



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0714945-0 B1



(22) Data do Depósito: 24/07/2007

(45) Data de Concessão: 10/11/2020

(54) Título: COMPOSIÇÕES DE ANÁLOGO DE RAPAMICINA E PROCESSOS PARA PREPARAÇÃO DE FORMAS CRISTALINAS DE ANÁLOGOS DE RAPAMICINAS

(51) Int.Cl.: C07D 498/18; A61K 31/395; A61P 37/06; A61K 31/4353.

(30) Prioridade Unionista: 23/07/2007 US 11/781,807; 23/07/2007 US 11/781,814; 25/07/2006 US 60/820,317.

(73) Titular(es): ABBOTT LABORATORIES.

(72) Inventor(es): SHEKHAR VISWANATH; LARRY BARTELT; ROBERT LEANNA; MICHAEL RASMUSSEN; MADHUP DHAON; RODGER HENRY; THOMAS BORCHARDT; SHUANG CHEN; GEOFF ZHANG.

(86) Pedido PCT: PCT US2007074159 de 24/07/2007

(87) Publicação PCT: WO 2008/014222 de 31/01/2008

(85) Data do Início da Fase Nacional: 26/01/2009

(57) Resumo: FORMAS CRISTALINAS DE ANÁLOGOS DE RAPAMICINAS. Uma composição de análogo de rapamicina inclui uma forma cristalina de um análogo de rapamicina. O cristal pode ser um hidrato, deidrato, solvato, ou dessolvado. O análogo de rapamicina pode possuir uma estrutura de Fórmula 1, a qual é opcionalmente um pró-fármaco, sal, derivado, ou combinação dos mesmos.

“COMPOSIÇÕES DE ANÁLOGO DE RAPAMICINA E PROCESSOS PARA PREPARAÇÃO DE FORMAS CRISTALINAS DE ANÁLOGOS DE RAPAMICINAS”

REFERÊNCIA REMISSIVA A PEDIDOS RELACIONADOS

[001]O presente pedido reivindica o benefício do Pedido de Patente Provisório U.S. No. de Série 60/820.317, depositado em 25 de Julho de 2006, intitulado "CRYSTALLINE FORMS OF RAPAMYCIN ANALOGS" e Pedido de Patente U.S. No. 11/781.804, depositado em 23 de Julho de 2007, intitulado CRYSTALLINE FORMS OF RAPAMYCIN ANALOGS", bem como Pedido de Patente U.S. No. 11/781.807, depositado em 23 de Julho de 2007, intitulado "METHODS OF MANUFACTURING CRYSTALLINE FORMS OF RAPAMYCIN 10 ANALOGS", com Shekhar Viswanath, Larry Bartelt, Robert Leanna, Michael Rasmussen, Madhup Dhaon, Rodger Henry, Thomas Borchardt, Shuang Chen e Geoff Zhang como inventores e os conteúdos dos quais são incorporados aqui por referência específica.

CAMPO DA INVENÇÃO

[002]A presente invenção se refere à formas cristalinas de análogos de rapamicina, bem como composições, usos e métodos para fabricação das mesmas. Mais particularmente, a presente invenção se refere à formas cristalinas do análogo de rapamicina zotarolimus (isto é, ABT-578).

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[003]Em produtos farmacêuticos existem, tipicamente, conflitos entre a solubilidade do fármaco, estabilidade, absorção e biodisponibilidade, os quais podem ser modulados pela forma do fármaco. Algumas formas de compostos ativos sofrem de solubilidade muito baixa ou insolubilidade em água e sofrem metabolismo de primeiro passe hepático extensivo. Algumas formas de compostos ativos sofrem de pobre absorção em virtude de sua baixa solubilidade em água. As propriedades de uma forma sólida de um composto ativo, tais como sua estrutura de cristal e morfologia, podem afetar significativamente suas propriedades. Como tal, a seleção de uma forma de um

componente ativo pode, portanto, alterar significativamente o desempenho de produtos farmacêuticos e outros produtos químicos. Tradicionalmente, a rapamicina e análogos de rapamicina têm sido preparados em formas amorfas dentro de composições farmacêuticas.

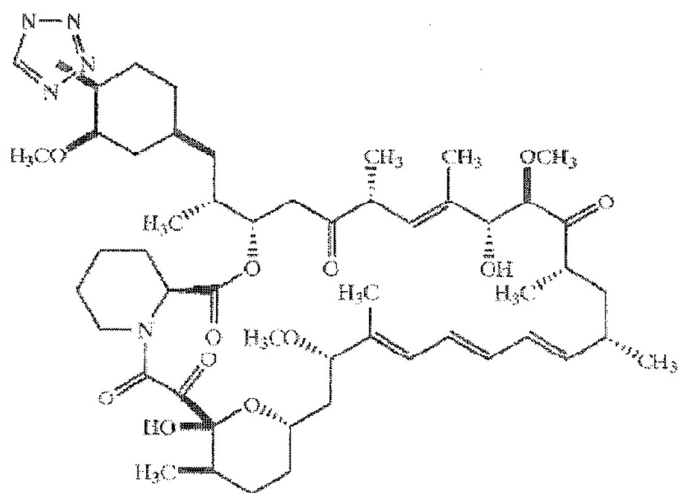
[004]A despeito do desenvolvimento e pesquisa de métodos de cristalização, o controle da cristalização baseado em compreensão estrutural e na capacidade de criar cristais e outras formar sólidas ainda é limitado. O controle sobre a nucleação, dissolução e morfologia de cristais moleculares permanece primariamente uma questão de "mistura e tentativa" (Weissbuch, I., Lahav, M. e Leiserowitz, L., Molecular Modeling Applications in Crystallization, 166, 1999). Em virtude do fato de que muitas variáveis influenciam a cristalização, precipitação, desvio de fase e as formas sólidas produzidas a partir das mesmas e em virtude do fato de que muitos reagentes e variáveis de processo estão disponíveis, a testagem de formação de sólido individual e modificação da estrutura de cristal são um processo extremamente entediante. A despeito da importância da estrutura de cristal na indústria farmacêutica, estruturas de cristal ótimas ou sólidos amorfos ótimos não são vigorosa ou sistematicamente buscados. Assim, a seleção de uma forma de um análogo de rapamicina, tal como uma forma cristalina, pode alterar significativamente seu desempenho em uma aplicação específica e tais formas continuam a ser buscadas.

[005]Portanto, seria benéfico ter uma forma cristalina de um análogo de rapamicina que pode ser usada em tratamentos terapêuticos. adicionalmente, seria benéfico ter composições, métodos de uso e métodos de fabricação da forma cristalina do análogo de rapamicina.

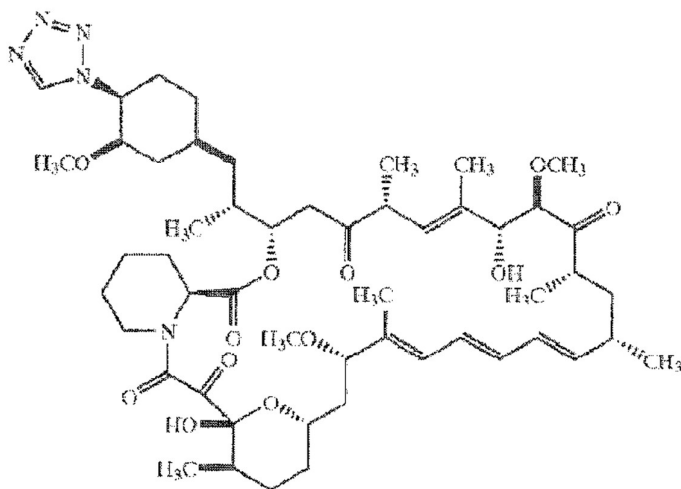
SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[006]A invenção se refere à composições, usos e métodos para a fabricação de formas cristalinas de análogos de rapamicina e, mais especificamente, formas cristalinas de zotarolimus (isto é, ABT-578).

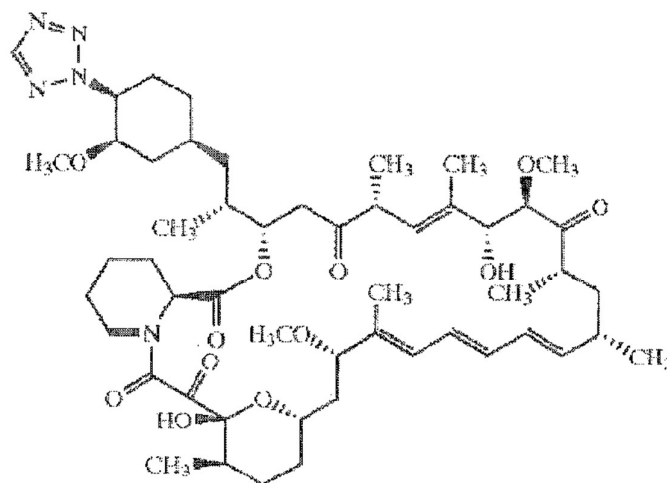
[007]Em uma modalidade, a presente invenção inclui uma forma cristalina de um análogo de rapamicina. As formas cristalinas do análogo de rapamicina podem ser preparadas através de vários métodos, os quais são descritos aqui. Tais formas cristalinas podem ser preparadas de modo que uma forma cristalina pode ser identificada para um uso particular. O análogo de rapamicina pode ter uma estrutura de Fórmula 1, Fórmula 2 ou Fórmula 3, conforme ilustrado abaixo. Também, o análogo de rapamicina cristalino pode ser um pró-fármaco, sal, derivado ou combinação dos mesmos.



FÓRMULA 1



FÓRMULA 2



FÓRMULA 3

[008] Em uma modalidade, o cristal é um solvato. Como tal, o cristal pode incluir um solvente orgânico incluído no mesmo, onde o solvente é usado para preparar o cristal. O solvente orgânico pode ser selecionado do grupo consistindo de solventes que podem ser usados no preparo do análogo de rapamicina, incluindo acetona, acetato de etila, metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, isobutanol, terc-butanol, 2-butanol, acetonitrila, tetraidrofurano, acetato de isobutila, acetato de n-butila, formato de etila, acetato de n-propila, acetato de isopropila, metiletil cetona, tolueno, N,N dimetil formamida, anisol, metil isopropil cetona, nitrometano, propionitrilo, 2-butanona (isto é, metil etil cetona ou MEK), tetraidrofurano, 1,2-dimetóxietano, acetato de isopropila, qualquer combinação dos mesmos e semelhantes.

[009] Em uma modalidade, o cristal é um desolvato. Como tal, o cristal pode ser selecionado do grupo consistindo em um desolvato de acetona, desolvato de tolueno, desolvato de acetonitrila, desolvato de formato de etila, desolvato de acetato de isobutila, N,N dimetil formamida e qualquer combinação dos mesmos.

[010] Em uma modalidade, a presente invenção inclui um processo para preparo de uma forma cristalina de um análogo de rapamicina. Tal processo compreende o seguinte: combinação do análogo de rapamicina com pelo menos um meio orgânico para formar uma mistura; incubação da mistura até que o análogo de rapamicina

cristalize; e recuperação do análogo de rapamicina cristalino do meio orgânico.

[011]Em uma modalidade, o meio orgânico pode ser compreendido de pelo menos um solvente para formar a mistura. Como tal, o processo para preparo da forma cristalina do análogo de rapamicina inclui fazer com que o análogo de rapamicina dissolva no solvente e incubação do solvente até que o análogo de rapamicina cristalize.

[012]Em uma modalidade, o processo inclui formação de uma pasta de análogo de rapamicina cristalino na solução. Em uma modalidade, o processo inclui agitação da mistura de análogo de rapamicina até que o análogo de rapamicina cristalize. Em uma modalidade, o processo inclui saturação da solução de análogo de rapamicina. Isso pode incluir formação de uma solução supersaturada de análogo de rapamicina.

[013]Em uma modalidade, o processo inclui o uso de um anti-solvente para auxiliar na formação do análogo de rapamicina cristalino. Tal método inclui combinação de pelo menos um anti-solvente com o análogo de rapamicina e o solvente para formar uma mistura bifásica e incubação da mistura bifásica para fazer uma divisão de fase líquido-líquido com uma maioria do análogo de rapamicina estando no solvente e uma minoria do análogo de rapamicina estando no anti-solvente. Opcionalmente, o solvente pode ser separado do anti-solvente antes que os cristais sejam separados.

[014]Deve ser entendido que a descrição geral precedente e a descrição detalhada a seguir são exemplificativas e explicativas apenas e não devem ser encaradas como sendo restritivas da presente invenção, conforme reivindicado. Outras vantagens da presente invenção serão evidentes após uma revisão da descrição detalhada a seguir das modalidades divulgadas, as quais são ilustradas esquematicamente nos desenhos em anexo e nas reivindicações em anexo.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[015]Para esclarecer adicionalmente as vantagens e características acima e

outras da presente invenção, uma descrição mais particular da invenção será feita através de referência às modalidades específicas da mesma, as quais são ilustradas nos desenhos em anexo. Será apreciado que esses desenhos representam apenas modalidades típicas da invenção e, portanto, não devem ser considerados como limitando seu escopo. A invenção será descrita e explicada com especificidade e detalhes adicionais através do uso dos desenhos em anexo, nos quais:

[016]A Figura 1 mostra uma representação esquemática de uma modalidade de um método de preparo de um análogo de rapamicina.

[017]A Figura 2A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de acetona de análogo de rapamicina.

[018]A Figura 2B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de acetona de análogo de rapamicina.

[019]A Figura 3A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de acetona de análogo de rapamicina.

[020]A Figura 3B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de acetona de análogo de rapamicina.

[021]A Figura 4A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de tolueno de análogo de rapamicina.

[022]A Figura 4B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de tolueno de análogo de rapamicina.

[023]A Figura 4C é um diagrama esquemático de uma modalidade de uma

única estrutura de cristal por raios X para o solvato de tolueno de análogo de rapamicina da Figura 4B.

[024]A Figura 4D é um diagrama esquemático de uma modalidade de uma estrutura de cristal mostrando canais de solvente ao longo do eixo "b" para o solvato de tolueno de análogo de rapamicina da Figura 4B.

[025]A Figura 4E é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de tolueno de análogo de rapamicina.

[026]A Figura 4F é um gráfico mostrando a alteração nos padrões de difração de raio x em pó durante a desolvatação do solvato de tolueno de análogo de rapamicina da Figura 4B.

[027]A Figura 5A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de acetonitrila de análogo de rapamicina.

[028]A Figura 5B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de acetonitrila de análogo de rapamicina.

[029]A Figura 6A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de acetonitrila de análogo de rapamicina.

[030]A Figura 6B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de acetonitrila de análogo de rapamicina.

[031]A Figura 6C é um gráfico ilustrando uma análise termogravimétrica de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de acetonitrila de análogo de rapamicina.

[032]A Figura 7A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em

pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de formato de etila de análogo de rapamicina.

[033]A Figura 7B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de formato de etila de análogo de rapamicina.

[034]A Figura 7C é um gráfico ilustrando uma análise termogravimétrica de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de formato de etila de análogo de rapamicina.

[035]A Figura 8 é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de formato de etila de análogo de rapamicina.

[036]A Figura 9A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de acetato de isobutila de análogo de rapamicina.

[037]A Figura 9B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de acetato de isobutila de análogo de rapamicina.

[038]A Figura 9C é um gráfico ilustrando uma análise termogravimétrica de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de acetato de isobutila de análogo de rapamicina.

[039]A Figura 10A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de N,N dimetil formamida de análogo de rapamicina.

[040]A Figura 10B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de N,N dimetil formamida de análogo de rapamicina.

[041]A Figura 10C é um gráfico ilustrando uma análise termogravimétrica de

uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de N,N dimetil formamida de análogo de rapamicina.

[042]A Figura 11A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de anisol de análogo de rapamicina.

[043]A Figura 11B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de anisol de análogo de rapamicina.

[044]A Figura 11C é um gráfico ilustrando uma análise termogravimétrica de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de anisol de análogo de rapamicina.

[045]A Figura 12A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de etanol de análogo de rapamicina.

[046]A Figura 12B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de etanol de análogo de rapamicina.

[047]A Figura 13A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de metanol de análogo de rapamicina.

[048]A Figura 13B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de metanol de análogo de rapamicina.

[049]A Figura 14A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de acetato de etila de análogo de rapamicina.

[050]A Figura 14B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em

pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de acetato de etila de análogo de rapamicina.

[051]A Figura 15A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de metil isopropil cetona de análogo de rapamicina.

[052]A Figura 15B um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de metil isopropil cetona de análogo de rapamicina.

[053]A Figura 16 é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de nitrometano de análogo de rapamicina.

[054]A Figura 17A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de acetato de isopropila de análogo de rapamicina.

[055]A Figura 17B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de acetato de isopropila de análogo de rapamicina.

[056]A Figura 18A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de propionitrilo de análogo de rapamicina.

[057]A Figura 18B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de propionitrilo de análogo de rapamicina.

[058]A Figura 19A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de metil etil cetona de análogo de rapamicina.

[059]A Figura 19B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em

pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de metil etil cetona de análogo de rapamicina.

[060]A Figura 20A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de tetraidrofurano de análogo de rapamicina.

[061]A Figura 20B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de tetraidrofurano de análogo de rapamicina.

[062]A Figura 21A é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um solvato de 1,2-dimetóxietano de análogo de rapamicina.

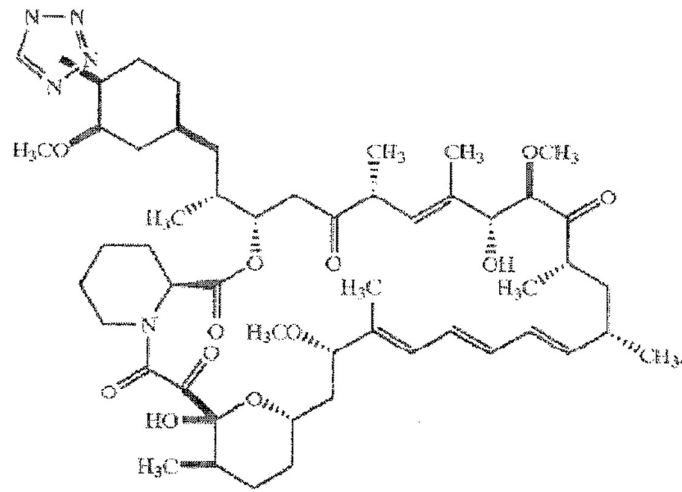
[063]A Figura 21B é um gráfico ilustrando um padrão de difração de raio x em pó de uma modalidade de uma forma cristalina de um desolvato de 1,2-dimetóxietano de análogo de rapamicina.

DESCRIÇÃO DETALHADA DAS MODALIDADES PREFERIDAS

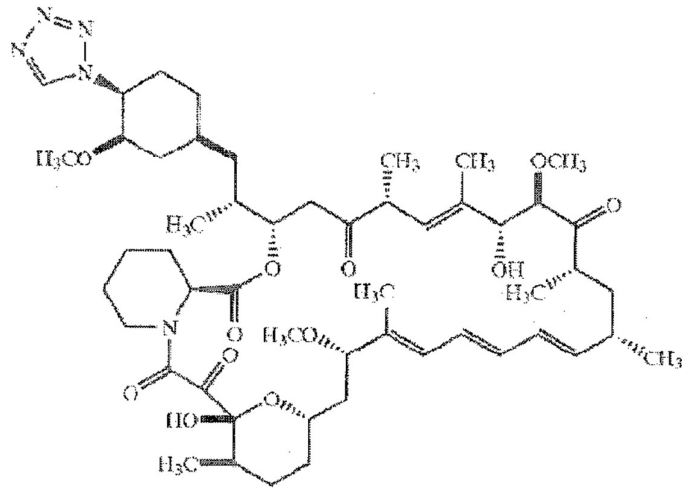
[064]De modo geral, a presente invenção se refere à estruturas de cristal, composições, usos e métodos para fabricação de formas de cristal de análogos de rapamicina, tal como o análogo de rapamicina zotarolimus (isto é, ABT-578). As formas cristalinas do análogo de rapamicina podem ser preparadas através de vários métodos, os quais são descritos aqui. Tais formas cristalinas podem ser preparadas de modo que uma forma cristalina adequada possa ser identificada para um uso particular.

[065]I. Análogos de rapamicina cristalinos

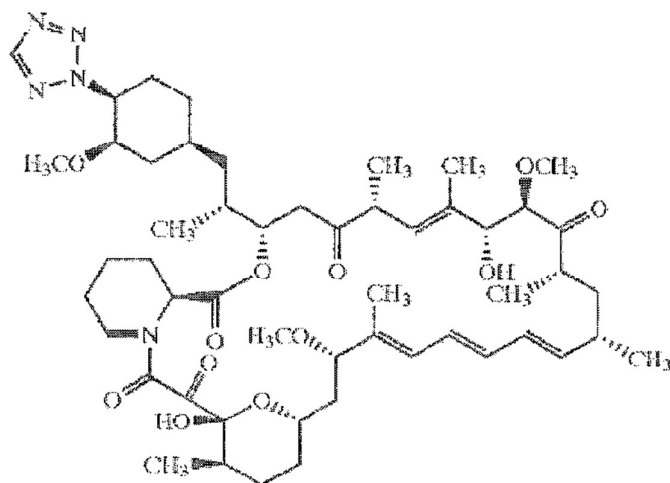
[066]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina pode ter a estrutura da Fórmula 1, Fórmula 2, Fórmula 3 ou uma combinação dos mesmos.



FÓRMULA 1



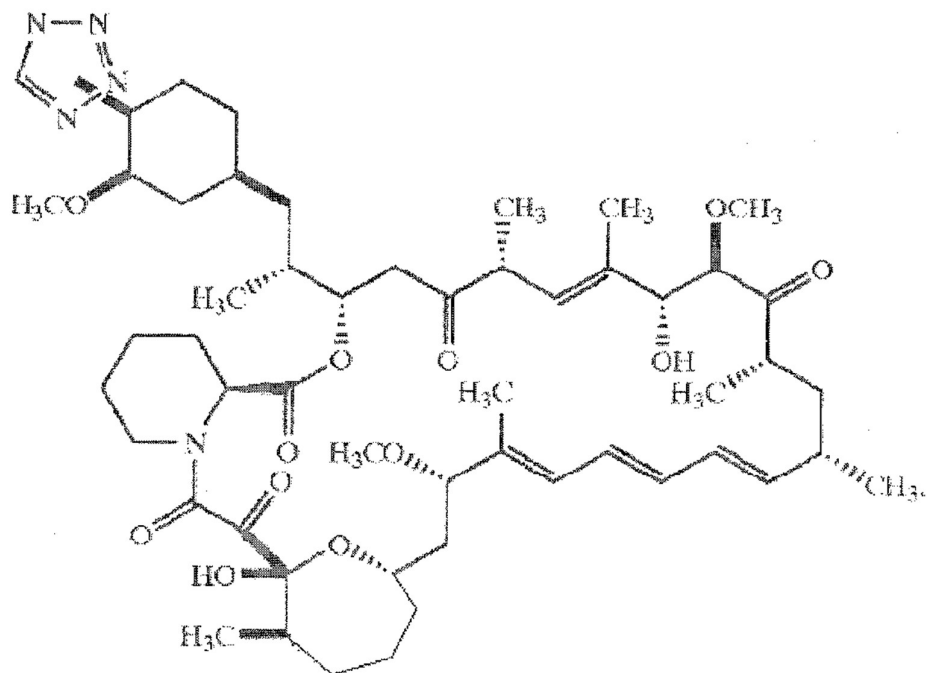
FÓRMULA 2



FÓRMULA 3

[067]O análogo de rapamicina para a rapamicina 2 pode ser referido como zotarolimus ou ABT-578. Adicionalmente, o fármaco pode ser qualquer sal ou pró-fármaco farmacologicamente aceitável do análogo de rapamicina. O preparo de sais e/ou pró-fármacos farmacologicamente aceitáveis de agentes bioativos, tal como zotarolimus, é bem conhecido na técnica.

[068]Adicionalmente, os análogos de rapamicina de Fórmulas 1-3 podem existir em equilíbrio em s oxigênio com outro análogo, conforme mostrado na Fórmula 4. O análogo de rapamicina de Fórmula 4 pode também ser os análogos correspondentes de Fórmulas 2-3. Como tal, o análogo de rapamicina de Fórmula 4 (e os equivalentes às Fórmulas 2-3) podem também formar cristais ou ser incorporados nos cristais dos análogos de rapamicina de Fórmulas 1-3.



FÓRMULA 4

[069] Em uma modalidade, o análogo de rapamicina pode ser um derivado dos análogos mostrados nas Fórmulas 1-4. Um derivado pode ser preparado através de substituições mínimas, tais como hidroxilação, metilação, etilação ou, de outro modo, alterando manualmente um substituinte.

[070] Em alguns casos, o análogo de rapamicina pode ser formado em sais, se possível, compreendendo ânions farmacologicamente aceitáveis, incluindo acetato, benzeno-sulfonato, benzoato, bicarbonato, bitartrato, brometo, edetado de cálcio, camsilato, carbonato, cloreto, brometo, iodeto, citrato, dihidrocloreto, edetato, edisilato, estolato, esilato, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato, he-xil-resorcinato, hidrabramina, hidróxinaftoato, isetionato, lactato, lactobionato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metil-sulfato, muscato, napsilato, nitrato, pantotienato, fosfato/difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, succinato, sulfato, tanato, tartrato, teoclato, triiodeto e pamoato (isto é, 1,1'-metileno-bis-(2-hidróxi-3-naftoato)).

[071] A. Formas Cristalinas

[072] Os vários análogos de rapamicina cristalinos da presente invenção

podem ter diferentes propriedades. Isto é, os cristais podem ter diferentes características estruturais, físicas, farmacológicas ou químicas. Propriedades estruturais incluem, mas não estão limitadas, a forma polimórfica cristalina e uma descrição da estrutura de cristal. Propriedades estruturais também incluem a composição, tal como se a forma sólida é um hidrato, dehidrato, solvato, desolvato, sal, combinação dos mesmos e semelhantes.

[073]Também, o estado físico de um análogo de rapamicina cristalino pode ser ainda dividido em: (1) se a matriz de cristal inclui um co-aduto; (2) morfologia (por exemplo, estrutura de cristal); e (3) estrutura interna (por exemplo, polimorfismo). Em um co-aduto, a matriz de cristal pode incluir uma quantidade estequiométrica ou não estequiométrica do aduto, por exemplo, um solvente de cristalização ou água (por exemplo, um solvato ou um hidrato). Solvatos e hidratos não estequiométricos incluem inclusões ou clatratos, isto é, onde o solvente ou água está encerrada em intervalos aleatórios dentro da matriz da lattice de cristal. Um solvente ou hidrato estequiométrico é onde uma matriz de cristal inclui um solvente ou água em locais específicos em uma proporção definida. Isto é, a molécula de solvente ou água pode ser parte da matriz de cristal em uma disposição definida. Adicionalmente, o estado de uma matriz de cristal pode alterar através de remoção de um co-aduto, originalmente presente na matriz de cristal. Por exemplo, se um solvente ou água é removida de um solvato ou um hidrato, um furo é formado dentro da matriz de cristal, desse modo, formando um novo estado físico. Tais estados físicos são referidos aqui como hidratos desidratados (isto é, dehidratos) ou solvatos desolvatados (isto é, desolvatos).

[074]A estrutura de cristal é a descrição da aparência externa de um cristal individual. Por exemplo, um cristal pode ter um formato cúbico, tetragonal, orto-rômico, monoclinico, triclinico, rombóide ou hexagonal.

[075]A estrutura interna de um cristal se refere à forma cristalina ou polimorfismo. Um determinado composto, tal como um análogo de rapamicina, pode existir

como diferentes polimorfos, isto é, espécies cristalinas distintas. Em geral, diferentes polimorfos de um determinado composto podem ser tão diferentes quanto à estrutura e propriedades quanto os cristais de dois compostos diferentes. A solubilidade, ponto de fusão, densidade, dureza, formato de cristal, propriedades ópticas e elétricas, pressão de vapor, estabilidade e semelhantes podem variar com a forma polimórfica.

[076]A estrutura cristalina de um composto, tal como um análogo de rapamicina, exerce um papel importante na determinação das propriedades que afetam a biodisponibilidade e eficácia como um produto farmacêutico. As propriedades de muitos compostos podem ser modificadas através de alterações estruturais. Por exemplo, diferentes polimorfos ou cristais do mesmo composto farmacêutico podem ter diferentes atividades terapêuticas. Compreensão das relações estrutura-propriedade pode ser importante em esforços para maximizar as propriedades desejáveis de análogos de rapamicina, tal como a eficácia farmacêutica de um produto farmacêutico.

[077]B. Cristalização

[078]O processo de cristalização é um de ordenação do análogo de rapamicina em uma estrutura de látice sólida. Durante esse processo, moléculas aleatoriamente organizadas em uma solução, um fundido ou a fase gasosa tomam posições regulares na estrutura de látice. A organização regular da látice é responsável por muitas das propriedades únicas dos cristais, incluindo a difração de raios X, ponto de fusão definido e faces agudas, bem como de cristal definidas. Embora precipitação usualmente se refira à formação de substâncias amorfas que não têm simetria ou ordenação e não podem ser definidas pelas estruturas ou como polimorfos, ela também pode se referir ao processo de formação de cristais através de precipitação. Cristalização e precipitação resultam da incapacidade de uma solução de dissolver completamente o análogo de rapamicina e podem ser induzidas através de alteração do estado (por exemplo, variação de parâmetros) da composição de alguma forma.

[079]Alguns dos processos importantes em cristalização são nucleação,

cinética de crescimento, fenômenos interfaciais, aglomeração e ruptura. Nucleação resulta quando a barreira de energia de transição de fase é superada, desse modo, permitindo que uma partícula se forme a partir de uma solução supersaturada. O crescimento de cristal é o alargamento das partículas de cristal causado pelo depósito do análogo de rapamicina sobre uma superfície existente do cristal. A taxa relativa de nucleação e crescimento determina a distribuição de tamanho dos cristais que são formados. A força de acionamento termodinâmica para nucleação e crescimento é a super-saturação, a qual é definida como o desvio do equilíbrio termodinâmico. A aglomeração é a formação de partículas maiores (por exemplo, cristais) aderidas juntas e formando uma estrutura cristalina maior.

[080]Análogos de rapamicina podem assumir muitas formas de cristal e tamanhos diferentes, dependendo do protocolo e condições para formação da forma cristalina. Ênfase particular deve ser colocada sobre as características de cristal na indústria farmacêutica (por exemplo, forma polimórfica, tamanho de cristal, estrutura de cristal e distribuição de tamanho de cristal) porque a estrutura de cristal e o tamanho podem afetar a fabricação, formulação e farmacocinética, incluindo biodisponibilidade. Existem quatro classes amplas pelas quais cristais de um determinado composto podem diferir: composição; estrutura; forma polimórfica; e tamanho de cristal.

[081]A composição de cristal descreve, tipicamente, se a forma sólida é um composto simples, tal como análogo de rapamicina puro, ou é uma mistura de compostos. Por exemplo, formas sólidas podem estar presentes em sua forma neutra, tal como a base livre de um composto tendo um nitrogênio básico ou como um sal (por exemplo, o sal de hidrócloro de um composto contendo nitrogênio básico). Uma composição de cristal também pode descrever cristais contendo moléculas de aduto. Durante cristalização ou precipitação, uma molécula de aduto (por exemplo, um solvente ou água) pode ser incorporada na matriz de látice cristalina, adsorvida sobre a superfície ou encerrada dentro da látice do cristal. Tais composições são referidas

como inclusões, tais como hidratos (por exemplo, molécula de água incorporada na látice) e solvatos (por exemplo, solvente encerrado dentro de uma látice). Se um cristal se forma como uma inclusão pode ter um efeito profundo sobre as propriedades, tais como a biodisponibilidade ou facilidade de processamento ou fabricação do análogo de rapamicina. Por exemplo, inclusões podem dissolver mais ou menos prontamente ou ter propriedades mecânicas ou resistências diferentes das estruturas de cristal de não-inclusão correspondentes do mesmo composto.

[082]Conseqüentemente, o análogo de rapamicina pode cristalizar em diferentes formatos externos, dependendo, dentre outros, da composição e temperatura do meio de cristalização. Os formatos de face de cristal são descritos como a estrutura de cristal. Tal informação é importante porque a estrutura de cristal tem uma grande influência sobre a proporção de superfície-para-volume do cristal. Embora diferentes estruturas de cristal possam ter a mesma estrutura interna e padrões de cristal único idênticos, elas ainda podem exibir diferentes propriedades farmacêuticas (Haleblian 1975, J. Pharm. Sci., 64: 1269). A estrutura de cristal pode influenciar várias características farmacêuticas, por exemplo, fatores mecânicos, tais como capacidade de fluxo em uma seringa, comportamento de formação de tablete, filtração, secagem e mistura com outras substâncias (por exemplo, excipientes) e fatores não mecânicos, tal como taxa de dissolução.

[083]Adicionalmente, o mesmo análogo de rapamicina pode cristalizar como mais de uma espécie cristalina distinta (por exemplo, tendo uma estrutura de látice interna diferente) ou desviar de uma espécie cristalina para outra. Esse fenômeno é conhecido como polimorfismo e as espécies distintas são conhecidas como polimorfos. Polimorfos podem exibir diferentes propriedades ópticas, pontos de fusão, solubilidades, reatividades químicas, taxas de dissolução e diferentes biodisponibilidades. É bem sabido que diferentes polimorfos do mesmo composto farmacêutico podem ter diferentes farmacocinéticas. Por exemplo, um polimorfo pode ser absorvido mais

prontamente do que sua contra-parte. No extremo, apenas uma forma polimórfica de um determinado produto farmacêutico pode ser adequada para tratamento de doença. Contudo, é provável que os diferentes polimorfos tenham propriedades diferentes que podem ser utilizadas juntas ou separadamente. Por exemplo, polimorfos tendo diferentes propriedades de solubilidade podem ser usados juntos de forma a padronizar a liberação ou perfis de eluição ou podem ser usados em diferentes formulações ou terapias. Assim, a descoberta e desenvolvimento de polimorfos de análogo de rapamicina novos ou benéficos é extremamente importante, especialmente na área farmacêutica.

