

(19)



(10) **LT 5138 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patent numeris: **5138**

(51) Int. Cl.⁷: **C07D491/04**
A61K 31/425
A61P 35/00

(21) Paraiškos numeris: **2003 017**

(22) Paraiškos padavimo data: **2003 02 25**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **2004 03 25**

(45) Patent paskelbimo data: **2004 06 25**

(62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos numeris: **PCT/US01/24540**

(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: **2001 08 01**

(85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: **2003 02 25**

(30) Prioritetas: **60/225.590, 2000 08 16, US**

(72) Išradėjas:

John D. DIMARCO, US
Jack Z. GOUGOUTAS, US
Imre M. VITEZ, US
Martha DAVIDOVICH, US
Michael GALELLA, US
Denis FAVREAU, CA
Timothy M. MALLOY, US
Zhenrong GUO, US

(73) Patent savininkas:

BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY, Lawrenceville-Princeton Road, P. O. Box 400, Princeton, NJ 08543-4000, US

(74) Patentinis patikėtinis:

Rita LAURINAVIČIŪTĖ, UAB „Metida“, Gedimino pr. 45-6, LT-2600 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Epotilono analogo polimorfinės formos

(57) Referatas:

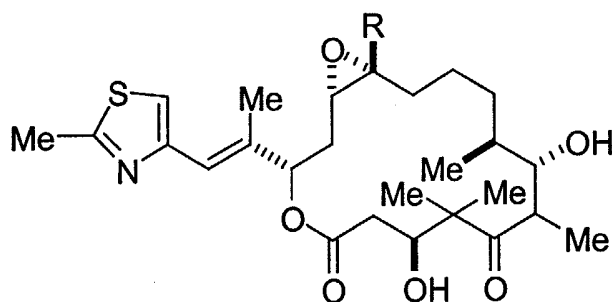
Šiame išradime yra pateikiamos epotilono analogo, kurio formulė (I), dvi kristalinės polimorfinės formos, pažymėtos atitinkamai A ir B, bei jų mišiniai. Taip pat yra pateikti šių naujų polimorfinių formų gavimo būdai ir farmacinės dozuotos formos, kuriose yra šių kristalinių polimorfinių formų.

Išradimo sritis

Šis išradimas yra susijęs su labai veiksmingo epotilono analogo polimorfinėmis formomis, kurioms yra būdingos sustiprintos savybės.

Išradimo kilmė

Epotilonai yra makrolidiniai junginiai, kurie randa pritaikymą farmacijos srityje. Pavyzdžiui, gali būti randama, kad A ir B epotilonai turintys struktūras:



A epotilonas R = H

B epotilonas R = Me,

pasižymi mikrokanalėlius stabilizuojančiais poveikiais, panašiais į paklitakselio (TAXOL®) poveikius, taigi ir citotoksiniu aktyvumu prieš greitai proliferuojančių ląstelių, tokių kaip auglių ląstelės, arba kitų hiperproliferacinių ląstelių, ligas (žr. Hofle, G. *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, Vol.35, No.13/14, 1567-1569 (1996); WO93/10121, publikuota 1993 m. gegužės 27 d, ir WO97/19086, publikuota 1997 m. gegužės 29 d.

Buvo sintezuoti įvairūs epotilono analogai ir jie gali būti naudojami įvairioms vėžio formoms ir kitoms nenormalios proliferacijos ligoms gydyti. Tokie analogai yra aprašyti Hole *et al.*, *Id.*; Nicolaou, K.C., *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, Vol.36, No.19, 2097-2103 (1997); ir Su, D.-S., *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, Vol.36, No.19, 2093-2097 (1997).

Ypatingai tinkamas epotilono analogas, kuris, kaip buvo rasta, turi naudingą aktyvumą, yra [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-

dihidroksi-8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etenil]-4-aza-17-oksabicyklo[14.1.0]heptadekan-5,9-dionas. Šiame išradime yra pateikiamos dvi aptariamo epotilono analogo kristalinės formos. Šios polimorfinės formos, kurios yra pavadintos atitinkamai A ir B formomis, yra naujos kristalinės formos ir yra apibūdintos toliau.

Trumpas brėžinių aprašymas

FIG.1 yra aptariamo epotilono analogo A formos miltelių Rentgeno spindulių difraktograma ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ kambario temperatūroje).

FIG.2 yra aptariamo epotilono analogo B formos miltelių Rentgeno spindulių difraktograma ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ kambario temperatūroje).

FIG.3 yra aptariamo epotilono analogo A ir B formų mišinio miltelių Rentgeno spindulių difraktograma ($\text{CuK}\alpha$ $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ kambario temperatūroje).

FIG.4 yra aptariamo epotilono analogo A ir B formų miltelių sumodeliuotos ir tikros Rentgeno spindulių difraktogramų palyginimas.

FIG.5 yra aptariamo epotilono analogo A formos Ramano spektras.

FIG.6 yra aptariamo epotilono analogo B formos Ramano spektras.

