно претенция 1, при която посочената форма е Форма N и е допълнително характеризирана като притежаваща пикове на химични отмествания в ^{13}C твърдофазния NMR спектър при около 179.6 ppm, 178.7 ppm, 105.6 ppm, 58.1 ppm, 26.0 ppm, 9.9 ppm, 9.4 ppm, 7.9 ppm и 6.6 ppm.

12. Кристална форма:  съгласно претенция 1, при която посочената форма е Форма О.
13. Кристална форма съгласно претенция 1, при която посочената форма е Форма Р.
14. Кристална форма съгласно претенция 1, при която посочената форма е Форма Q.
15. Кристална форма на азитромицин съгласно претенция 1, при която посочената форма е Форма R и е допълнително характеризирана като притежаваща пикове на химични отмествания в ^{13}C твърдофазния NMR спектър при около 177.9 ppm, 103.6 ppm, 95.3 ppm, 10.3 ppm, 9.6 ppm, 8.9 ppm и 8.6 ppm

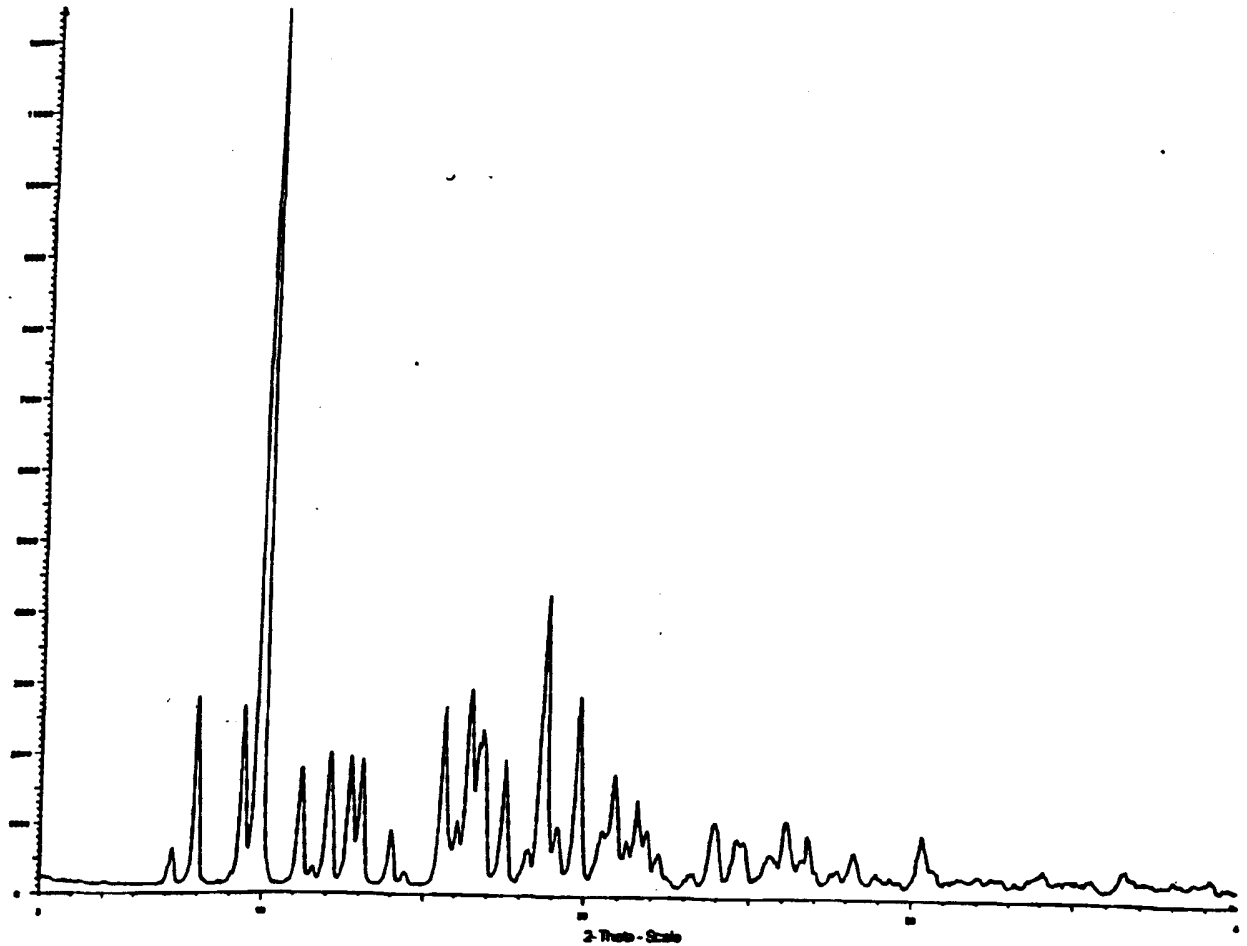
18.11.03
1733

ФИГУРА 1



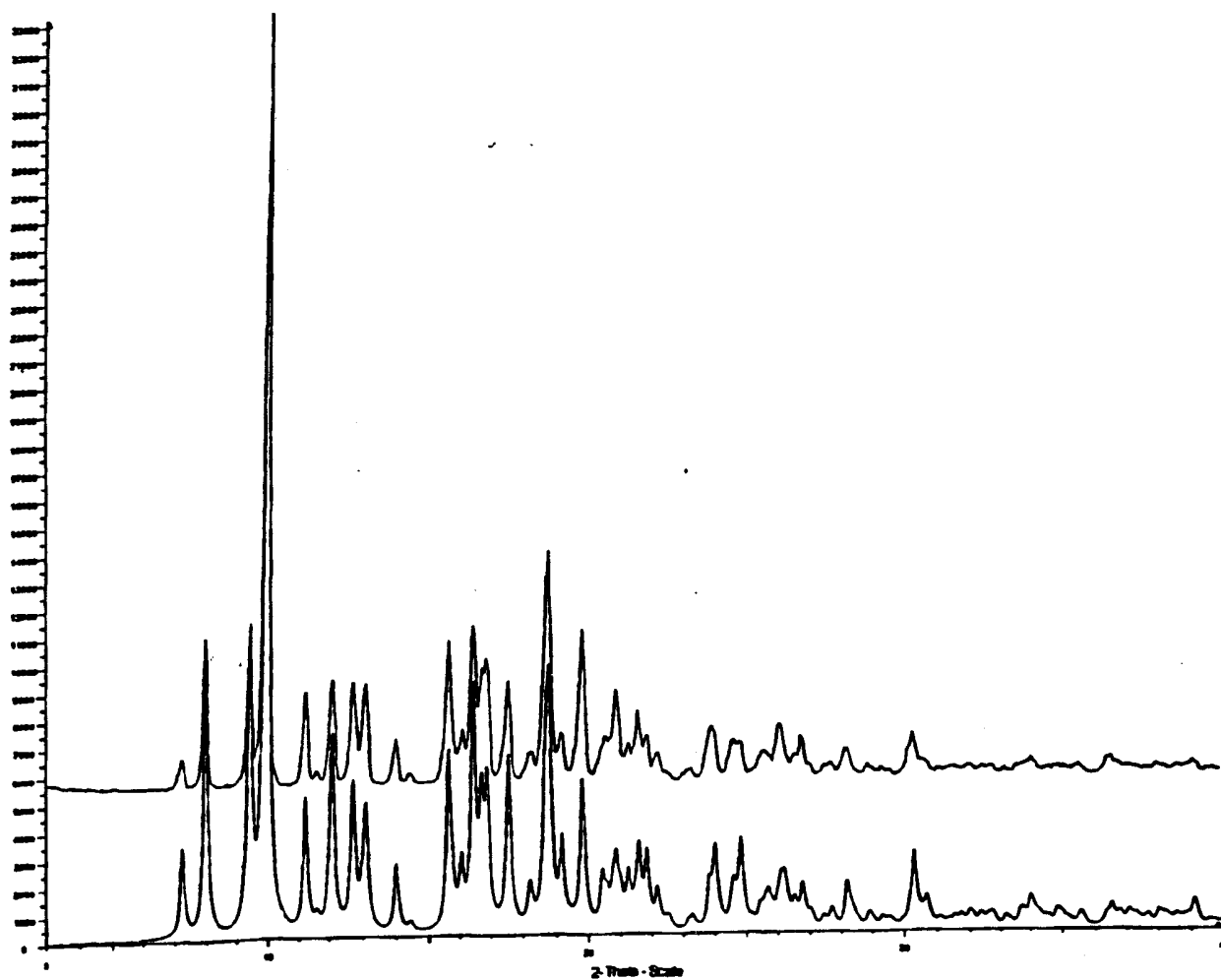
18.11.03 2/23

ФИГУРА 2



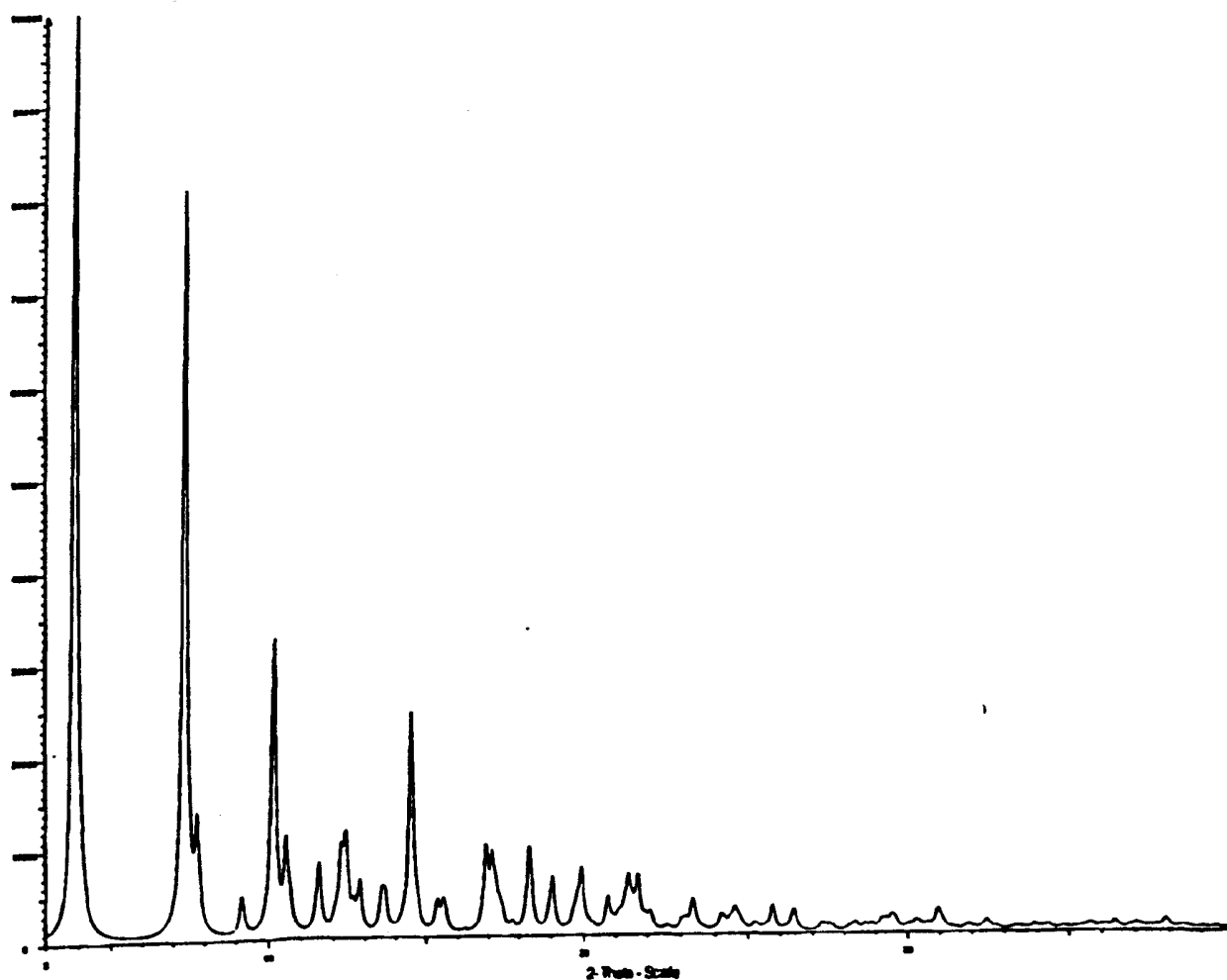
184103
3/33

ФИГУРА 3



18.11.03
4/33

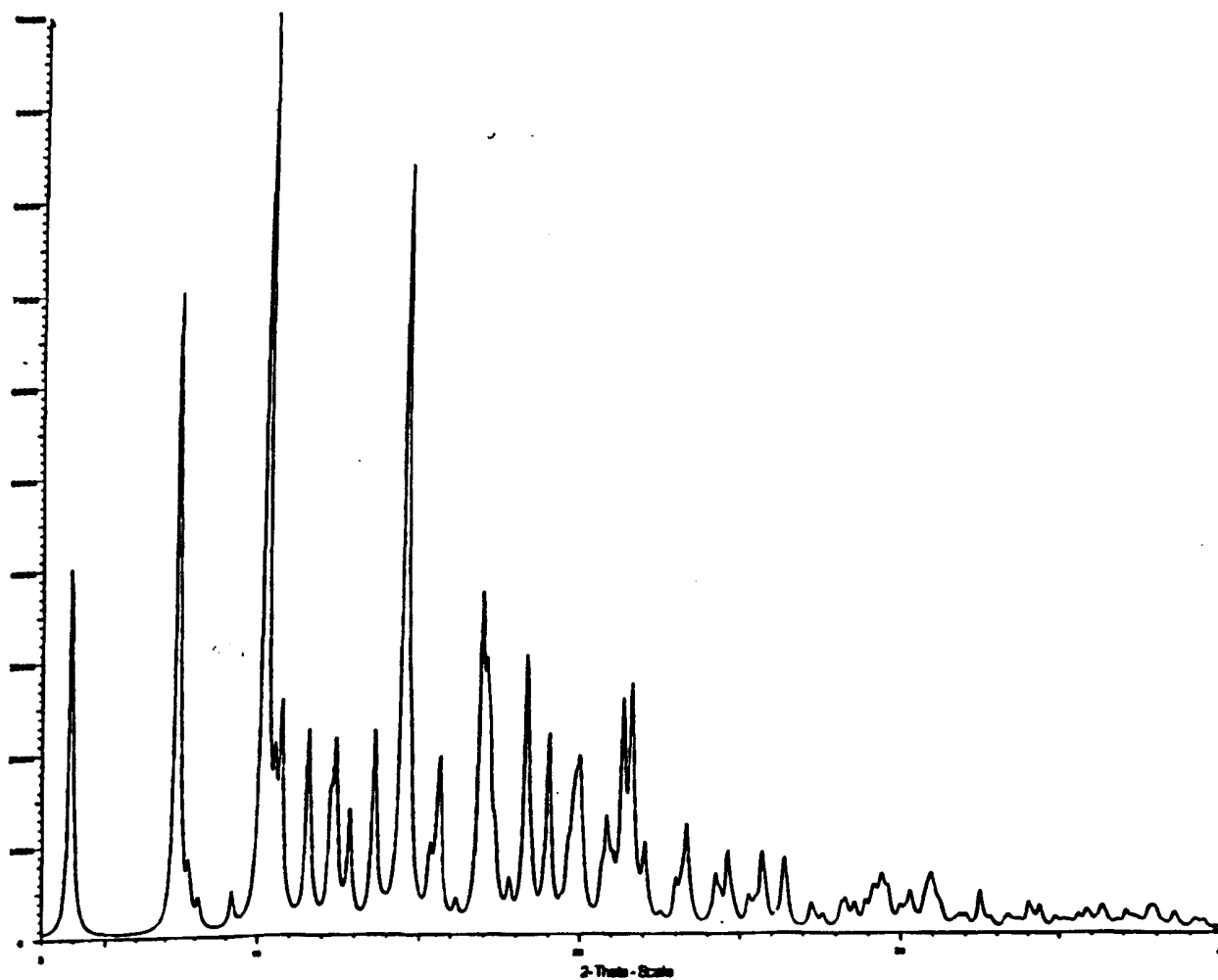
ФИГУРА 4



18.11.03

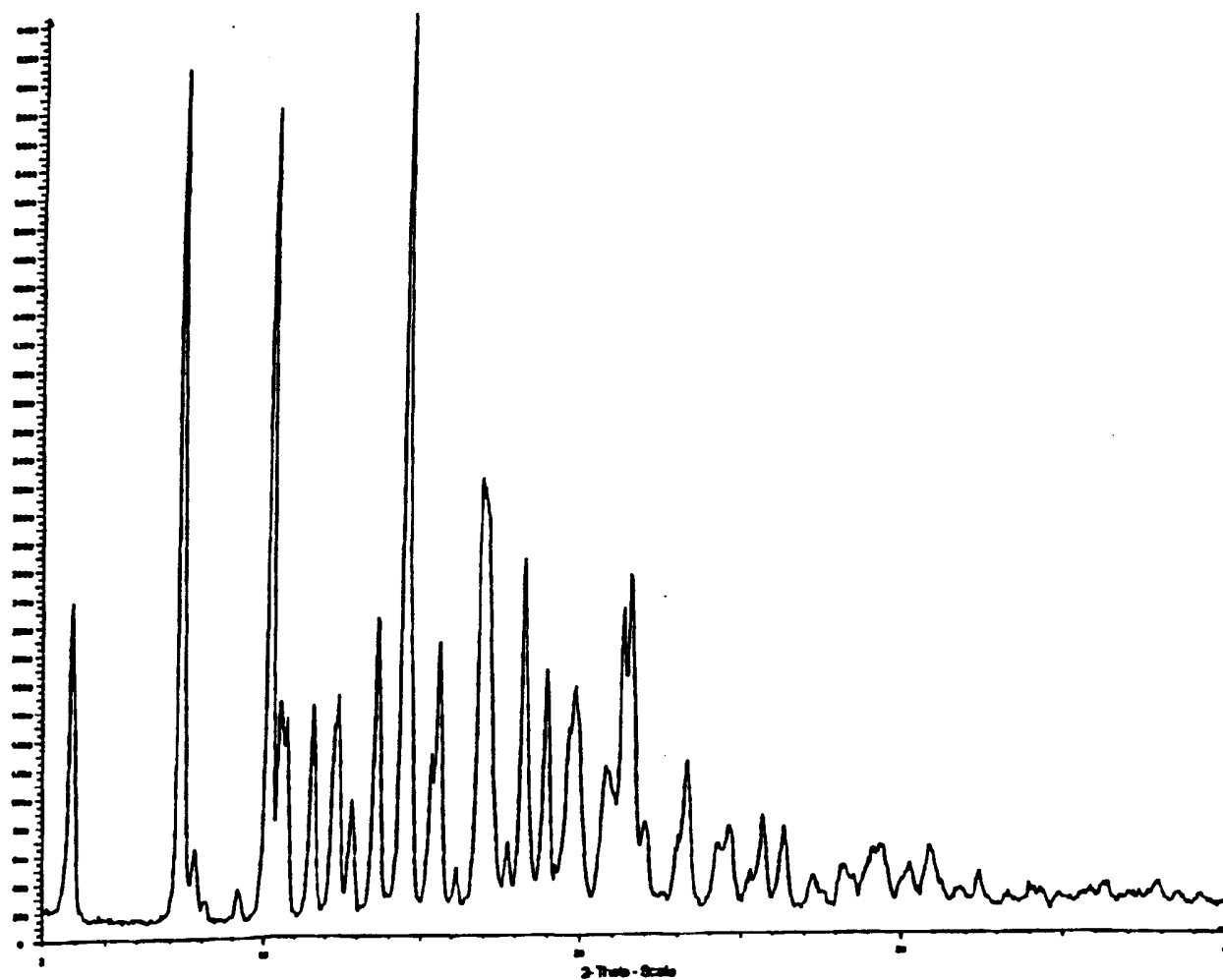
5/33

ФИГУРА 5



18.11.03
6/93

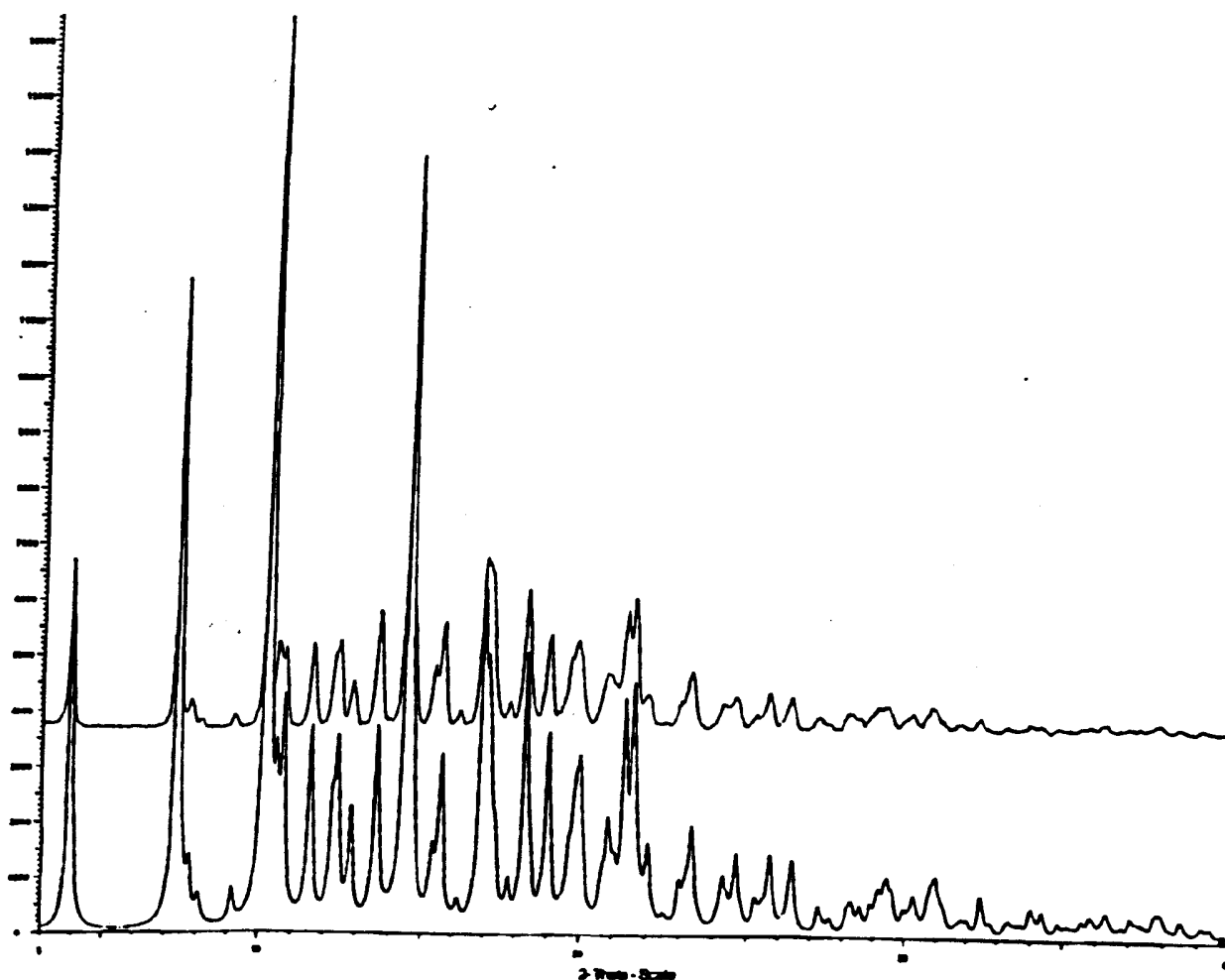
ФИГУРА 6



18.11.03

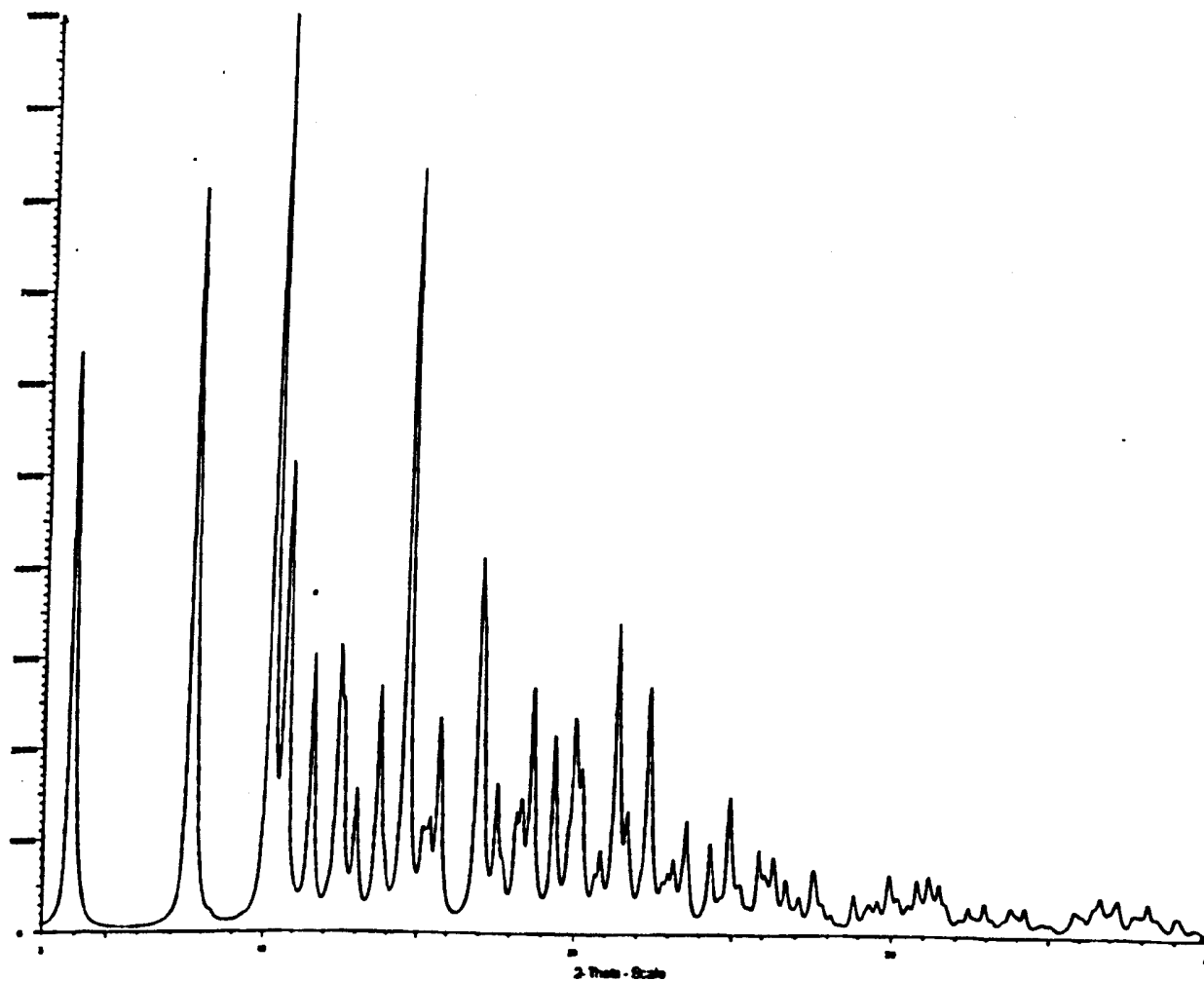
7/33

ФИГУРА 7



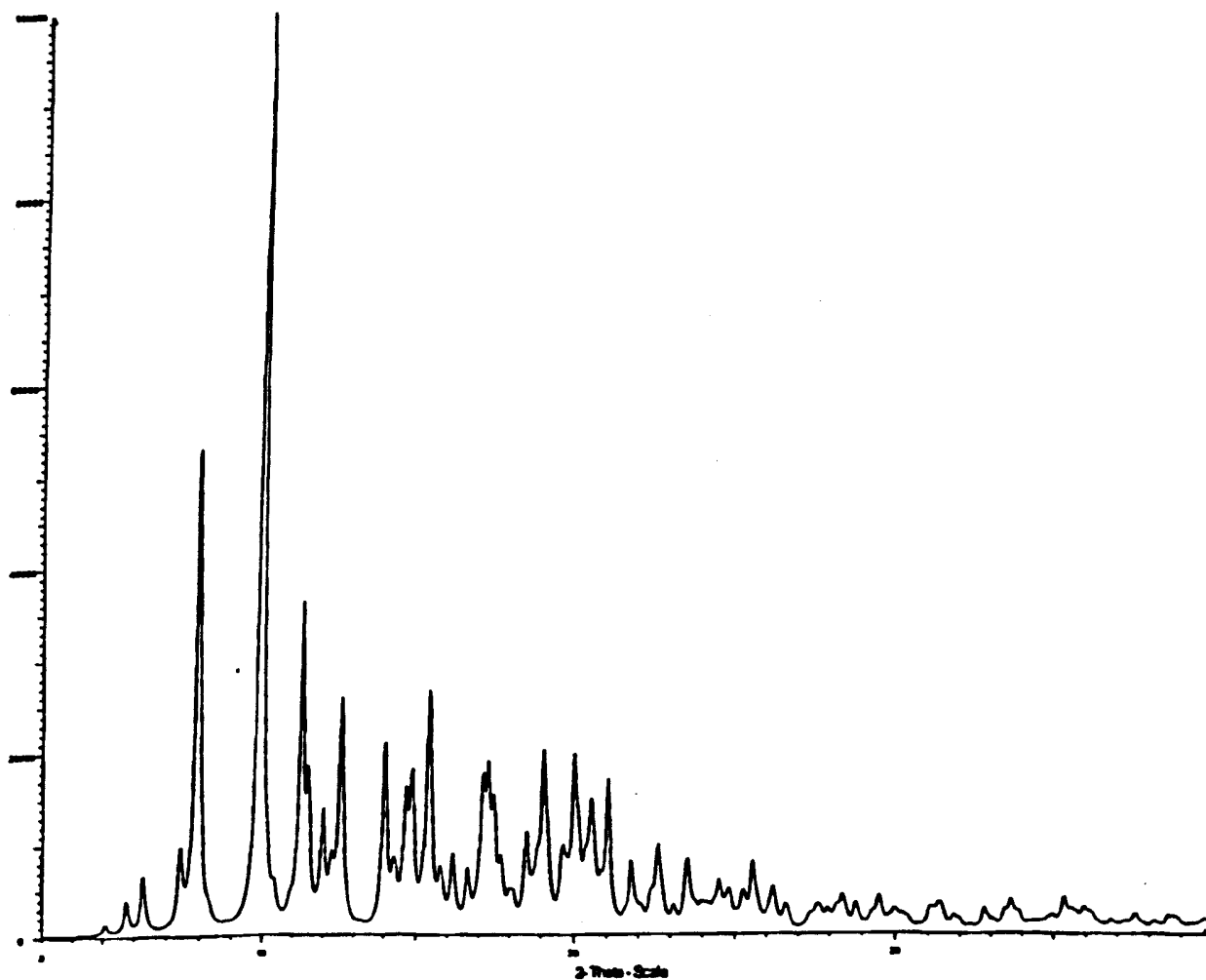
18.11.03
8/33.