[084]Sólidos amorfos, tais como rapamicina tradicional e análogos de rapamicina, não têm formato de cristal e não podem ser caracterizados de acordo com a estrutura ou forma polimórfica. Um sólido amorfo comum é o vidro, no qual os átomos e moléculas existem em uma série não uniforme. Sólidos amorfos são, usualmente, o resultado de solidificação rápida e podem ser convenientemente identificados através de difração de raio x em pó, uma vez que esses sólidos proporcionam linhas muito difusas e nenhum padrão de difração de cristal. Embora sólidos amorfos possam, frequentemente, ter propriedades farmacêuticas desejáveis, tais como taxas de dissolução rápidas, eles usualmente não são preferidos em virtude de sua instabilidade física e/ou química. Um sólido amorfo está em um estado estrutural de alta energia com relação à sua forma cristalina e, assim, pode cristalizar durante armazenamento ou transporte. Também, um sólido amorfo pode ser mais sensível à oxidação (Pikal e colaboradores, 1997, J. Pharm. Sci. 66: 1312). Sólidos amorfos podem ser obtidos através de solidificação de uma forma tal de modo a evitar o processo de cristalização termodinamicamente preferido. Eles também podem ser preparados através de ruptura de uma estrutura de cristal existente.

[085]A cristalização e precipitação são alterações de fase que resultam na formação de um sólido cristalino ou um sólido amorfo de uma solução. Cristalização

também inclui desvio polimórfico de uma espécie cristalina para outra. O tipo mais comum de cristalização é cristalização a partir de uma solução na qual uma substância é dissolvida em uma temperatura apropriada em um solvente, então, o sistema é processado para obter super-saturação, seguido por nucleação e crescimento de cristal.

[086]C. Componentes de cristalização

[087]Conforme estabelecido acima, solventes influenciam a cristalização e os cristais de análogo de rapamicina resultantes. Em geral, a maioria das composições de cristalização contém um solvente como um dos componentes. Solventes podem influenciar e direcionar a formação de cristais através da polaridade, viscosidade, ponto de ebulição, volatilidade, distribuição de carga e formato molecular. A identidade e concentração do solvente são uma forma de controlar a saturação. Na verdade, se pode cristalizar sob condições isotérmicas simplesmente adicionando um não-solvente (isto é, anti-solvente) a uma solução inicialmente sub-saturada. Também, uma solução do análogo de rapamicina na qual quantidades variadas de não-solvente são adicionadas pode mudar a cristalização e o cristal resultante porque a solubilidade do análogo de rapamicina é excedida quando alguma quantidade crítica de não-solvente é adicionada. Adição extra do não-solvente aumenta a super-saturação da solução e, portanto, a taxa de crescimento dos cristais de análogo de rapamicina que são crescidos.

[088]Solventes misturados também adicionam a flexibilidade de alteração da atividade termodinâmica de um dos solventes independente de temperatura. Assim, um hidrato ou solvato pode ser produzido em uma determinada temperatura simplesmente realizando cristalização sobre uma faixa de composições de solvente. Por exemplo, cristalização a partir de uma solução de metanol-água que é muito rica em metanol pode favorecer hidratos de cristal com menos água incorporada no sólido (por exemplo, dihidrato vs. hemihidrato), enquanto uma solução rica em água favorecerá hidratos com mais água incorporada no sólido. Os limites precisos para produção dos

respectivos hidratos são encontrados examinando os elementos do conjunto quando a concentração do componente solvente é a variável.

[089]Em uma modalidade, solventes que são geralmente aceitos dentro da indústria farmacêutica para uso na fabricação de produtos farmacêuticos são usados na cristalização do análogo de rapamicina. Várias misturas desses solventes também podem ser usadas. As solubilidades do análogo de rapamicina são altas em alguns solventes e baixas em outros. Soluções podem ser misturadas, nas quais o solvente de alta solubilidade é misturado com o solvente de baixa solubilidade até que a formação de cristal seja induzida. Solventes incluem, mas não estão limitados a, solventes aquosos, tais como água ou ácidos aquosos, bases, sais, tampões ou misturas dos mesmos e solventes orgânicos, tais como solventes próticos, apróticos, polares ou não polares.

[090]Aplicações específicas do composto de cristalização podem criar requisitos adicionais. Por exemplo, no caso de produtos farmacêuticos, tal como um análogo de rapamicina, solventes são selecionados baseado em sua biocompatibilidade, bem como na solubilidade. Por exemplo, a facilidade com a qual um análogo de rapamicina é dissolvido no solvente e a falta de efeitos prejudiciais do solvente sobre o análogo são fatores a considerar na seleção do solvente. Solventes orgânicos preferidos são voláteis ou têm um ponto de ebulição relativamente baixo ou podem ser removidos sob vácuo e que são aceitáveis para administração a serem humanos em quantidades vestigiais, tal como cloreto de metileno. Outros solventes, tais como acetato de etila, etanol, metanol, dimetilformamida, acetona, acetonitrila, tetraidrofurano, ácido acético, sulfóxido de dimetila e clorofórmio e misturas dos mesmos, também podem ser usados. Solventes preferidos são aqueles classificados como solventes residuais da classe 3 pela Food and Drug Administration, conforme publicado no Federal Register vol. 62, número 85, páginas 24301-24309 (Maio de 1997). Solventes para análogos de rapamicina que são administrados parenteralmente ou como uma

solução ou suspensão podem ser, mais tipicamente, água destilada, solução salina tamponada, Ringer Lactada ou algum outro veículo farmacêuticamente aceitável.

[091]Exemplos específicos de solventes que podem ser usados no preparo do análogo de rapamicina incluem acetona, acetato de etila, metanol, n-propanol, isopropanol, isobutanol, terc-butanol, 2-butanol, acetonitrila, tetraidrofurano, acetato de isobutila, acetato de n-butila, formato de etila, acetato de n-propila, acetato de isopropila, metil etil cetona, tolueno, N,N dimetil formamida, anisol, metil isopropil cetona, nitrometano, propionitrilo, 2-butanona (isto é, metil etil cetona ou MEK), tetraidrofurano, 1,2-dimetóxietano, acetato de isopropila, qualquer combinação dos mesmos e semelhantes.

[092]Exemplos específicos de anti-solventes que podem ser usados no preparo do análogo de rapamicina incluem ciclohexano, heptano, hexano, n-octano, iso-octano, metilciclohexano, qualquer combinação dos mesmos e semelhantes.

[093]Um exemplo específico de um sistema de solvente/anti-solvente que pode ser usado no preparo do análogo de rapamicina inclui acetona/heptano.

[094]Outras substâncias também podem ser adicionadas às reações de cristalização que influenciam a geração de uma forma cristalina. Esses aditivos de cristalização podem ser subprodutos de reação, moléculas relacionadas, compostos aleatoriamente selecionados (tais como aqueles presentes em bibliotecas de pequena molécula) ou qualquer um de vários outros aditivos encontrados em composições farmacêuticas. Eles podem ser usados para promover ou controlar a nucleação, direcionar o crescimento ou taxa de crescimento de um cristal específico ou conjunto de cristais e qualquer outro parâmetro que afeta a cristalização. A influência dos aditivos de cristalização pode depender de suas concentrações relativas e, assim, a invenção proporciona métodos para avaliar uma faixa de aditivos de cristalização e concentrações. Exemplos de aditivos de cristalização incluem, mas não estão limitados a, aditivos que promovem e/ou controlam a nucleação, aditivos que afetam a estrutura de cristal e

aditivos que afetam a forma polimórfica.

[095]Exemplos específicos de aditivos de cristalização que podem ser usados no preparo do análogo de rapamicina incluem um solvato de rapamicina, um desolvato de rapamicina, um hidrato de rapamicina e um dehidrato de rapamicina.

[096]Em ainda outra modalidade, outras substâncias podem ser usadas, incluindo compostos GRAS em fase sólida ou, alternativamente, bibliotecas de pequenas moléculas (por exemplo, em fase sólida).

[097]A presença de moléculas semelhantes a tensoativo no vaso de cristalização pode influenciar a nucleação de cristal e acionar seletivamente o crescimento de formas polimórficas distintas. Assim, moléculas semelhantes a tensoativo podem ser introduzidas no vaso de cristalização através de pré-tratamento ou através de adição direta ao meio de cristalização. Moléculas de tensoativo podem ser especificamente selecionadas ou aleatoriamente selecionadas com relação à sua influência ao direcionar a cristalização. Além disso, o efeito da molécula de tensoativo é dependente de sua concentração no vaso de cristalização e, assim, a concentração das moléculas de tensoativo deverá ser cuidadosamente controlada.

[098]Em alguns casos, a cultura direta de reações de cristalização resultará em uma diversidade aumentada de formas de cristal sendo produzidas. Em uma modalidade, as partículas são adicionadas às reações de cristalização. Em outra, cristais com tamanho de nanômetro (por exemplo, nanopartículas) são adicionados às reações de cristalização. Essas partículas podem ser com tamanho de nanômetro ou maiores.

[099]II. Análogos de rapamicina cristalinos

[0100]Em uma modalidade, a presente invenção inclui uma forma cristalina de um análogo de rapamicina. As formas cristalinas do análogo de rapamicina podem ser preparadas através de vários métodos, os quais são descritos aqui. Tais formas cristalinas podem ser preparadas de modo que uma forma cristalina adequada pode ser

identificada para um uso particular. O análogo de rapamicina pode ter uma estrutura de Fórmula 1, Fórmula 2 ou Fórmula 3 conforme ilustrado acima. Também, o análogo de rapamicina pode ser um pró-fármaco, sal, derivado ou combinação dos mesmos.

[0101]Em uma modalidade, o cristal é um solvato. Como tal, o cristal pode incluir um solvente orgânico incluído no mesmo. O solvente orgânico pode ser selecionado do grupo consistindo de acetona, acetato de etila, metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, isobutanol, terc-butanol, 2-butanol, acetonitrila, tetraidrofurano, acetato de isobutila, acetato de n-butila, formato de etila, acetato de n-propila, acetato de isopropila, metil etil cetona, tolueno, N,N dimetil formamida, anisol e qualquer combinação dos mesmos.

[0102]Em uma modalidade, o cristal é um desolvato. Como tal, o cristal pode ser selecionado do grupo consistindo em um desolvato de acetona, um desolvato de tolueno, um desolvato de acetonitrila, um desolvato de formato de etila, um desolvato de acetato de isobutila, N,N dimetil formamida e qualquer combinação dos mesmos.

[0103]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,2, 9,1 e/ou 13,2, Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 2A.

[0104]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,3, 10,2, 10,6, 13,3 e/ou 16,0. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 2B.

[0105]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,3, 10,2, 10,5 e/ou 13,3. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 3A.

[0106]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão

de difração de raio x em pó com um pico em torno de 6,3 e/ou 12,6. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 3B.

[0107]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,4, 5,9, 9,9, 13,8 e/ou 15,5, Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figuras 4A e/ou 4B.

[0108]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,9, 6,2, 9,1, 9,8, 12,5, 13,6, 16,4, 17,7, 17,9 e/ou 21,8. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 4E.

[0109]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,2, 5,6, 6,0, 7,3, 10,0 e/ou 21,5. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 5A.

[0110]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,3, 10,6, 12,8, 13,3, 15,9, 16,7, 21,3 e/ou 21,9. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 5B.

[0111]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 3,9, 8,7, 9,5, 13,8, 15,7 e/ou 16,9. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 6A.

[0112]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 6,2, 10,4, 11,9, 12,5, 15,4, 18,5 e/ou 21,5. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 6B.

[0113]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão

de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,9, 7,7, 9,1, 10,0 e/ou 10,5. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 7A.

[0114]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,3, 5,5, 10,6, 15,9, 16,5 e/ou 19,2. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 7B.

[0115]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 6,2, 12,5 e/ou 15,4, Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 8.

[0116]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,0, 7,0, 9,1, 10,1 15,4 e 16,0. Também, um padrão de difração de raio x em pó substancialmente conforme mostrado na Figuras 9A e/ou 9B.

[0117]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,1, 7,2, 9,0, 9,2, 10,3, 11,5, 15,7 e 16,3. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 10A e/ou 10B.

[0118]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 6,1, 8,9, 9,4, 10,0, 10,2 e 12,2. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figuras 11A e/ou 1 IB.

[0119]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,3, 7,2, 10,5, 15,8, 16,6, 19,1 e/ou 21,2. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 12A.

[0120] Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 6,3, 9,2, 12,7, 13,8 e/ou 16,1. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 12B.

[0121] Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,4, 6,0, 8,8, 10,0, 12,1, 14,1, 17,6, 18,4 e/ou 19,0. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 13 A.

[0122] Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 6,2, 9,1, 10,5, 12,5, 14,3, 16,5, 18,0, 20,1, 21,8 e/ou 22,2. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 13B.

[0123] Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,4, 10,8, 11,8, 16,9 e/ou 17,9. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 16.

[0124] Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,8, 9,6, 11,7, 13,6, 15,9, 17,4, 20,6 e/ou 23,5. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 18 A.

[0125] Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 6,4, 6,8, 9,3, 13,8 e/ou 16,8. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 18B.

[0126] Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,2, 10,5, 13,3, 15,8, 16,5 e/ou 19,1. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme

mostrado na Figura 14A.

[0127]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 6,6, 7,1, 8,6, 9,1, 12,6, 14,5 e/ou 15,0. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 14B.

[0128]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,2, 10,5, 10,8, 15,7, 16,5 e/ou 19,0. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 17A.

[0129]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,5, 6,1, 8,0, 10,5, 12,6, 13,6, 16,6 e/ou 19,5. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 17B.

[0130]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,3, 10,5, 13,3, 15,8 e/ou 16,6. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 19A.

[0131]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 6,3, 8,1, 12,7 e/ou 16,5. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 19B.

[0132]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,1, 10,2, 16,3, 17,1, 19,2, 20,1 e/ou 20,5. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 15 A.

[0133]20Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,1, 6,2, 10,2, 12,4, 16,4

e/ou 17,2. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 15B.

[0134]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 4,6, 5,2, 9,3, 16,5, 17,0 e/ou 18,6. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 20A.

[0135]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 3,8, 6,0, 9,2, 9,9, 11,8, 12,4 e/ou 13,7. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 20B.

[0136]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 5,3, 10,1, 10,5, 15,8, 16,5, 19,1, 19,6 e/ou 21,1. Também, o padrão de difração de raio x em pó é substancialmente conforme mostrado na Figura 21A.

[0137]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino tem um padrão de difração de raio x em pó com um pico em torno de 6,6, 7,1, 9,2, 14,6 e/ou 15,2. Também, o padrão de difração de raio x em pó substancialmente conforme mostrado na Figura 21B.

[0138]Conforme com todos os tipos de instrumentação, o tipo de equipamento e condições de operação podem afetar os dados. Como tal, os dados de padrão de difração de raio x em pó podem ser ligeiramente alterados, dependendo do equipamento e das condições. Conseqüentemente, os dados de padrão de difração de raio x em pó podem ser precisos dentro de 0,5, mais preferivelmente 0,2 e, ainda mais preferivelmente, cerca de 0,1. Também, a caracterização das estruturas de cristal pode incluir pelo menos 2 picos, 3 picos, 4 picos, 5 picos, 6 picos, 7 picos, 8 picos, 9 picos e/ou 10 picos, dependendo do padrão de difração de raio x em pó.

[0139]Também, os padrões de difração de raio x em pó foram medidos usando

radiação de cobre-K alfa-um (Cu $K\alpha_1$) em torno de 1,54056 Å. Também, os padrões de difração de raio x em pó podem ser medidos. Também, a radiação Cu $K\alpha_1$ e Cu $K\alpha_2$ podem ser usadas com um comprimento de onda de 1,54178 Å, o qual é para não decomposto.

[0140]Unidades de cristal únicas podem ser medidas com um Monocromador de grafite, mas sem um filtro de folha. O comprimento de onda pode ser 0,71073 Å para um único cristal. Também, 0,71073 Å pode ser usado para radiação Mo não decomposta ou 0,71073 Å exclusivamente para $K\alpha_1$.

[0141]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino está presente em uma quantidade terapeuticamente eficaz.

[0142]III. Preparo de análogos de rapamicina cristalinos

[0143]Análogos de rapamicina cristalinos podem ser preparados através dos métodos descritos aqui. Como tal, vários parâmetros comuns podem ser controlados para promover a cristalização. Tais parâmetros de processamento comuns incluem, mas não estão limitados a ajuste da temperatura; ajuste do tempo; ajuste do pH; ajuste da quantidade ou concentração do composto de interesse; ajuste da quantidade ou da concentração de um componente; identidade de um componente (por exemplo, adição de um ou mais componentes adicionais); ajuste da taxa de remoção de solvente; introdução de um evento de nucleação; introdução de um evento de precipitação; controle de evaporação do solvente (por exemplo, ajuste de um valor de pressão ou ajuste da área de superfície evaporativa); e ajuste da composição do solvente. Outros métodos de cristalização incluem sublimação, difusão de vapor, desolvatação de solvatos cristalinos e trituração (Guillory, J. K., *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*, 186, 1999).

[0144]Em uma modalidade, a cristalização do análogo de rapamicina pode ser conduzida através de modulação da temperatura ou ciclagem da temperatura para induzir à cristalização. Como tal, o processo de cristalização inclui dissolução do

análogo de rapamicina em um ou mais solventes que podem ou não incluir um ou mais anti-solventes. A solubilidade é, comumente, controlada pela composição (por exemplo, identidade dos componentes) e/ou pela temperatura. Controle de temperatura é mais comum em cristalizadores industriais onde uma solução de uma substância é esfriada de um estado no qual ela é livremente solúvel para um onde a solubilidade é excedida, desse modo, sendo supersaturada. Por exemplo, os análogos de rapamicina cristalinos podem ser preparados através de aquecimento para uma temperatura (T1), de preferência para uma temperatura na qual todos os sólidos são completamente dissolvidos em solução. A composição é, então, esfriada para uma temperatura menor (T2). A presença de sólidos pode, então, ser determinada. Um sensor de temperatura pode ser usado para registrar a temperatura quando o primeiro cristal ou precipitado é detectado.

[0145]Em uma modalidade, um grande número ou série de composições de análogo de rapamicina pode ser processada individualmente ao mesmo tempo com relação à temperatura e pequenos aquecedores, espirais de resfriamento e sensores de temperatura para cada amostra são fornecidos e controlados. Essa abordagem é útil se cada amostra tem a mesma composição e o experimento é criado para amostragem de um grande número de perfis de temperatura para descobrir aqueles perfis que produzem formas sólidas desejadas. Em uma modalidade, a composição de cada amostra é controlada e a série toda de composições é aquecida e esfriada como uma unidade.

[0146]Tipicamente, várias temperaturas e/ou perfis de temperatura distintos são testados durante as fases de nucleação e crescimento de cristal. A temperatura pode ser controlada de uma maneira estática ou dinâmica. Temperatura estática significa que uma temperatura de incubação ajustada é usada por toda a cristalização. Alternativamente, um gradiente de temperatura pode ser usado. Por exemplo, a temperatura pode ser diminuída em uma determinada taxa por toda a cristalização. Além

disso, a temperatura pode ser controlada de forma a ter componentes estáticos e dinâmicos. Por exemplo, uma temperatura constante (por exemplo, 60 graus Celsius) é mantida durante a mistura dos reagentes de cristalização. Após mistura dos reagentes estar completa, declínio controlado de temperatura é iniciado (por exemplo, 60 graus Celsius a cerca de 25 graus Celsius durante minutos).

[0147]Em uma modalidade, a cristalização do análogo de rapamicina pode ser conduzida através de modulação do tempo de incubação da composição para induzir à cristalização. Conseqüentemente, diferentes composições de análogo de rapamicina podem ser incubadas durante vários períodos de tempo (por exemplo, 5 minutos, 60 minutos, 48 horas, etc.) para induzir e completar a cristalização. Uma vez que alterações de fase podem ser tempo-dependentes, pode ser vantajoso monitorar a cristalização do análogo de rapamicina como uma função do tempo.

[0148]Em muitos casos, o controle do tempo é muito importante, por exemplo, a primeira forma sólida a cristalizar pode não ser a mais estável, mas antes uma forma metastável a qual pode, então, se converter a uma forma estável durante um período de tempo. Esse processo é denominado "envelhecimento". O envelhecimento também pode estar associado à alterações no tamanho e/ou estrutura de cristal. Esse tipo de fenômeno de envelhecimento é denominado amadurecimento de Ostwald. Assim, incubação da composição de cristalização durante diferentes períodos de tempo pode ser usada para induzir à cristalização, bem como promover a cristalização no produto de cristal desejado.

[0149]Em uma modalidade, a cristalização do análogo de rapamicina pode ser conduzida através de modulação do pH da composição para induzir ou promover a cristalização. O pH da composição de análogo de rapamicina pode determinar o estado físico e propriedades do cristal que é gerado. O pH pode ser controlado através da adição de ácidos e bases inorgânicas e orgânicas, tais como tampões bem conhecidos que são padrões na técnica. O pH das amostras pode ser monitorado com

medidores de pH padrões modificados de acordo com o volume da amostra.

[0150]Em uma modalidade, a cristalização do análogo de rapamicina pode ser conduzida através de modulação da concentração do análogo de rapamicina na composição para induzir ou promover a cristalização. Supersaturação é a força de acionamento termodinâmica para nucleação e crescimento de cristal e, assim, é uma variável chave no preparo de análogos de rapamicina cristalinos. A supersaturação é o desvio do equilíbrio de solubilidade termodinâmica, de modo que mais soluto (por exemplo, análogo de rapamicina) está suspenso na solução. Assim, o grau de saturação pode ser controlado pela temperatura e as quantidades ou concentrações do análogo de rapamicina e outros componentes, tais como adutos. Em geral, o grau de saturação pode ser controlado na região metastável e, quando o limite metastável foi atingido, a nucleação será induzida.

[0151]A quantidade ou concentração do análogo de rapamicina e/ou outros componentes pode afetar grandemente o estado físico e propriedades da forma sólida resultante. Como tal, para uma dada temperatura, nucleação e crescimento ocorrerão em quantidades variadas de super-saturação, dependendo da composição da solução inicial. A taxa de nucleação e crescimento aumenta com o aumento da saturação, o que pode afetar a estrutura de cristal. Por exemplo, crescimento rápido deve acomodar a liberação do calor de cristalização. Esse efeito do calor é responsável pela formação de dendritos durante a cristalização. O formato macroscópico do cristal é profundamente afetado pela presença de dendritos e mesmo dendritos secundários.

[0152]O segundo efeito que as quantidades relativas de análogo de rapamicina e solvente tem é a composição química da forma sólida resultante. Por exemplo, o primeiro cristal a ser formado a partir de uma solução concentrada é formado em uma temperatura maior do que aquela de um formado a partir de uma solução diluída. A fase sólida em equilíbrio pode primeiro formar cristais do hemihidrato quando precipitada a partir de uma solução aquosa em alta temperatura. O dihidrato pode, contudo,

ser o primeiro a se formar quando começando com uma solução diluída. Nesse caso, o diagrama de fase de análogo de rapamicina/solvente é um no qual o dihidrato se decompõe em hemihidrato em uma alta temperatura. Esse é normalmente o caso e usualmente se mantém para os solvatos comumente observados.

[0153]Em uma modalidade, a cristalização do análogo de rapamicina pode ser conduzida através de modulação da identidade dos componentes na composição, tais como solventes e/ou adutos, para induzir ou promover a cristalização. A identidade dos componentes na composição pode ter um efeito profundo sobre quase todos os aspectos de cristalização. A identidade do componente pode promover ou inibir a nucleação e crescimento de cristal, bem como o estado físico e propriedades dos cristais resultantes. Assim, um componente pode ser uma substância cujo efeito pretendido é induzir, inibir, prevenir ou reverter a formação de formas cristalinas do análogo de rapamicina.

[0154]Um componente pode direcionar a formação de cristais, sólidos amorfos, hidratos, solvatos ou outras formas de sal do análogo de rapamicina. Componentes também podem afetar a estrutura interna e externa dos cristais formados, tal como a forma polimórfica e a estrutura de cristal. Exemplos de componentes incluem, mas não estão limitados a, excipientes, solventes, sais, ácidos, bases, gases; pequenas moléculas, tais como hormônios, esteróides, nucleotídeos, nucleosídeos e aminoácidos; grandes moléculas, tais como oligonucleotídeos, polinucleotídeos, conjugados de oligonucleotídeo e polinucleotídeo, proteínas, peptídeos, peptidomiméticos e polissacarídeos; outros produtos farmacêuticos; aditivos de cristalização, tais como aditivos que promovem e/ou controlam a nucleação, aditivos que afetam a estrutura de cristal e aditivos que afetam a forma polimórfica; aditivos que afetam o tamanho de partícula ou cristal; aditivos que estabilizam estruturalmente formas sólidas cristalinas ou amorfas; aditivos que dissolvem formas sólidas; aditivos que inibem a cristalização ou formação de sólido; solventes opticamente ativos; reagentes opticamente ativos; e

catalisadores opticamente ativos.

[0155]Em uma modalidade, a cristalização do análogo de rapamicina pode ser conduzida através de modulação da taxa de remoção de solvente e/ou taxa de remoção de anti-solvente para induzir ou promover a cristalização. Controle de remoção de solvente está interconectada com o controle de saturação. À medida que o solvente é removido, a concentração do análogo de rapamicina e componentes menos voláteis se torna maior. Dependendo da composição restante, o grau de saturação mudará dependendo de fatores tais como a polaridade e viscosidade da composição restante. Por exemplo, à medida que o solvente é removido, a concentração do análogo de rapamicina pode se elevar até que o limite metastável seja atingido e nucleação e crescimento de cristal ocorrem.

[0156]A taxa de remoção de solvente pode ser controlada pela temperatura e pressão e a área de superfície sob a qual evaporação pode ocorrer. Por exemplo, solvente pode ser removido através de destilação em uma temperatura e pressão pré-definidas ou o solvente pode ser removido simplesmente permitindo que o solvente evapore em temperatura ambiente. Em alguns casos, absorventes de solvente podem ser usados.

[0157]Em uma modalidade, a cristalização do análogo de rapamicina pode ser conduzida através de introdução de um evento de nucleação ou precipitação. Em geral, isso envolve sujeição de uma solução de análogo de rapamicina supersaturada a alguma forma de energia, tal como estimulação ultra-sônica ou mecânica ou através de indução de super-saturação através de adição de componentes extra.

[0158]A nucleação de cristal é a formação de uma fase sólida de cristal a partir de um líquido, uma fase amorfa, um gás ou de uma fase sólida de cristal diferente. A nucleação ajusta o caráter do processo de cristalização e, portanto, é um dos componentes mais críticos ao projetar processos de cristalização comerciais (The Encyclopedia of Chemical Technology, Kirk-Othomer (4^a ed. em 692)(1993)).

[0159]Nucleação primária pode ocorrer através de mecanismos homogêneos ou heterogêneos, ambos os quais envolvem a formação de cristal através de combinação seqüencial de constituintes de cristal. A nucleação primária não envolve os cristais existentes do análogo de rapamicina, mas resulta de formação espontânea de cristais. A nucleação primária pode ser induzida através de aumento da saturação além do limite metastável ou, quando o grau de saturação está abaixo do limite metastável, através de nucleação. Eventos de nucleação incluem estimulação mecânica, tal como contato do meio de cristalização com o rotor de agitação do cristizador e exposição à fontes de energia, tais como energia acústica (ultra-som), elétrica ou laser (Garetz e colaboradores, 1996 *Physical Review Letters* 77: 3475). A nucleação primária também pode ser induzida através da adição de promotores de nucleação primária, tais como outras substâncias que não uma forma sólida do análogo de rapamicina.

[0160]Aditivos que diminuem a energia de superfície do análogo de rapamicina podem induzir à nucleação. Uma diminuição da energia de superfície favorece a nucleação, uma vez que a barreira à nucleação é causada por aumento de energia quando de formação da superfície sólido-líquido. Assim, a nucleação pode ser controlada através de ajuste da tensão interfacial do meio de cristalização por meio de introdução de moléculas semelhantes a tensoativo através de pré-tratamento da câmara de cristalização ou através de adição direta. O efeito de nucleação das moléculas de tensoativo é dependente de sua concentração e, assim, esse parâmetro deverá ser cuidadosamente controlado. Tais aditivos para ajuste de tensão não estão limitados a tensoativos. Muitos compostos que são relacionados ao análogo de rapamicina podem ter atividade de superfície significativa. Outros aditivos heterogêneos que induzem à nucleação incluem partículas sólidas de várias substâncias, tais como excipientes em fase sólida ou mesmo impurezas deixadas para trás durante síntese ou processamento do análogo de rapamicina.

[0161]A nucleação secundária envolve tratamento do meio de cristalização

com um promotor de nucleação secundário que é uma forma sólida, de preferência um cristal tendo características que são desejadas para o análogo de rapamicina cristalino. Uma pequena forma de cristal desejada do análogo de rapamicina pode ser usada como um promotor de nucleação secundário. Cultura direta com uma pluralidade de sementes de nucleação do análogo de rapamicina em vários estados físicos proporciona um meio para induzir à formação de diferentes formas de cristal em diferentes composições. Em uma modalidade, outras partículas que não o análogo de rapamicina podem ser adicionadas às composições de cristalização. Em outra modalidade, cristais com tamanho de nanômetro (por exemplo, nanopartículas) do análogo de rapamicina são adicionados às amostras.

[0162]Formas cristalinas de um análogo de rapamicina, tal como ABT-578 (isto é, zotarolimus), foram descobertas em solventes orgânicos que incluem acetona, tolueno, acetonitrila, formato de etila, acetato de isopropila, acetato de isobutila, etanol, N,N dimetil formamida e anisol. O solvente de acetonitrila pode ser usado para cristalizar o solvato de acetonitrila de rapamicina o qual, então, forma um desolvato cristalino (isto é, solvato desolvatado de acetonitrila) quando de secagem (por exemplo, condições de secagem apropriadas como pressão, temperatura e ambiente de vapor), de modo a remover o acetonitrila do cristal.

[0163]O solvato desolvatado de acetonitrila cristalino pode possuir propriedades de estabilidade química que permitem a eliminação de adição de BHT como um antioxidante ao ABT-578 amorfo, conforme é praticado atualmente. Além disso, o perfil de impureza do ABT-578 pode ser aperfeiçoado significativamente através de incorporação de uma etapa de cristalização no processo de fabricação, conforme descrito aqui. Em alguns dos padrões de difração de raio x em pó (PXRD) mostrados nas figuras, dois picos a ~ 38 e 44 são do prendedor de raios X.

[0164]Existem vários métodos de preparo de um análogo de rapamicina cristalino. Em uma modalidade, um método de preparo de uma substância de fármaco de

análogo de rapamicina cristalino inclui cristalização do análogo de rapamicina a partir de um solvente ou mistura de solventes farmacologicamente aceitável. Em outras modalidades, um método de preparo de uma substância de fármaco de análogo de rapamicina cristalino inclui cristalização do análogo de rapamicina a partir de um solvente orgânico ou mistura de solventes. Naturalmente, aqueles habilitados na técnica serão capazes de apreciar todos os solventes que podem ser utilizados com as modalidades da invenção e não estão limitados aos solventes listados aqui.

[0165]Em uma modalidade, a presente invenção inclui um processo para o preparo de uma forma cristalina de um análogo de rapamicina. Tal processo compreende o seguinte: combinação do análogo de rapamicina com pelo menos um meio orgânico para formar uma mistura; incubação da mistura até que o análogo de rapamicina cristalize; e recuperação do análogo de rapamicina cristalino do meio orgânico.

[0166]Em uma modalidade, o meio orgânico pode ser compreendido de pelo menos um solvente para formar a mistura. Como tal, o processo para preparo da forma cristalina do análogo de rapamicina inclui fazer com que o análogo de rapamicina dissolva no solvente e incubação do solvente até que o análogo de rapamicina cristalize.

[0167]Em uma modalidade, o processo inclui formação de uma pasta de análogo de rapamicina cristalino na solução. Em uma modalidade, o processo inclui agitação da mistura de análogo de rapamicina até que o análogo de rapamicina cristalize. Em uma modalidade, o processo inclui saturação da solução de análogo de rapamicina. Isso pode incluir a formação de uma solução de análogo de rapamicina supersaturada.

[0168]Em uma modalidade, o processo inclui o uso de um anti-solvente para auxiliar na formação do análogo de rapamicina cristalino. Tal método inclui combinação de pelo menos um anti-solvente com o análogo de rapamicina e o solvente para formar uma mistura bifásica e incubação da mistura bifásica para fazer uma divisão de fase líquido-líquido, com uma maioria do análogo de rapamicina estando no

solvente e uma minoria do análogo de rapamicina estando no anti-solvente. Opcionalmente, o solvente pode ser separado do anti-solvente antes que os cristais sejam separados.

[0169]Em uma modalidade, o meio orgânico é tolueno, acetonitrila, etanol, acetato de isobutila, formato de etila, acetato de isopropila, etanol, N,N, dimetil formamida e combinações dos mesmos.

[0170]Em uma modalidade, o solvente é um solvente orgânico. Como tal, o solvente orgânico pode ser um solvente orgânico polar. Exemplos de solventes orgânicos polares incluem acetona, acetato de etila, metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, isobutanol, terc-butanol, 2-butanol, acetonitrila, tetraidrofurano, acetato de isobutila, acetato de n-butila, formato de etila, acetato de n-propila, acetato de isopropila, metil etil cetona ou qualquer combinação dos mesmos. De preferência, o solvente orgânico polar é acetona. Exemplos do anti-solvente incluem ciclohexano, heptano, hexano, n-octano, iso-octano, metilciclohexano ou qualquer combinação dos mesmos. De preferência, o anti-solvente é heptano. De preferência, o meio orgânico é farmacologicamente aceitável para fazer um preparado farmacêutico. Por exemplo, o meio orgânico pode ser um solvente farmacologicamente aceitável que é aceitável para o preparo de uma composição de grade farmacêutica.

[0171]Em uma modalidade, a solução de análogo de rapamicina (por exemplo, mistura, bifásica, etc.) é formada, incubada, misturada, transformada em pasta, saturada e/ou cristalizada em uma temperatura de cerca de -20 graus Celsius a cerca de 20 graus Celsius, mais preferivelmente de cerca de -10 graus Celsius a cerca de 10 graus Celsius, ainda mais preferivelmente a cerca de -5 graus Celsius a cerca de 5 graus Celsius e, ainda mais preferivelmente, a cerca de 0 graus Celsius.

[0172]Em uma modalidade, a solução de análogo de rapamicina (por exemplo, mistura, bifásica, etc.) é formada, incubada, misturada, transformada em pasta, saturada e/ou cristalizada em uma temperatura de cerca de 10 graus Celsius a cerca

de 40 graus Celsius, mais preferivelmente de cerca de 12 graus Celsius a cerca de 32 graus Celsius, ainda mais preferivelmente a cerca de 20 graus Celsius a cerca de 25 graus Celsius e, ainda mais preferivelmente, a cerca de 22 graus Celsius.

[0173]Em uma modalidade, a solução de análogo de rapamicina (por exemplo, mistura, bifásica, etc.) é formada, incubada, agitada, misturada, transformada em pasta, saturada e/ou cristalizada durante cerca de 0,1 a cerca de 35 horas, mais preferivelmente de cerca de 1 a cerca de 30 horas, ainda mais preferivelmente de cerca de 5 a cerca de 25 horas, ainda mais preferivelmente de cerca de 10 a cerca de 20 horas e, ainda mais preferivelmente, durante cerca de 15 horas.

[0174]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina combinado com o meio orgânico é uma forma cristalina. Por exemplo, a forma cristalina do análogo de rapamicina pode ser um solvato de acetonitrila, solvato desolvatado de acetonitrila (isto é, desolvato de acetonitrila). Alternativamente, o análogo de rapamicina pode estar em um estado amorfo.

[0175]Em uma modalidade, a mistura de rapamicina no meio orgânico é combinada com um segundo meio orgânico e em que a mistura que é ainda processada (por exemplo, incubada, agitada, misturada, transformada em pasta, saturada e/ou cristalizada) inclui o segundo meio orgânico. Por exemplo, o primeiro meio orgânico pode ser acetonitrila, tolueno, etanol, acetato de isobutila, anisol ou combinações dos mesmos. Exemplos do segundo meio orgânico podem ser formato de etila, acetato de isopropila, etano, N,N dimetil formamida, anisol e combinações dos mesmos.

[0176]Em uma modalidade, um análogo de rapamicina cristalino na forma de um solvato de acetonitrila pode ser preparado através de incubação de uma mistura bifásica de análogo de rapamicina dissolvido, acetona e heptano a cerca de 0 graus Celsius. Conseqüentemente, o análogo de rapamicina pode ser adicionado a um frasco contendo acetona e heptano de modo a saturar a fase líquida. Uma fase líquido-líquido ocorre à medida que o análogo de rapamicina é dissolvido em solução,

resultando em uma fase inferior rica em análogo de rapamicina-acetona e uma fase superior rica em heptano. Por exemplo, a mistura bifásica pode ser incubada a cerca de 0 graus Celsius durante cerca de 0,1 a cerca de 10 dias ou mais, até que cristais possam ser observados no fundo do frasco. Os cristais podem, então, ser analisados através de difração de raio x em pó, o qual é mostrado pela Figura 2A. Os cristais podem ser equilibrados em temperatura ambiente, seguido por secagem adicional a cerca de 30 graus Celsius sob vácuo (aproximadamente 3 polegadas de mercúrio). Os cristais secos podem ser analisados através de difração de raio x em pó, o qual é mostrado na Figura 3 A.

[0177]Em uma modalidade, um análogo de rapamicina cristalino na forma de solvato de acetona pode ser preparado através de dissolução do análogo de rapamicina amorfo em acetona em temperatura ambiente e incubação da solução resultante a cerca de 5 graus Celsius, até que sólidos cristalinos sejam observados. Os cristais podem ser analisados através de difração de raio x em pó, o qual é mostrado na Figura 2B. Os cristais podem ser equilibrados em temperatura ambiente, seguido por secagem adicional a cerca de 30 graus Celsius sob vácuo (aproximadamente 3 polegadas de mercúrio). Os cristais secos podem ser analisados através de difração de raio x em pó, o qual é mostrado na Figura 3B.

[0178]Em uma modalidade, um análogo de rapamicina cristalino na forma de um solvato de tolueno pode ser preparado. Como tal, cristais do solvato de tolueno de análogo de rapamicina podem ser preparados através de dissolução do análogo de rapamicina amorfo em tolueno para formar uma solução. A solução pode ser agitada a cerca de 22 graus Celsius durante cerca de 15 horas ou até que uma pasta espessa de sólidos cristalinos possa ser observada. Também, cristais podem ser preparados usando um análogo de rapamicina cristalino, tal como um solvato de acetonitrila, para cultivar a composição e induzir à cristalização. Os cristais podem, então, ser analisados através de difração de raio x em pó, o qual é mostrado pela Figura 4A.

[0179]Em uma modalidade, um análogo de rapamicina cristalino na forma de outro solvato de acetonitrila pode ser preparado. Como tal, cristais de um solvato de acetonitrila podem ser gerados através de saturação de acetonitrila com análogo de rapamicina amorfo a cerca de 22 graus Celsius e incubação em cerca de 0 graus Celsius durante cerca de 2 horas ou até que cristais se formassem. Os cristais podem, então, ser analisados através de difração de raio x em pó, o qual é mostrado pela Figura 5A. A Figura 6A mostra os dados de análise de padrão de difração de raio x em pó para o desolvato de acetonitrila de análogo de rapamicina, o qual pode ser obtido através de secagem do solvato de acetonitrila.

[0180]Em uma modalidade, um análogo de rapamicina cristalino na forma de um solvato de formato de etila podem ser preparados. Como tal, cristais do solvato de formato de etila do análogo de rapamicina podem ser gerados transformando em pasta um bolo úmido do solvato de acetonitrila em formato de etila a cerca de 0 graus Celsius. Os cristais podem, então, ser analisados através de difração de raio x em pó, o qual é mostrado pela Figura 7A.

[0181]Em uma modalidade, um análogo de rapamicina cristalino na forma de um solvato de acetato de isopropila pode ser preparado. Como tal, cristais do solvato de acetato de isopropila de análogo de rapamicina podem ser gerados transformando em pasta um bolo úmido de solvato de acetonitrila em acetato de isopropila a cerca de 0 graus Celsius.

[0182]Em uma modalidade, o análogo de rapamicina cristalino na forma de um solvato de acetato de isobutila pode ser preparado. Como tal, cristais do acetato de isobutila de análogo de rapamicina podem ser preparados através de adição do análogo de rapamicina amorfo a um frasco e carregamento de acetato de isobutila no frasco para permitir dissolução. A solução pode, então, ser incubada a cerca de 0 graus Celsius durante cerca de 16 horas ou até que uma pasta cristalina seja obtida. Os cristais podem, então, ser analisados através de difração de pó de raios X, o qual

é mostrado na Figura 9A.

[0183]Em uma modalidade, um análogo de rapamicina cristalino na forma de um solvato de etanol pode ser preparado. Como tal, cristais do solvato de etanol do análogo de rapamicina podem ser preparados através de adição do análogo de rapamicina amorfo a um frasco e carregando etanol (200 proof) no frasco para permitir dissolução. A solução pode ser cultivada após cerca de 15 horas com um desolvato de acetonitrila e, então, incubada em torno de 0 graus Celsius durante mais cerca de 16 horas até que uma pasta cristalina seja obtida.

[0184]Em uma modalidade, um análogo de rapamicina cristalino na forma de um solvato de N,N dimetil formamida pode ser preparado. Como tal, cristais do solvato de N,N dimetil formamida de análogo de rapamicina podem ser gerados através de transformação em pasta de um bolo úmido do solvato acetonitrila em N,N dimetil formamida em cerca de 0 graus Celsius. Os cristais podem, então, ser analisados através de difração de pó de raios X, o qual é mostrado na Figura 10A.

[0185]Em uma modalidade, um análogo de rapamicina cristalino na forma de um solvato de anisol pode ser preparado. Como tal, cristais do solvato de anisol do análogo de rapamicina podem ser gerados através de transformação em pasta de um bolo úmido do solvato acetonitrila em anisol a cerca de 0 graus Celsius. Os cristais podem, então, ser analisados através de difração de pó de raios X, o qual é mostrado na Figura 11A.

[0186]IV. Composições de análogo de rapamicina cristalino

[0187]O análogo de rapamicina cristalino da presente invenção pode ser preparado em qualquer composição farmacêutica, tal como as composições comumente empregadas com análogos de rapamicina amorfos. Conseqüentemente, o análogo de rapamicina cristalino pode ser formulado em uma composição polimérica, tal como um revestimento de stent ou semelhante. A composição polimérica pode incluir polímeros que são hidrofílicos, hidrofóbicos, biodegradáveis, não biodegradáveis e qualquer

combinação dos mesmos. O polímero pode ser selecionado do grupo consistindo de poliacrilatos, polimetacrilatos, ácidos policarboxílicos, polímeros de celulose, gelatina, polivinilpirrolidona, polímeros de anidrido maleico, poliamidas, álcoois polivinílicos, óxidos de polietileno, glicosaminoglicanas, polissacarídeos, poliésteres, poliuretanos, silicones, polioortoésteres, polianidridos, policarbonatos, polipropilenos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, policaprolactonas, polihidróxibutirato valeratos, poliacrilamidas, poliéteres e misturas e copolímeros dos precedentes. Também, dispersões poliméricas, tais como dispersões de poliuretano (BAYHYDROL, etc.) e dispersões de látex/ácido acrílico também podem ser usadas.

[0188]Polímeros biodegradáveis que podem ser usados incluem ácido (poli)L-láctico, ácido (poli)DL-láctico, policaprolactona, (poli)hidróxi butirato, poliglicolídeo, (poli)diaxanona, (poli)hidróxi valerato, polioortoéster, copolímeros de (poli)lactídeo-co-glicolídeo, (poli)hidróxi butirato-co-valerato, poliglicolídeo-co-trimetileno carbonato, polianidridos, polifosfoéster, polifosfoéster-uretano, poli aminoácidos, policianoacrilatos, biomoléculas, fibrina, fibrinogênio, celulose, amido, colágeno, ácido hialurônico e qualquer combinação dos mesmos. Polímeros biestáveis também podem ser usados, tais como poliuretano, silicones, poliésteres, poliolefinas, poliamidas, policaprolactame, poliimida, cloreto de polivinila, polivinil metil éter, álcool polivinílico, polímeros e copolímeros acrílicos, poliacrilonitrilo, copolímeros de poliestireno de monômeros de vinila com olefinas (tais como copolímeros de estireno-acrilonitrilo, copolímeros de etileno-metil metacrilato, acetato de vinila-etileno), poliéteres, rayons, celulósicos (tais como acetato de celulose, nitrato de celulose, propionato de celulose, etc.), parileno e derivados dos mesmos e qualquer combinação dos mesmos.

[0189]Outros polímeros que podem ser usados incluem uma subunidade de MPC, incluindo (poli)(MPC_w:LAM_x:HPMA_y:TSM_{Az}) onde w, x, y e z representam as proporções molares de monômeros usados para o preparo do polímero e MPC representa a unidade 2-metacrilóilóxi etil fosforil colina, LMA representa a unidade lauril

metacrilato, HPMA representa a unidade 2-hidróxi-propil metacrilato e TSMA representa a unidade 3-trimetóxi-sililpropil metacrilato.

[0190]Adicionalmente, os análogos de rapamicina cristalinos podem ser preparados em qualquer composição farmacêutica adequada. Tais composições farmacêuticas podem incluir um veículo ou excipiente farmacêuticamente aceitável, o qual pode ser administrado oralmente, retalmente, parenteralmente, intracisternalmente, intravaginalmente, intraperitonealmente, topicamente (como através de pós, pomadas, gotas ou emplastro transdérmico), bucalmente, como um spray oral ou nasal ou localmente, tal como em um stent colocado dentro da vasculatura. A frase "veículo farmacêuticamente aceitável" se refere a um enchedor, diluente, material de encapsulação ou auxiliar de formulação sólido, semi-sólido ou líquido não tóxico de qualquer tipo. O termo "parenteral" se refere a modos de administração os quais incluem injeção, infusão e colocação intravenosa, intra-arterial, intramuscular, intraperitoneal, intra-esternal, subcutânea e intra-articular tal como, por exemplo, na vasculatura.

[0191]As composições farmacêuticas podem incluir soluções, dispersões, suspensões ou emulsões aquosas ou não aquosas estéreis farmacêuticamente aceitáveis, bem como pós estéreis para reconstituição em soluções ou dispersões estéreis injetáveis exatamente antes de uso. Exemplos de veículos, diluentes, solventes ou carreadores aquosos e não aquosos adequados incluem água, etanol, polióis (por exemplo, glicerol, propileno glicol, polietileno glicol e semelhantes), carbóxi metil celulose e misturas adequadas dos mesmos, óleos vegetais (tal como óleo de oliva) e ésteres orgânicos injetáveis, tal como lecitina, através da manutenção do tamanho de partícula requerido no caso de dispersões e através do uso de tensoativos.

[0192]As composições farmacêuticas podem também conter adjuvantes, tais como conservantes, agentes de umedecimento, agentes de emulsificação e agentes de dispersão. Prevenção da ação de microorganismos pode ser assegurada através da inclusão de vários agentes antibacterianos e antifúngicos, por exemplo, parabeno,

clorobutanol, ácido sórbico, fenol e semelhantes. Pode também ser desejável incluir agente isotônicos, tais como açúcares, cloreto de sódio e semelhantes. Absorção prolongada da forma farmacêutica injetável pode ser obtida através da inclusão de agentes que retardam a absorção, tais como monoestearato de alumínio e gelatina.

[0193]Em alguns casos, de forma a prolongar o efeito do análogo de rapamicina cristalino, é desejável diminuir a absorção do análogo de rapamicina cristalino a partir de injeção subcutânea ou intramuscular. Isso pode ser obtido através do uso de uma suspensão líquida de material cristalino ou amorfo com pobre solubilidade em água. A taxa de absorção do análogo de rapamicina cristalino, então, depende de sua taxa de dissolução a qual, por sua vez, pode depender do tamanho de cristal e forma cristalina. Alternativamente, absorção retardada de uma forma de fármaco parenteralmente administrado é obtida através de dissolução ou suspensão do fármaco em um veículo oleoso.

[0194]Formas de depósito injetáveis são feitas através de formação de matrizes de microcápsula do fármaco em polímeros biodegradáveis, tal como polilactídeo-poliglicolídeo. Dependendo da proporção de fármaco para polímero e da natureza do polímero empregado em particular, a taxa de liberação de fármaco pode ser controlada. Exemplos de outros polímeros biodegradáveis incluem (poli)ortoésteres e (poli)anidridos. Formulações injetáveis em depósito também são preparadas encerrando o fármaco em lipossomas ou microemulsões, os quais são compatíveis com tecidos corporais.

[0195]As formulações injetáveis podem ser esterilizadas, por exemplo, por meio de filtração através de um filtro de retenção de bactérias ou através de incorporação de agentes de esterilização na forma de composições sólidas estéreis as quais podem ser dissolvidas ou dispersas em água estéril ou outro meio injetável estéril exatamente antes de uso.

[0196]Formas de dosagem sólidas para administração oral incluem cápsulas,

tabletes, pílulas, pós e grânulos. Em tais formas de dosagem sólida, o análogo de rapamicina cristalino é misturado com pelo menos um excipiente ou veículo inerte farmacologicamente aceitável, tal como citrato de sódio ou fosfato de dicálcio e/ou (a) enchedores ou extensores, tais como amidos, lactose, sacarose, glicose, manitol e ácido silícico, (b) aglutinantes tais como, por exemplo, carbóximetil celulose, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarose e acácia, (c) umectantes, tal como glicerol, (d) agentes de desintegração, tais como Agar-agar, carbonato de cálcio, amido de batata ou tapioca, ácido algínico, determinados silicatos e carbonato de sódio, (e) agentes de retardo de solução, tal como parafina, (f) aceleradores de absorção, tais como compostos de amônio quaternário, (g) agentes de umedecimento tais como, por exemplo, álcool cetílico e monoestearato de glicerila, (h) absorventes, tais como caulim e argila bentonita e (i) lubrificantes, tais como talco, estearato de cálcio, estearato de magnésio, polietileno glicóis sólidos, lauril sulfato de sódio e misturas dos mesmos. No caso de cápsulas, tabletes e pílulas, a forma de dosagem pode também compreender agentes de tamponamento.

[0197]Composições sólidas de um tipo similar também podem ser empregadas como enchedores em cápsulas de gelatina moles, semi-sólidas e duras cheias ou cápsulas cheias de líquido usando excipientes tais como lactose ou açúcar de leite, bem como polietileno glicóis de elevado peso molecular e semelhantes.

[0198]As formas de dosagem sólidas de tabletes, drágeas, cápsulas, pílulas e grânulos podem ser preparadas com revestimentos e envoltórios, tais como revestimentos entéricos e outros revestimentos bem conhecidos na técnica de formulação farmacêutica. Eles podem, opcionalmente, conter agentes de opacificação e também podem ser de uma composição de modo que eles liberam o(s) ingrediente(s) ativo(s) apenas ou, de preferência, em uma determinada parte do trato intestinal, opcionalmente de uma maneira retardada. Exemplos de composições de incrustação que podem ser usadas incluem substâncias poliméricas e ceras. Aquelas composições de

incrustação contendo um fármaco podem ser colocadas sobre dispositivos médicos, tais como stents, enxertos, cateteres e balões. O análogo de rapamicina cristalino também pode estar na forma micro-encapsulada, se apropriado, com um ou mais dos excedentes mencionados acima.

[0199]Formas de dosagem líquida para administração oral incluem emulsões, soluções, suspensões, xaropes e elixires farmacologicamente aceitáveis. Além do análogo de rapamicina cristalino, as formas de dosagem líquidas podem conter diluentes inertes comumente usados na técnica tais como, por exemplo, água ou outros solventes, agentes de solubilização e emulsificantes, tais como álcool etílico, álcool isopropílico, carbonato de etila, acetato de etila, álcool benzílico, benzoato de benzila, propileno glicol, 1,3-butileno glicol, dimetil formamida, óleos (em particular óleos de semente de algodão, amendoim, milho, germe, oliva, mamona e gergelim), glicerol, álcool tetrahidrofurfurílico, polietileno glicóis e ésteres de ácido graxo de sorbitan e misturas dos mesmos. Além de diluentes inertes, as composições orais também podem incluir adjuvantes, tais como agentes de umedecimento, agentes de emulsificação e suspensão, agentes adoçantes, de flavorização e aromáticos.

[0200]Suspensões, além dos compostos ativos, podem conter agentes de suspensão tais como, por exemplo, álcoois isoestearílico etoxilados, polioxietileno sorbitol e sorbitan ésteres, celulose microcristalina, metahidróxido de alumínio, bentonita, Agar-agar e tragacanto e misturas dos mesmos.

[0201]Administração tópica inclui administração à pele ou mucosa, incluindo superfícies dos pulmões e olhos. Composições para administração tópica, incluindo aquelas para inalação, podem ser preparadas como um pó seco o qual pode ser pressurizado ou não pressurizado. Em composições em pó não pressurizadas, o ingrediente ativo na forma finalmente dividida pode ser usado em mistura com um veículo inerte farmacologicamente aceitável de maior tamanho compreendendo partículas tendo um tamanho, por exemplo, de até 100 micrometros de diâmetro. Veículos

inertes adequados incluem açúcares, tal como lactose. Desejavelmente, pelo menos 95% em peso das partículas do ingrediente ativo têm um tamanho de partícula eficaz na faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 micrometros. Composições para uso tópico sobre a pele também incluem pomadas, cremes, loções e géis.

[0202]Alternativamente, a composição pode ser pressurizada e conter um gás comprimido, tal como nitrogênio ou um propelente de gás liquefeito. O meio propelente liquefeito e, na verdade, a composição total são tais, de preferência, que o ingrediente ativo não dissolve no mesmo em qualquer grau substancial. A composição pressurizada pode também conter um agente superfície ativo. O agente superfície ativo pode ser um agente superfície ativo líquido ou sólido não-iônico ou pode ser um agente superfície ativo sólido aniônico. É preferido usar o agente superfície ativo sólido aniônico na forma de um sal de sódio.

[0203]Uma outra forma de administração tópica é aos olhos, conforme para o tratamento de condições imune-mediadas dos olhos, tais como doenças autoimunes, condições alérgicas ou inflamatórias e transplantes de córnea. O análogo de rapamicina cristalino é distribuído em um veículo oftálmico farmacologicamente aceitável, de modo que o composto é mantido em contato com a superfície ocular durante um período de tempo suficiente para permitir que o composto penetre nas regiões corneal e interna dos olhos como, por exemplo, a câmara anterior, câmara posterior, corpo vítreo, humor aquoso, humor vítreo, córnea, íris/cílios, lentes, coróide/retina e esclera. O veículo oftálmico farmacologicamente aceitável pode ser, por exemplo, uma pomada, óleo vegetal ou um material de encapsulação.

[0204]Composições para administração retal ou vaginal são, de preferência, supositórios ou enemas de retenção os quais podem ser preparados através de mistura do análogo de rapamicina cristalino com excipientes ou veículos não irritativos adequados, tais como manteiga de cacau, polietileno glicol ou uma cera para supositório, os quais são líquidos em temperatura ambiente, mas líquidos na temperatura

corporal e, portanto, fundirão no reto ou cavidade vaginal e liberarão o composto ativo.

[0205]O análogo de rapamicina cristalino também pode ser administrado na forma de lipossomas. Conforme é conhecido na técnica, lipossomas são geralmente derivados de fosfolipídios ou outras substâncias lipídicas. Lipossomas são formados por cristais líquidos hidratados mono- ou multi-lamelares que são dispersos em um meio aquoso. Qualquer lipídio não tóxico, fisiologicamente aceitável e metabolizável capaz de formação de lipossomas pode ser usado. As presentes composições na forma de lipossoma podem conter, além do composto da presente invenção, estabilizantes, conservantes, excipientes e semelhantes. Os lipídios preferidos são os fosfolipídios e as fosfatidil colinas (lecitinas), naturais e sintéticos. Métodos para formar lipossomas são conhecidos na técnica (veja Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, Volume XIV, Academic Press, New York, N.Y. (1976), página 33 em diante).

[0206]O análogo de rapamicina cristalino pode ser aplicado a stents que tenham sido revestidos com um composto polimérico. Incorporação do composto ou fármaco no revestimento polimérico do stent pode ser realizada através de imersão do stent revestido com polímero em uma solução contendo o composto ou fármaco durante um período de tempo suficiente (tal como, por exemplo, cinco minutos) e, então, secagem do stent revestido, de preferência por meio de secagem a ar durante um período de tempo suficiente (tal como, por exemplo, 30 minutos). O stent revestido de polímero contendo o composto ou fármaco pode, então, ser distribuído ao vaso coronariano através de implante a partir de um cateter com balão. Além de stents, outros dispositivos que podem ser usados para introduzir os fármacos da presente invenção na vasculatura incluem, mas não estão limitados a, enxertos, cateteres e balões. Além disso, outros compostos ou fármacos que podem ser usados em lugar dos fármacos da presente invenção incluem, mas não estão limitados a, A-94507 e SDZ RAD (a.k.a. Everolimus).

[0207]O análogo de rapamicina cristalino pode ser usado em combinação com

outros agentes farmacológicos. Os agentes farmacológicos que podem ser eficazes na prevenção de restenose podem ser classificados em categorias de agentes anti-proliferativos, agentes anti-plaqueta, agentes anti-inflamatórios, agentes anti-trombóticos e agentes trombolíticos. Essas classes podem ser ainda sub-divididas. Por exemplo, agentes anti-proliferativos podem ser anti-mitóticos. Agentes anti-mitóticos inibem ou afetam a divisão celular, pelo que processos normalmente envolvidos em divisão celular não ocorrem. Uma sub-classe de agentes anti-mitóticos inclui vinca alcalóides. Exemplos representativos de vinca alcalóides incluem, mas não estão limitados a, vincristina, paclitaxel, etoposídeo, nocodazola, indirubina e derivados de antraciclina tais como, por exemplo, daunorubicina, daunomicina e plicamicina. Outras sub-classes de agentes anti-mitóticos incluem agentes de alquilação anti-mitóticos tais como, por exemplo, tauromustina, bofumustina e fotemustina e metabólitos anti-mitóticos tais como, por exemplo, metotrexato, fluorouracila, 5-bromodeóxiuridina, 6-azacitidina e citarabina. Agentes de alquilação anti-mitóticos afetam a divisão celular através de modificação covalente de DNA, RNA ou proteínas, desse modo, inibindo a replicação de DNA, transcrição de RNA, tradução de RNA, síntese de proteína ou combinações dos precedentes.

[0208]Agentes anti-plaqueta são entidades terapêuticas que atuam através de (1) inibição de adesão de plaquetas a uma superfície, tipicamente uma superfície trombogênica, (2) inibição de agregação de plaquetas, (3) inibição de ativação de plaquetas ou (4) combinações dos precedentes. A ativação de plaquetas é um processo pelo qual as plaquetas são convertidas de um estado quiescente, em repouso para um no qual as plaquetas sofrem uma série de alterações morfológicas induzidas por contato com uma superfície trombogênica. Essas alterações incluem alterações no formato das plaquetas, acompanhadas da formação de pseudopods, ligação a receptores na membrana e secreção de pequenas moléculas e proteínas tais como, por exemplo, ADP e fator plaquetário 4. Agentes anti-plaqueta que atuam como inibidores de

adesão de plaquetas incluem, mas não estão limitados a, eptifibatida, tirofiban, RGD (peptídeo baseados em (Arg-Gly-Asp) que inibem a ligação a gpIIb/IIIa ou av β 3, anticorpos que bloqueiam a ligação a gpIIb/IIIa ou av β 3, anticorpos anti- β -selectina, anticorpos anti-E-selectina, compostos que bloqueiam a ligação de β -selectina ou E-selectina a seus respectivos ligantes, saratina e anticorpos anti-fator de von Willebrand. Agentes que inibem a agregação plaquetária ADP-mediada incluem, mas não estão limitados a, disagregina e cilostazol.

[0209]Agentes anti-inflamatórios podem também ser usados. Exemplos dos mesmos incluem, mas não estão limitados a, prednisona, dexametasona, hidrocortisona, estradiol, fluticasona, clobetasol e anti-inflamatórios não esteroidais tais como, por exemplo, acetaminofeno, ibuprofeno, naproxeno e sulindac. Outros exemplos desses agentes incluem aqueles que inibem a ligação de citocinas ou quimiocinas aos receptores cognatos para inibir sinais pró-inflamatórios transduzidos pelas citocinas ou as quimiocinas. Exemplos representativos desses agentes incluem, mas não estão limitados a, anticorpos anti-IL1, anti-IL2, anti-IL3, anti-IL4, anti-IL8, anti-IL15, anti-IL18, anti-GM-CSF e anti-TNF.

[0210]Agentes anti-trombóticos incluem entidades químicas e biológicas que podem intervir em qualquer estágio na via de coagulação. Exemplos de entidades específicas incluem, mas não estão limitados a, pequenas moléculas que inibem a atividade do fator Xa. Além disso, agentes do tipo heparinóide que podem inibir FXa e trombina, quer direta ou indiretamente, tais como, por exemplo, heparina, sulfato de heparina, heparinas de baixo peso molecular tal como, por exemplo, o composto tendo a marca comercial Clivarin® e oligossacarídeos sintéticos tal como, por exemplo, o composto tendo a marca comercial Arixtra®. Também incluídos são inibidores diretos de trombina tais como, por exemplo, melagatran, ximelagatran, argatroban, inogatran e peptidomiméticos do sítio de ligação do substrato de fibrinogênio Phe-Pro-Arg para trombina. Outra classe de agentes anti-trombóticos que podem ser distribuídos são

inibidores de fator VH/VIIa tais como, por exemplo, anticorpos anti-fator VH/VIIa, rNAPc2 e inibidor da via de fator tecidual (TFPI).

[0211]Agentes trombolíticos, os quais podem ser definidos como agentes que ajudam a degradar trombos (coágulos), podem também ser usados como agentes adjuntos, porque a ação de lise de um coágulo ajuda a dispersar as plaquetas encerradas dentro da matriz de fibrina de um trombo. Exemplos representativos de agentes trombolíticos incluem, mas não estão limitados a, uroquinase ou uroquinase recombinante, pró-uroquinase ou pró-uroquinase recombinante, ativador de plasminogênio tecidual ou sua forma recombinante e estreptoquinase.

[0212]Outros fármacos que podem ser usados em combinação com o análogo de rapamicina cristalino são fármacos citotóxicos tais como, por exemplo, indutores de apoptose, tal como TGF e inibidores de topoisomerase, tais como 10-hidróxicampotecina, irinotecan e doxorubicina. Outras classes de fármacos que podem ser usados em combinação com o análogo de rapamicina cristalino são fármacos que inibem a de-diferenciação celular e fármacos citostáticos. Outros agentes que podem ser usados com o análogo de rapamicina cristalino incluem fenofibrato, batimistat, antagonistas do receptor de endotelina-A tal como, por exemplo, darusentan e antagonistas do receptor de integrina $\alpha v\beta 3$.

[0213]O análogo de rapamicina cristalino pode também ser co-administrado com um ou mais agentes imunossupressores. Os agentes imunossupressores dentro do escopo da presente invenção incluem, mas não estão limitado a, IMURAN® azatioprina sódica, brequinar sódico, SANIDIN® trihidroclorato de gusperimus (também conhecido como deóxispergualina), mizoribina (também conhecida como bredinina), CELLCEPT® micofenolato mofetil, NEORAL® Ciclosporina A (também comercializado como formulação de Ciclosporina A sob a marca comercial SANDIMMUNE®), PROGRAF® tacrolimus (também conhecido como FK-506), sirolimus e RAPAMUNE®, leflunomida (também conhecida como HWA-486), glicocorticóides, tal

como prednisolona e seus derivados, terapias com anticorpo, tais como ortoclona (OKT3) e Zenapax®, e globulinas anti-miócitos, tais como timoglobulinas.

[0214]V. Tratamentos com análogo de rapamicina cristalino

[0215]Os análogos de rapamicina cristalinos possuem atividade imunomodulatória em mamíferos (especialmente seres humanos). Como imunossuppressores, os análogos de rapamicina cristalinos são úteis para o tratamento e prevenção de doenças imune-mediadas, tais como a resistência através de transplante de órgãos ou tecidos, tais como coração, rim, fígado, medula óssea, pele, córnea, pulmão, pâncreas, intestino, membros, músculo, nervos, duodeno, intestino delgado, célula da ilhota pancreática e semelhantes; doenças enxerto versus hospedeiro quando de transplante de medula óssea; doenças autoimunes, tais como artrite reumatóide, lupus eritematoso sistêmico, tireoidite de Hashimoto, esclerose múltipla, miastenia gravis, diabetes do Tipo I, uveíte, encefalomielite alérgica, glomerulonefrite e semelhantes. Outros usos incluem o tratamento e profilaxia de doenças inflamatórias e hiperproliferativas da pele e manifestações cutâneas de enfermidades imunologicamente mediadas, tais como psoríase, dermatite atópica, dermatite de contato e outras dermatites eczematosas, dermatite seborreica, lichen planus, pênfigo, pênfigo bolhoso, epidermólise bolhosa, urticária, angioedemas, vasculitides, eritemas, eosinofilia cutânea, lupus eritematoso, acne e alopecia areata; várias doenças dos olhos (autoimunes e outras), tais como queratoconjuntivite, conjuntivite vernal, uveíte associada à doença de Behcet, queratite, queratite herpética, córnea cônica, distrofia do epitélio da córnea, leucoma corneal e pênfigo ocular. Além disso, doença obstrutiva reversível das vias aéreas, as quais incluem condições tais como asma (por exemplo, asma brônquica, asma alérgica, asma intrínseca, asma extrínseca e asma por poeira), particularmente asma crônica ou inveterada (por exemplo, asma tardia e hiper-responsividade das vias aéreas), bronquite, rinite alérgica e semelhantes são objetivadas pelos análogos de rapamicina cristalinos. Inflamação da mucosa e vasos sanguíneos, tais como úlceras

gástricas, dano vascular causado por doenças isquêmicas e trombose. Além disso, doenças vasculares hiperproliferativas, tais como hiperplasia de células do músculo liso do íntimo, restenose e oclusão vascular, particularmente após lesão vascular biológica ou mecanicamente mediada, poderiam ser tratadas ou prevenidas pelos análogos de rapamicina cristalinos.

[0216]

[0217]Outras condições tratáveis incluem, mas não estão limitadas a, doenças isquêmicas do intestino, doenças inflamatórias do intestino, enterocolite necrosante, inflamações/alergias intestinais, tais como doença celíaca, proctite, gastroenterite eosinofílica, mastocitose, doença de Crohn e colite ulcerativa; doenças nervosas, tais como miosite múltipla, síndrome de Guillain-Barre, doença de Meniere, polineurite, neurite múltipla, mononeurite e radiculopatia; doenças endócrinas, tais como hipertiroidismo e doença de Basedow; doenças hemáticas, tais como aplasia pura de células vermelhas, anemia aplástica, anemia hipoplástica, trombocitopenia púrpura idiopática, anemia hemolítica autoimune, agranulocitose, anemia perniciosa, anemia megaloblástica e aneritroplasia; doenças ósseas, tal como osteoporose; doenças respiratórias, tais como sarcoidose, pulmão fibróide e pneumonia intersticial idiopática; doenças da pele, tais como dermatomiosite, leucoderma vulgaris, ictiose vulgaris, sensibilidade foto-alérgica e linfoma de células T cutâneas; doenças circulatórias, tais como arteriosclerose, aterosclerose, síndrome aórtica, poliarterite nodosa e miocardose; doenças de colágeno, tais como escleroderma, granuloma de Wegener e síndrome de Sjogren; adipose; fasciíte eosinofílica; doença periodontal, tal como lesões da gengiva, periodontio, osso alveolar e substantia óssea dentis; síndrome nefrótica, tal como glomerulonefrite; alopecia de padrão masculino e crescimento de cabelos; distrofia muscular; síndrome de Sezary e pioderma; doença de Addison; doenças mediadas por oxigênio ativo tais como, por exemplo, lesões de órgãos, tais como lesão por reperfusão-isquemia de órgãos (tais como coração, fígado, rim e trato digestivo) as quais

ocorrem quando de preservação, transplante ou doença isquêmica (por exemplo, trombose e enfarte cardíaco); doenças intestinais, tais como choque por endotoxina, colite pseudomembranosa e colite causada por fármaco ou radiação; doenças renais, tais como insuficiência renal aguda isquêmica e insuficiência renal crônica; doenças pulmonares, tais como toxiose causada por pulmão-oxigênio ou fármaco (por exemplo, paracort e bleomicinas), câncer de pulmão e enfisema pulmonar; doenças oculares, tais como catarata, siderose, retinite pigmentosa, degeneração macular senil, cicatrização vitreal e queimadura corneal por álcali; dermatites, tais como eritema multiforme, dermatite bolhosa linear por IgA e dermatite por cimento; e outras, tais como gengivite, periodontite, sepsia, pancreatite, doenças causadas por poluição ambiental (por exemplo, poluição do ar), envelhecimento, carcinogênese, metástase de carcinoma e hipobaropatia; doenças causadas por histamina ou liberação de leucotrieno-C4; doença de Behcet, tal como doença de Behcet intestinal, vâsculo- ou neuro- e também Behcet a qual afeta a cavidade oral, pele, olhos, vulva, articulação, epidídimo, pulmão, rim e assim por diante.