ФИГУРА 8



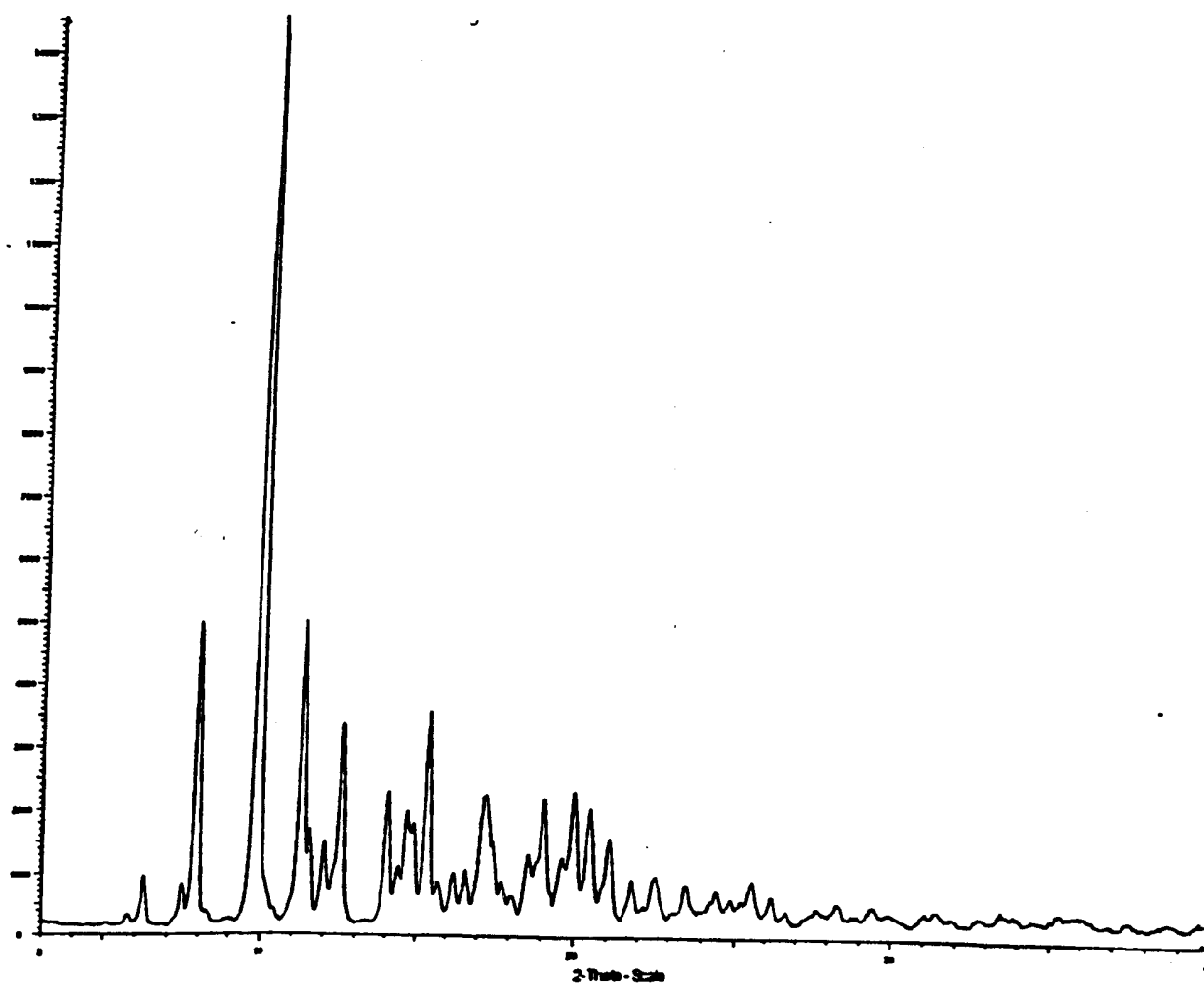
18.11.03
9133

ФИГУРА 9



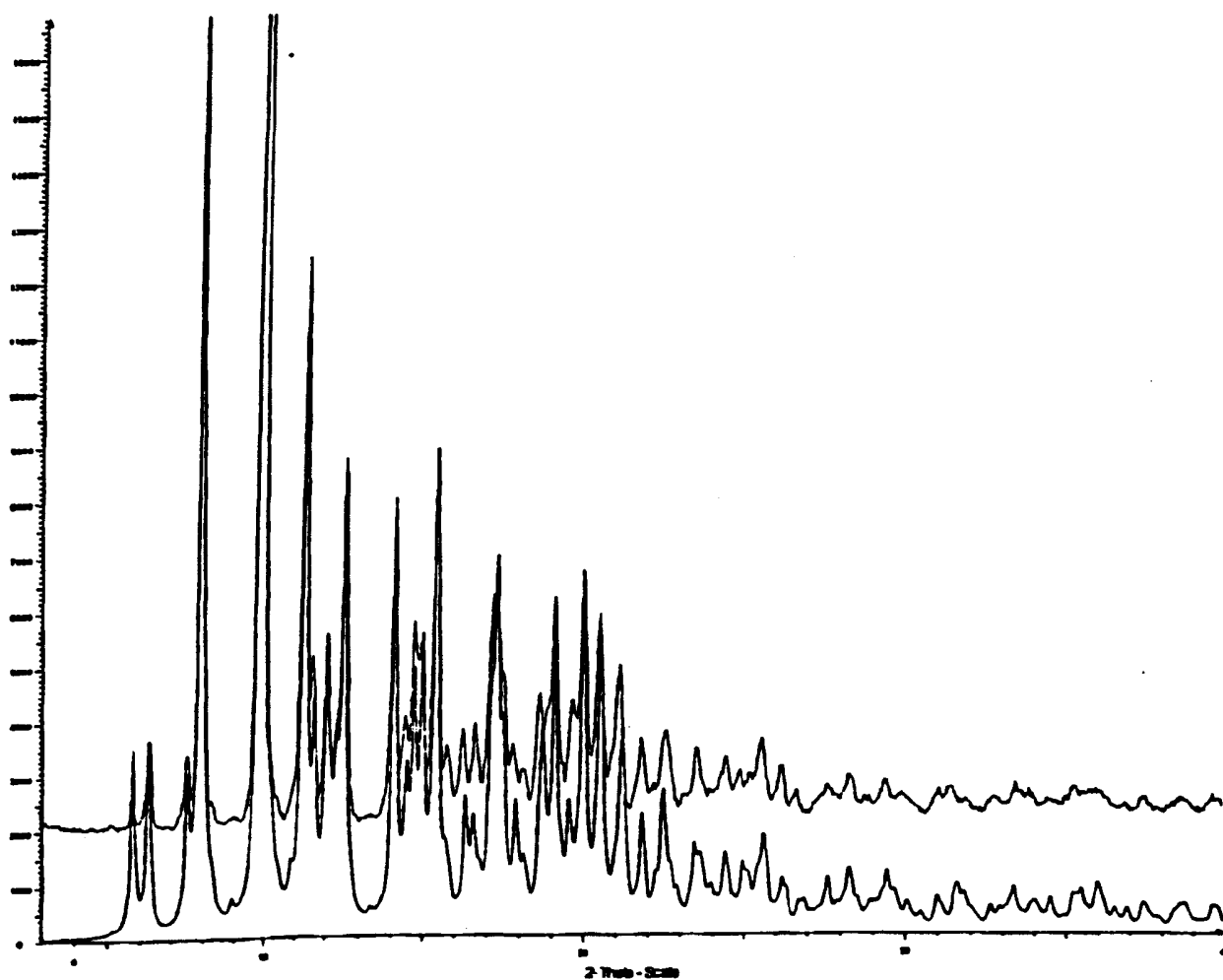
18.11.03
13/33

ФИГУРА 13



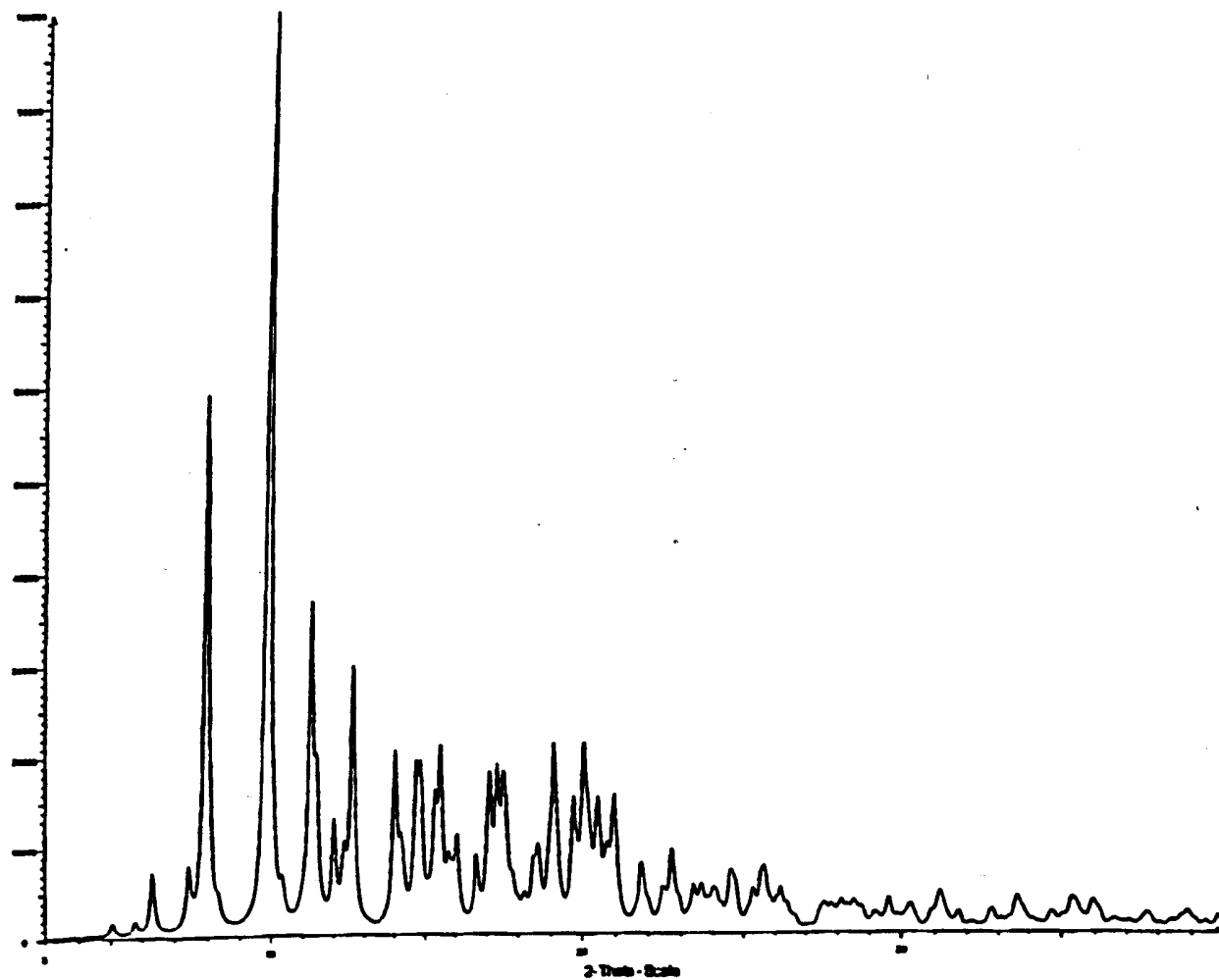
18.11.03 14/33

ФИГУРА 14



18.11.03
15733

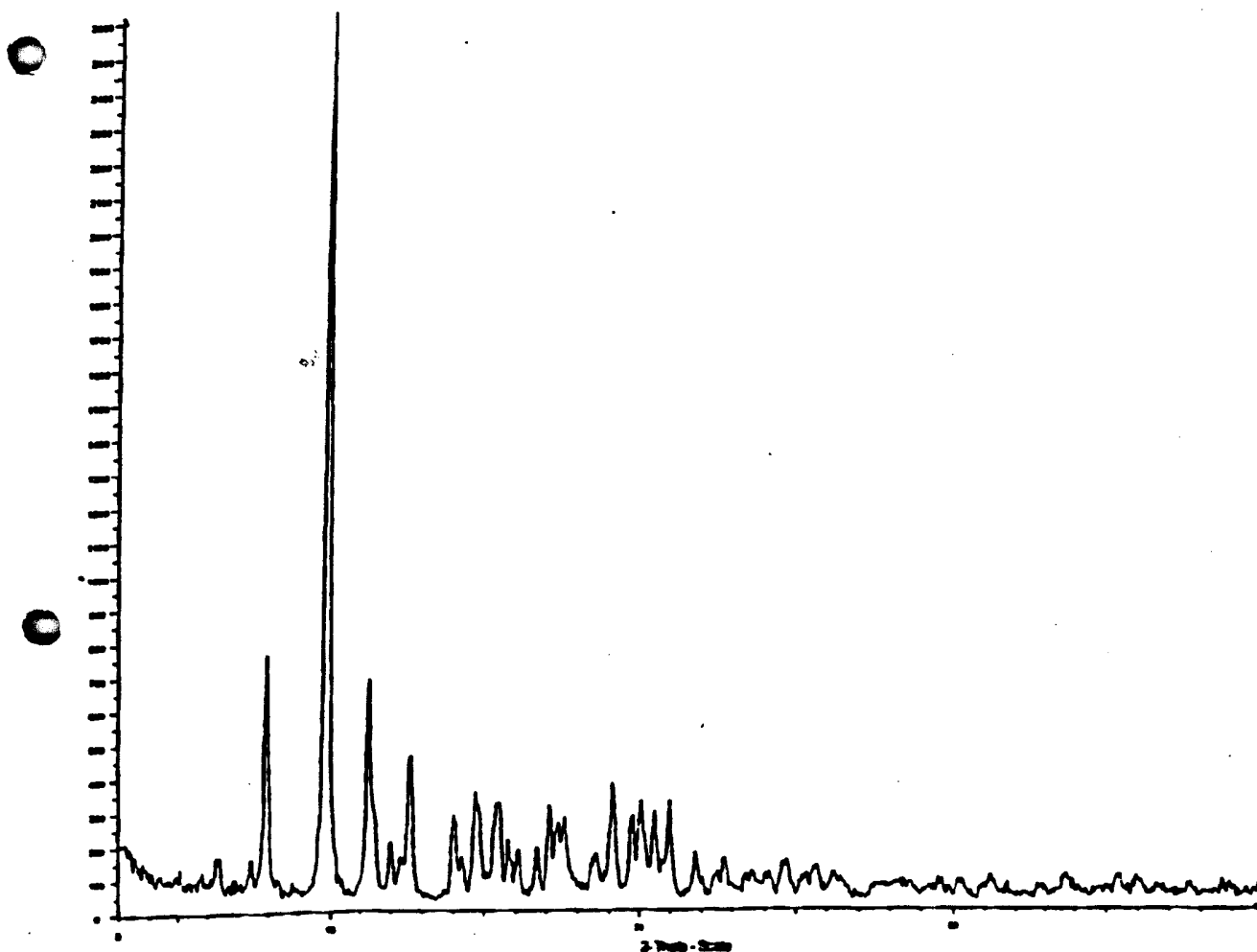
ФИГУРА 15



18.11.03

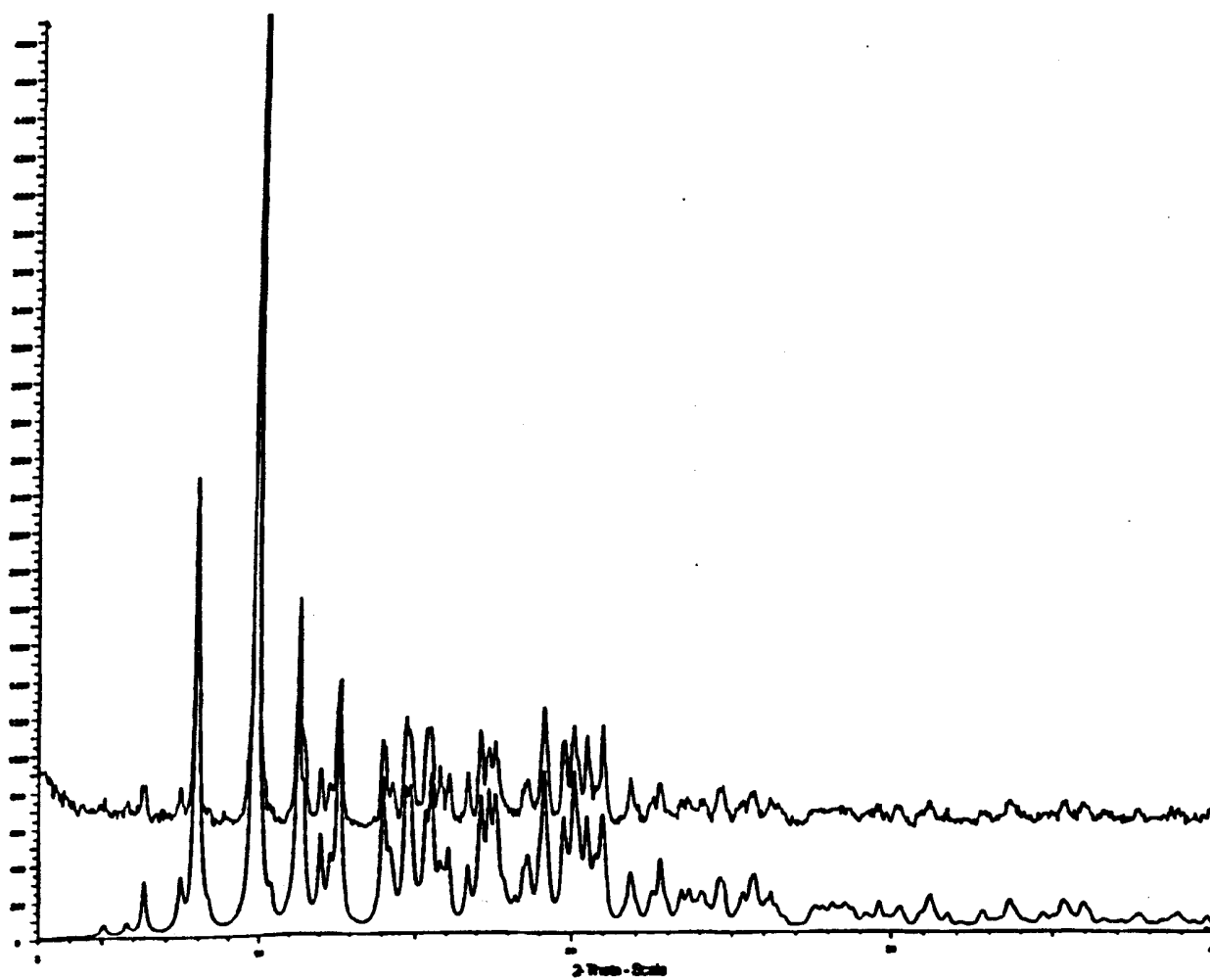
16/33

ФИГУРА 16



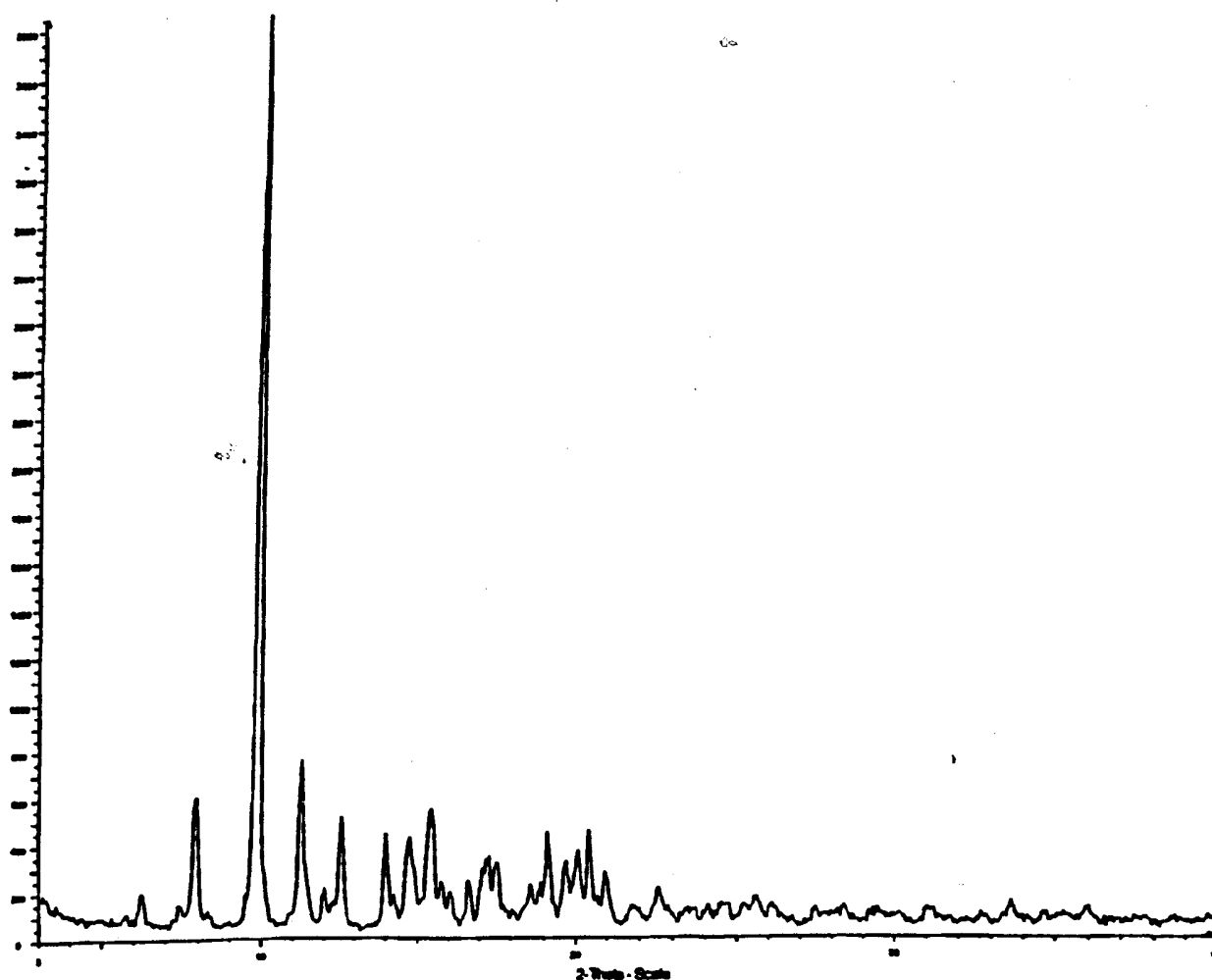
18.11.03
17/83

ФИГУРА 17



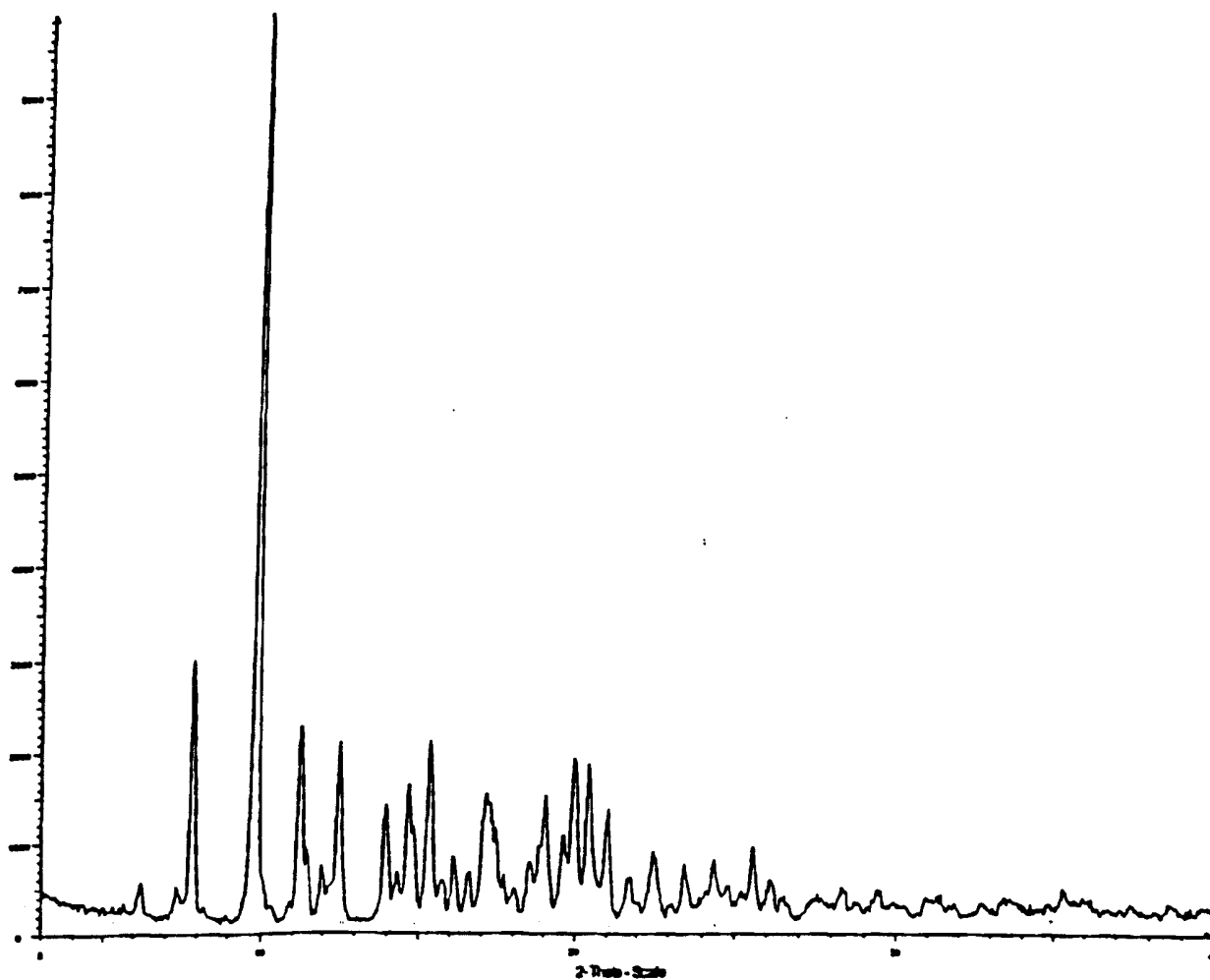
18.11.03
18/33

ФИГУРА 18



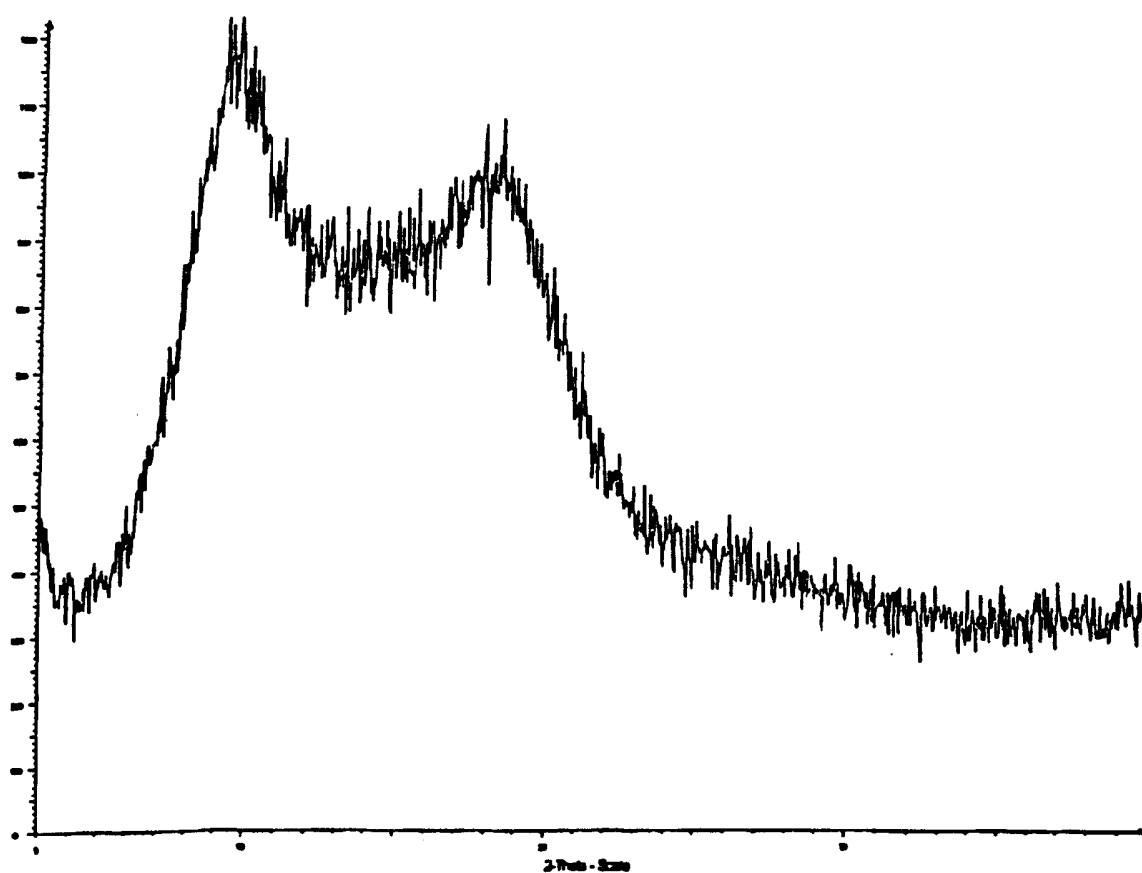
18.11.03
19/33