[0218]Além disso, os análogos de rapamicina cristalinos são úteis para o tratamento e prevenção de doença hepática, tais como doenças imunogênicas (por exemplo, doenças hepáticas autoimunes crônicas, tais como hepatite autoimune, cirrose biliar primária e colangite esclerosante), ressecção parcial do fígado, necrose hepática aguda (por exemplo, necrose causada por toxina, hepatite viral, choque ou anoxia), hepatite pelo vírus B, hepatite não-A/não-B, cirrose (tal como cirrose alcoólica) e insuficiência hepática, tal como insuficiência hepática fulminante, insuficiência hepática de início tardio e insuficiência hepática "aguda-sobre-crônica" (insuficiência hepática aguda sobre doenças hepáticas crônicas) e, além disso, são úteis para várias doenças em virtude de sua atividade útil, tais como aumento de efeito quimioterapêutico, infecção por citomegalovírus, particularmente infecção pelo HCMV, atividade anti-inflamatória, doenças esclerosantes e fibróticas, tais como nefrose, escleroderma,

fibrose pulmonar, arteriosclerose, insuficiência cardíaca congestiva, hipertrofia ventricular, adesões pós-cirúrgicas e cicatrizes, derrame, enfarte do miocárdio e lesão associada à isquemia e reperfusão e semelhantes.

[0219]Adicionalmente, análogos de rapamicina cristalinos possuem propriedades antagonísticas de FK-506. Os análogos de rapamicina cristalinos podem, assim, ser usados no tratamento de imunodepressão ou um distúrbio envolvendo imunodepressão. Exemplos de distúrbios envolvendo imunodepressão incluem AIDS, câncer, infecções fúngicas, demência senil, trauma (incluindo cicatrização de ferimentos, cirurgia e choque), infecção bacteriana crônica e determinados distúrbios do sistema nervoso central. A imunodepressão a ser tratada pode ser causada por uma overdose de um composto macrocíclico imunossupressor, por exemplo, derivados de 12-(2-ciclohexil-1-metilvinil)-13,19,21,27-tetrametil-11,28-dioxa-4-azatriciclo[22,3,1,4,9] octacos-18-eno, tal como FK-506 ou rapamicina. A overdose de tais medicamentos pelo paciente é muito comum quando eles esquecem que tomaram o medicamento no horário prescrito e pode levar a graves efeitos colaterais.

[0220]A capacidade dos análogos de rapamicina cristalinos de tratar doenças proliferativas pode ser demonstrada de acordo com métodos descritos em Bunchman ET e CA Brookshire, *Transplantation Proceed.* 23 967-968 (1991); Yamagishi, e colaboradores, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 191 840-846 (1993); e Shichiri, e colaboradores, *J. Clin. Invest.* 87 1867-1871 (1991). Doenças proliferativas incluem proliferação de músculo liso, esclerose sistêmica, cirrose do fígado, síndrome de dificuldade respiratória em adultos, cardiomiopatia idiopática, lúpus eritematoso, retinopatia diabética ou outras retinopatias, psoríase, escleroderma, hiperplasia prostática, hiperplasia cardíaca, restenose após lesão arterial ou outra estenose patológica dos vasos sanguíneos. Além disso, os análogos de rapamicina cristalinos antagonizam respostas celulares a vários fatores de crescimento e, portanto, possuem propriedades antiangiogênicas, tornando os mesmos agentes úteis para controlar ou reverter o

crescimento de determinados tumores, bem como doenças fibróticas dos pulmões, fígado e rim.

[0221]Composições líquidas aquosas são particularmente úteis para o tratamento e prevenção de várias doenças dos olhos, tais como doenças autoimunes (incluindo, por exemplo, córnea cônica, queratite, distrofia epitelial corneal, leucoma, úlcera de Mooren, esclerite e oftalmopatia de Graves) e rejeição a transplante de córnea. Quando usados nos tratamentos acima ou outros, uma quantidade terapêuticamente eficaz de um dos análogos de rapamicina cristalinos pode ser empregada na forma pura ou, onde tais formas existem, em uma forma de sal, éster ou pró-fármaco farmacologicamente aceitável. Alternativamente, os análogos de rapamicina cristalinos podem ser administrados como uma composição farmacêutica contendo o composto de interesse em combinação com um ou mais excipientes farmacologicamente aceitáveis. A frase "quantidade terapêuticamente eficaz" do análogo de rapamicina cristalino significa uma quantidade suficiente do composto para tratar distúrbios, em uma proporção benefício/risco razoável aplicável a qualquer tratamento médico. Deve ser entendido, contudo, que o uso diário total dos compostos e composições da presente invenção será decidido pelo médico que faz o atendimento, dentro do escopo do julgamento médico. O nível de dose terapêuticamente eficaz específico para qualquer paciente em particular dependerá de uma variedade de fatores, incluindo o distúrbio que está sendo tratado e a gravidade do distúrbio; atividade do composto específico empregado; a composição específica empregada; a idade, peso corporal, saúde geral, sexo e dieta do paciente; o tempo de administração, via de administração e taxa de excreção do composto específico empregado; a duração do tratamento; fármacos usados em combinação ou coincidentes com o composto específico empregado; e fatores bem conhecidos na técnica médica. Por exemplo, está bem dentro da capacidade da técnica começar as doses do composto em níveis menores do que o requerido para obter o efeito terapêutico desejado e aumentar gradualmente a dosagem até

que o efeito desejado seja obtido.

[0222]A dose diária total do análogo de rapamicina cristalino administrado a um ser humano ou animal inferior pode oscilar de cerca de 0,01 a cerca de 10 mg/kg/dia. Para fins de administração oral, doses mais preferíveis podem estar na faixa de cerca de 0,001 a cerca de 3 mg/kg/dia. Para fins de distribuição local a partir de um stent, a dose diária que um paciente receberá depende da extensão do stent. Por exemplo, um stent coronariano de 15 mm pode conter um fármaco em uma quantidade oscilando de cerca de 1 a cerca de 120 microgramas e pode distribuir esse fármaco durante um período de tempo oscilando de várias horas a várias semanas. Se desejado, a dose diária eficaz pode ser dividida em múltiplas doses para fins de administração; conseqüentemente, composições com uma única dose podem conter tais quantidades ou submúltiplos das mesmas para compor a dose diária. Administração tópica pode envolver doses oscilando de cerca de 0,001 a cerca de 3 mg/kg/dia, dependendo do local de aplicação.

[0223]EXEMPLOS

[0224]Exemplo 1

[0225]Os análogos de rapamicina e processos da presente invenção serão melhor compreendidos em conjunto com os esquemas sintéticos a seguir e métodos de produção de análogos de rapamicina e produção de formas cristalizadas dos análogos de rapamicina, os quais ilustram os métodos pelos quais os análogos de rapamicina cristalinos da presente invenção podem ser preparados.

[0226]Os análogos de rapamicina da presente invenção podem ser preparados através de uma variedade de vias sintéticas. Um procedimento exemplificativo é mostrado na Figura 1. Conforme mostrado na Figura 1, conversão da C-42 hidroxila de rapamicina a um grupo de condução trifluorometano-sulfonato ou fluoro-sulfonato proporcionou a Estrutura A. Deslocamento do grupo de condução com tetrazola na presença de uma base não nucleofílica impedida, tal como 2,6-lutidina ou, de

preferência, diisopropil etil amina, proporcionou a Fórmula 2 e Fórmula 3, as quais foram separadas e purificadas através de cromatografia rápida em coluna.

[0227]O precedente pode ser melhor compreendido através de referência aos exemplos a seguir, os quais ilustram os métodos pelos quais os compostos da invenção podem ser preparados e não se destinam a limitar o escopo da invenção, conforme definido nas reivindicações em anexo.

[0228]Exemplo 1A

[0229]Rapamicina (7,5 g) foi dissolvida em DCM (30 g). 2,6-Lutidina (1,76 g) foi adicionada. A solução foi esfriada para -30°C em um banho de acetonitrila-gelo seco e anidrido triflico (2,89 g) foi lentamente adicionado em 10 minutos. A mistura de reação foi agitada durante 20 minutos e, então, ensaiada com relação à presença de rapamicina para determinar o consumo na reação. 1-H-tetrazola (1,44 g), seguido por DIEA (5,29 g) foram adicionados. A mistura de reação foi agitada durante 6 horas em temperatura ambiente e, então, diretamente carregada sobre uma coluna de gel de sílica (270 g) preparada em THF:n-heptano a 1:1 (v/v). A mistura de reação bruta foi purificada com THF:n-heptano a 1:1. As frações contendo produto que eluem depois (isômero N-2 elui primeiro, seguido pelo isômero N-1) foram coletadas e concentradas. Os sólidos concentrados foram dissolvidos em um mínimo de DCM e carregados sobre uma coluna de gel de sílica (135 g) empacotada em n-heptano:acetona a 70:30. A coluna foi eluída com n-heptano:acetona a 70:30 e frações contendo produto puro, conforme identificado através de cromatografia em camada fina (TLC), foram concentradas.

[0230]O produto purificado foi dissolvido em t-BME (9 g) e adicionado lentamente a n-heptano (36 g) com agitação vigorosa a 10 +/- 10 °C. Os sólidos precipitados foram agitados a 5-10 °C durante 1 hora, filtrados, lavados com n-heptano e secos sobre o funil com nitrogênio. BHT (0,006 g) foi adicionado aos sólidos. Os sólidos foram dissolvidos em acetona (20 g), passados através de um filtro e concentrados.

O resíduo foi tratado com acetona duas vezes (20 g cada) e concentrados a cada vez até secagem. O produto foi seco sob vácuo durante não mais do que 18 horas em não mais do que 50 °C para proporcionar 2,5 g de zotarolimus.

[0231]Exemplo 1B

[0232]Uma solução do Exemplo 1A em acetato de isopropila (0,3 mL) foi tratada seqüencialmente com diisopropiletilamina (87 µL, 0,5 mmoles) e 1H-tetrazola (35 mg, 0,5 mmoles) e, após o que, agitada durante 18 horas. Essa mistura foi dividida entre água (10 mL) e éter (10 mL). Os orgânicos foram lavados com salmoura (10 mL) e secos (Na₂SO₄). Concentração dos orgânicos proporcionou um sólido amarelo viscoso, o qual foi purificado através de cromatografia sobre gel de sílica (3,5 g, 70-230 mesh) eluindo com hexano (10 mL), hexano:éter (4:1 (10 mL), 3:1 (10 mL), 2:1 (10 mL), 1:1 (10 mL)), éter (30 mL), hexano: acetona (1:1 (30 mL)). Um dos isômeros foi coletado nas frações de éter (MS (ESI) m/e 966 (M)⁺; 42-(2-tetrazolil)-rapamicina (isômero menos polar) correspondendo à Fórmula 3 da Figura 1).

[0233]Exemplo 1C

[0234]Coleta da menor banda móvel da coluna de cromatografia usando a fase móvel de hexano:acetona (1:1) no Exemplo 1C proporcionou o composto designado (MS (ESI) m/e 966 (M)⁺; 42-(1-tetrazolil)-rapamicina (isômero mais polar) correspondendo à Fórmula 2 da Figura 1).

[0235]Exemplo 2

[0236]A atividade imunossupressora dos análogos de rapamicina obtidos do Exemplo 1B e Exemplo 1C foi comparada com a rapamicina e dois análogos de rapamicina: 40-epi-N-[2'-piridona]-rapamicina e 40-epi-N-[4'-piridona]-rapamicina, ambos divulgados na Patente U.S. No. 5.527.907. A atividade foi determinada usando o ensaio de reação com linfócitos humanos misturados (MLR) descrito por Kino, T. e colaboradores em *Transplantation Proceedings*, XIX(5): 36-39, Supl. 6 (1987). Os resultados do ensaio demonstram que os compostos da invenção são imunomoduladores

eficazes em concentrações nanomolares, conforme mostrado na Tabela 1.

Exemplo	MLR humano IC ₅₀ ± S.E.M.(nM)
Rapamicina	0,91 ± 0,36
2-piridona	12,39 ± 5,3
4-piridona	0,43 ± 0,20
Exemplo 1B	1,70 ± 0,48
Exemplo 1C	0,66 ± 0,19

[0237]Os comportamentos farmacocinéticos dos análogos de rapamicina do Exemplo 1B e Exemplo 1C foram caracterizados após uma única dose intravenosa de 2,5 mg/kg em macacos cynomolgus (n = 3 por grupo). Cada composto foi preparado como uma solução a 2,5 mg/mL em etanol a 20%:propileno glicol a 30%:Cremophor EL a 2%:dextrose a 48% em veículo de água. A dose intravenosa de 1 mL/kg foi administrada como um bolo lento (~1-2 minutos) em uma veia safenosa dos macacos. Amostras de sangue foram obtidas de uma artéria ou veia femoral de cada animal antes de dosagem e 0,1 (IV apenas), 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 4, 6, 9, 12, 24 e 30 horas após dosagem. As amostras preservadas em EDTA foram totalmente misturadas e extraídas para subsequente análise.

[0238]Uma alíquota de sangue (1,0 mL) foi submetida à hemólise com metanol a 20% em água (0,5 ml) contendo um padrão interno. As amostras submetidas à hemólise foram extraídas com uma mistura de acetato de etila e hexano (1:1 (v/v), 6,0 mL). A camada orgânica foi evaporada até secagem com uma corrente de nitrogênio em temperatura ambiente. As amostras foram reconstituídas em metanol:água (1:1, 150 uL). Os compostos do título (injeção de 50 µL) foram separados dos contaminantes usando HPLC de fase reversa com detecção de UV. As amostras foram mantidas frias (4 graus Celsius) por toda a operação. Todas as amostras de cada estudo foram analisadas como um único lote sobre a HPLC.

[0239]Medições da área sob a curva (AUC) dos análogos de rapamicina do Exemplo 1B, Exemplo 1C e do padrão interno foram determinadas usando o software

Sciex MacQuan™. Curvas de calibração foram derivadas da proporção de área de pico (fármaco precursor/padrão interno) de padrões de sangue usando regressão linear dos mínimos quadrados da proporção versus a concentração teórica. Os métodos foram lineares para ambos os compostos sobre a faixa da curva padrão (correlação > 0,99) com um limite de quantificação estimado de 0,1 ng/mL. A concentração máxima no sangue (C_{MAX}) e o tempo para atingir a concentração máxima no sangue (T_{MAX}) foram lidos diretamente a partir dos dados de concentração no sangue-tempo observados. Os dados de concentração no sangue foram submetidos à adaptação de curva multi-exponencial usando CSTRIP para obter estimativas de parâmetros farmacocinéticos. Os parâmetros estimados foram ainda definidos usando NONLIN84. A área sob a curva de concentração no sangue-tempo de 0 a t horas (último ponto de tempo mensurável de concentração no sangue) após dosagem (AUC_{0-t}) foi calculada usando a regra trapezoidal linear para os perfis de tempo-sangue. A área residual extrapolada até a infinidade, determinada como a concentração de sangue final medida (C_t) dividido pela constante da taxa de eliminação terminal (β) e adicionada à AUC_{0-t} para produzir a área total sob a curva (AUC_{0-t}).

Tabela 2

Composto	AUC mg/h/mL	t1/2 (hora)
Rapamicina	6,87	16,7
2-piridona	2,55	2,8
4-piridona	5,59	13,3
Exemplo 1	2,35	5,0
Exemplo 2	2,38	6,9

[0240]Exemplo 3

[0241]A finalidade desse exemplo foi determinar os efeitos de um análogo de rapamicina sobre a formação de neointimo em artérias coronárias de suínos contendo stents. Esse exemplo ilustra que o análogo de rapamicina A-179578 (por exemplo, ABT-578; correspondendo à Fórmula 2 da Figura 1), quando composto e distribuído a

partir do stent Biocompatibles BiodiviYsio PC Coronary, afeta favoravelmente a hiperplasia do neoíntimo e tamanho de lúmen em artérias coronárias de suíno. Essa descoberta sugere que tal combinação pode ser de benefício clínico substancial se apropriadamente aplicada em seres humanos através de limitação de hiperplasia do neoíntimo.

[0242]O estudo apresentado nesse exemplo foi criado para avaliar a capacidade do análogo de rapamicina A-179578 de reduzir a hiperplasia do neoíntimo em um modelo de stent coronariano suíno. A eficácia de A-179578 nesse modelo sugeriria seu potencial clínico para a limitação e tratamento de restenose coronariana em stents após revascularização percutânea. O suíno doméstico foi usado porque esse modelo parece proporcionar resultados comparáveis com outras investigações buscando limitar a hiperplasia do neoíntimo em seres humanos.

[0243]O A-179578 exemplificativo testado eluiu de stents coronarianos colocados em porcos de fazenda jovens e esses resultados comparados com stents de controle. Os stents de controle são revestidos com polímero sem fármaco. Isso é importante, porque o polímero em si não deve estimular hiperplasia do neoíntimo em um grau substancial. À medida que o fármaco eluído desaparece, uma resposta inflamatória ao polímero poderia resultar, concebivelmente, em um "fenômeno de catch-up" tardio, onde o processo de restenose não é cessado, mas antes, reduzido. Esse fenômeno resultaria em restenose em datas posteriores em seres humanos.

[0244]Stents foram implantados em dois vasos sanguíneos em cada porco. Porcos usados nesse modelo tinham, em geral, 2-4 meses de idade e pesavam 30-40 kg. Dois stents coronários foram, assim, implantados em cada porco através de avaliação visual em uma proporção de artérias com stent "normal" de 1,1-1,2.

[0245]Começando a partir do dia do procedimento, aos porcos foi fornecida aspirina oral (325 mg ao dia) e continuada durante o restante de seu curso. Anestesia geral foi obtida por meio de injeção intramuscular, seguido por cetamina intravenosa

(30 10 mg/kg) e xilazina (3 mg/kg). Medicação adicional no momento de indução incluía atropina (1 mg) e floclina (1 g) administradas intramuscularmente. Durante o procedimento de colocação de stent, um bolo intra-arterial de 10.000 unidades de heparina foi administrado.

[0246] Acesso arterial foi obtido através de corte sobre a carótida externa direita e colocação de um protetor 8F. Após o procedimento, os animais foram mantidos sob uma dieta normal sem colesterol ou outra suplementação especial.

[0247] O stente BiodivYsio foi usado, com um tamanho alvo de vaso normal de 3,0 mm. Duas artérias coronárias por porco foram atribuídas aleatoriamente ao implante dos stents. O stent era um stent eluindo fármaco (stent com polímero mais fármaco) ou um stent revestido com um polímero apenas (stent com polímero apenas). Os stents foram distribuídos por meio de cateteres e fios guia padrões. Os balões dos stents foram inflados até os tamanhos apropriados durante menos de 30 segundos.

[0248] Cada porco tinha um stent com polímero apenas e um stent com polímero mais fármaco colocado em artérias coronárias distintas, de modo que cada porco teria um stent para fármaco e um para controle. Um tamanho de amostra de 20 porcos no total foi escolhido para detectar uma diferença projetada na espessura do neoíntimo de 0,2 mm com um desvio padrão de 0,15 mm, em um poder de 0,95 e beta 0,02.

[0249] Os animais foram sacrificados a 28 dias para exame histopatológico e quantificação. Após remoção do coração do sistema de bomba de perfusão, o apêndice atrial esquerdo foi removido para acesso às artérias coronárias proximais. Segmentos de artéria coronária com lesões foram dissecados do epicárdio. Segmentos contendo lesões foram isolados, desse modo, permitindo tecido suficiente para conter vaso sanguíneo não envolvido em sua extremidade. Os segmentos precedentes, cada um de aproximadamente 2,5 cm de comprimento, foram incrustados e processados por meio de técnicas de incrustação em plástico padrões. Os tecidos foram subsequentemente processados e corados com hematoxilina-eosina e técnicas elásticas de

van Gieson.

[0250]Microscopia com baixo e alto poder de iluminação foi usada para fazer medições de comprimento no plano de vista microscópico por meio de um retículo calibrado e um sistema de microscopia digital conectado a um computador empregando um software de análise calibrado.

[0251]A gravidade de lesão do vaso e a resposta do neointimo foram medidas através de microscopia digital calibrada. A importância da integridade da lâmina elástica interna é bem conhecida por aqueles habilitados na técnica. Um escore de lesão histopatológica nos vasos sanguíneos com stent foi validado como estando intimamente relacionado à espessura do neointimo. Esse escore está relacionada à profundidade de lesão e é como segue: 0 é a lâmina elástica interna intacta; endotélio tipicamente desnudo, meio comprimido mas não lacerado; 1 é a lâmina elástica interna lacerada; meio tipicamente comprimido, mas não lacerado; 2 é a lâmina elástica interna lacerada; meio visivelmente lacerado; lâmina elástica externa intacta, mas comprimida; e 3 é a lâmina elástica externa lacerada; tipicamente grandes lacerações do meio se estendendo através da lâmina elástica externa; fios em espiral algumas vezes residindo no adventício.

[0252]Essa medição quantitativa de lesão foi avaliada para todos os arames de stent de cada seção de stent. A imagem digital calibrada foi também usada para medir, em cada local do fio de stent, a espessura do neointimo. A área do lúmen, área contida com a lâmina elástica interna e área dentro da lâmina elástica externa foram também medidas. A espessura do neointimo foi medida para cada stent em uma determinada seção ao invés da média para determinar a espessura do neointimo para a seção. O segmento mediano do stent foi usado para medição, análise e comparação. Os dados também foram registrados (e incluídos na seção dados desse relatório) para os segmentos proximal e distal. Os métodos de análise de dados para esse estudo não precisam levar em conta lesão arterial variável através dos grupos de

tratamento/controle, porque lesão branda a moderada é sensível o bastante para detectar diferenças de tratamento. T-testagem emparelhada foi realizada para comparar variáveis através dos stents com polímero apenas (grupo de controle) e stents com polímero mais fármaco (grupo de tratamento). Nenhum animal morreu nesse estudo antes dos pontos de tempo esquematizados.

[0253]A Tabela 3 mostra os porcos e artérias usados. Na Tabela 3, LCX significa o ramo circunflexo da artéria coronária esquerda, LAD significa a artéria coronária descendente anterior esquerda e RCA significa a artéria coronária direita.

Tabela 3

	Indivíduo	Artérias usadas
1	2000-G-693	RCA - Controle
		LCX - Teste
2	2000-G-698	RCA - Teste
		LAD - Controle
3	2000-G-702	RCA - Teste
		LAD - Controle
4	2000-G-709	RCA - Controle
		LAD - Teste
5	2000-G-306	RCA - Controle
		LAD - Teste
		LCX - Teste
6	2000-G-672	RCA - Teste
		LAD - Controle
7	2000-G-712	RCA - Controle
		LCX - Teste
8	2000-G-735	RCA - Control
		LAD - Teste
9	2000-G-736	RCA - Controle
		LCX - Teste
10	2000-G-740	RCA - Teste
		LAD - Controle
11	2000-G-742	LAD - Teste

		OM (LCX) - Controle
12	2000-G-744	RCA - Teste
		LAD - Control
13	2000-G-748	RCA - Teste
		LAD - Control
14	2000-G-749	RCA - Control
		LCX - Test
15	2000-G-753	RCA - Controle
		LAD - Teste
16	2000-G-754	RCA - Teste
		LCX -Controle
17	2000-G-755	RCA - Controle
		LAD - Teste
18	2000-G-756	RCA - Teste
		LAD - Controle
19	2000-G-757	LAD - Controle
		LCX - Teste
20	2000-G-760	LAD - Teste
		LCX -Controle

[0254]A Tabela 4 mostra os resultados resumidos para todos os dados para lesão média e espessura do neoíntimo para cada stent, incluindo segmentos proximal, mediano e distal. A Tabela 4 também mostra o tamanho do lúmen, estenose percentual e tamanho da artéria, conforme medido pela lâmina elástica interna (IEL) e lâmina elástica externa (EEL).

Tabela 4. Sumário: todas as medidas (Distal, Mediana, Proximal)

	Ref. Prox.	Ref. Dist.	lúmen	IEL	EEL	Média lesão	% estenose	Área neo-íntima	NIT
Con-trole	Distal								
Média	4,46	3,96	4,88	7,66	9,00	0,22	36,10	2,79	0,41
SD	1,20	1,16	1,30	1,15	1,10	0,26	15,41	1,29	0,17

Con- trole	Mediano								
Média	4,46	3,96	4,94	7,71	9,08	0,08	36,23	2,77	0,38
SD	1,20	1,16	1,44	1,07	1,15	0,14	14,93	1,20	0,16
Con- trole	Proximal								
Média	4,46	3,96	5,11	7,89	9,30	0,15	35,35	2,78	0,38
SD	1,20	1,16	1,38	1,33	1,42	0,22	11,94	1,04	0,12
Teste	Distal								
Média	4,26	3,41	6,04	7,70	9,01	0,26	22,35	1,66	0,25
SD	1,26	0,96	1,55	1,49	1,47	0,43	8,58	0,58	0,06
Teste	Mediano								
Média	4,26	3,41	6,35	7,75	8,98	0,04	18,71	1,41	0,22
SD	1,26	0,96	1,29	1,18	1,31	0,07	5,68	0,33	0,05
Teste	Proximal								
Média	2,56	2,15	3,31	4,06	4,66	0,19	16,79	1,29	0,18
SD	1,66	1,37	2,39	3,48	4,15	0,13	9,97	0,80	0,12

[0255]Não houve diferença estatisticamente significativa para a área neoínfima ou a espessura através de segmentos proximal, mediano ou distal dentro do grupo de teste (stents com polímero mais fármaco) ou grupos de controle (stents com polímero apenas). Essa observação é muito consistente com estudos anteriores e, assim, permite o uso apenas do segmento mediano para comparação estatística de dispositivos de teste (stents com polímero mais fármaco) vs. dispositivos de controle (stents com polímero apenas).

[0256]A Tabela 5 mostra as comparações de t-teste estatísticas através dos grupos de teste e grupos de controle. Havia uma diferença estatisticamente

significativa na espessura do neointimo, área do neointimo, tamanho do lúmen e estenose percentual do lúmen, o stent com fármaco sendo claramente favorecido. Inversamente, não existiam diferenças estatisticamente significativas entre o grupo de teste (stents com polímero mais fármaco) e o grupo de controle (stents com polímero apenas) para o escore de lesão média, áreas da lâmina elástica externa ou lâmina elástica interna.

Tabela 5: Comparação estatística de parâmetros de teste vs. controle: dados de seção mediana

Estatística do t-teste							
Parâmetro	Diferença	t-teste	DF	Desvio padrão	Abaixo de 95%	Acima de 95%	P
Lúmen	-1,17	-2,28	38	0,52	-2,21	-0,13	0,029
IEL	0,03	0,088	38	0,36	-0,71	0,78	0,93
EEL	0,2	0,499	38	0,39	-0,599	0,99	0,62
Espessura do NI	0,18	5,153	38	0,034	0,106	0,244	<0,001
Área do NI	1,21	3,62	38	0,33	0,53	1,88	0,0008
Lesão média	0,038	1,137	38	0,033	-0,02	0,106	0,26
% estenose	14,54	2,97	38	4,9	4,61	24,47	0,005

[0257]As artérias de referência proximal e distal aos segmentos com stent foram observadas e quantificadas. Esses vasos pareciam normais em todos os casos, sem lesão no grupo de controle (stents com polímero apenas) e no grupo de teste (stents com polímero mais fármaco). Os dados na tabela 6 mostram que não existiam diferenças estatisticamente significativas no tamanho entre os stents no grupo de

controle e os stents no grupo de teste.

Tabela 6

	Referência Proximal Diâmetro (mm)	Referência Distal Diâmetro (mm)
Controle (média + SD)	4,46 ± 1,20	3,96 ± 1,16
Teste (média + SD)	4,26 ± 1,26	3,41 ± 0,96

[0258]Os dados sugerem que existem diferenças estatisticamente significativas e essas diferenças favorecem o stent que elui A-I 79578. O stent da presente invenção resulta em menor área do neoíntimo, menor espessura do neoíntimo e maior área do lúmen. Não existiam diferenças significativas dentro do grupo de teste (stents com polímero mais fármaco) e o grupo de controle (stents com polímero apenas) para os parâmetros do neoíntimo ou lesões. Não existiam diferenças significativas nos tamanhos das artérias (incluindo o stent) para o grupo de controle comparado com o grupo de teste. Essas últimas descobertas não sugerem diferença significativa nas características de remodelamento arterial do revestimento polimérico contendo o fármaco.

[0259]No máximo, inflamação branda foi encontrada sobre o stent com polímero mais fármaco e o stent com polímero apenas. Essa descoberta sugere que o polímero exibe biocompatibilidade satisfatória, mesmo sem carregamento de fármaco. Outros estudos mostram que, quando o fármaco saiu completamente do polímero, o polímero em si cria inflamação suficiente para causar neoíntimo. Esse fenômeno pode ser responsável pelo fenômeno de "catch-up" tardio de restenose clínica tardia. Em virtude do fato de o polímero nesse exemplo não causar inflamação nas artérias coronárias, problemas tardios relacionados ao polímero após o fármaco ter se esgotado são improváveis.

[0260]Em conclusão, um stent contendo o composto A-179578 com um polímero mostrou uma redução na hiperplasia do neoíntimo no modelo suíno quando

colocado em uma artéria coronária.

[0261]Exemplo 4

[0262]A finalidade desse exemplo é determinar a taxa de liberação de fármaco A-179578 (ABT-578) de Cupons 316L Electropolished Stainless Steel revestidos com um polímero biocompatível contendo grupos laterais de fosfarilcolina.

[0263]Septos de borracha de tampas de frascos de HPLC foram removidos dos frascos e colocados em frascos de vidro, de modo que o lado com "Teflon" estivesse para cima. Esses septos serviam como suportes para as amostras de teste. As amostras de teste eram cupons de aço inoxidável 316L que tinham sido previamente revestidos com um polímero biocompatível contendo grupos laterais de fosfarilcolina (polímero de PC). Stents coronarianos são feitos, comumente, de aço inoxidável 316L e podem ser revestidos com o polímero de PC para proporcionar um local de depósito para carregamento de fármacos. Os cupons revestidos, os quais servem para simular stents, foram colocados sobre os septos. Usando uma seringa de Hamilton, uma solução de A-179578 e etanol (10 µl) foi aplicada sobre a superfície de cada cupom. A solução continha A-179578 (30,6 mg) dissolvido em etanol a 100% (3,0 ml). A seringa foi limpa com etanol entre cada aplicação. A tampa do frasco de vidro foi colocada sobre o frasco frouxamente, desse modo, assegurando ventilação apropriada. O cupom foi deixado secar durante um mínimo de 1,5 horas. Doze (12) cupons foram carregados dessa forma, seis sendo usados para determinar a quantidade média de fármaco carregado ao dispositivo e seis sendo usados para medir o tempo necessário para liberar o fármaco dos dispositivos.

[0264]Para determinar a quantidade total de ABT-578 carregada sobre um cupom, um cupom foi removido do frasco e colocado em tampão de acetonitrila/fosfato a 0,01M a 50/50 (pH de 6,0, 5,0 ml). O cupom foi colocado sobre um aparelho de ultrassom 5210 Branson durante uma hora. O cupom foi, então, removido da solução e a solução foi ensaiada através de HPLC.

[0265]Os estudos de liberação com o tempo foram realizados através de imersão e remoção de cupons individuais de alíquotas frescas (10,0 ml) de tampão de fosfato a 0,01 M em um pH de 6,0 em cada um dos seguintes intervalos de tempo: 5, 15, 30 e 60 minutos. Para os pontos de tempo restantes de 120, 180, 240, 300, 360 minutos, volumes de 5,0 ml de tampão foram usados. Para facilitar a mistura durante a fase de liberação de fármaco, as amostras foram colocadas sobre um agitador Eberbach ajustado em baixa velocidade. Todas as alíquotas de solução foram ensaiadas através de HPLC após a testagem da última amostra ter sido terminada.

[0266]A análise por HPLC foi realizada com um instrumento Hewlett Packard série 1100 tendo os seguintes ajustes: volume de injeção é de 100 µl; tempo de aquisição é de 40 minutos; taxa de fluxo é de 1,0 ml/min; temperatura da coluna é de 40 graus Celsius; comprimento de onda é de 278 nm; fase móvel é Acetonitrila a 65%/H₂O a 35%; e coluna é YMC ODS-A S, 5 µm, 4,6 x 250 mm (Parte No. A12052546WT).

Tabela 7

Tempo (min.)	Liberação percentual	Desvio padrão
0,00	0,00	0,00
5,00	1,87	1,12
15,00	2,97	1,47
30,00	3,24	1,28
60,00	3,29	1,29
120,00	3,92	1,28
180,00	4,36	1,33
240,00	4,37	1,35
300,00	6,34	2,07
360,00	7,88	1,01

[0267]Exemplo 5

[0268]A finalidade desse exemplo foi determinar o carregamento e liberação de ABT-578 de stents de distribuição de fármaco BiodivYsio de 15 mm. Para carregar

os stents com fármaco, uma solução de ABT-578 em etanol em uma concentração de 50 mg/ml foi preparada e distribuída em doze frascos. Doze stents revestidos de polímero individuais foram colocados sobre suportes criados para sustentar o stent em uma posição vertical e os stents foram imersos verticalmente na solução de fármaco durante cinco minutos. Os stents e suportes foram removidos dos frascos e a solução de fármaco em excesso foi seca através de contato dos stents com um material absorvente. Os stents foram, então, deixados secar ao ar durante 30 minutos em uma posição vertical invertida.

[0269]Os stents foram removidos dos suportes e cada stent foi colocado em tampão de acetonitrila/fosfato a 50/50 (pH de 5,1, 2,0 ml) e submetido a ultra-som durante uma hora. Os stents foram removidos da solução e as soluções foram ensaiadas com relação à concentração de fármaco, permitindo cálculo da quantidade de fármaco originalmente sobre os stents. Esse método mostrou, independentemente, remover pelo menos 95% do fármaco do revestimento do stent. Em média, os stents continham 60 microgramas de fármaco \pm 20 microgramas.