ФИГУРА 19



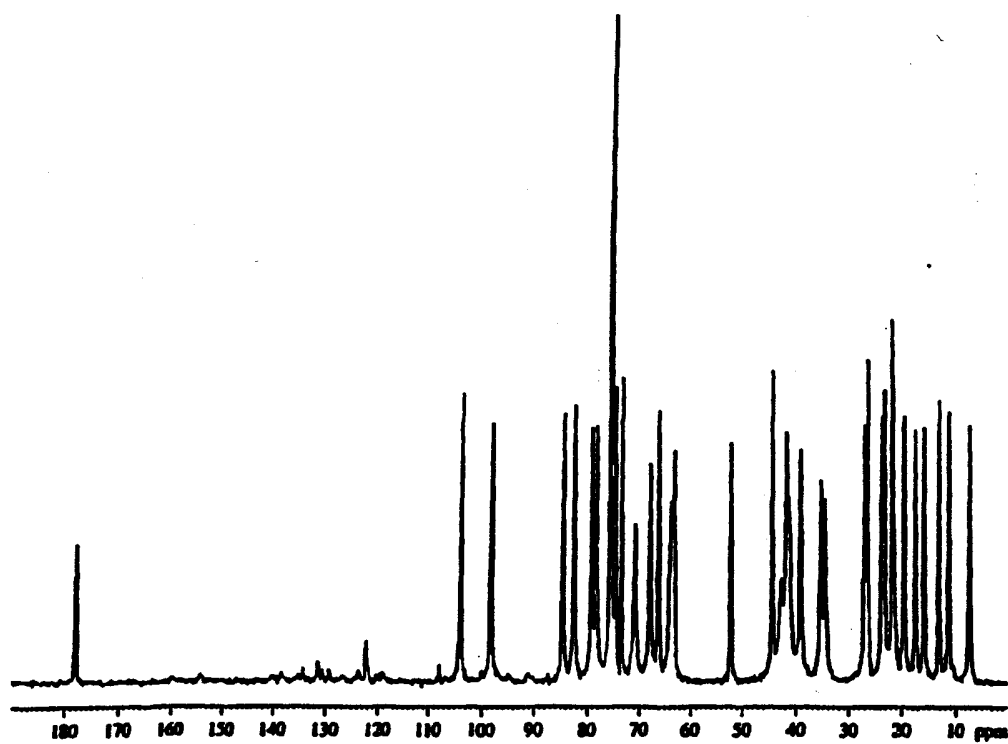
18.11.03
20/33

ФИГУРА 20



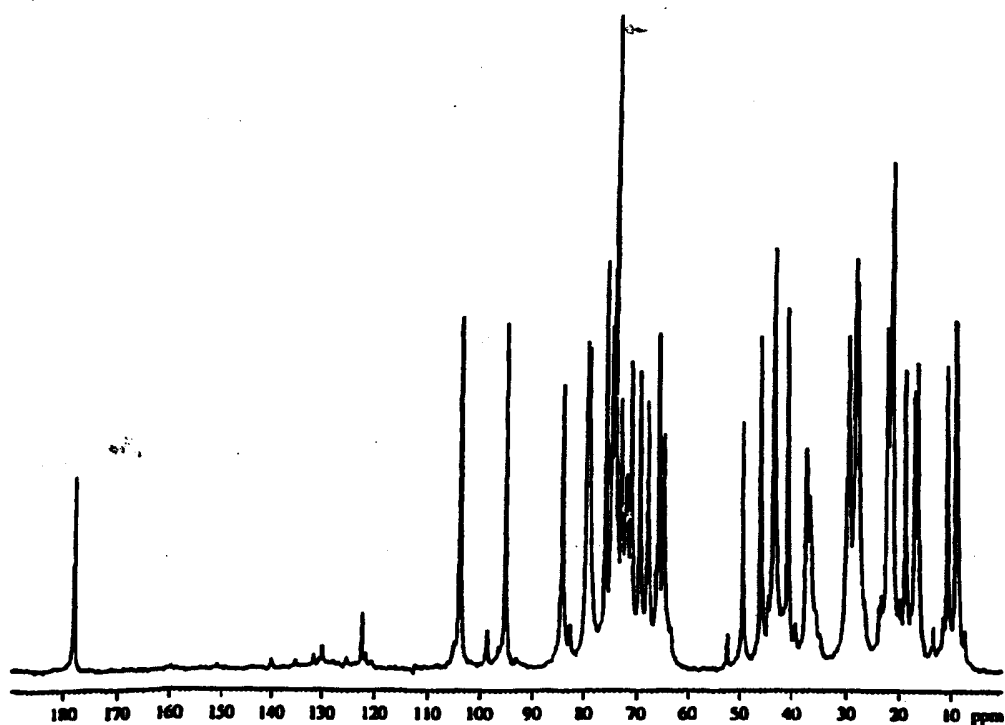
18.11.03
21/03

ФИГУРА 21



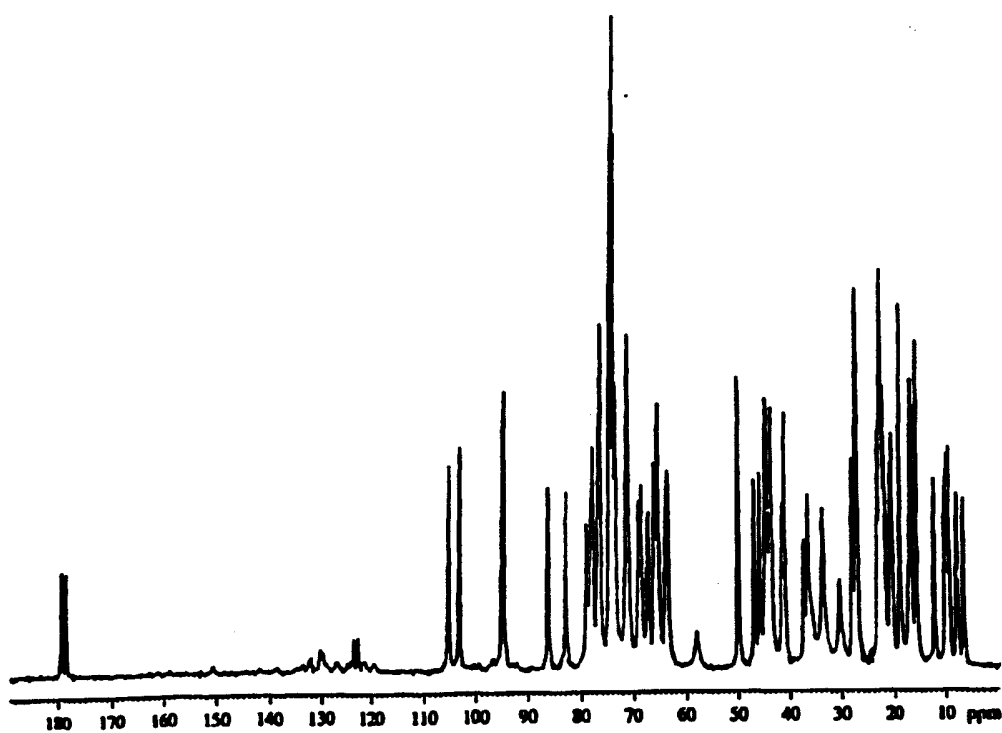
18.11.03
22/33

ФИГУРА 22



18.11.03
23/33

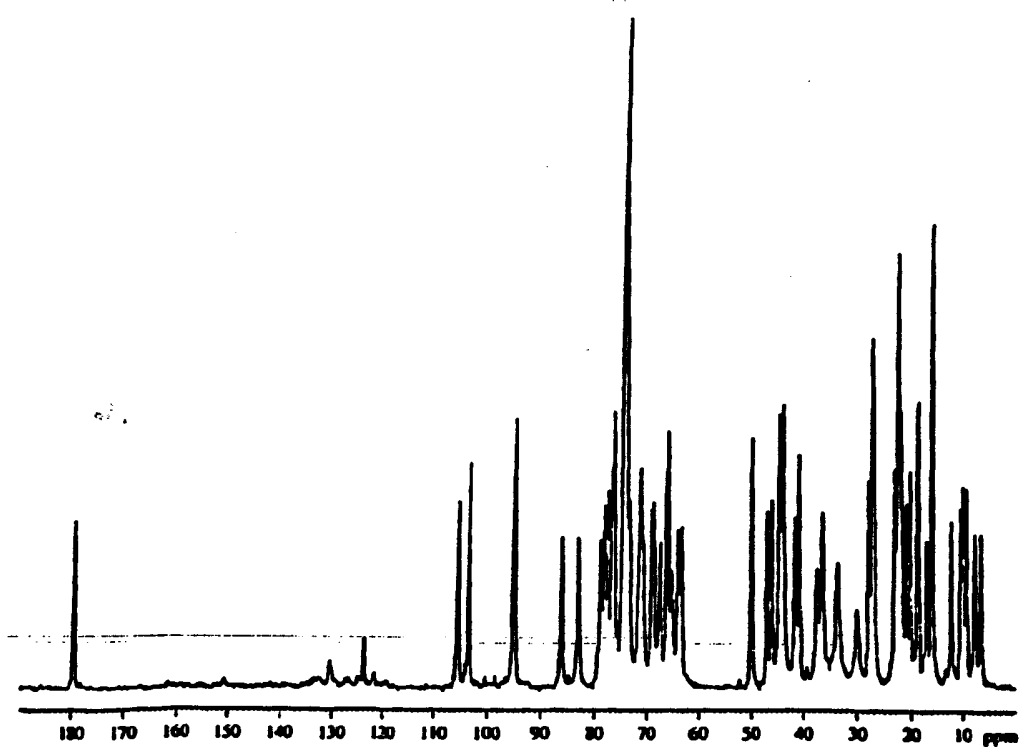
ФИГУРА 23



18.11.03

24/83

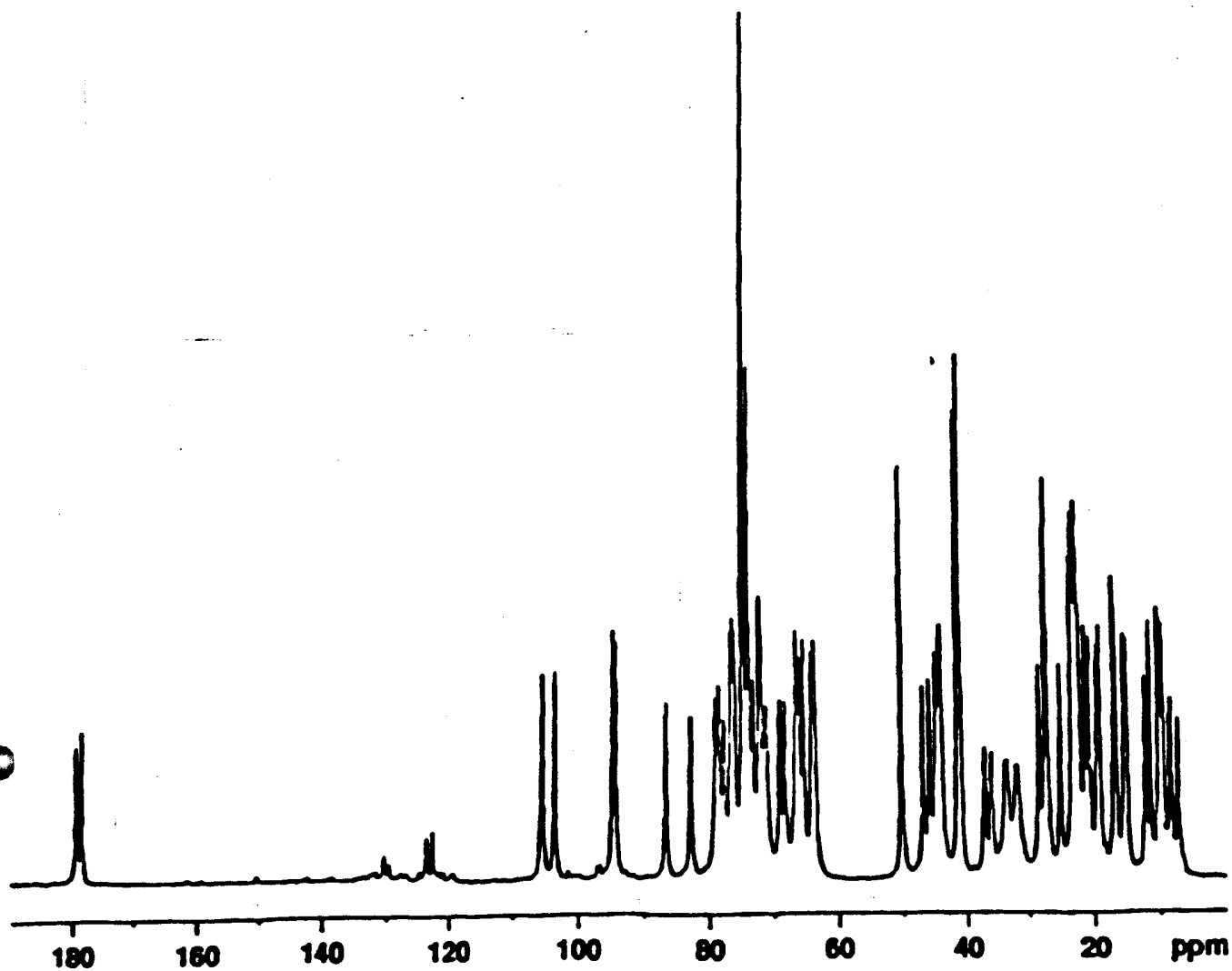
ФИГУРА 24



18.11.03

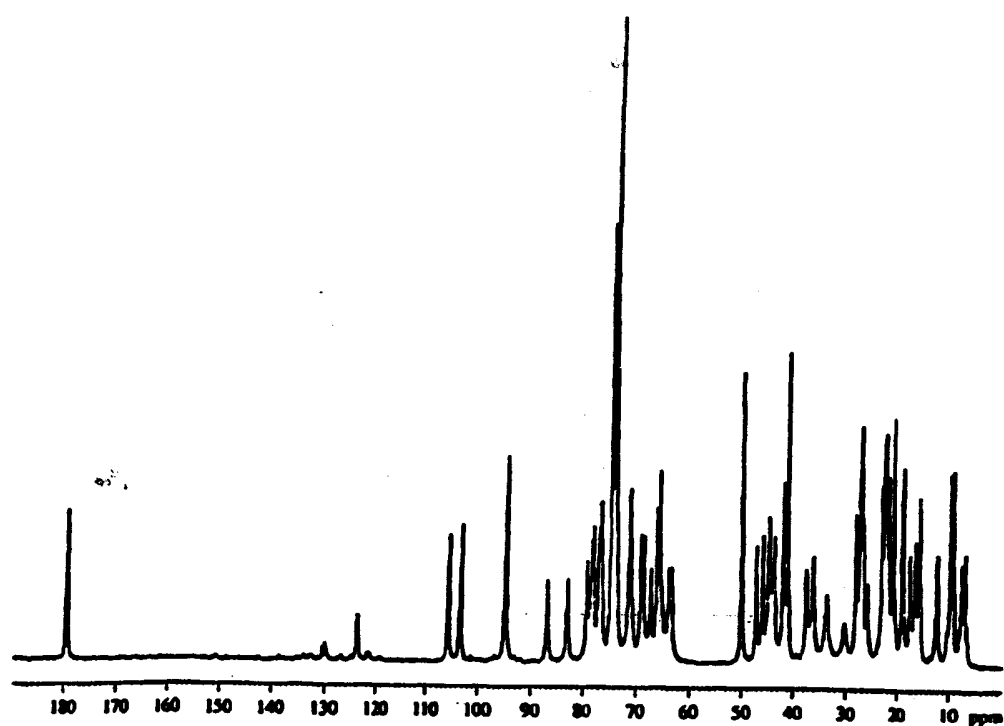
25/33

ФИГУРА 25



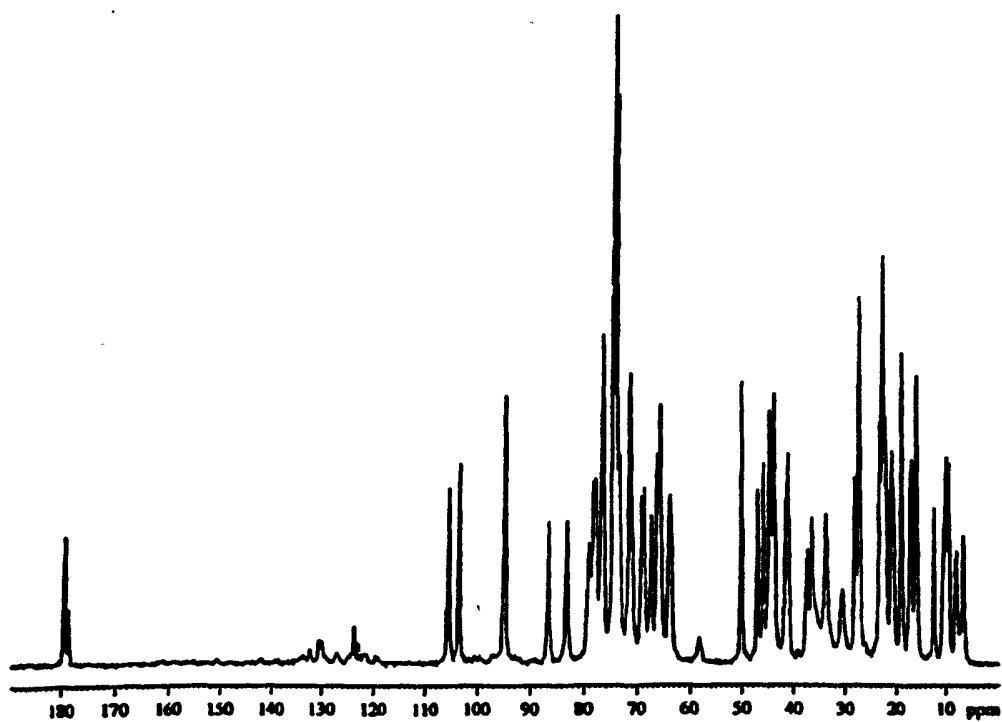
18.11.03
26/33

ФИГУРА 26



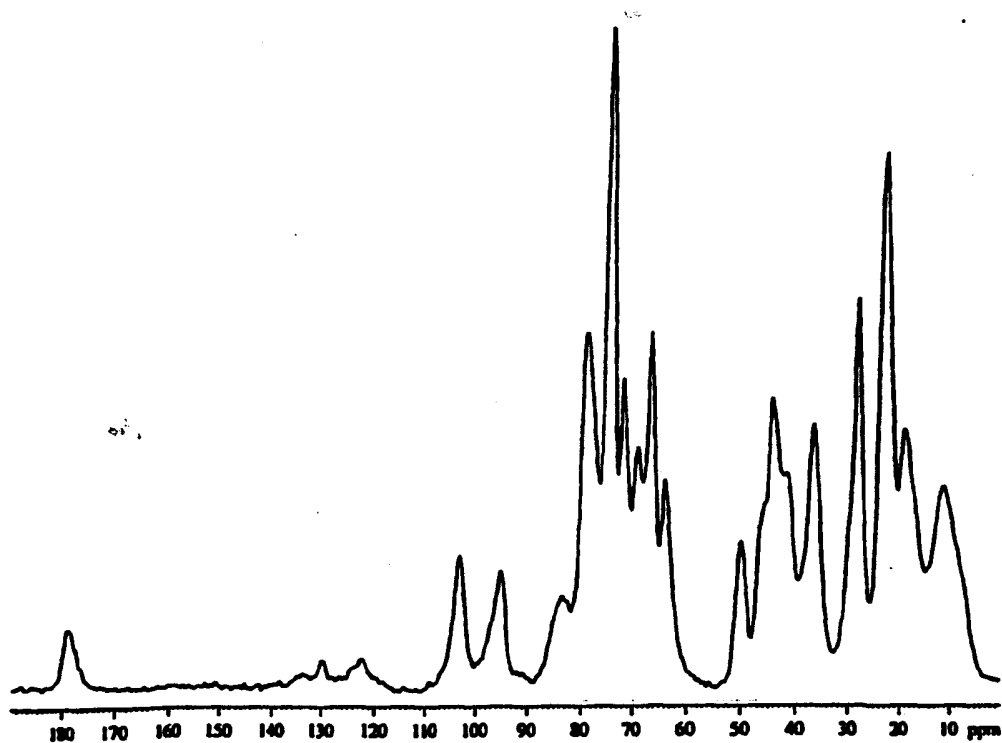
18.11.03
27/38