[0270]Os stents revestidos com fármaco foram colocados sobre os suportes e colocados em tampão de fosfato a 0,01 M (pH = 6,0, 1,9 ml) em frascos individuais. Essas amostras foram colocadas sobre um agitador de Eberbach ajustado em baixa velocidade para proporcionar agitação para frente e para trás. Para evitar aproximação da saturação de fármaco no tampão, os stents foram transferidos periodicamente para frascos com tampão fresco nos seguintes pontos de tempo: 15, 30, 45, 60, 120, 135, 150, 165, 180, 240, 390 minutos. Os frascos com tampão de dissolução foram ensaiados através de HPLC com relação à concentração de fármaco no final do período de liberação de fármaco estudado. Os dados, representados como liberação cumulativa % de fármaco como uma função do tempo, são mostrados na tabela abaixo:

Tabela 8

Tempo (min)	Liberação cumulativa % de fármaco
-------------	-----------------------------------

15	0,3
30	1,1
45	2,1
60	3,2
120	4,3
135	5,9
150	6,3
165	6,8
180	7,4
240	10,8
390	13,2

[0271]Exemplo 6

[0272]A finalidade desse exemplo foi avaliar a segurança e eficácia de diferentes dosagens de fármaco sobre a formação de neoíntimo. Fármaco foi distribuído a partir do stent BiodivYsio OC (15 mm) revestido com ABT-578. A formação de neoíntimo no stent foi medida em quatro intervalos de tempo: 3 dias, 1 mês e 3 meses nas artérias coronárias de suínos miniatura adultos. Quarenta (40) animais foram estudados em cada intervalo de tempo (10 animais por dose). Cada animal recebeu um stent revestido de fármaco e um stent de controle. O stent de controle não continha fármaco. A Tabela 9 mostra o esquema de dosagem para estudo de eficácia em suínos.

Tabela 9

	Grupo de dose 1 (μg)	Grupo de dose 2 (μg)	Grupo de dose 3 (μg)	Grupo de dose 4 (μg)
ABT-578 por stent	15	45	150	400
ABT-578 por mm de stent	1	3	10	27

[0273]A toxicidade tecidual local potencial foi avaliada em todos os intervalos de tempo examinando alterações histopatológicas na região com stent, segmentos coronários adjacentes, tecido perivascular e miocárdio subjacente. A mortalidade,

implante angiográfico e dados de estudo, dados de histomorfometria e histopatologia do local com stent foram estudados.

[0274]O stent revestido com ABT-578 reduziu a formação de neoíntimo em artérias coronárias de suíno e forneceu evidência clara de um efeito biológico do fármaco (trombo não reabsorvido/depósitos de fibrina no neoíntimo) em um mês. Houve uma fraca tendência de que o stent revestido com ABT-578 mostrasse um efeito inibitório persistente em um intervalo de tempo a longo prazo de três meses. Não houve toxicidade local para a parede da arterial coronária na forma de necrose ou mal posicionamento do stent associada a qualquer grupo de dose, incluindo a maior dose de aproximadamente 27 g/mm de comprimento do stent em qualquer intervalo de tempo examinado. Todos os stents foram bem incorporados no tecido e não houve evidência de respostas de cicatrização estável na forma de incorporação de neoíntimo fibrocelular e cobertura endotelial no intervalo de um mês e no intervalo de três meses. A tendência a um efeito inibitório sustentado em três meses após o stent ter sido implantado nesse animal é surpreendente e fornece evidência de efeitos potencialmente persistentes na prevenção de restenose clínica resultante de stents implantados.

[0275]Exemplo 7

[0276]Cristais de análogo de rapamicina foram preparados através de cristalização do análogo em uma mistura bifásica. Resumidamente, ABT-578 foi adicionado a um frasco contendo 0,23 g de acetona e 0,82 g de heptano e incubados a 0 graus Celsius de modo a saturar a fase líquida. A mistura foi incubada até que um desvio de fase líquido-líquido ocorresse, à medida que o ABT-578 dissolvia na solução de acetona, resultando em uma fase inferior rica em ABT-578-acetona e uma fase superior rica em heptano. A mistura bifásica foi incubada a 0 graus Celsius durante 10 dias, tempo no qual cristais de análogo de rapamicina foram observados no fundo do frasco. A Figura 2A mostra o padrão de difração de raio x em pó (PXRD).

[0277]O solvato de acetona foi analisado com relação à informação

cristalográfica pertinente, a qual é incluída na Tabela 10. Foi determinado que as moléculas de solvente ao longo do eixo *c* separam as moléculas de ABT-578. As moléculas de solvente estavam razoavelmente desordenadas, mas elas aparecem como se existissem quatro moléculas de acetona e duas moléculas de água por ABT-578. As moléculas de ABT-578 interagem via interações de Van der Waal ao longo dos eixos *a* e *b*.

Tabela 10: Informação cristalográfica do solvato de acetona

Parâmetro	ABT-578
Sistema de cristal	Orto-rômbico
Grupo espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
<i>a</i> , Å	12,245
<i>b</i> , Å	17,401
<i>c</i> , Å	33,356
Volume, (Å ³)	7107
<i>P</i> _{calc} (g/cm ⁻³)	1,120

[0278]Exemplo 8

[0279]Cristais de solvato de tolueno de ABT-578 foram gerados através do seguinte procedimento. Uma solução clara foi preparada através de dissolução de 100 mg de ABT-578 amorfo em 300 mg de tolueno. A solução foi agitada a 22 graus Celsius durante 15 horas, quando do que uma pasta espessa de sólidos cristalinos foi observada. A Figura 4A mostra o difração de pó de raios X de cristais de solvato de tolueno preparados usando sólidos do preparo acima como sementes.

[0280]Exemplo 9

[0281]Cristais de solvato desolvatado de acetonitrila de ABT-578 foram gerados através de saturação de acetonitrila com ABT-578 amorfo a 22 graus Celsius e, então, incubação da solução saturada a 0 graus Celsius durante 2 horas. A Figura 5A mostra o padrão de difração de raio x em pó dos cristais. Os cristais podem, então, ser secos para formar um desolvato de acetonitrila e a Figura 6C mostra os dados de análise termogravimétrica para o desolvato.

[0282]Exemplo 10

[0283]Cristais de solvato de formato de etila de ABT-578 foram gerados transformando em pasta um bolo úmido de solvato de acetonitrila em formato de etila a 0 graus Celsius. As Figuras 7A e 7C mostram o padrão de difração de pó por raios e análise termogravimétrica dos cristais, respectivamente.

[0284]Exemplo 11

[0285]Cristais de solvato de acetato de isopropila de ABT-578 foram gerados transformando em pasta um bolo úmido de solvato de acetonitrila em acetato de isopropila a 0 graus Celsius.

[0286]Exemplo 12

[0287]Cristais de ABT-578 foram preparados através de adição de 380 mg de ABT-578 amorfo a um frasco e carregando 870 mg de acetato de isobutila ao mesmo para permitir dissolução. Esse foi incubado a 0 graus Celsius durante 16 horas, quando do que uma pasta cristalina foi obtida. As Figuras 9A e 9C mostram o padrão de difração de raio x em pó e análise termogravimétrica dos cristais, respectivamente.

[0288]Exemplo 13

[0289]Cristais de solvato de etanol de ABT-578 foram preparados através de adição de 417 mg de ABT-578 amorfo a um frasco e carregando 315 mg de etanol (200 proof) ao mesmo para permitir dissolução. Esse foi cultivado após 15 horas com o solvato desolvatado de acetonitrila e incubado a 0 graus Celsius durante mais 16 horas, quando do que uma pasta cristalina foi obtida.

[0290]Exemplo 14

[0291]Cristais de solvato de N,N dimetil formamida de ABT-578 gerados através de transformação em pasta de um bolo úmido de solvato de acetonitrila em N,N dimetil formamida a graus Celsius. As Figuras 10A e 10B mostram o padrão de difração de raio x em pó e análise termogravimétrica dos cristais, respectivamente.

[0292]Exemplo 15

[0293] Cristais de solvato de anisol de ABT-578 foram gerados transformando em pasta um bolo úmido de solvato de acetonitrila em anisol a 0 graus Celsius. As Figuras 11A e 11C mostram o padrão de difração de raio x em pó e análise termogravimétrica dos cristais, respectivamente.

[0294] Exemplo 16

[0295] Um análogo de rapamicina cristalino na forma de solvato de acetona foi preparado através de dissolução de aproximadamente 120 mg de análogo de rapamicina amorfo em 200 uL de acetona em temperatura ambiente e incubação da solução resultante a 5 graus 30 Celsius durante 14 horas ou até que cristais cristalinos fossem observados em uma pasta cristalina. Os cristais foram analisados através de difração de raio x em pó, o qual é mostrado na Figura 2B. Os cristais foram equilibrados em temperatura ambiente, seguido por secagem adicional a 30 graus Celsius sob vácuo (aproximadamente 3 polegadas de mercúrio). Os cristais secos foram, então, analisados através de difração de raio x em pó, o qual é mostrado na Figura 3B.

[0296] Exemplo 17

[0297] Um análogo de rapamicina cristalino na forma de um solvato de tolueno foi preparado através de dissolução de aproximadamente 220 mg de análogo de rapamicina amorfo em aproximadamente 400 uL de tolueno a 45 graus Celsius para formar uma solução. A solução foi incubada a 5 graus Celsius durante cerca de 1 hora ou até que sólidos cristalinos pudessem ser observados. A Figura 4B é o padrão de difração do solvato de tolueno. Um padrão de difração de um solvato de tolueno desolvatado é mostrado na Figura 4E. Os cristais desolvatados foram obtidos permitindo que os cristais de solvato equilibrassem em temperatura ambiente, seguido por secagem adicional a 30 graus Celsius sob vácuo (aproximadamente 3 polegadas de mercúrio).

[0298] A perda de tolueno quando de aquecimento pode ser descrita em 3 estágios. No primeiro estágio, a perda de tolueno é em uma temperatura abaixo de 90

graus Celsius. O segundo estágio é em temperaturas de 90 graus Celsius a 130 graus Celsius e o último estágio é após fusão, > 150 graus Celsius. Portanto, o solvato de tolueno desolvatado cristalino obtido através de secagem é um produto parcialmente desolvatado. A estrutura de um único cristal de solvato de tolueno por raios X foi determinada. A informação cristalográfica é listada na Tabela 11.

Tabela 11: Informação cristalográfica do solvato de tolueno de ABT-578

	Solvato de tolueno de ABT-578
T/K	293
Grupo espacial	P2 ₁
Sistema de cristal	monoclínico
$a/\text{Å}$	17,649(5)
$b/\text{Å}$	12,299(3)
$c/\text{Å}$	17,785(4)
$\beta/^\circ$	113,518(4)
$V/\text{Å}^3$	3539,83
Z	2
P_{calc} (g/cm ⁻³)	1,138

[0299]O toluenato de ABT-578 cristaliza no espaço quiral P2₁ e existem duas moléculas de ABT-578 em cada célula unitária. A Figura 4C mostra a estrutura de um único cristal por raios X do solvato de tolueno de ABT-578, o qual foi obtido usando radiação alfa k-molibdênio (0,070930). Conforme pode ser observado a partir da estrutura, em cada unidade assimétrica do cristal, existem três moléculas de tolueno e uma molécula de Zotarolimus. Assim, o solvato de tolueno é um tri tri-toluenato. Dentre as três moléculas de tolueno (T_a , T_b e T_c), T_a e T_b têm contatos curtos com a molécula de ABT-578 (isto é, interações C-H... π e C=O...H-C=C). T_c interage com as moléculas circundantes apenas via uma força de Van der Waal fraca. De modo interessante, na estrutura de cristal do solvato de tolueno, existem canais de solvente ao longo do eixo b , conforme mostrado na Figura 4D. As moléculas de tolueno T_a e T_c estão mais expostas no canal e espera-se que sejam removidas de modo

relativamente mais fácil dos cristais. Por outro lado, a molécula de tolueno *Tb* está semi-encerrada em uma cavidade circundada por moléculas de ABT-578. Portanto, para essas três moléculas de tolueno diferente, *Tb* se liga hermeticamente, *Ta* se liga moderadamente e *Tc* se liga frouxamente às moléculas de ABT-578. Isso explica o fato de que o solvato de tolueno mostra perda gradual de tolueno quando de secagem/aquecimento e que remoção completa de tolueno dos cristais é difícil de obter. Isso também explica a retração da látice de cristal ao longo do eixo *a* quando de secagem, conforme evidenciado pela alteração no padrão de PXRD de desolvatação do solvato de tolueno, conforme mostrado na Figura 4F.

[0300]Exemplo 18

[0301]Um análogo de rapamicina cristalino na forma de um solvato de acetonitrila foi preparado através de dissolução de aproximadamente 100 mg de análogo de rapamicina amorfo em 200 uL de acetonitrila a 45 graus Celsius e incubação em cerca de -12 graus Celsius durante cerca de 30 horas, após o que a solução foi cultivada com uma quantidade vestigial de cristais de solvato de tolueno. Sólidos cristalinos se formaram após cultura através de incubação adicional a -12 graus Celsius. Os cristais podem, então, ser analisados através de difração de raio x em pó, o qual é mostrado pela Figura 5B. Os cristais foram equilibrados em temperatura ambiente, seguido por secagem adicional a 30 graus Celsius sob vácuo (aproximadamente 3 polegadas de mercúrio). Os cristais secos podem ser analisados através de difração de raio x em pó, o qual é mostrado na Figura 6B.

[0302]Exemplo 19

[0303]Um análogo de rapamicina cristalino na forma de um solvato de formato de etila foi preparado através de dissolução de aproximadamente 100 mg de análogo de rapamicina amorfo em 200 uL de formato de etila a 45 graus Celsius e incubação em cerca de 5 graus Celsius durante cerca de 14 horas ou até que cristais se formassem. Figura 7B é o padrão de difração do solvato de formato de etila. O padrão de

difração do desolvato de formato de etila é mostrado pela Figura 8. Os cristais desolvatados foram obtidos permitindo que os cristais de solvato equilibrassem em temperatura ambiente, seguido por secagem adicional a 30 graus Celsius sob vácuo (aproximadamente 3 polegadas de mercúrio).

[0304]Exemplo 20

[0305]Um análogo de rapamicina cristalino na forma de um solvato de acetato de isopropila foi preparado através de dissolução de aproximadamente 100 mg de análogo de rapamicina amorfo em aproximadamente 200 uL de acetato de isopropila em temperatura ambiente. A solução foi incubada a 5 graus Celsius durante 14 horas ou até que sólidos cristalinos fossem observados. O padrão de difração do solvato de acetato de isopropila é mostrado pela Figura 17A. Os cristais desolvatados foram obtidos permitindo que os cristais de solvato equilibrassem em temperatura ambiente, seguido por secagem adicional a 30 graus Celsius sob vácuo (aproximadamente 3 polegadas de mercúrio). A Figura 17B mostra os padrões de difração de raio x em pó do solvato desolvatado.

[0306]Exemplo 21

[0307]Um análogo de rapamicina cristalino na forma de um solvato de acetato de isobutila foi preparado através da adição de aproximadamente 400 mg de análogo de rapamicina amorfo a um frasco e carregando aproximadamente 870 mg de acetato de isobutila no frasco para permitir dissolução em temperatura ambiente. A solução foi, então, incubada a cerca de 20 graus Celsius durante cerca de 16 horas ou até que uma pasta cristalina fosse obtida. Os cristais foram, então, analisados através de difração de raio x em pó, o qual é mostrado pela Figura 9B.

[0308]Exemplo 22

[0309]Um análogo de rapamicina cristalino na forma de solvato de etanol foi preparado através de dissolução de aproximadamente 100 mg de análogo de rapamicina amorfo em 400 uL de etanol (200 proof) a 45 graus Celsius e incubação a

aproximadamente 5 graus Celsius durante 14 horas ou até que cristais se formassem. A Figura 12A é o padrão de difração do solvato. Os cristais desolvatados foram obtidos permitindo que os cristais de solvato equilibrassem em temperatura ambiente, seguido por secagem adicional a 30 graus Celsius sob vácuo (aproximadamente 3 polegadas de mercúrio). A Figura 12B mostra os padrões de difração de raio x em pó do solvato desolvatado.

[0310]Exemplo 23

[0311]Cristais de solvato de metanol de ABT-578 foram preparados através de dissolução de 93 mg de ABT-578 amorfo em 200 uL de metanol em temperatura ambiente e armazenamento a -12 graus Celsius durante 30 horas antes de cultivados com uma quantidade vestigial de cristais de solvato de tolueno. Sólidos cristalinos se formaram após cultura através de incubação adicional a -12 graus Celsius. A Figura 13A e 13B mostram os padrões de difração de raio x em pó dos cristais de solvato e o solvato desolvatado, respectivamente. Os cristais desolvatados foram obtidos permitindo que os cristais de solvato equilibrassem em temperatura ambiente, seguido por secagem adicional a 30 graus Celsius sob vácuo (aproximadamente 3 polegadas de mercúrio).

[0312]Exemplo 24

[0313]Cristais de solvato de acetato de etila de ABT-578 foram preparados através de dissolução de 103 mg de ABT-578 amorfo em 200 uL de acetato de etila em temperatura ambiente e armazenamento a -12 graus Celsius durante 30 horas antes de cultivados com uma quantidade vestigial de cristais de solvato de tolueno. Sólidos cristalinos se formaram após cultura através de incubação adicional a -12 graus Celsius. As Figuras 14A e 14B mostram os padrões de difração de raio x em pó dos cristais de solvato e o solvato desolvatado correspondente, respectivamente. Os cristais desolvatados foram obtidos permitindo que os cristais de solvato equilibrassem em temperatura ambiente, seguido por secagem adicional a 30 graus Celsius sob

vácuo (aproximadamente 3 polegadas de mercúrio).

[0314]Exemplo 25

[0315]Cristais de solvato de metil isopropil cetona de ABT-578 foram preparados através de dissolução de 96 mg de ABT-578 amorfo em 200 uL de metil isopropil cetona em temperatura ambiente e armazenamento a -12 graus Celsius durante 30 horas antes de cultivados com uma quantidade vestigial de cristais de solvato de tolueno. Sólidos cristalinos se formaram após cultura através de incubação adicional a -12 graus Celsius. As Figuras 15A e 15B mostram o padrão de difração de raio x em pó dos cristais de solvato e o solvato desolvatado correspondente, respectivamente. Os cristais desolvatados foram obtidos permitindo que os cristais de solvato equilibrassem em temperatura ambiente, seguido por secagem adicional a 30 graus Celsius sob vácuo (aproximadamente 3 polegadas de mercúrio).

[0316]Exemplo 26

[0317]Cristais de solvato de nitrometano de ABT-578 foram preparados através de dissolução de 100 mg de ABT-578 amorfo em 200 uL de nitrometano em temperatura ambiente e armazenamento a -12 graus Celsius durante 30 horas antes de cultivados com uma quantidade vestigial de cristais de solvato de tolueno. Sólidos cristalinos se formaram após cultura através de incubação adicional a -12 graus Celsius. Solvato de nitrometano de ABT-578 desolvataram facilmente em temperatura ambiente e apareceram como uma fase semi-cristalina na análise do padrão de difração de raio x em pó (Figura 16).

[0318]Exemplo 27

[0319]Cristais de solvato de propionitrilo de ABT-578 foram preparados através de dissolução de 108 mg de ABT-578 amorfo em 200 uL de propionitrilo a 45 graus Celsius e armazenamento a -12 graus Celsius durante 30 horas antes de cultivados com uma quantidade vestigial de cristais de solvato de tolueno. Sólidos cristalinos se formaram após cultura através de incubação adicional a -12 graus Celsius. A

Figura 18A mostra os padrões de difração de raio x em pó dos cristais de solvato e desolvatação dos cristais proporcionou uma fase semi-cristalina. Os cristais desolvatados foram obtidos permitindo que os cristais de solvato equilibrassem em temperatura ambiente, seguido por secagem adicional a 30 graus Celsius sob vácuo (aproximadamente 3 polegadas de mercúrio). A Figura 18B mostra os padrões de difração de raio x em pó do solvato desolvatado.

[0320]Exemplo 28

[0321]Cristais de solvato de metil etil cetona de ABT-578 foram preparados através de dissolução de 94 mg de ABT-578 amorfo em 200 uL de metil etil cetona em temperatura ambiente e armazenamento a -12 graus Celsius durante 30 horas antes de cultivados com uma quantidade vestigial de cristais de solvato de tolueno. Sólidos cristalinos se formaram após cultura através de incubação adicional a -12 graus Celsius. A Figura 19A mostra o padrão de difração de raio x em pó dos cristais de solvato e desolvatação dos cristais proporcionou uma fase semi-cristalina. Os cristais desolvatados foram obtidos permitindo que os cristais de solvato equilibrassem em temperatura ambiente, seguido por secagem adicional a 30 graus Celsius sob vácuo (aproximadamente 3 polegadas de mercúrio). A Figura 19B mostra os padrões de difração de raio x em pó do solvato desolvatado.

[0322]Exemplo 29

[0323]Cristais de solvato de tetraidrofurano de ABT-578 foram preparados através de dissolução de 107 mg de ABT-578 amorfo em 200 uL de tetraidrofurano em temperatura ambiente e armazenamento a -12 graus Celsius durante 30 horas antes de cultivados com uma quantidade vestigial de cristais de solvato de tolueno. Sólidos cristalinos se formaram após cultura através de incubação adicional a -12 graus Celsius. A Figura 20A mostra o padrão de difração de raio x em pó dos cristais e desolvatação dos cristais proporcionou uma fase semi-cristalina. Os cristais desolvatados foram obtidos permitindo que os cristais de solvato equilibrassem em

temperatura ambiente, seguido por secagem adicional a 30 graus Celsius sob vácuo (aproximadamente 3 polegadas de mercúrio). A Figura 20B mostra os padrões de difração de pó por raios do solvato desolvatado.

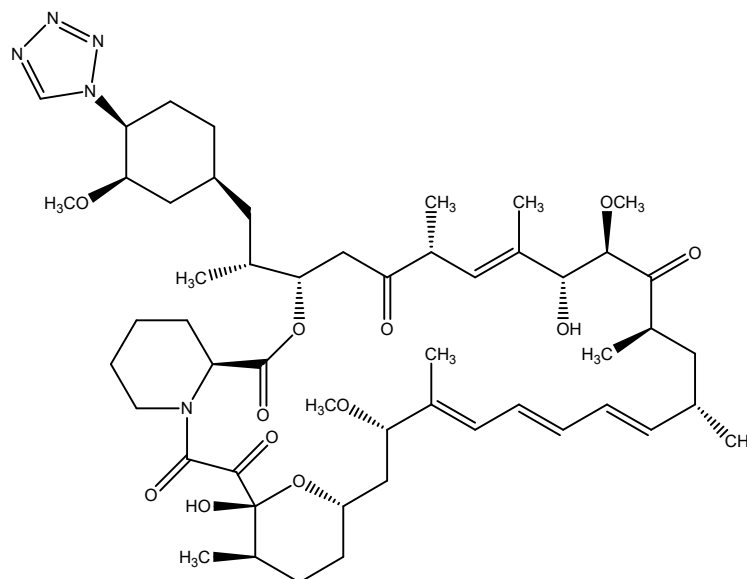
[0324]Exemplo 30

[0325]Cristais de solvato de 1,2-dimetóxietano de ABT-578 foram preparados através de dissolução de 110 mg de ABT-578 amorfo em 200 uL de 1,2-dimetóxietano em temperatura ambiente e armazenamento a -12 graus Celsius durante 30 horas antes de cultivados com uma quantidade vestigial de cristais de solvato de tolueno. Sólidos cristalinos se formaram após cultura através de incubação adicional a -12 graus Celsius. A Figura 21A mostra o padrão de difração de raio x em pó dos cristais de solvato e desolvatação dos cristais proporcionou uma fase semi-cristalina. Os cristais desolvatados foram obtidos permitindo que os cristais de solvato equilibrassem em temperatura ambiente, seguido por secagem adicional a 30 graus Celsius sob vácuo (aproximadamente 3 polegadas de mercúrio). A Figura 21B mostra os padrões de difração de raio x em pó do solvato desolvatado.

[0326]Embora a invenção tenha sido descrita, divulgada e ilustrada e mostrada em vários termos de determinadas modalidades ou modificações as quais ela tem assumido na prática, o escopo da invenção não se destina a ser, nem deve ser considerado como estando limitado pelas mesmas e essas outras modificações e modalidades, conforme possa ser sugerido pelos ensinamentos aqui, são particularmente reservadas, especialmente uma vez que elas caem dentro do espírito e escopo das reivindicações aqui em anexo. Adicionalmente, todas as publicações citadas aqui são aqui incorporadas por referência.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição de análogo de rapamicina **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende uma forma cristalina de um análogo de rapamicina de Fórmula 2, que é um solvato do composto ou um dessolvato deste;



FÓRMULA 2

em que o solvato compreende um solvente selecionado do grupo que consiste em acetona, acetato de isobutila, formato de etila, tolueno, N,N dimetil formamida, anisol e qualquer combinação destes; e

em que o dessolvato é um dessolvato de acetonitrila.

2. Composição de análogo de rapamicina, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADA** pelo fato de que compreende:

um veículo farmacologicamente aceitável; e

uma quantidade terapeuticamente eficaz da forma cristalina de um análogo de rapamicina.

3. Composição de análogo de rapamicina, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADA** pelo fato de que a forma cristalina de um análogo de rapamicina é o solvato, em que o solvato é um solvato de acetona; e em que o solvato é definido pelos parâmetros de cristalografia de raios-X de cristal único:

Parâmetro	Propriedades do solvato
Sistema de cristal	Orto-rômbico
Grupo espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
<i>a</i> , Å	12,245
<i>b</i> , Å	17,401
<i>c</i> , Å	33,356
Volume, (Å ³)	7107
ρ_{calc} (g/cm ⁻³)	1,120

4. Composição de análogo de rapamicina, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADA** pelo fato de que a forma cristalina de um análogo de rapamicina é o solvato;

em que o solvato é selecionado a partir do grupo que consiste em acetato de isobutila;

em que o solvato tem um padrão de difração de raios X em pó com um pico em cerca de 5,0, 7,0, 9,1, 10,1, 15,4 e 16,0; e

em que o solvato tem uma etapa de análise termogravimétrica de cerca de - 9,1%.

5. Composição de análogo de rapamicina, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADA** pelo fato de que a forma cristalina de um análogo de rapamicina é o solvato;

em que o solvato é um solvato de formato de etila;

em que o solvato tem um padrão de difração de raios-X em pó com um pico em cerca de 5,3, 5,5, 10,6, 15,9, 16,5 e 19,2; e

em que o solvato tem uma etapa de análise termogravimétrica de cerca de - 5,4%.

6. Composição de análogo de rapamicina, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADA** pelo fato de que a forma cristalina de um análogo de rapamicina é o solvato;

em que o solvato é um solvato de tolueno; e

em que o solvato é definido pelos parâmetros de cristalografia de raios-X de cristal único:

Parâmetro	Propriedades do solvato
Sistema de cristal	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁
<i>a</i> , Å	17,649(5)
<i>b</i> , Å	12,299(3)
<i>c</i> , Å	17,785(4)
β °	113,518(4)
Volume, (Å ³)	3539,83
Z	2
ρ_{calc} (g/cm ⁻³)	1,138

7. Composição de análogo de rapamicina, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADA** pelo fato de que a forma cristalina de um análogo de rapamicina é o solvato; e em que o solvato é selecionado a partir do grupo que consiste em N,N dimetil formamida e anisol;

em que o solvato de N,N dimetil formamida tem um padrão de difração de raios-X em pó com um pico em cerca de 5,1, 7,2, 9,0, 9,2, 10,3, 11,5, 15,7 e 16,3;

em que o solvato de N,N dimetil formamida tem uma etapa de análise termo-gravimétrica de cerca de -7,7%;

em que o solvato de N,N dimetil formamida tem um padrão de difração de raios-X em pó com um pico em cerca de 6,1, 8,9, 9,4, 10,0, 10,2 e 12,2; e

em que o solvato de N,N dimetil formamida tem uma etapa de análise termo-gravimétrica de cerca de -2,4%.

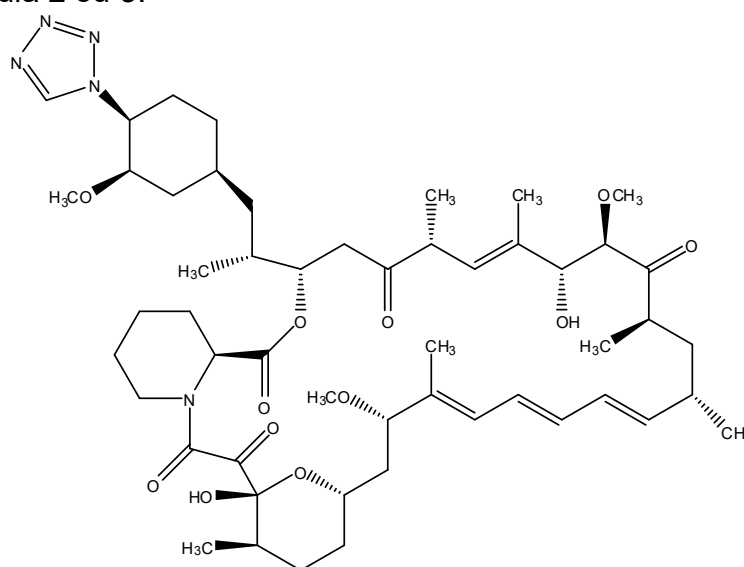
8. Composição de análogo de rapamicina, de acordo com a reivindicação 2, **CARACTERIZADA** pelo fato de que a forma cristalina de um análogo de rapamicina é o dessolvato;

em que o dessolvato é um dessolvato de acetonitrila;

em que o dessolvato tem um padrão de difração de raios-X em pó com um pico em cerca de 3,9, 8,7, 9,5, 13,8, 15,7 e 16,9; e

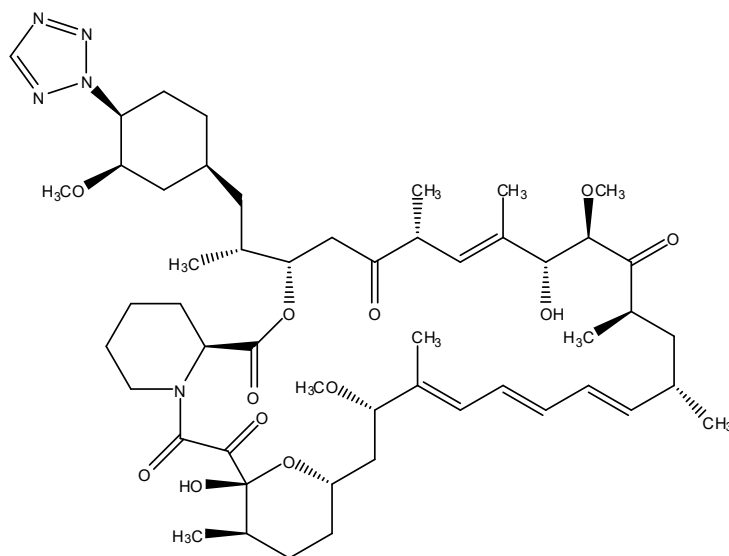
em que o dessolvato tem uma etapa de análise termogravimétrica de cerca de -1,1%.

9. Processo para preparação de uma forma cristalina de um análogo de rapamicina de Fórmula 2 ou 3:



FÓRMULA 2

ou



FÓRMULA 3

,

o processo **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende:

combinar o análogo de rapamicina com pelo menos um meio orgânico para formar uma mistura; em que o referido meio orgânico compreende pelo menos um solvente orgânico; em que o referido pelo menos um solvente orgânico é selecionado a partir de acetona, acetato de etila, metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, isobutanol, terc-butanol, 2-butanol, acetonitrila, tetraidrofurano, acetato de isobutila, acetato de n-butila, formato de etila, acetato de n-propila, acetato de isopropila, metiletil cetona, tolueno, N,N dimetil formamida, anisol, metil isopropil cetona, nitrometano, propionitrila, 2-butanona, 1,2-dimetoxietano ou qualquer combinação destes;

fazer com que o análogo de rapamicina dissolva no solvente orgânico;

incubar o solvente até que o análogo de rapamicina cristalize; e

recuperar o análogo de rapamicina cristalino do meio orgânico.

10. Processo, de acordo com a reivindicação 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que ainda compreende:

combinar pelo menos um antisolvente com o análogo de rapamicina e o solvente para formar uma mistura bifásica; em que o antisolvente compreende pelo menos um dentre ciclohexano, heptano, hexano, n-octano, iso-octano, metilciclohexano ou qualquer combinação dos mesmos; e

incubar a mistura bifásica para causar uma separação de fase líquido-líquido com a maior parte do análogo de rapamicina estando no solvente e a menor parte do análogo de rapamicina estando no antisolvente.

11. Processo, de acordo com a reivindicação 10, **CARACTERIZADO** pelo fato de que ainda compreende separar o solvente orgânico do antisolvente.

12. Processo, de acordo com a reivindicação 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o solvente orgânico é acetona.

13. Processo, de acordo com a reivindicação 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o solvente orgânico compreende pelo menos um dentre acetona, acetato de

isobutila, formato de etila, tolueno, N,N dimetil formamida, anisol ou qualquer combinação destes.

14. Processo, de acordo com a reivindicação 10, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o antisolvente é heptano.

15. Processo, de acordo com a reivindicação 9, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que a incubação é conduzida a uma temperatura de cerca de -10 °C a cerca de 10 °C.

16. Processo, de acordo com a reivindicação 9, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que ainda compreende formar uma pasta de análogo de rapamicina cristalino.

17. Processo, de acordo com a reivindicação 9, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que ainda compreende agitar a referida mistura até que o análogo de rapamicina cristalize.

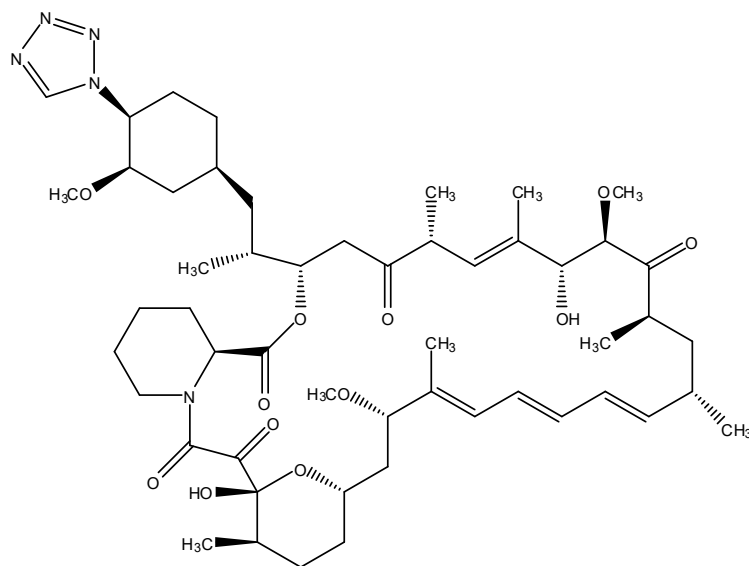
18. Processo, de acordo com a reivindicação 9, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que ainda compreende saturar a mistura.

19. Processo, de acordo com a reivindicação 9, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o análogo de rapamicina combinado com o meio orgânico é uma forma cristalina.