ФИГУРА 27



18.11.03
28/33

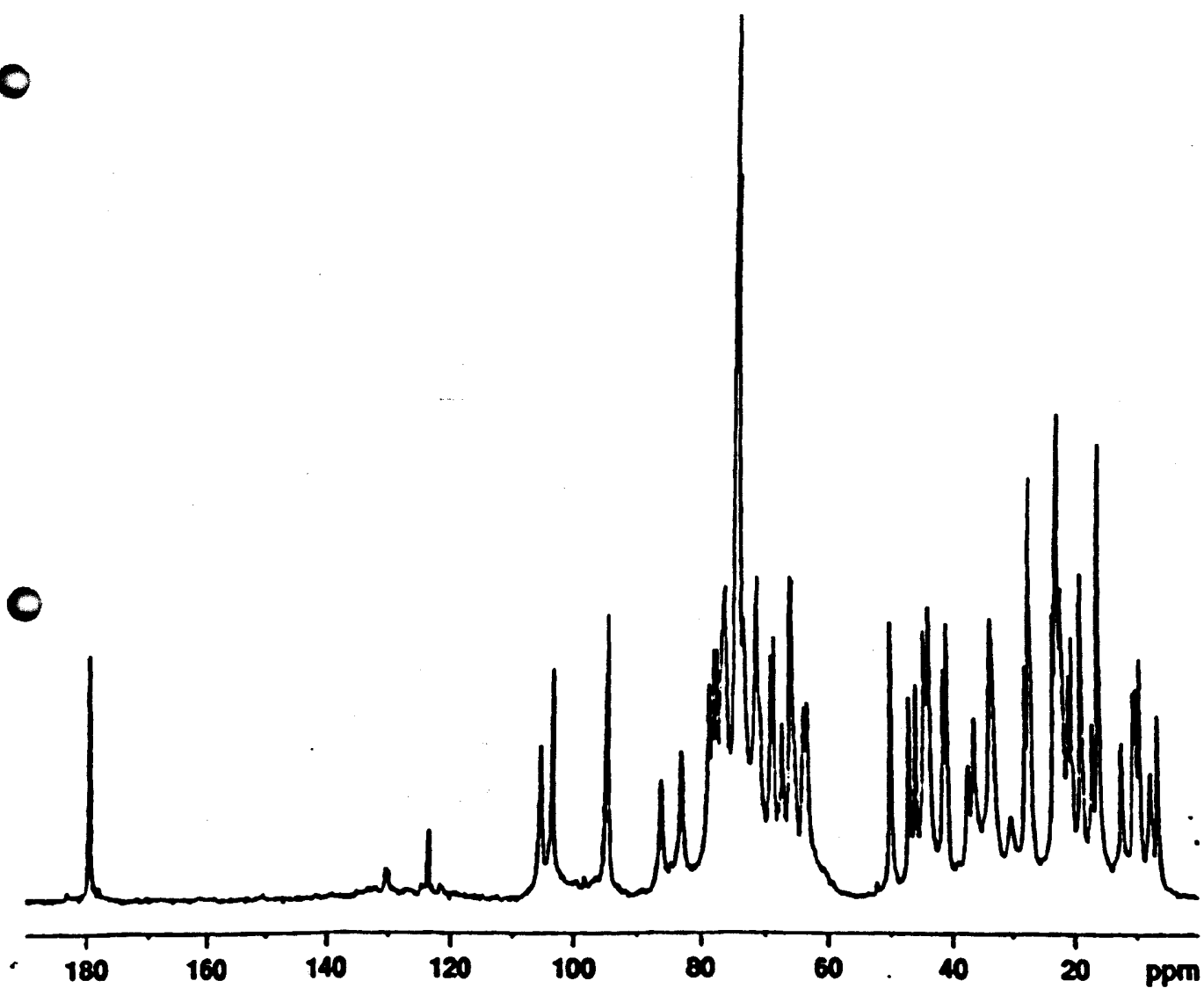
ФИГУРА 28



18.11.03

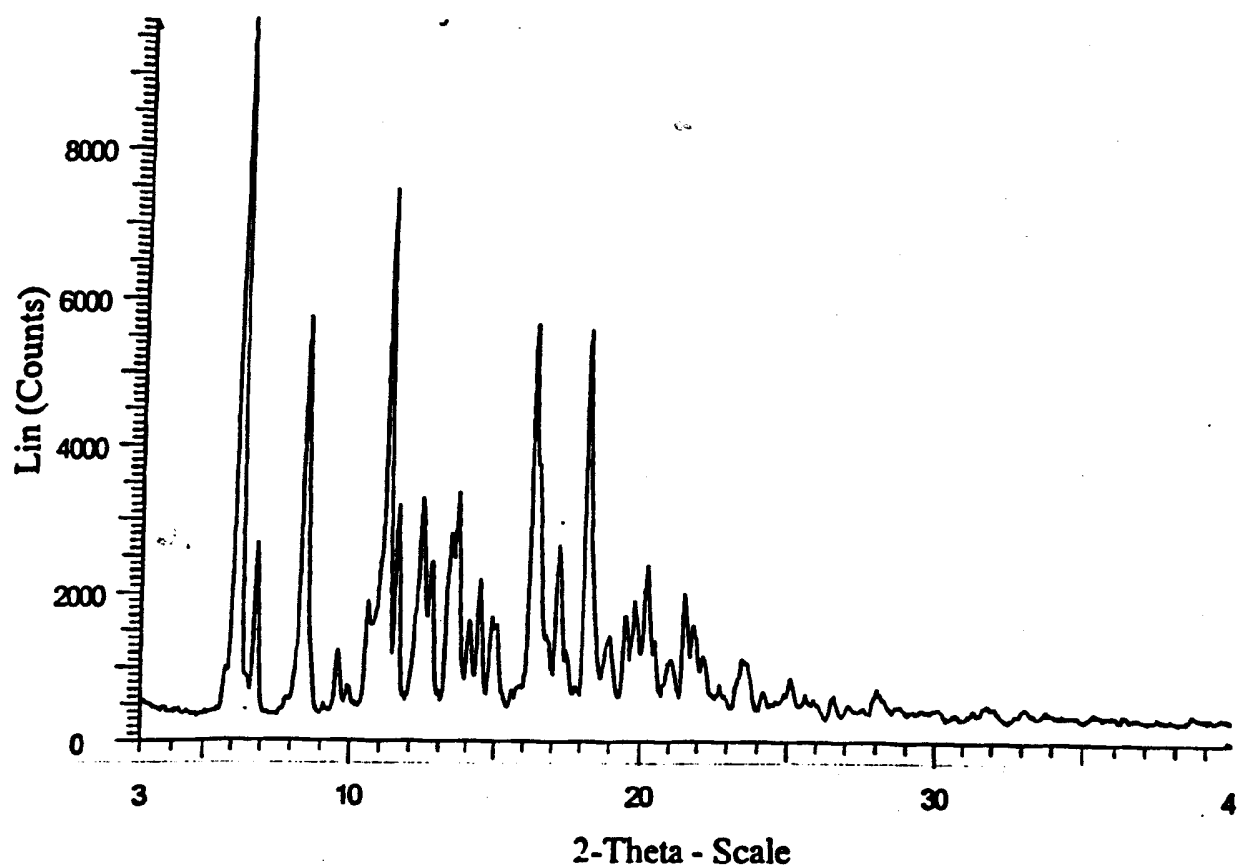
29/39

ФИГУРА 29



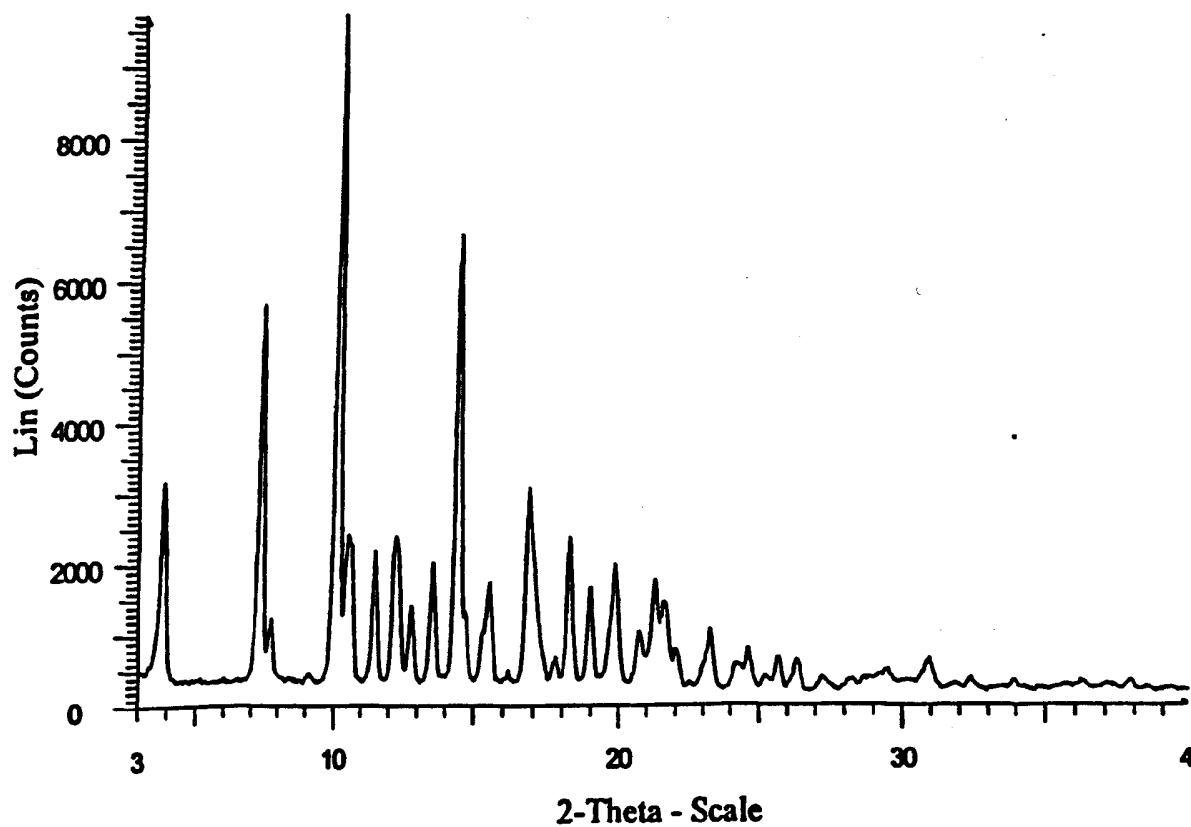
18.11.03 30/33

ФИГУРА 30



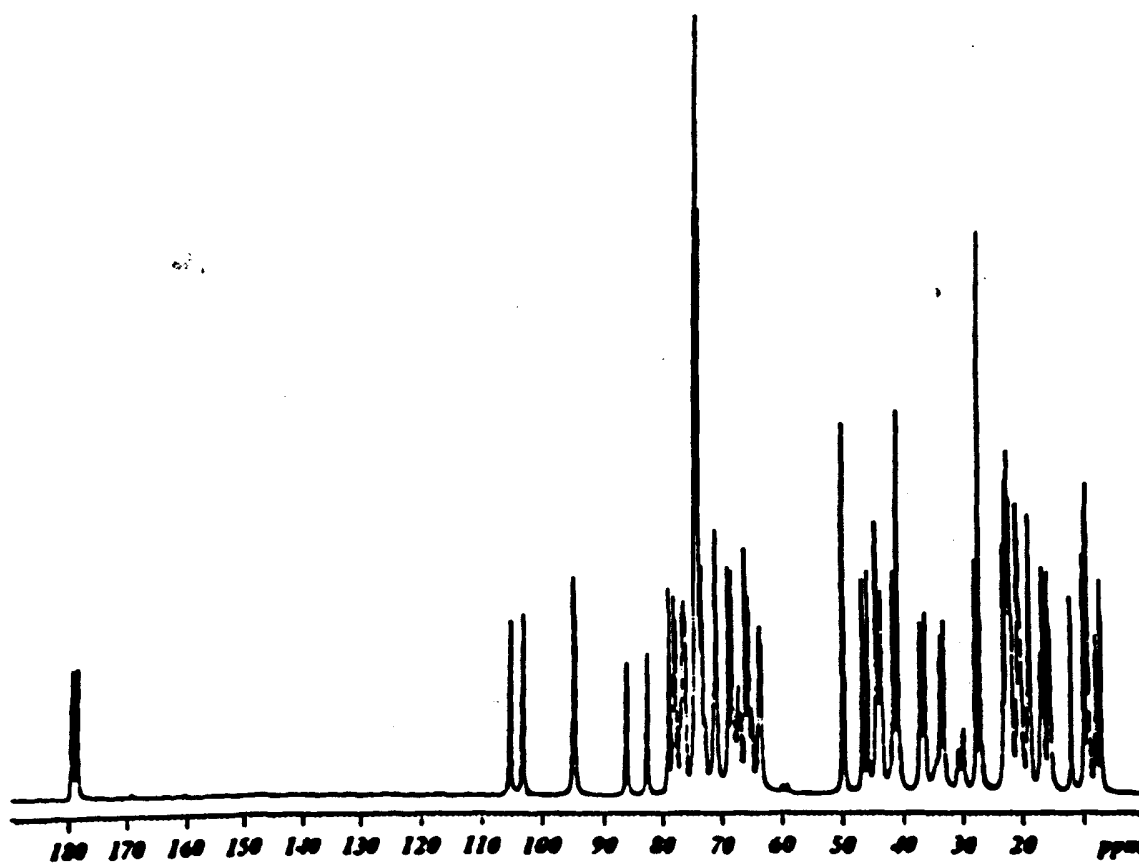
18.11.03 31/33

ФИГУРА 31



18.11.03
32/33

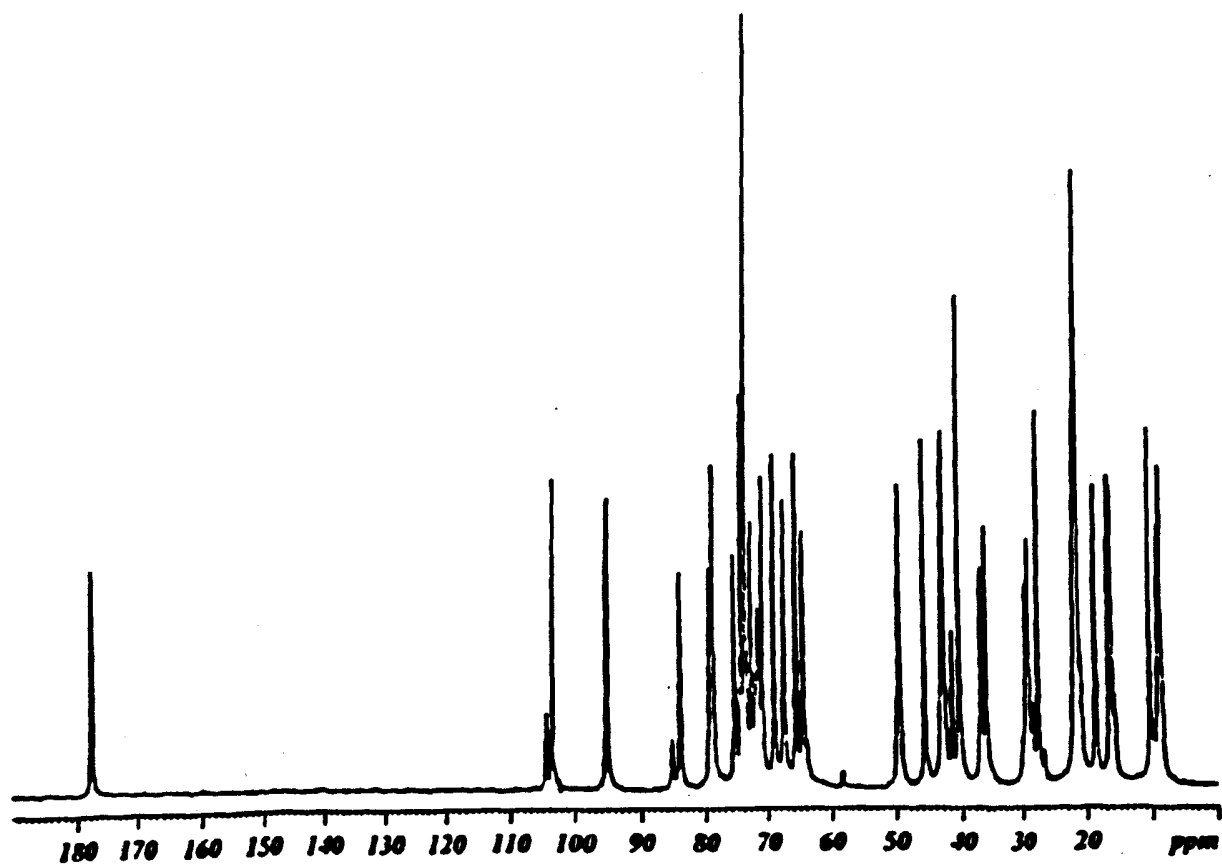
ФИГУРА 32



18.11.03

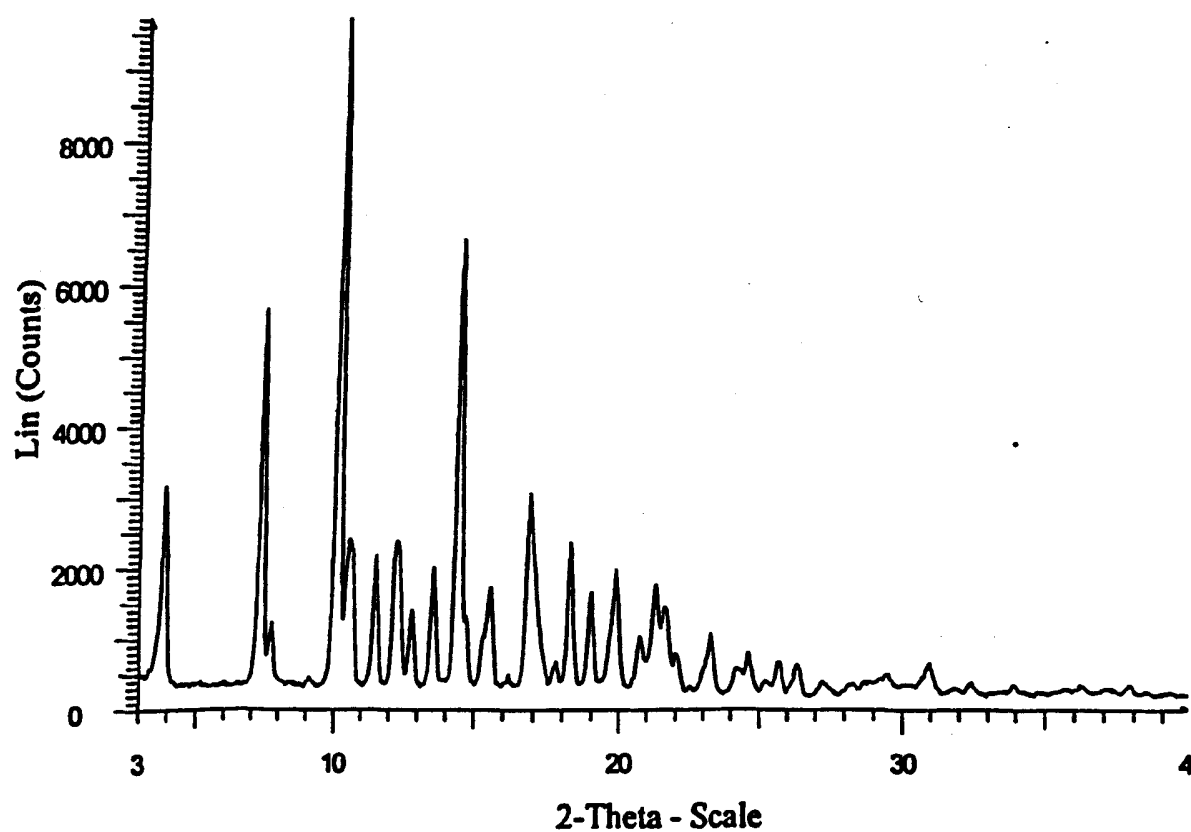
23/33

ФИГУРА 33



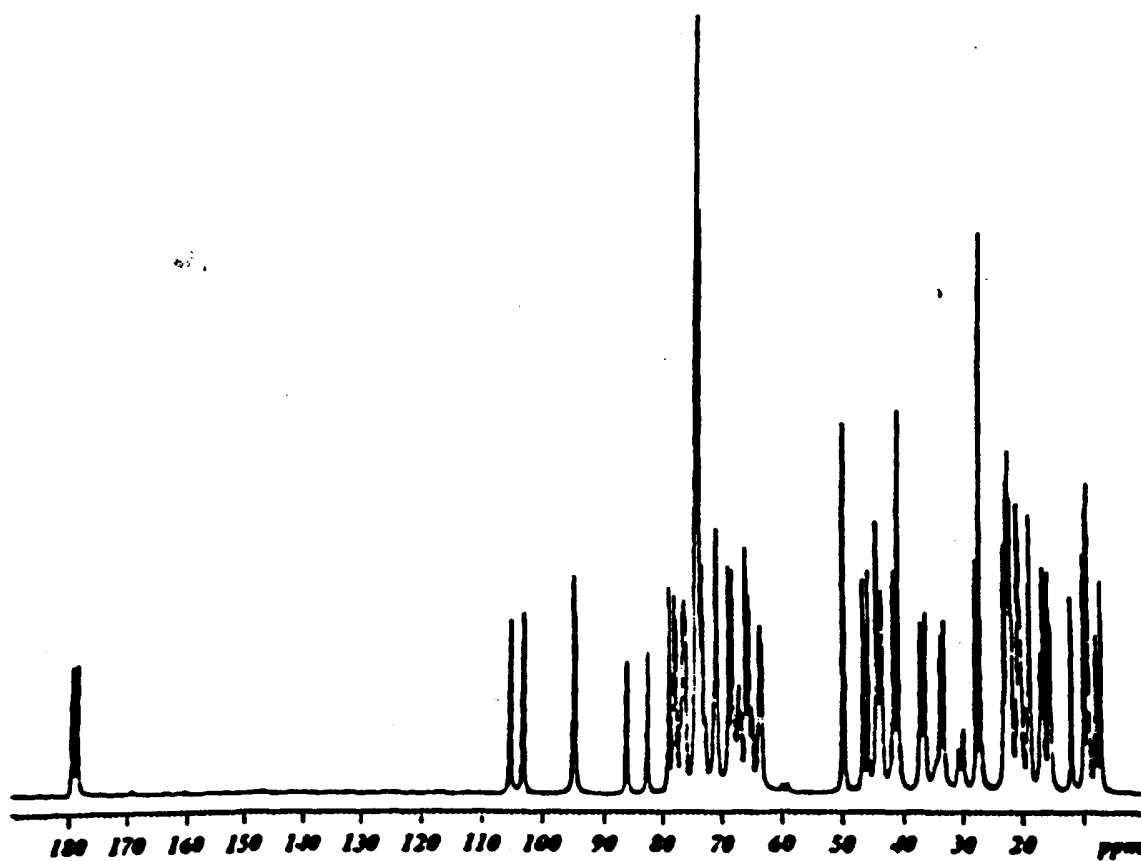
10.11.03 31/33

ФИГУРА 31



18.11.03
32/33

ФИГУРА 32



18.11.03
23/33

ФИГУРА 33