20. Processo, de acordo com a reivindicação 9, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que ainda compreende combinar a mistura com um segundo meio orgânico, e em que a mistura sendo incubada inclui o segundo meio orgânico.

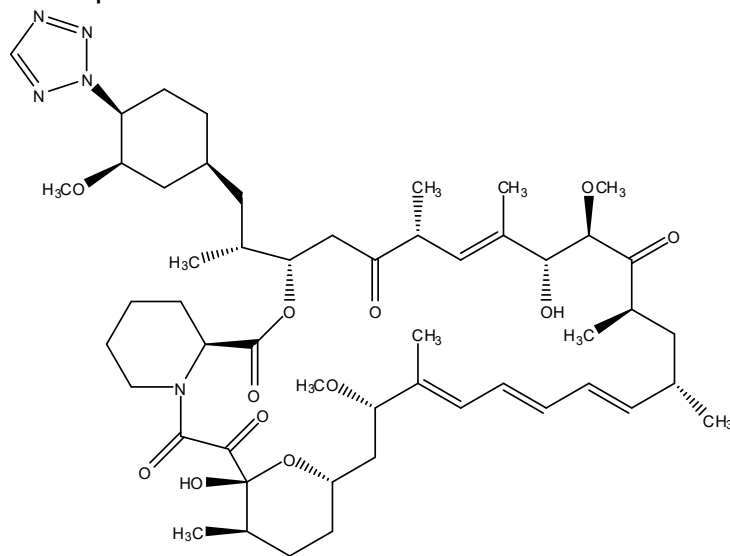
21. Processo, de acordo com a reivindicação 9, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o análogo de rapamicina combinado com o meio orgânico está em uma forma amorfa.

22. Processo, de acordo com a reivindicação 9, **CHARACTERIZADO** pelo fato de que o análogo de rapamicina tem uma estrutura de Fórmula 2:

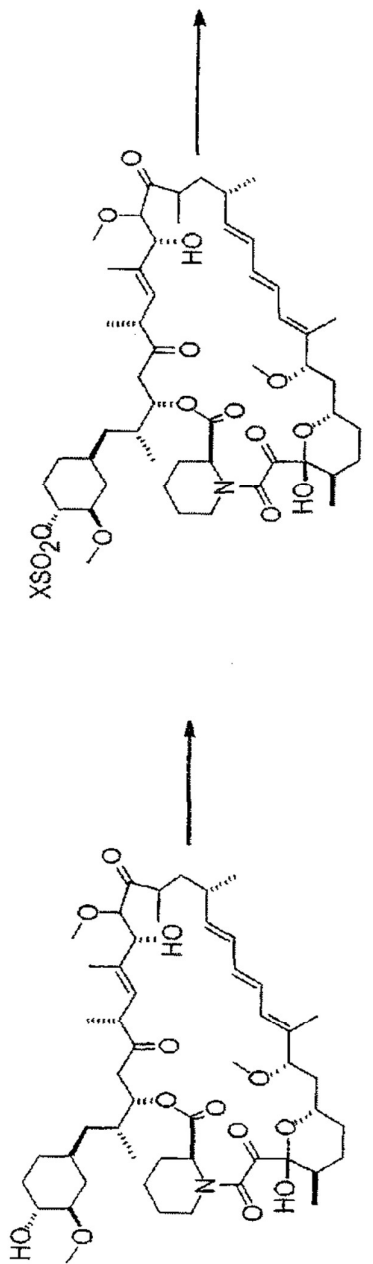


FÓRMULA 2

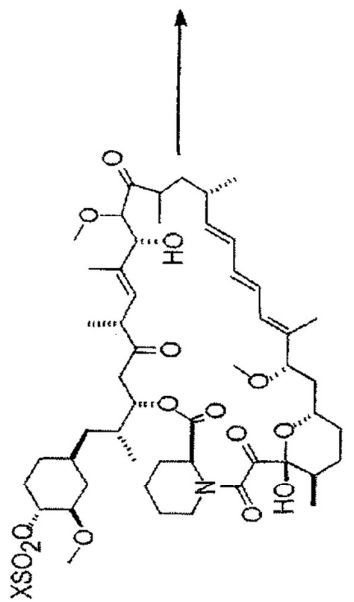
23. Processo, de acordo com a reivindicação 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o análogo de rapamicina tem uma estrutura de Fórmula 3:



FÓRMULA 3

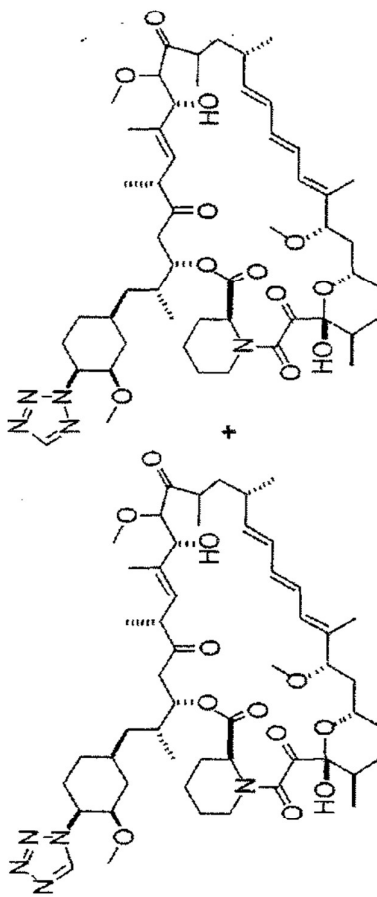


C-42 HIDROXIL RAPAMICINA



X = F, CF₃

ESTRUTURA A

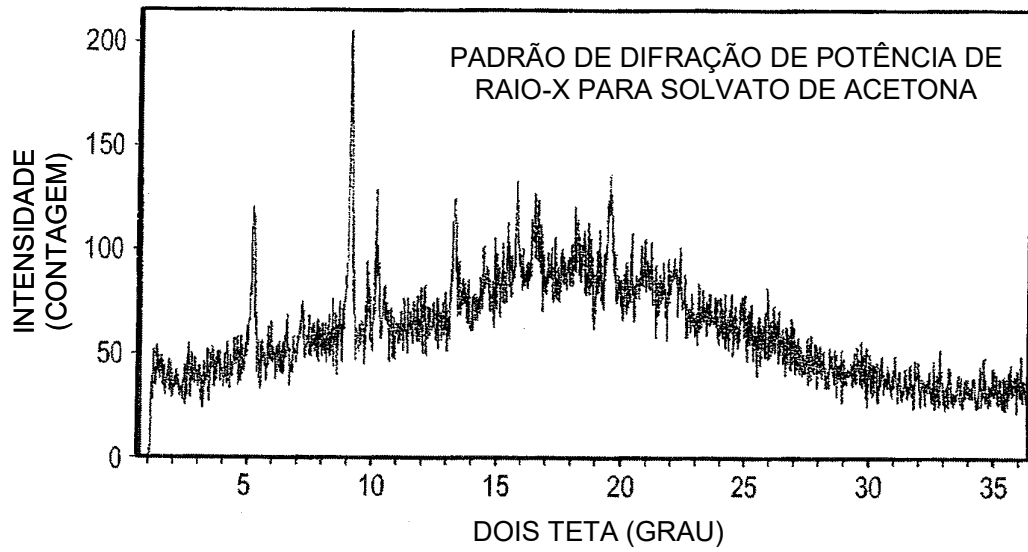
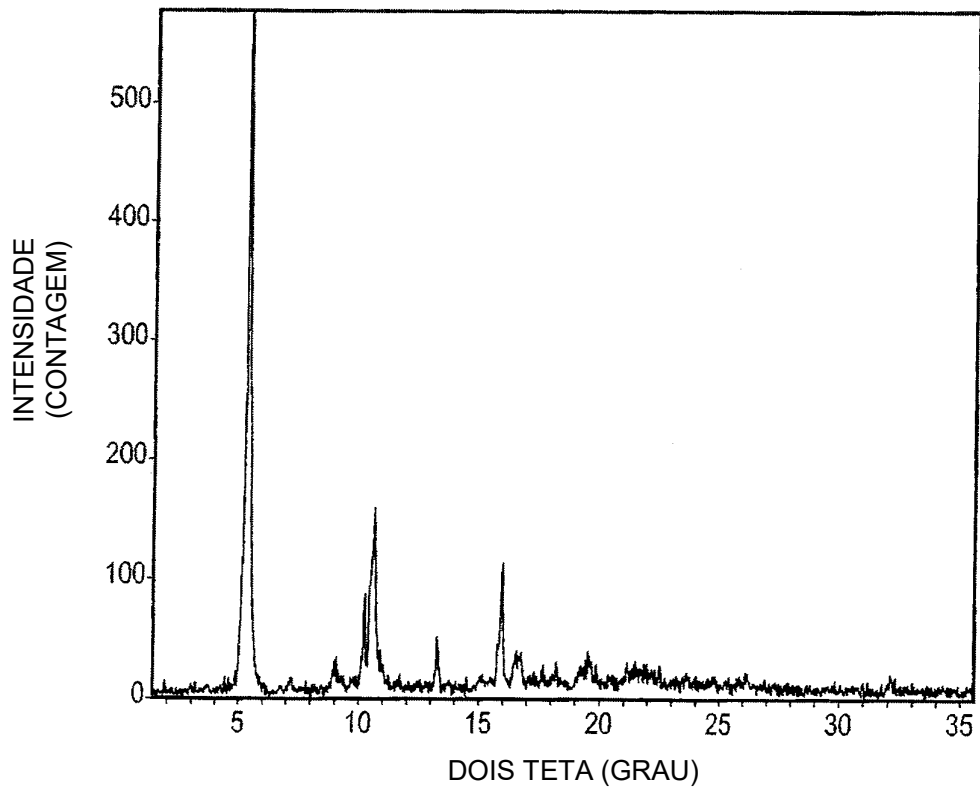


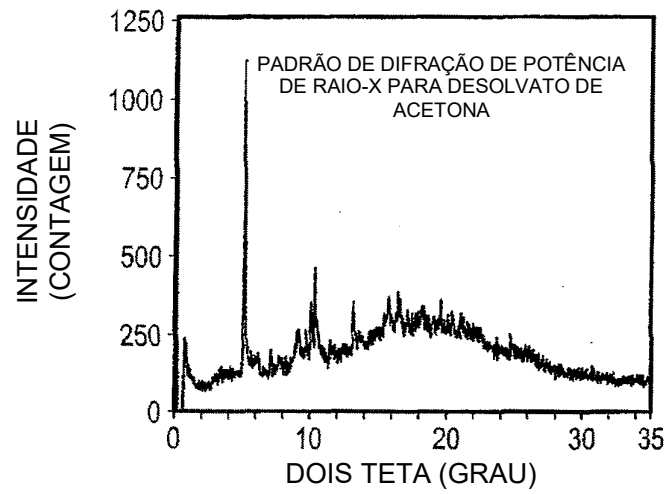
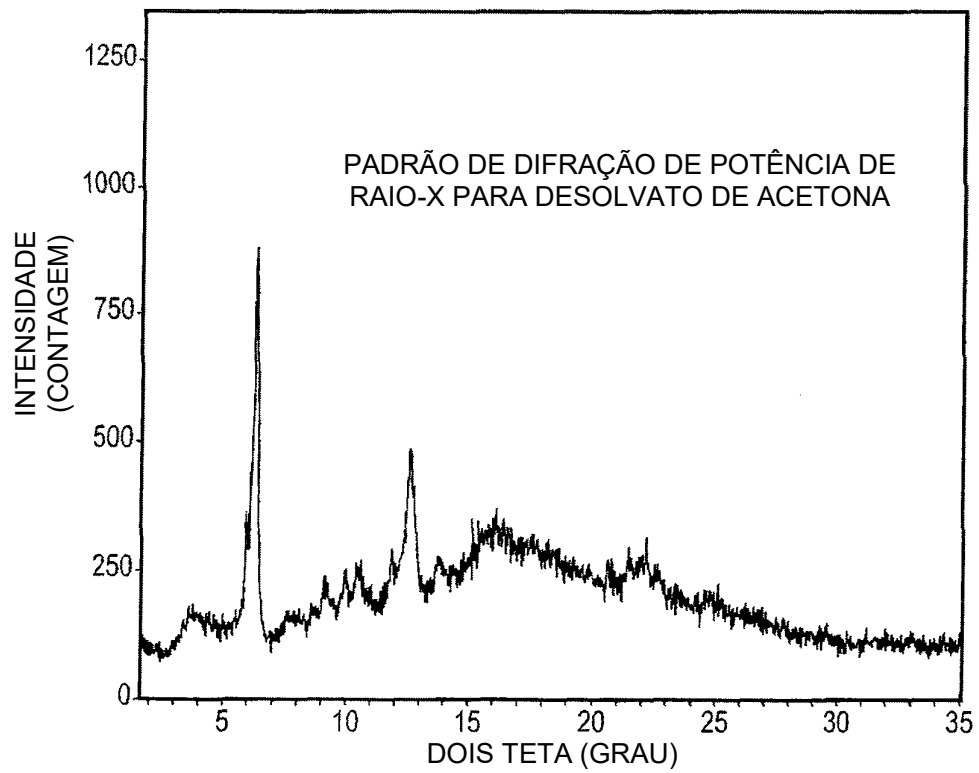
FÓRMULA 2

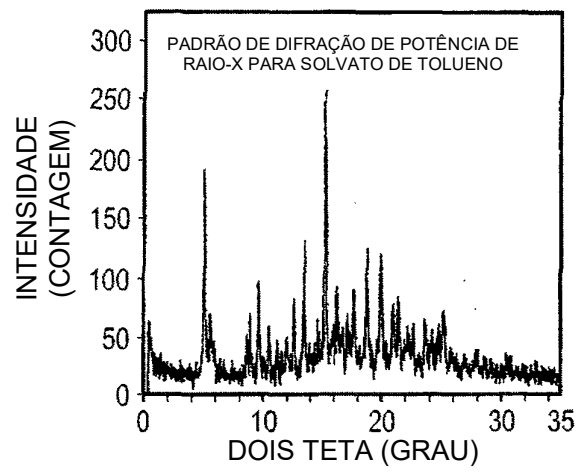
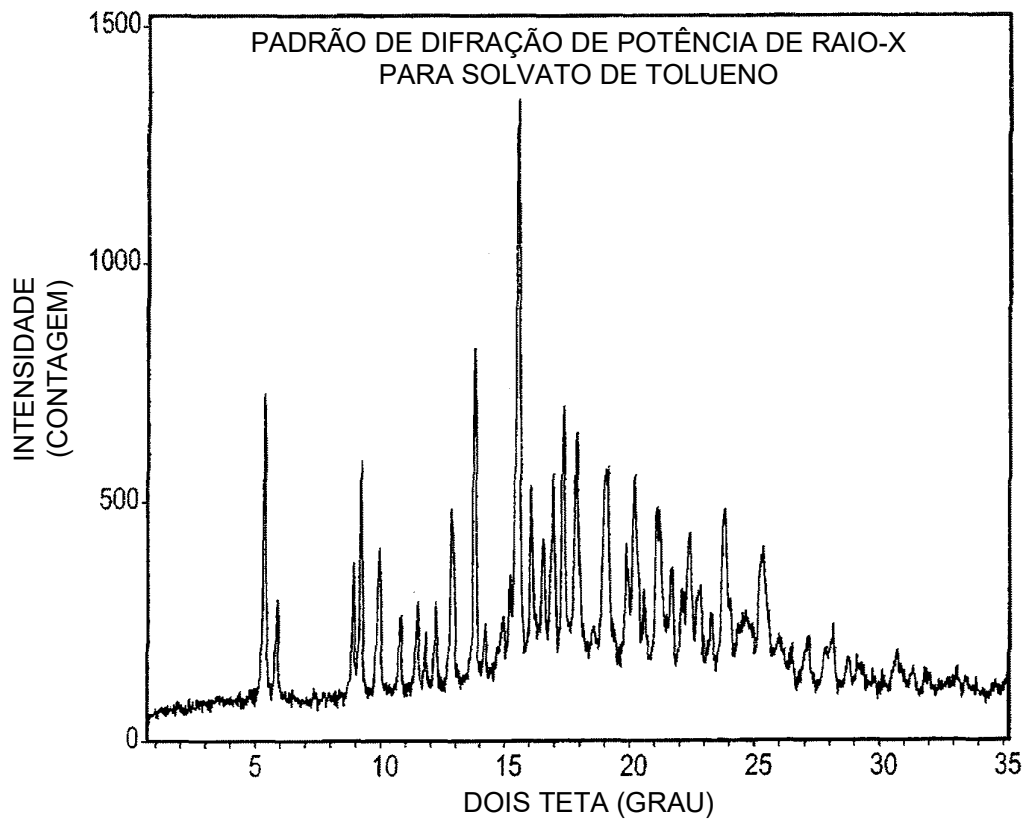
MISTURA ISOMÉTRICA

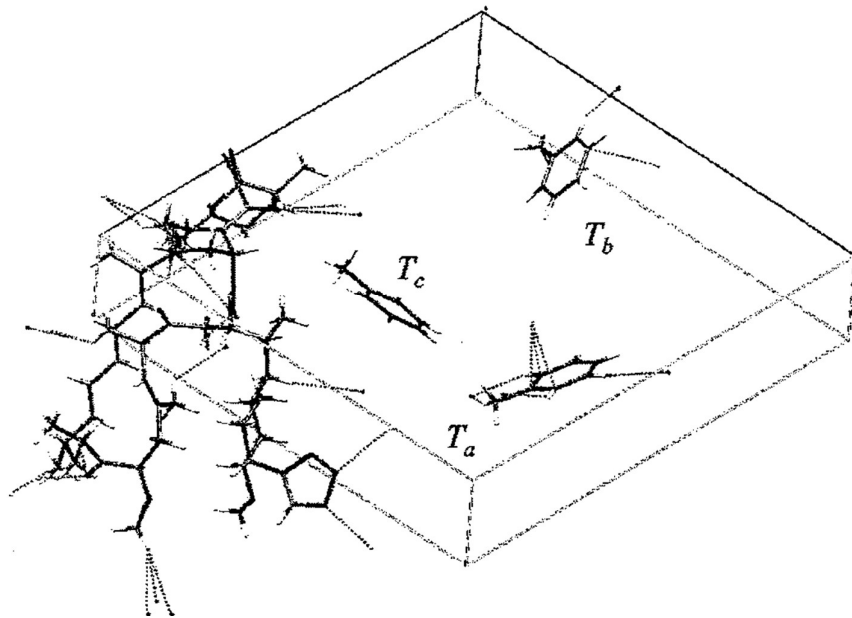
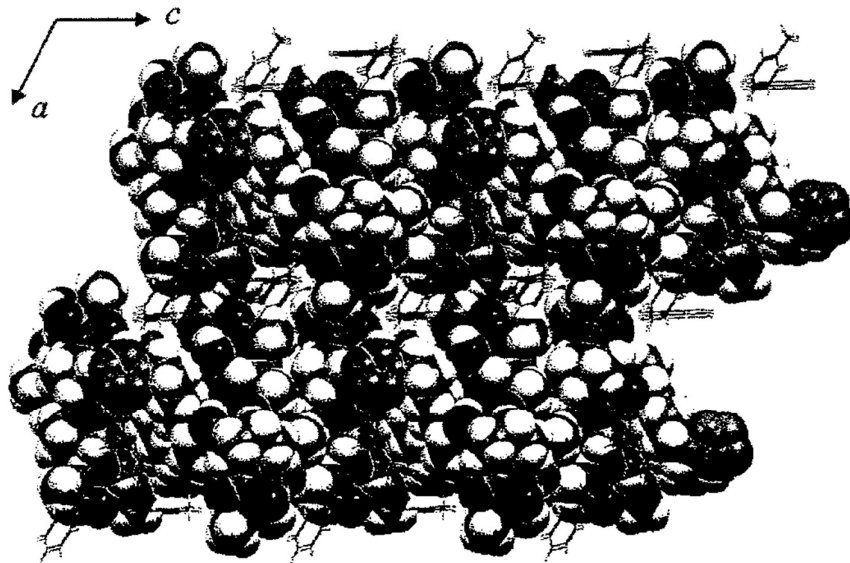
FÓRMULA 3

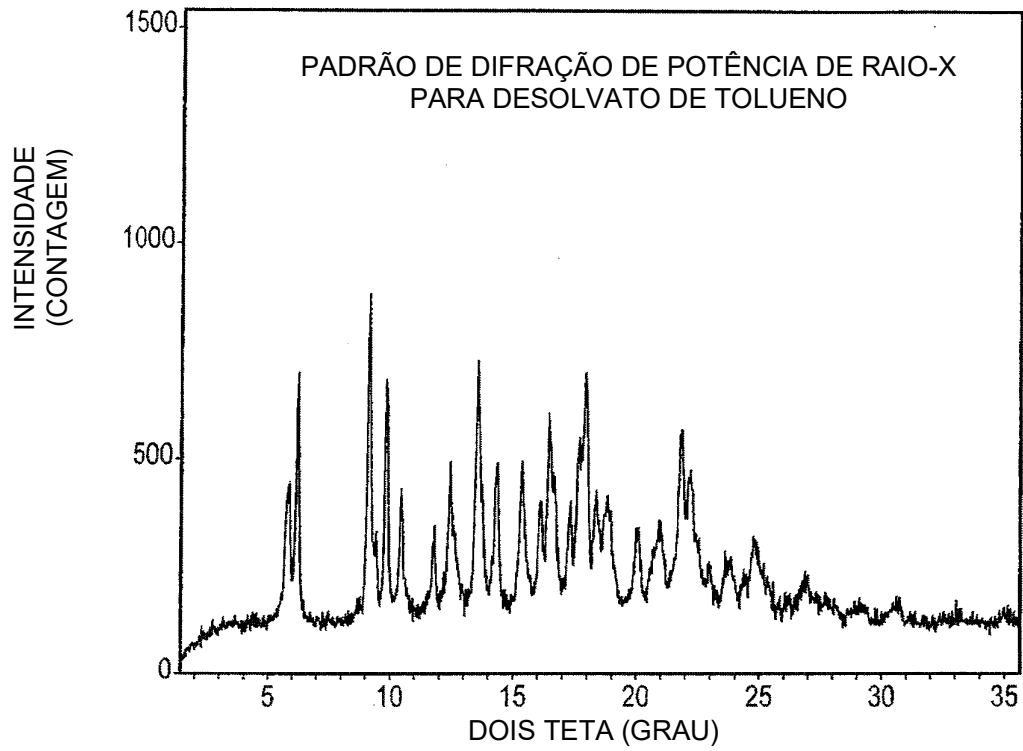
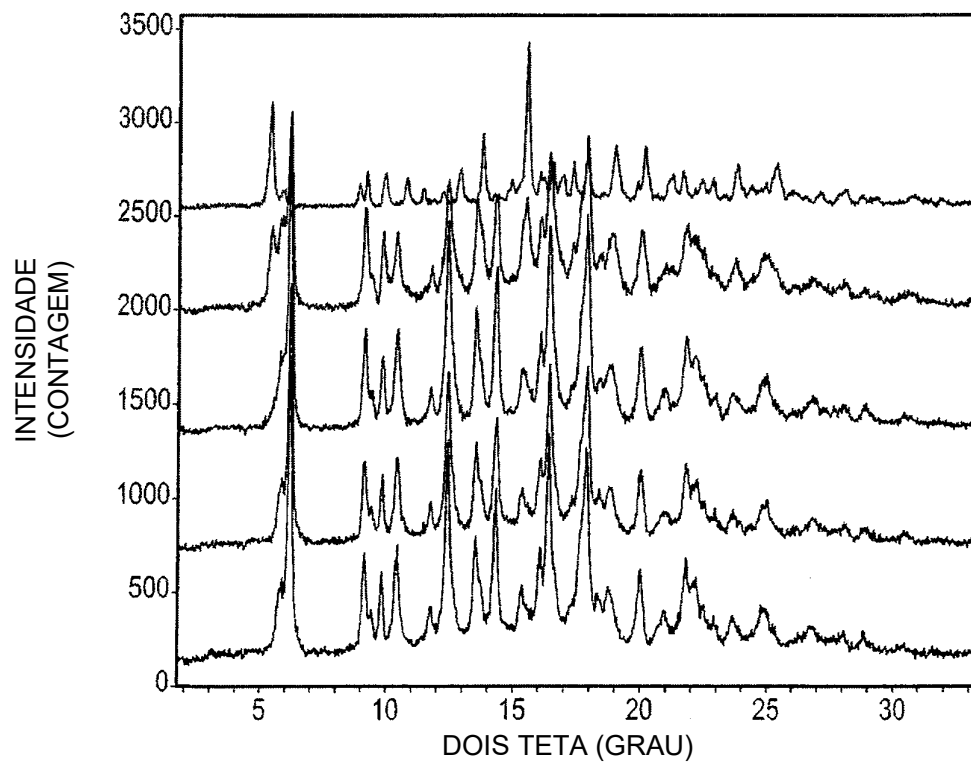
FIGURA 1

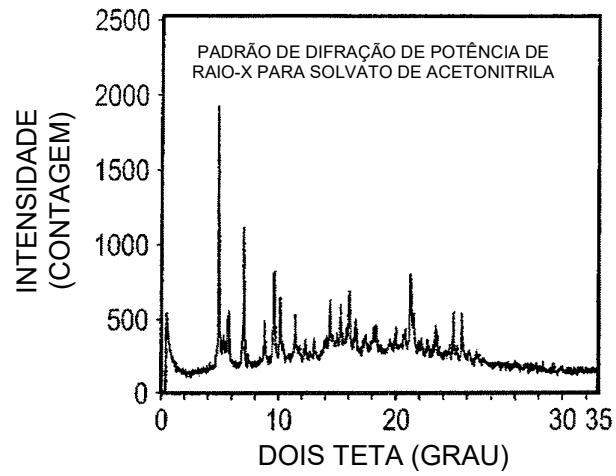
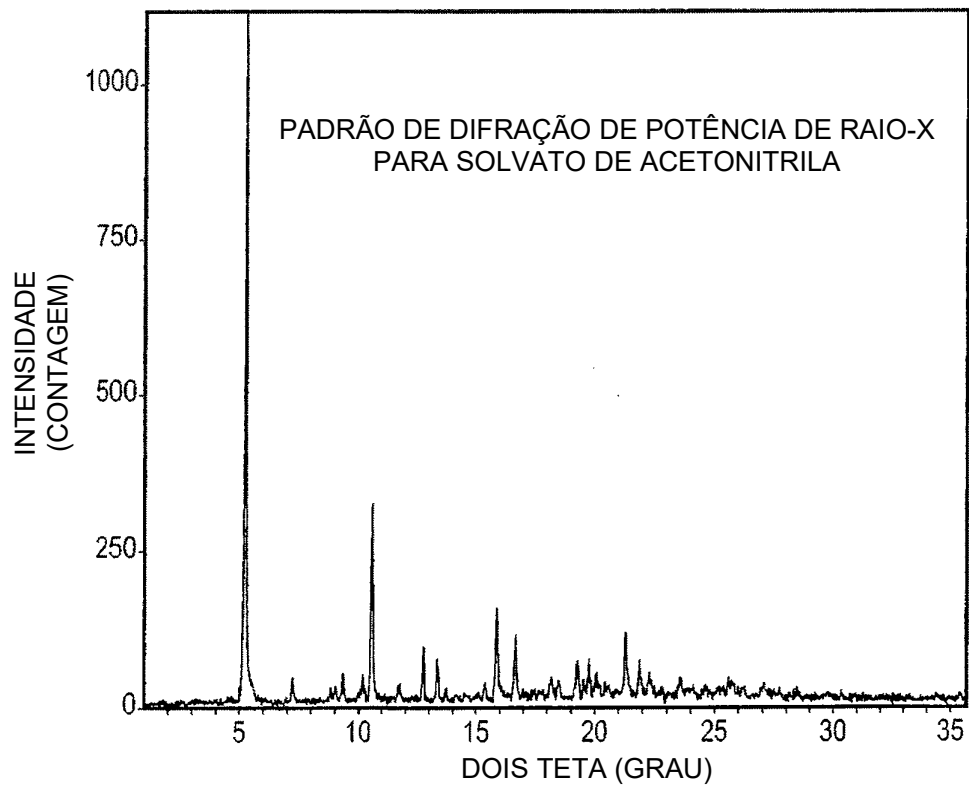
**FIGURA 2A****FIGURA 2B**

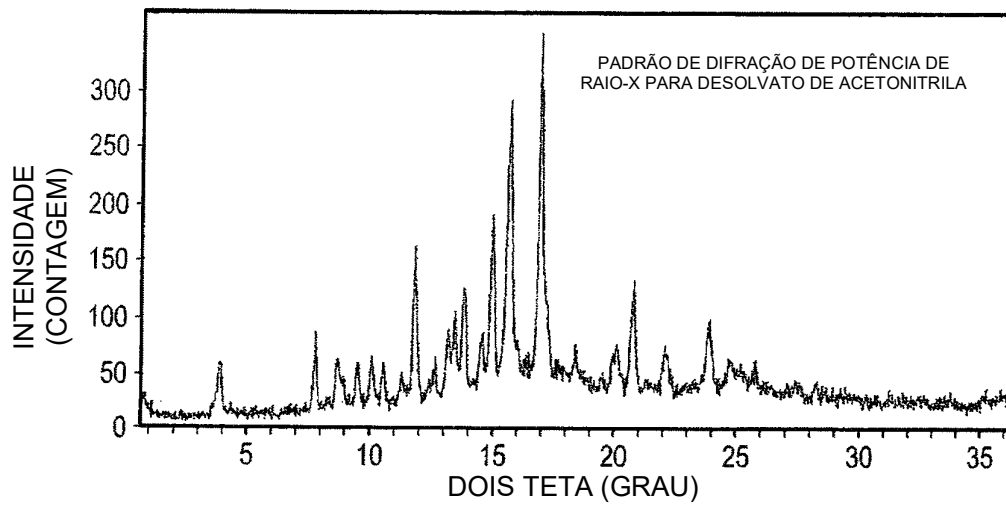
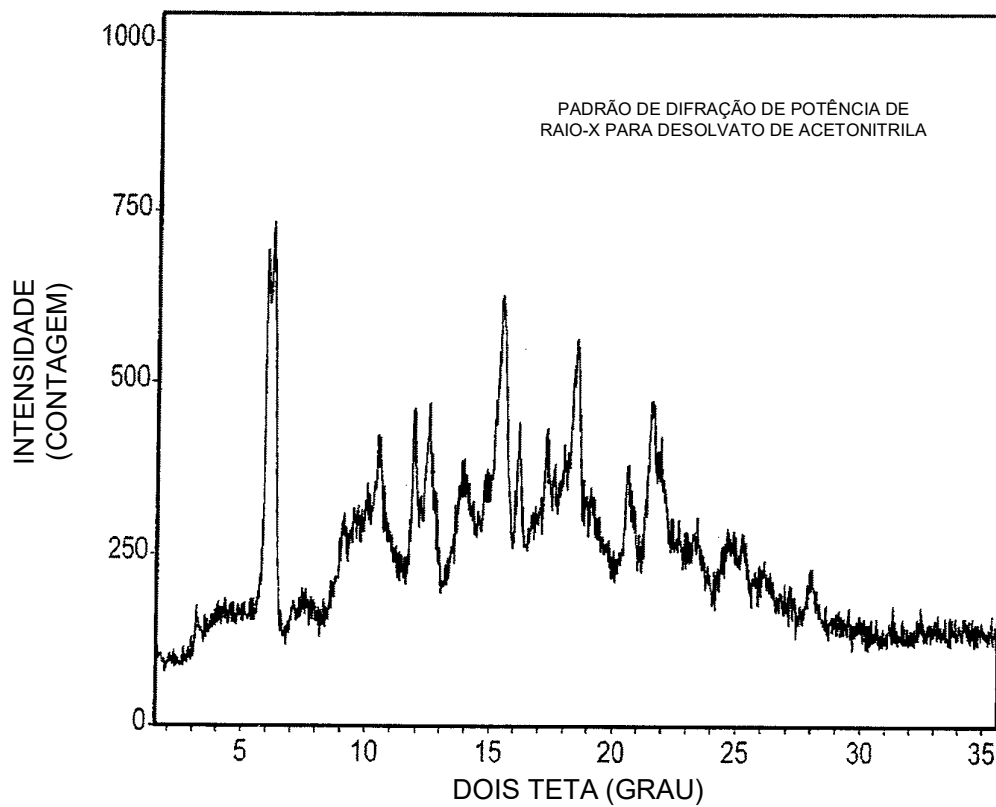
**FIGURA 3A****FIGURA 3B**

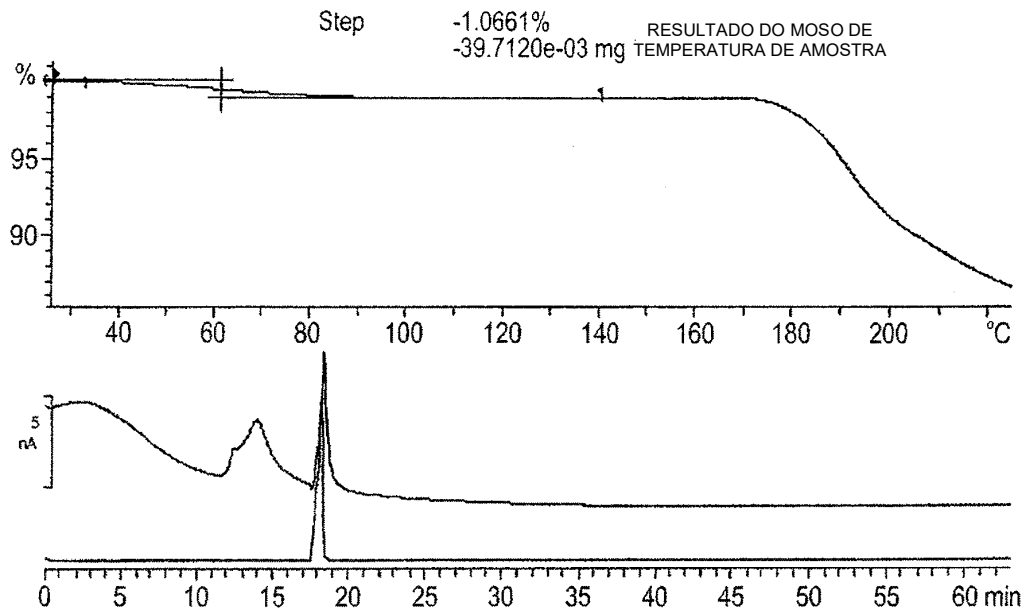
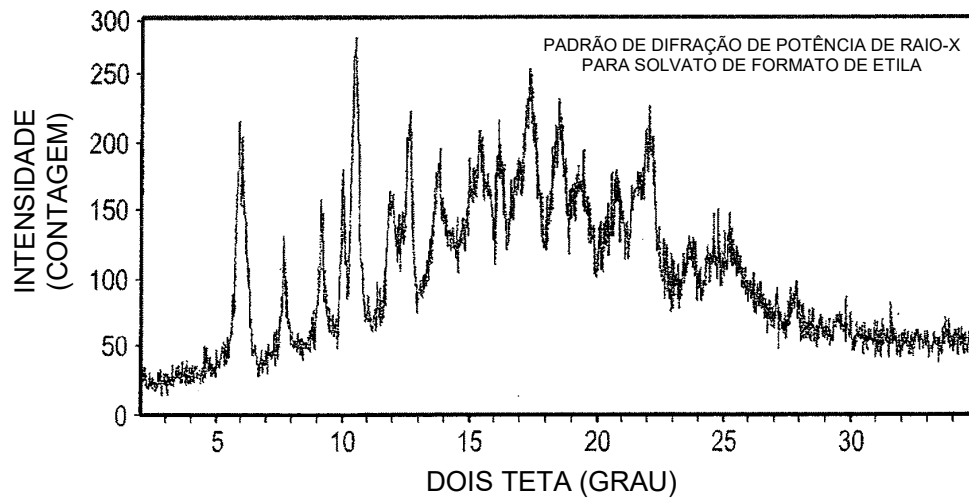
**FIGURA 4A****FIGURA 4B**

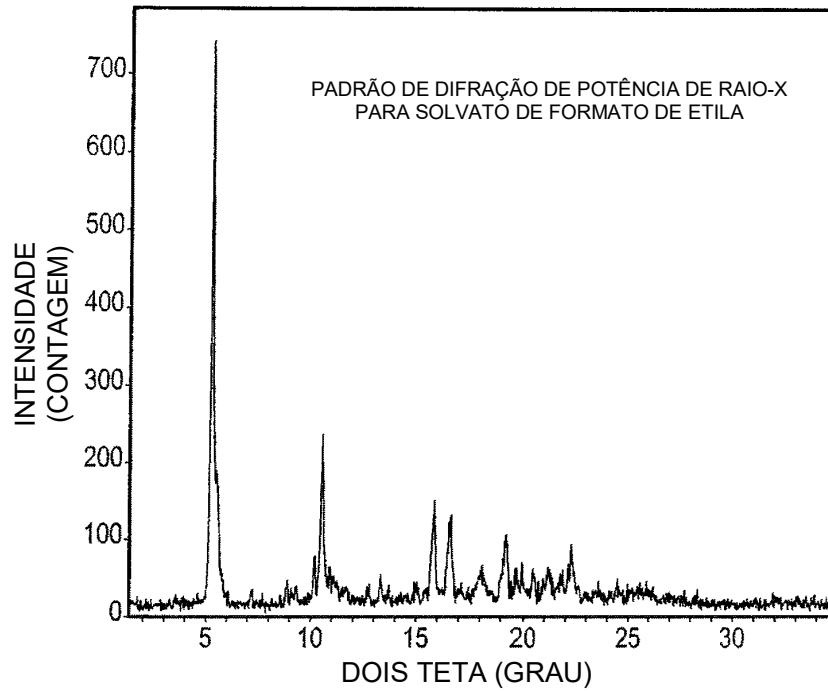
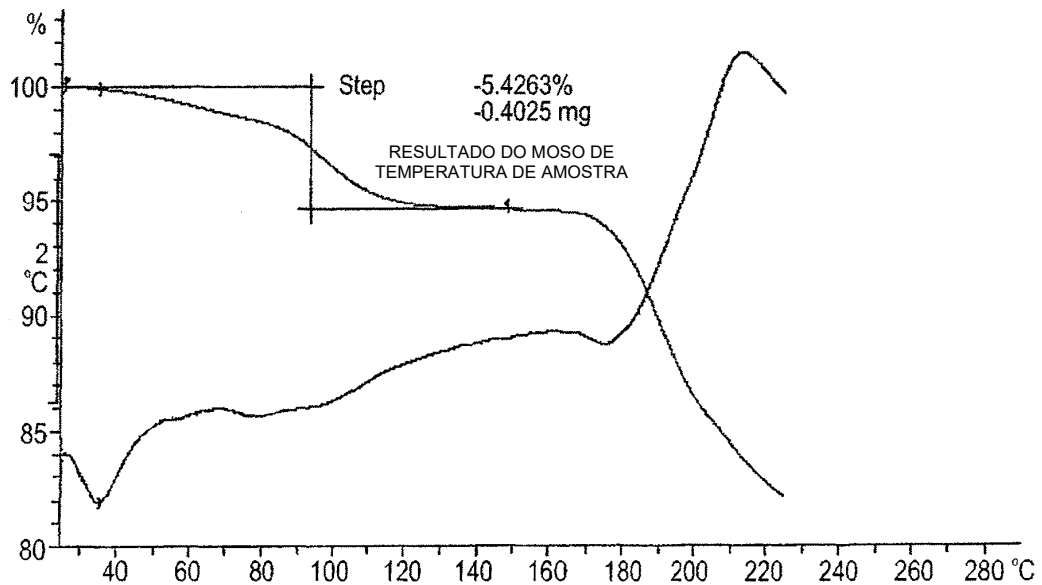
**FIGURA 4C****FIGURA 4D**

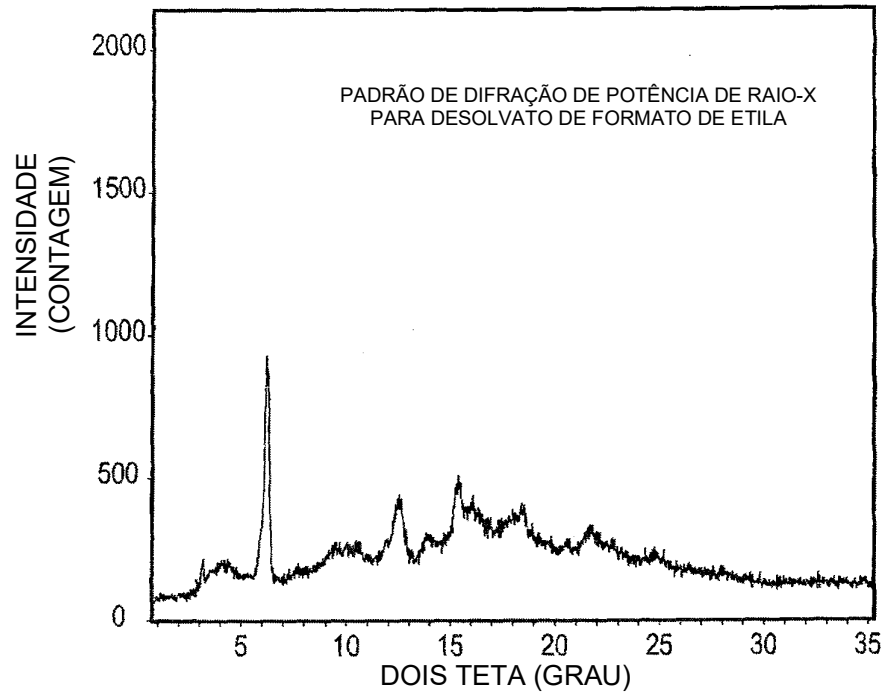
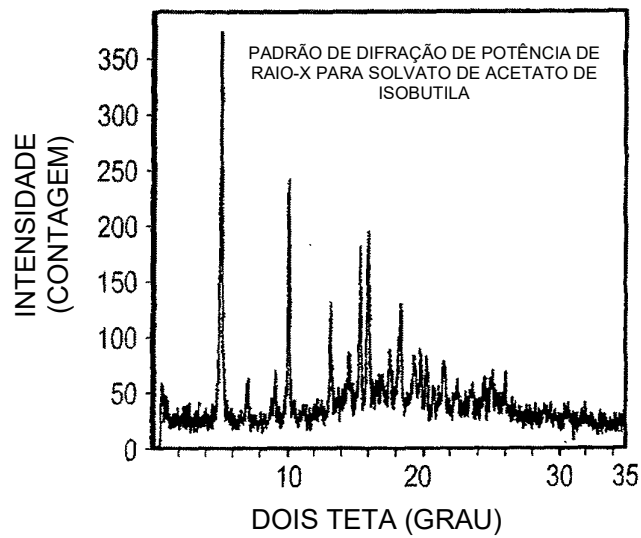
**FIGURA 4E****FIGURA 4F**

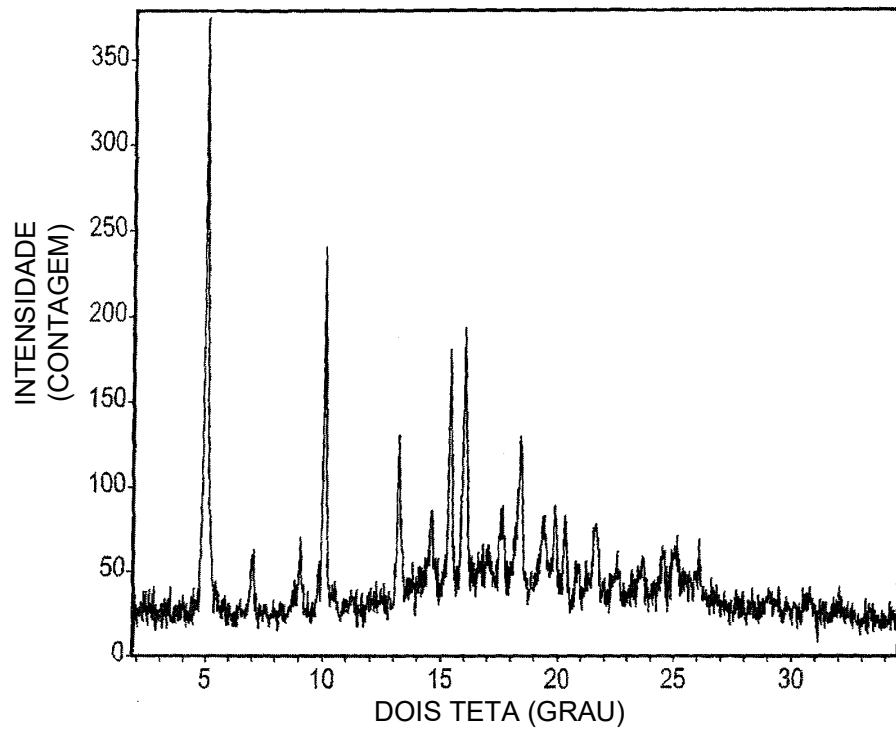
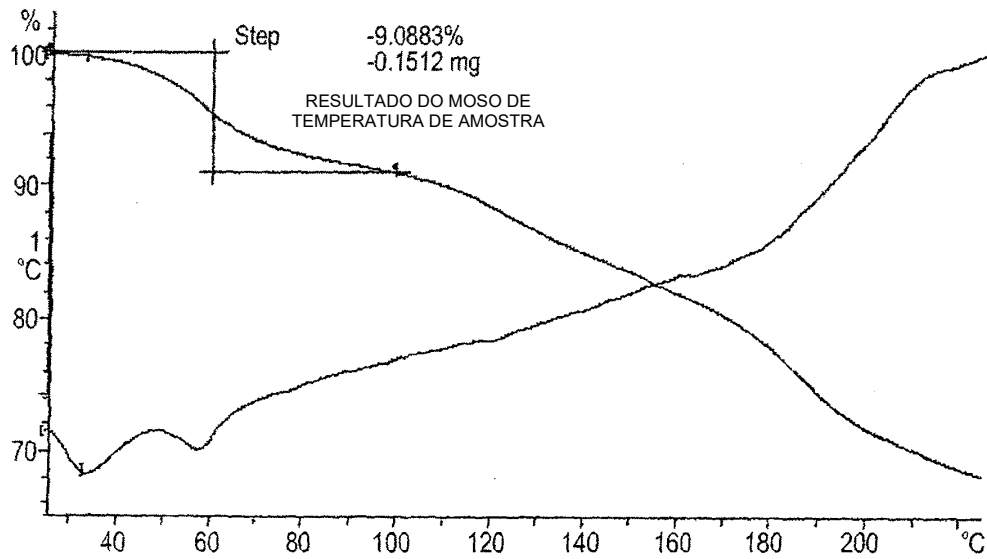
**FIGURA 5A****FIGURA 5B**

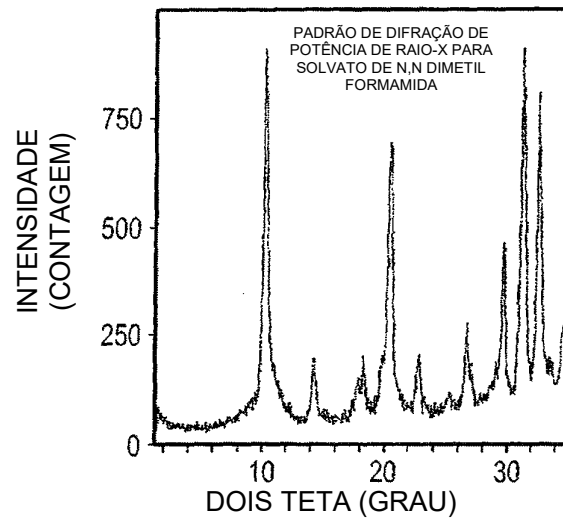
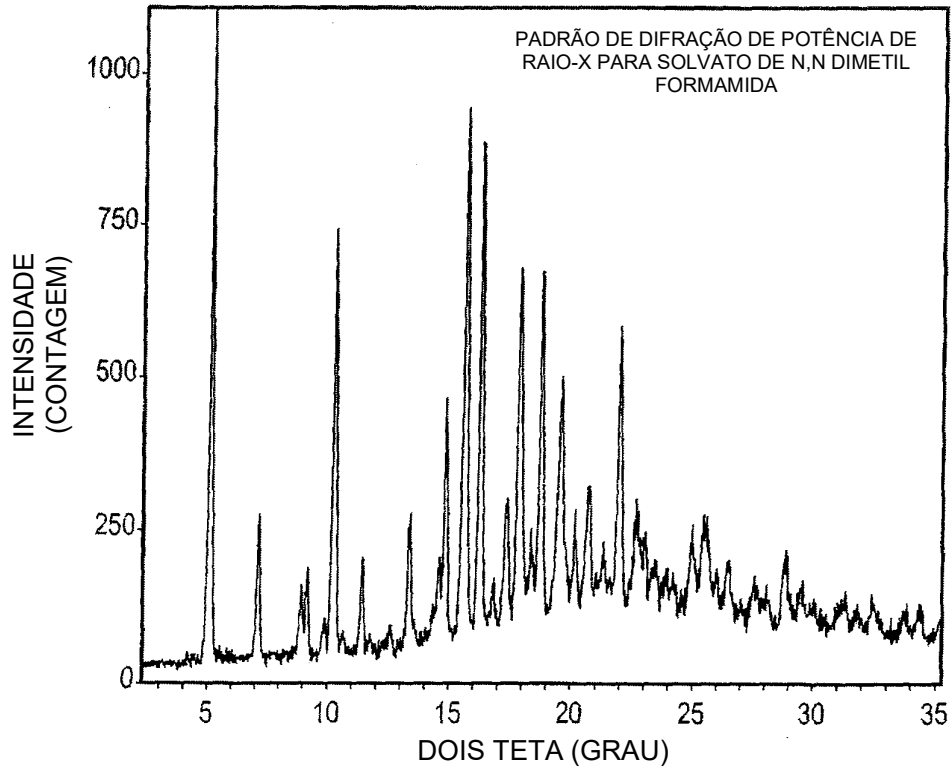
**FIGURA 6A****FIGURA 6B**

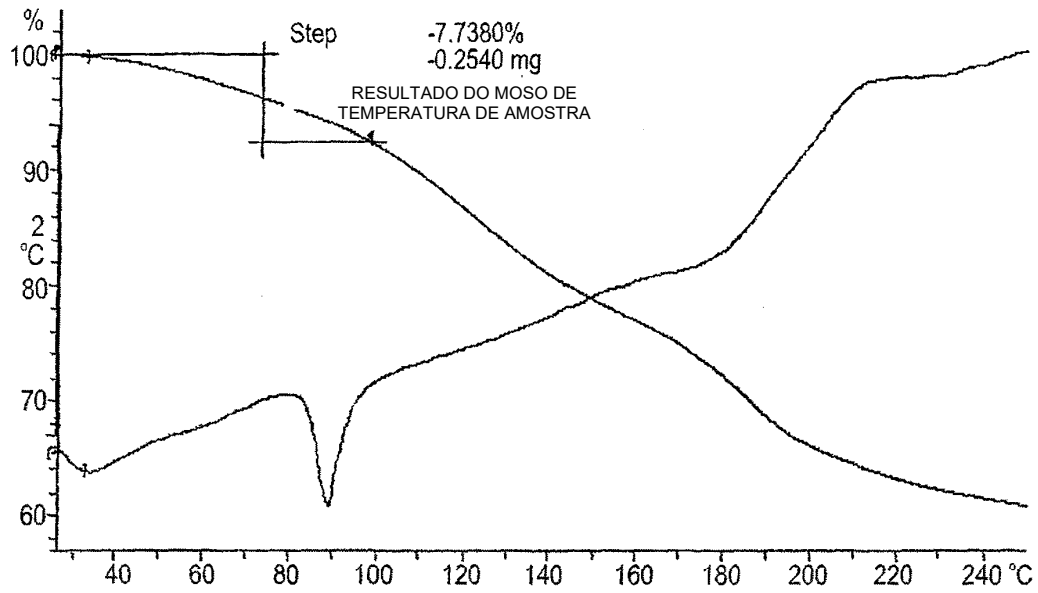
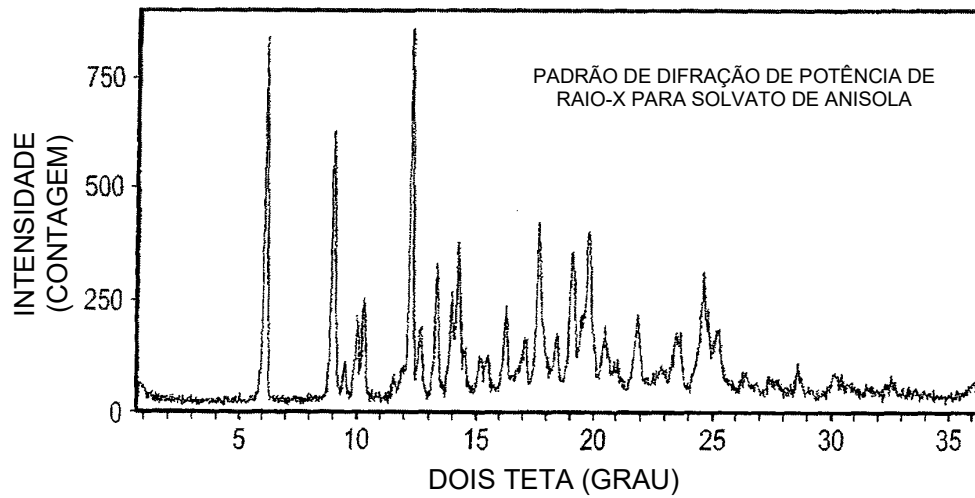
**FIGURA 6C****FIGURA 7A**

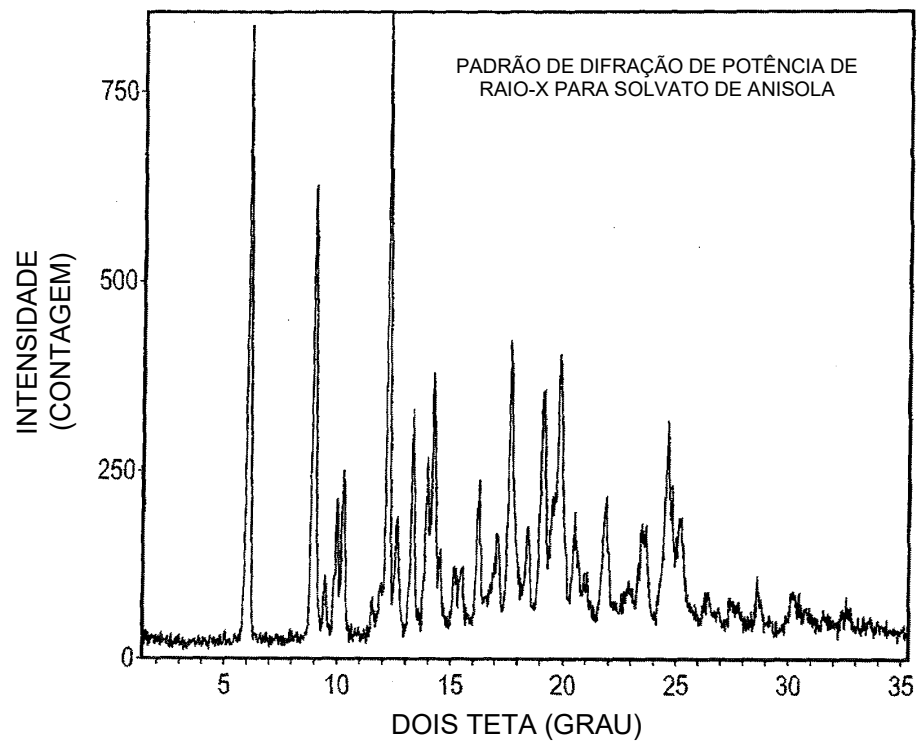
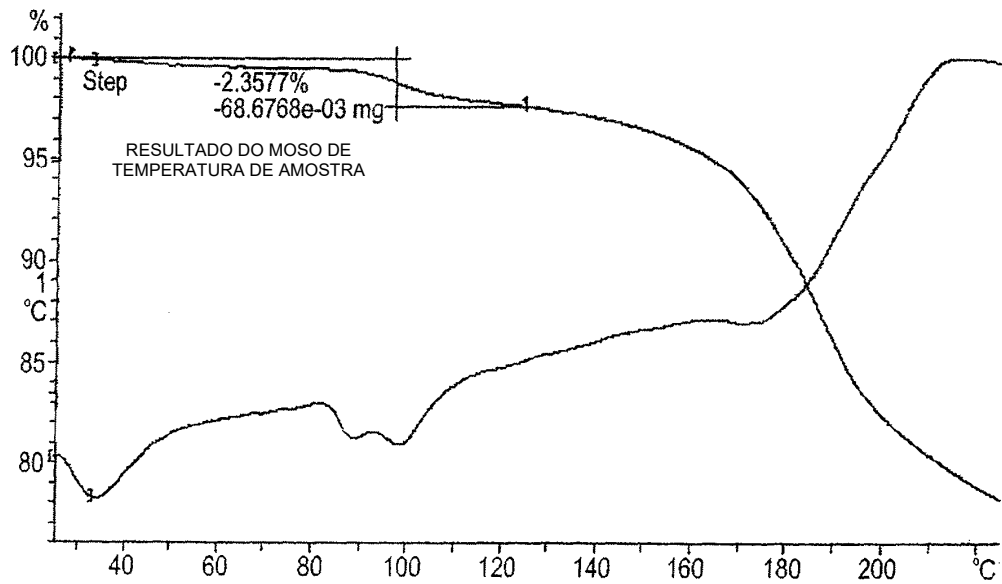
**FIGURA 7B****FIGURA 7C**

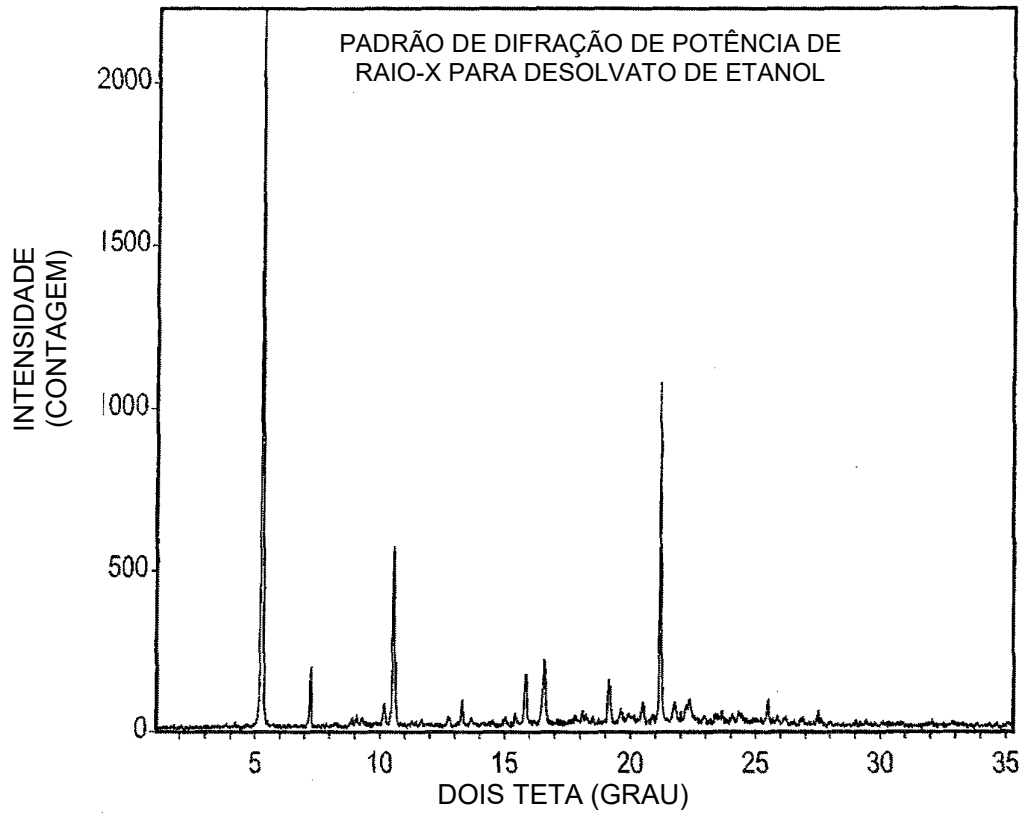
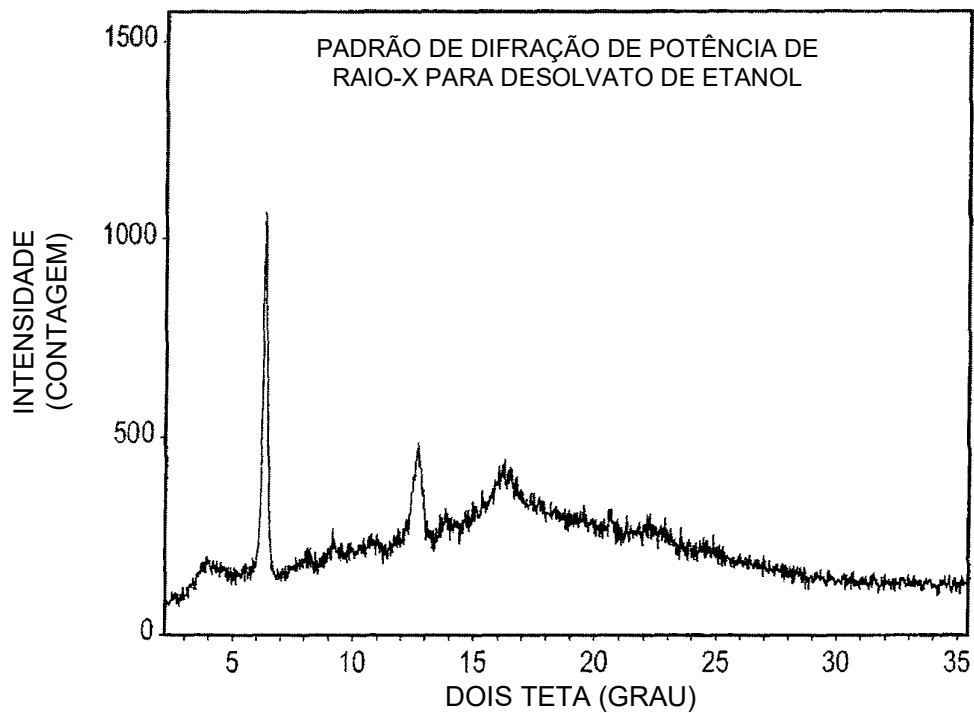
**FIGURA 8****FIGURA 9A**

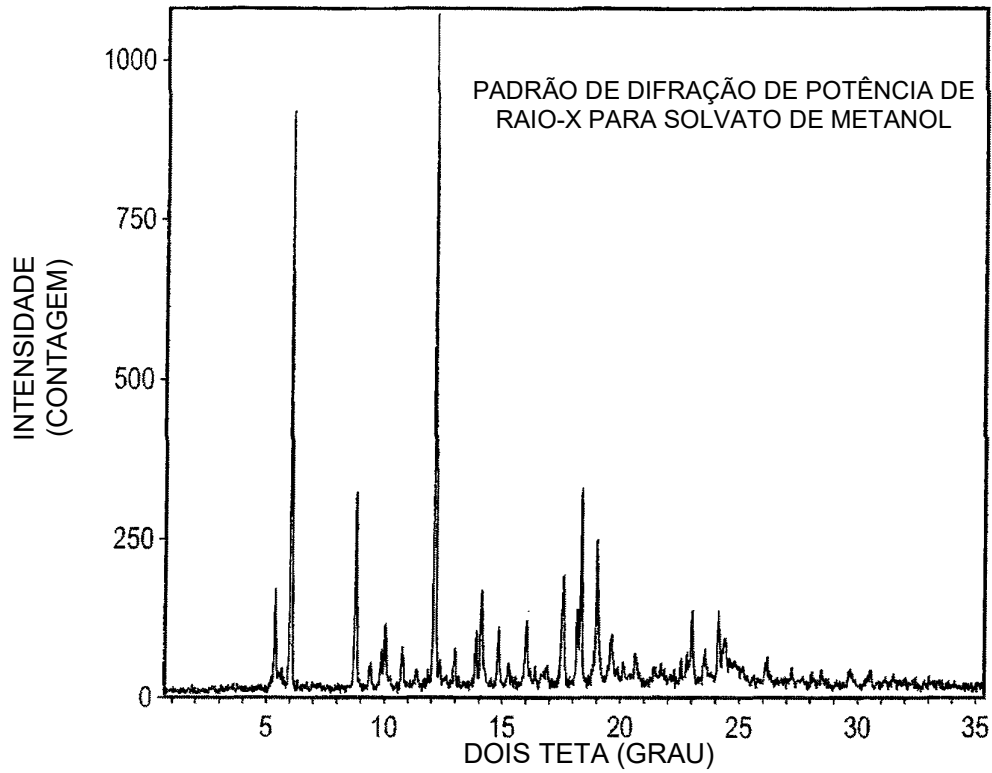
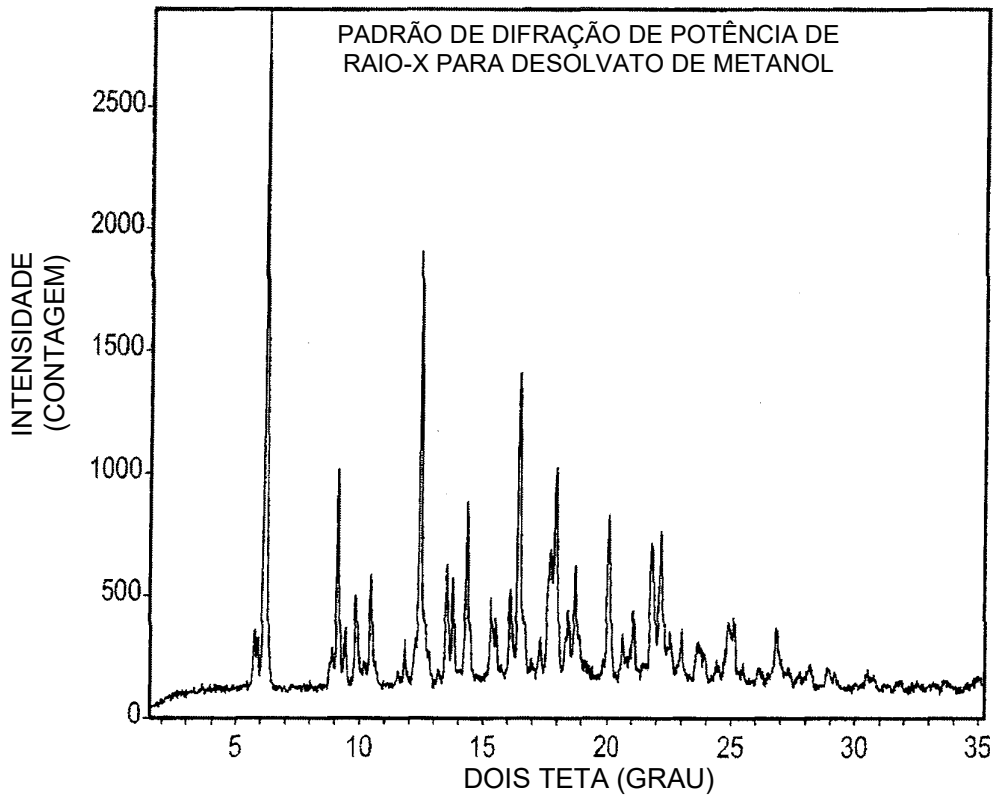
**FIGURA 9B****FIGURA 9C**

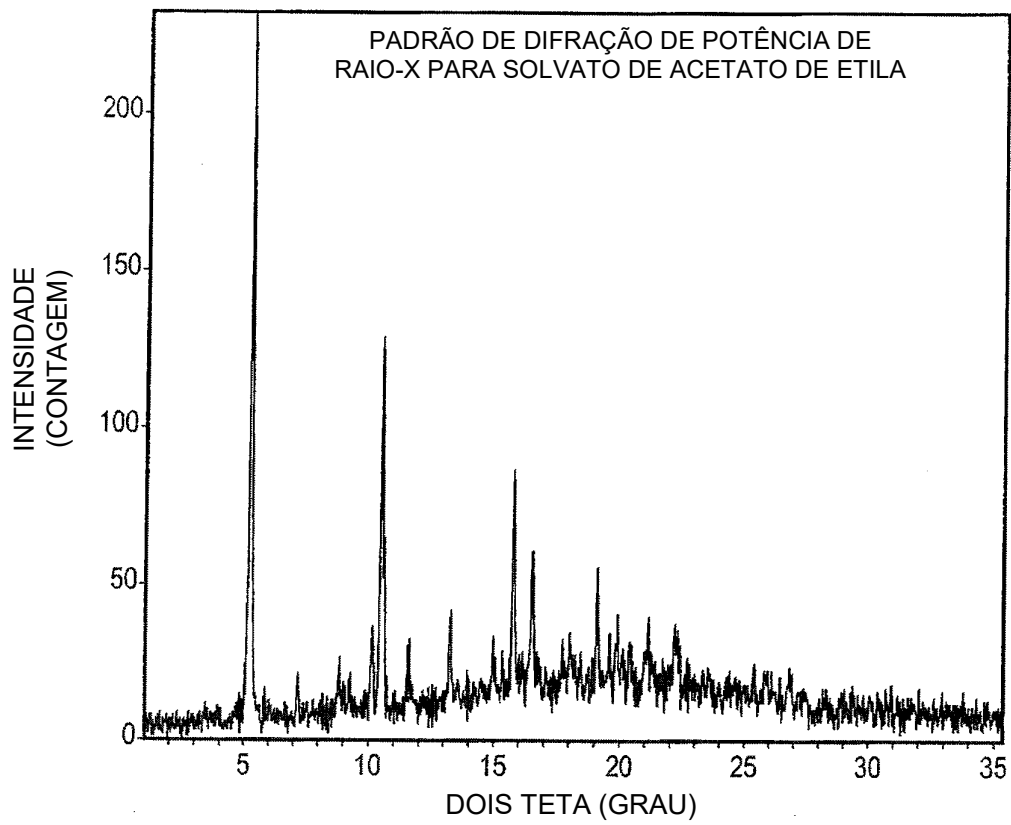
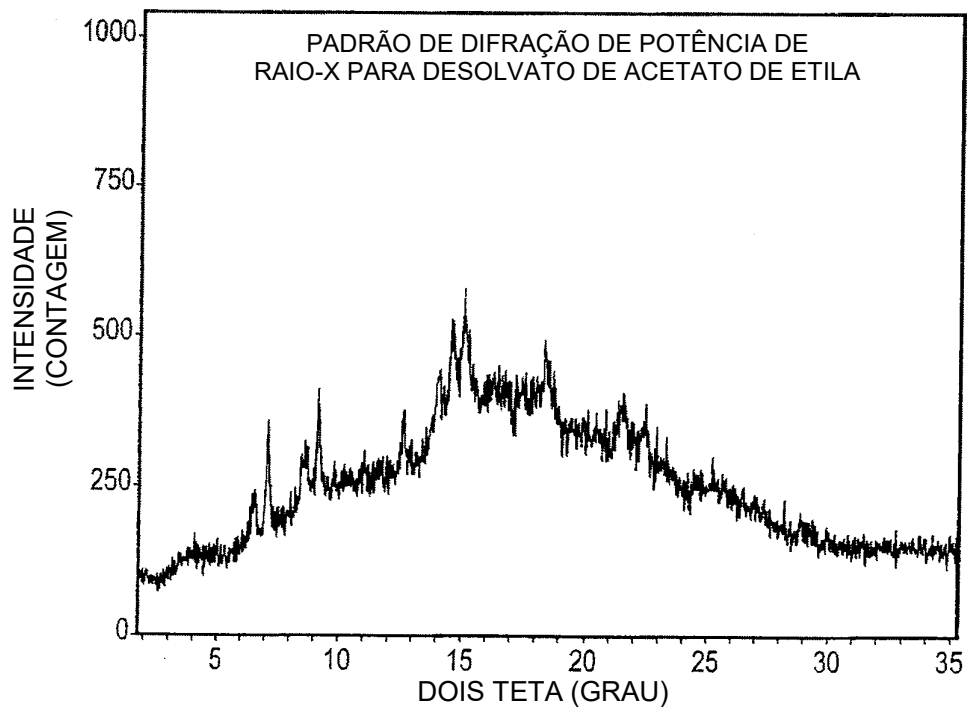
**FIGURA 10A****FIGURA 10B**

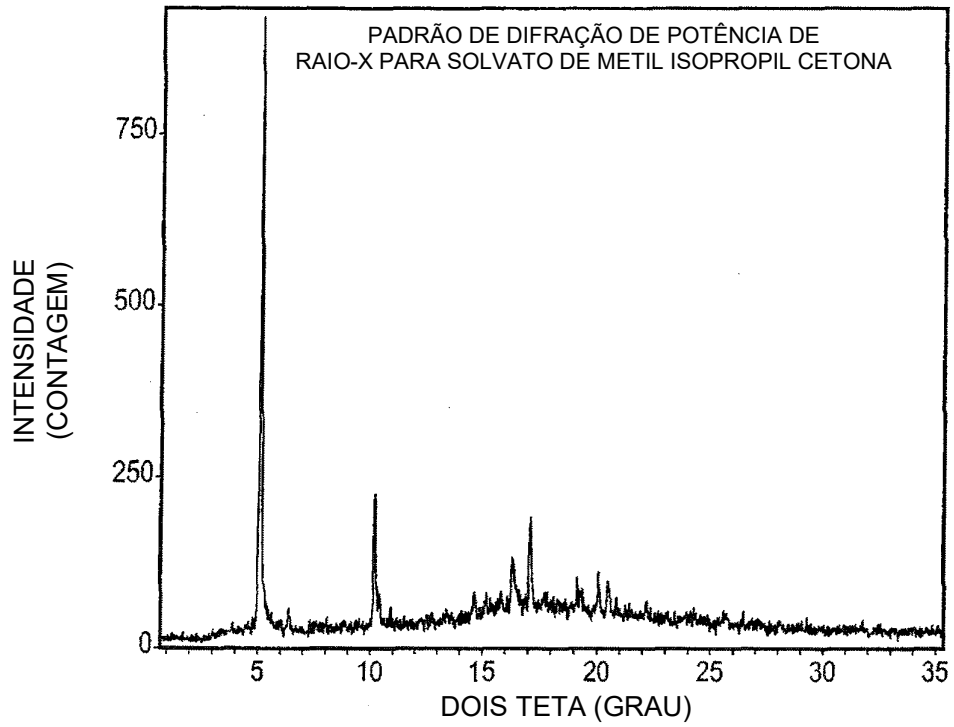
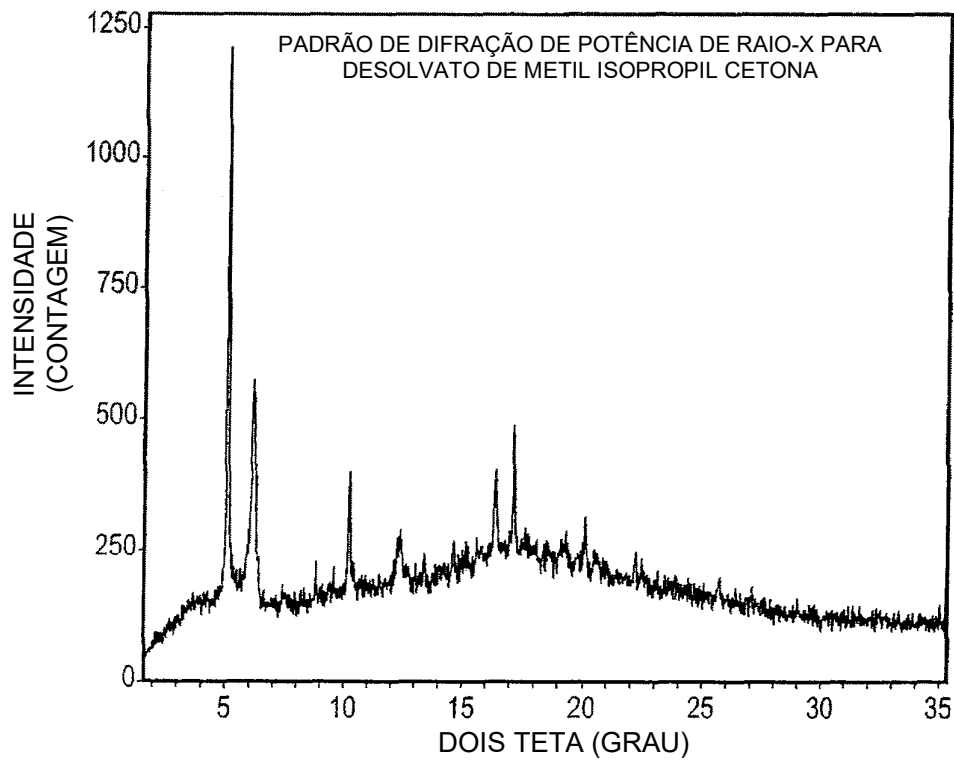
**FIGURA 10C****FIGURA 11A**

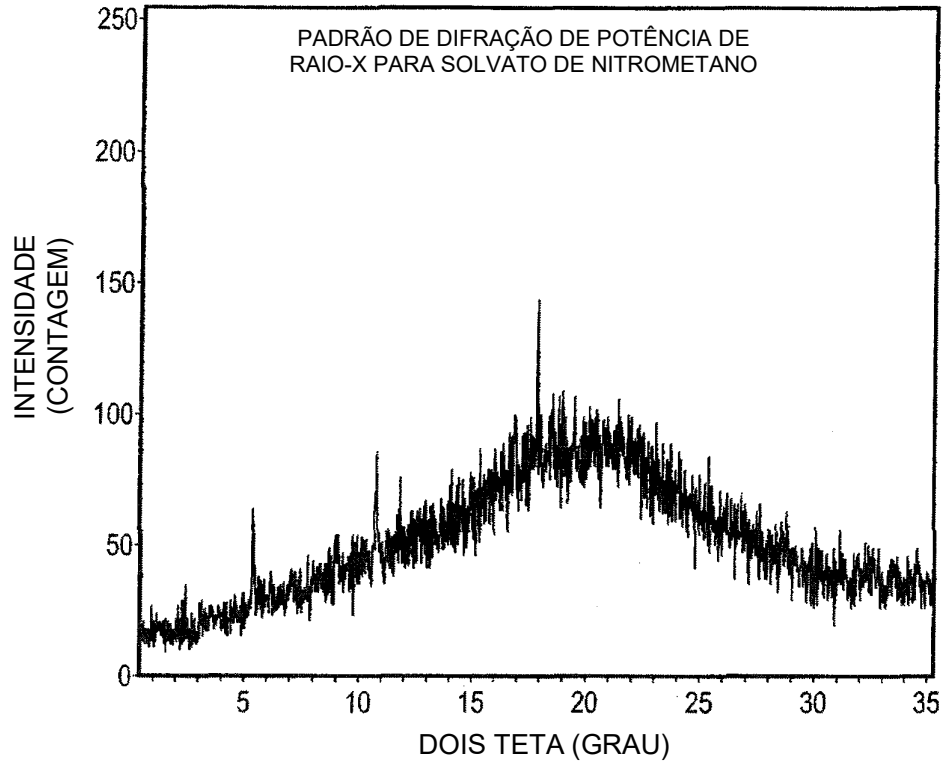
**FIGURA 11B****FIGURA 11C**

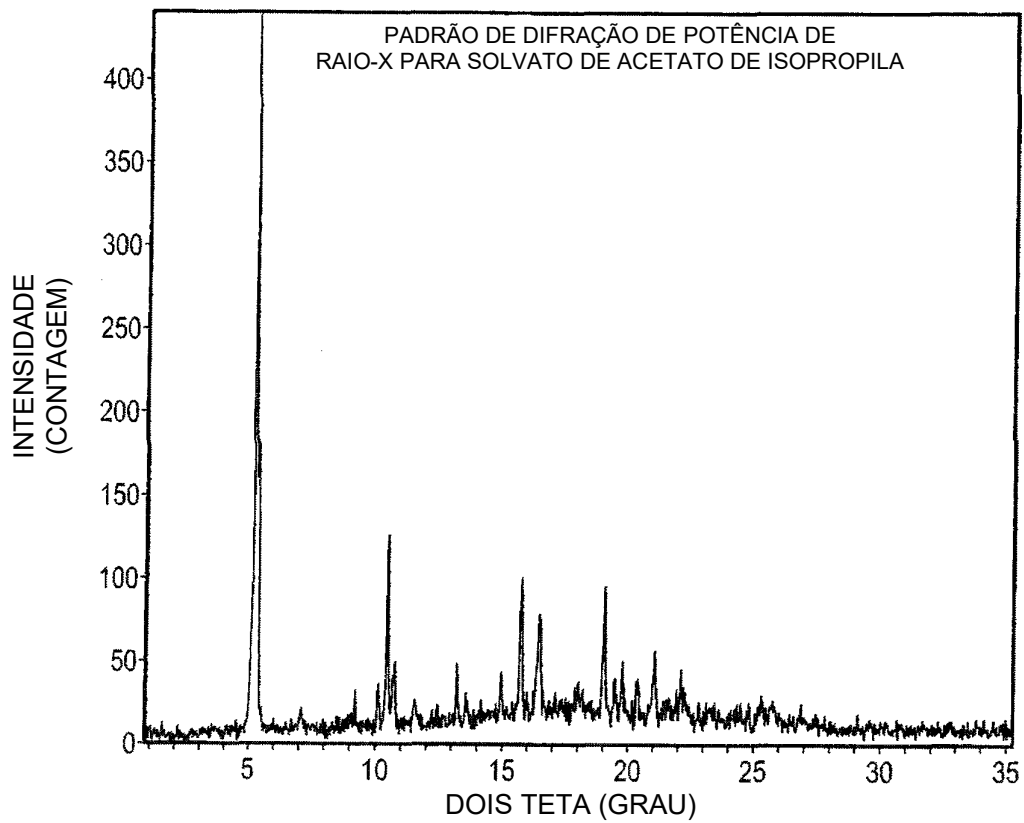
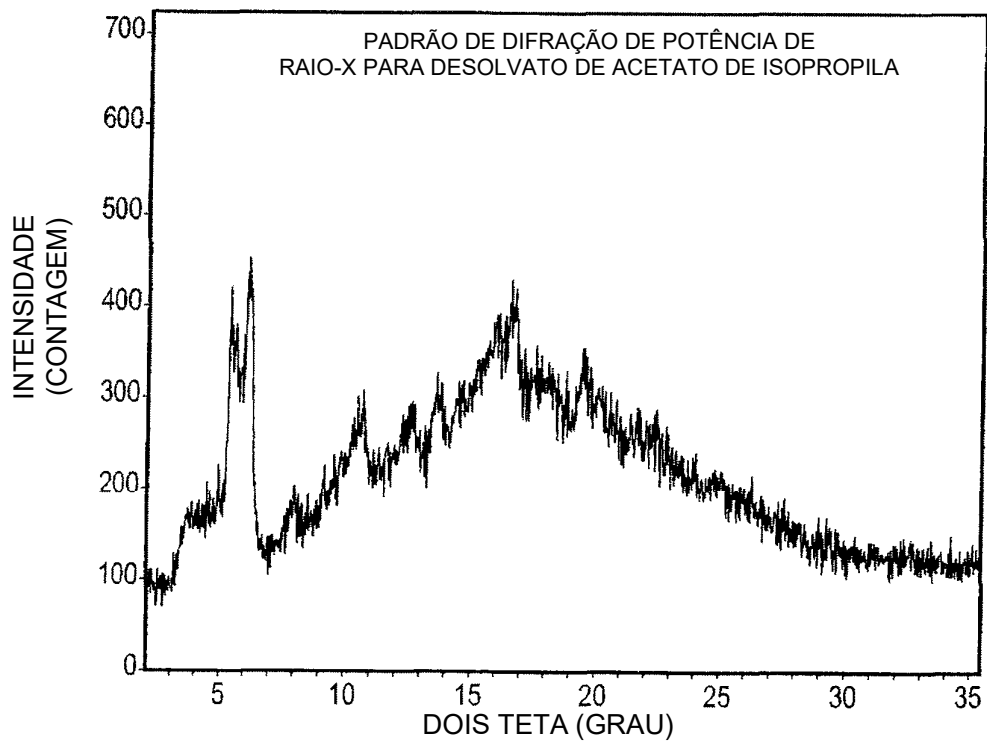
**FIGURA 12A****FIGURA 12B**

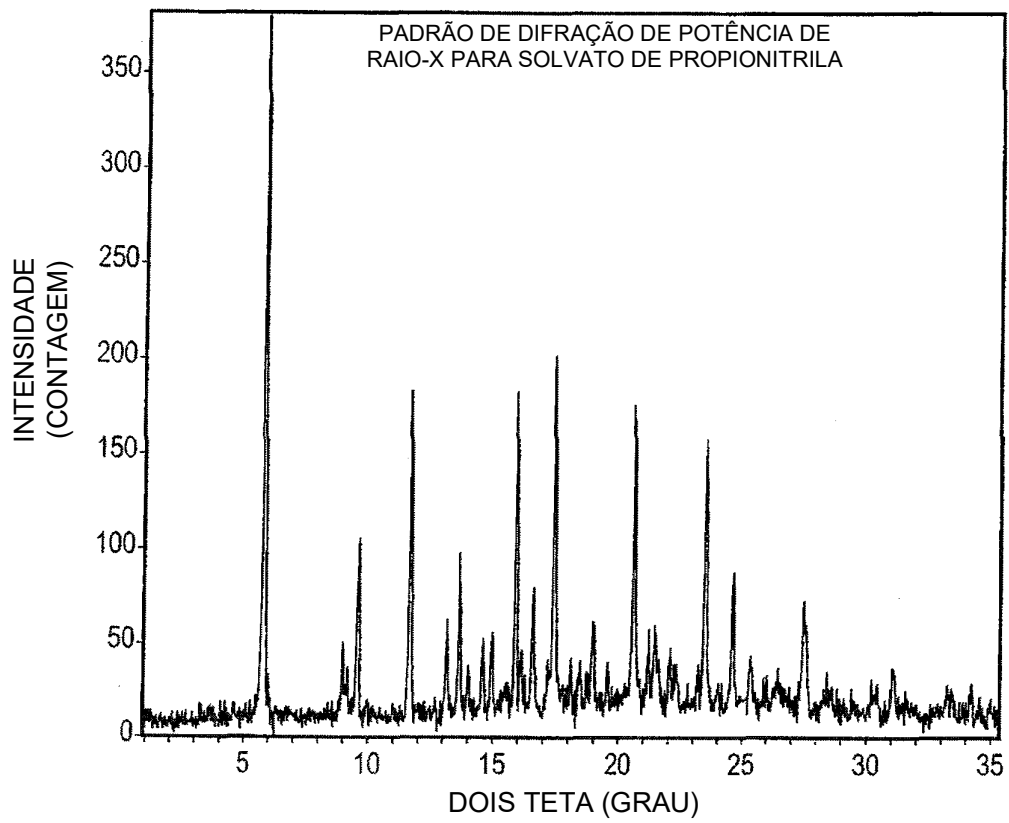
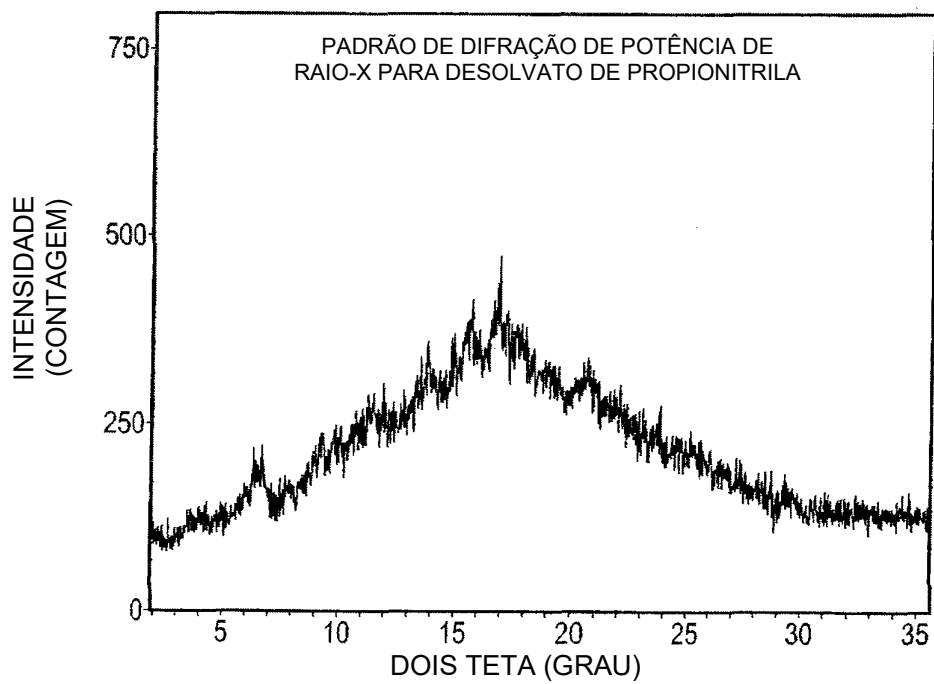
**FIGURA 13A****FIGURA 13B**

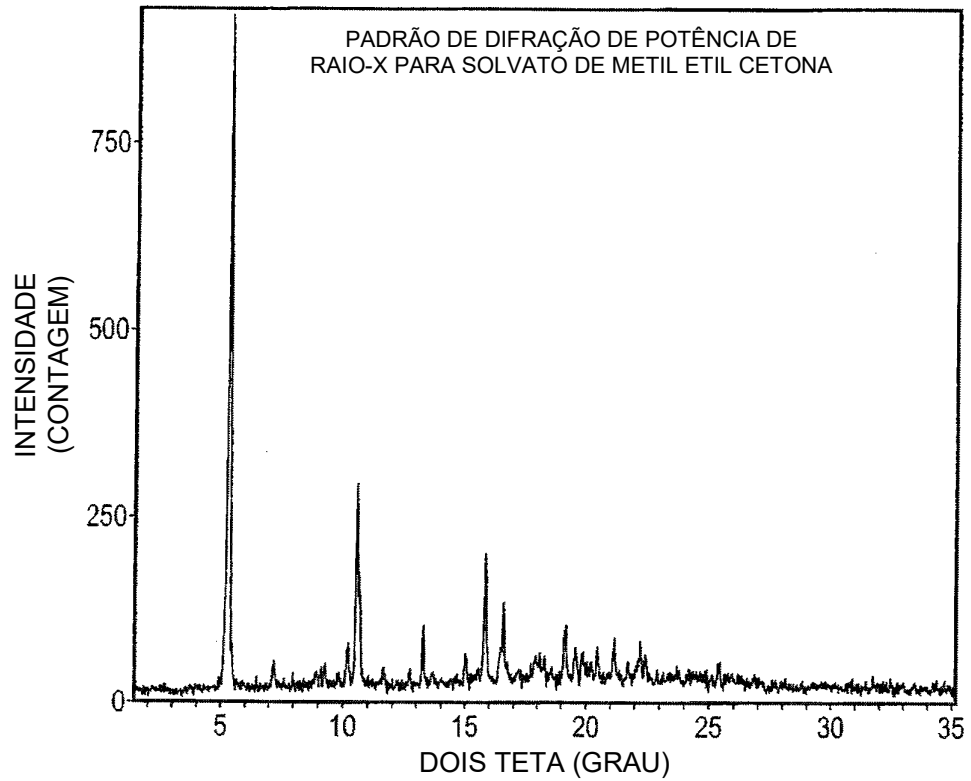
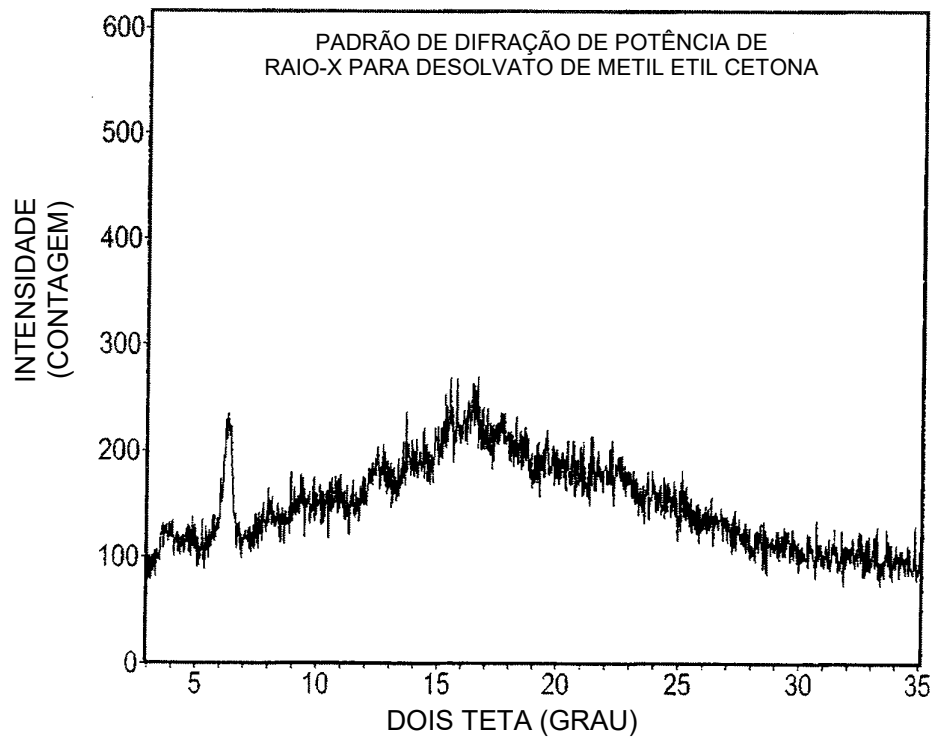
**FIGURA 14A****FIGURA 14B**

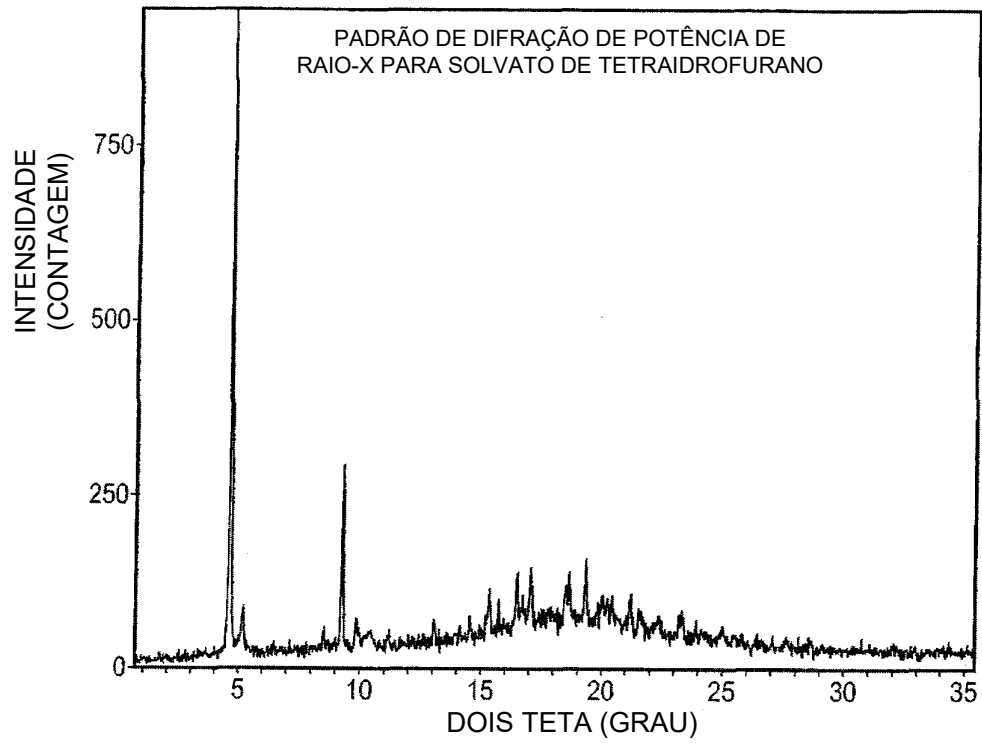
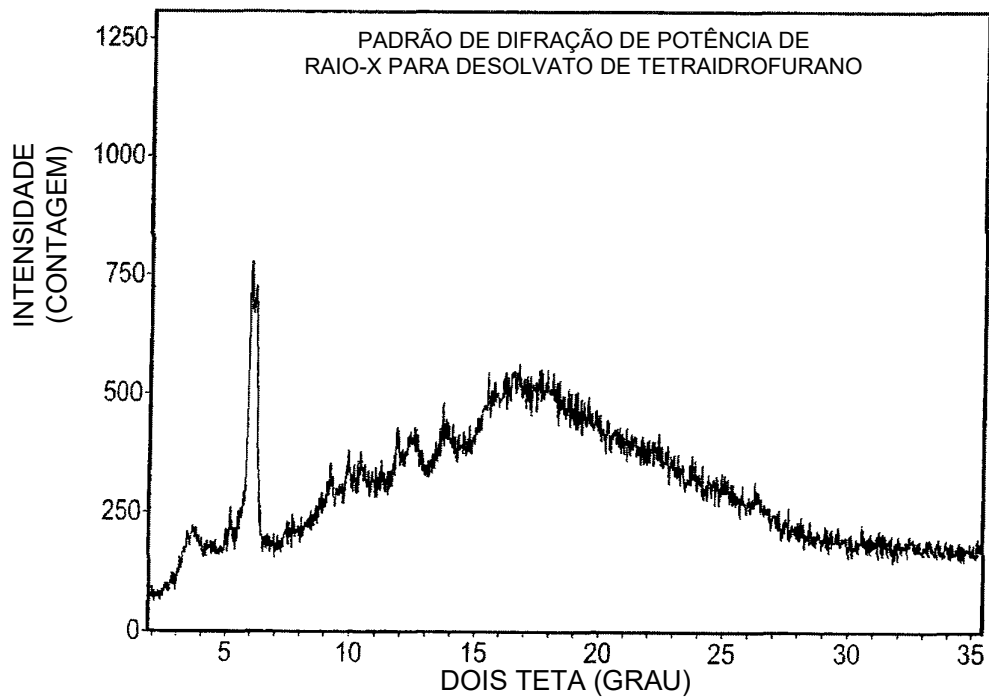
**FIGURA 15A****FIGURA 15B**

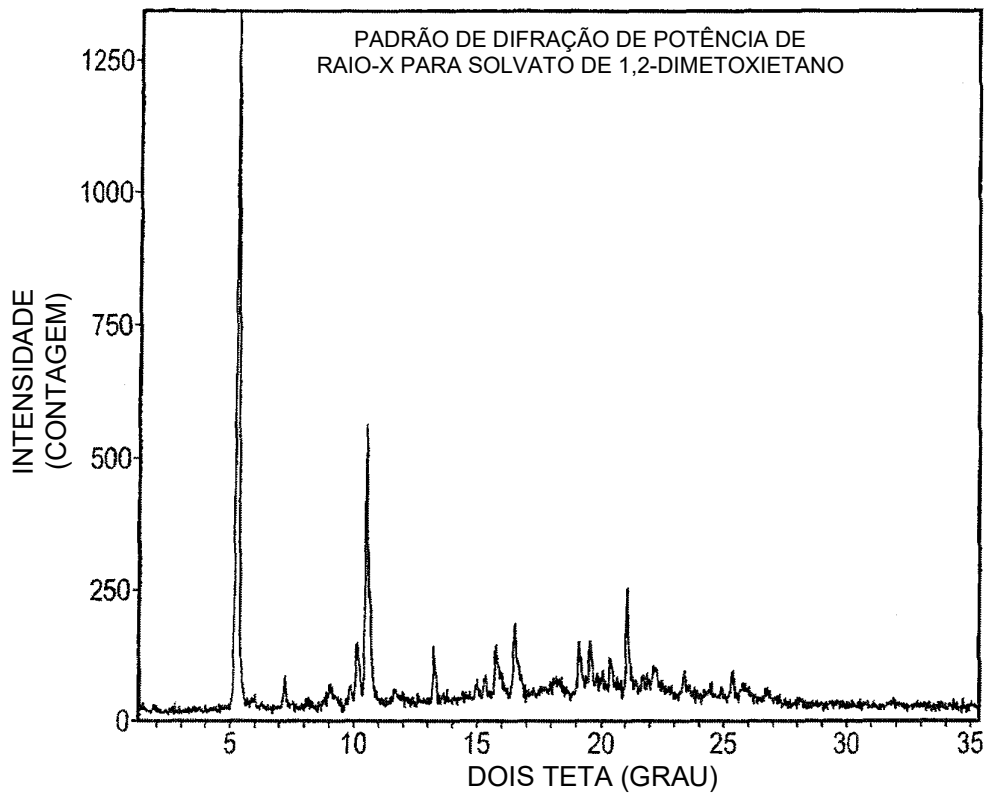
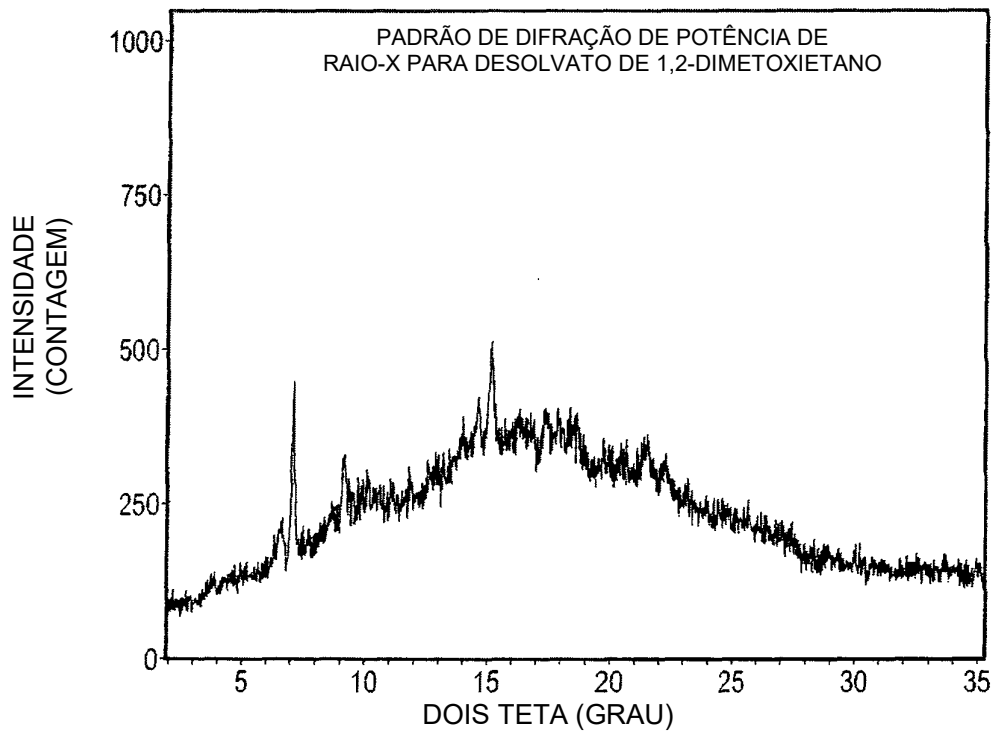
**FIGURA 16**

**FIGURA 17A****FIGURA 17B**

**FIGURA 18A****FIGURA 18B**

**FIGURA 19A****FIGURA 19B**

**FIGURA 20A****FIGURA 20B**

**FIGURA 21A****FIGURA 21B**