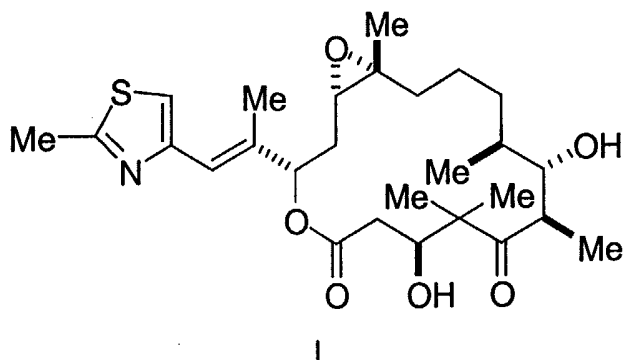
FIG.7 yra aptariamo epotilono analogo A ir B formų mišinio Ramano spektras.

FIG.8 vaizduoja aptariamo epotilono analogo A formos kietos būsenos konformaciją.

FIG.9 vaizduoja aptariamo epotilono analogo B formos kietos būsenos konformaciją.

Išradimo santrauka

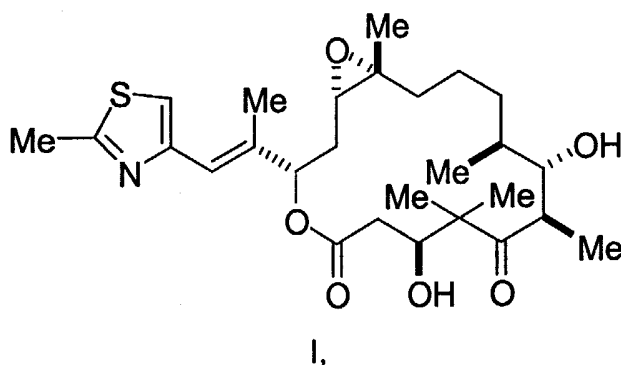
Šiame išradime yra pateikiamos dvi epotilono analogo, atvaizduoto I formule, kristalinės formos.



Buvo rasta, kad viena iš šių polimorfinių formų, pavadinta A forma, turi ypatingai naudingas savybes. Šis išradimas yra skirtas kristalinėms polimorfinėms A ir B formoms bei jų mišiniams. Šis išradimas taip pat yra susijęs su šių kristalinių formų panaudojimu vėžio ir kitų proliferacinių ligų gydymui ir su šių formų turinčiomis farmacinėmis kompozicijomis.

Smulkus išradimo aprašymas

Šiame išradime yra pateikiamos dvi epotilono analogo, atvaizduoto toliau duodama I formule:



polimorfinės formos. Šis I formule atvaizduotas epotilono analogas chemiškai yra [1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihidroksi-8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etenil]-4-aza-17-oksabiciklo[14.1.0]-heptadekan-5,9-dionas. Šis analogas ir jo gavimo būdas yra aprašytas JAV patentinėje paraiškoje Ser. No. 09/170,582, paduotoje 1998 m. spalio 13 d.; jos aprašymas yra duodamas kaip literatūros šaltinis. Aukščiau I formule atvaizduoto analogo polimorfinės formos yra mikrokanalėlius stabilizuojantys agentai. Taigi jie yra naudingi gydant įvairias vėžio formas ir kitas proliferacines ligas, įskaitant, bet neapsiribojant, tokias:

- karcinomą, įskaitant šlapimo pūslės, krūties, storosios žarnos, inkstų, kepenų, plaučių, kiaušidžių, kasos, skrandžio, kaklo, skydliaukės ir odos, įskaitant žvyninių suragėjusių ląstelių, karcinomą,
- limfoidinės kilmės hematopoietinius auglius, įskaitant leukemiją, ūmiąją limfocitinę leukemiją, ūmiąją limfoblastinę leukemiją, B-ląstelių limfomą, T-ląstelių limfomą, Hodžkino limfomą, ne-Hodžkino limfomą, plaukuotųjų ląstelių limfomą ir Burketts'o limfomą;
- mieloidinės kilmės hematopoietinius auglius, įskaitant ūmiąją ir chroniškąją mielogenines leukemijas ir promielocitinę leukemiją;
- mezenchiminės kilmės auglius, įskaitant fibrosarkomą ir rabdomiosarkomą;
- kitus auglius, įskaitant melanomą, seminomą, teratokarcinomą, neuroblastomą ir gliomą;
- centrinės ir periferinės nervų sistemos auglius, įskaitant astocitomą, neuroblastomą, gliomą ir neurinomas;
- mezenchiminės kilmės auglius, įskaitant fibrosarkomą, rabdomiosarkomą ir osteosarkomą; ir
- kitus auglius, įskaitant melanomą, pigmentinę kserodermą, keratoakantomą, seminomą, skydliaukės folikulinį vėžį ir piktybinę teratomą.

Šios polimorfinės formos taip pat inhibuos angiogenezę, tokiu būdu veikdamos auglių augimą, ir gydys auglius ir su augliais susijusius sutrikimus. Tokios priešangiogenezinės savybės taip pat bus naudingos gydant kitas būkles, jautrias priešangiogeneziniams agentams, įskaitant, bet neapsiribojant, tam tikras, susijusias su tinklainės vaskuliarizacija, aklumo formas, artritą, ypač uždegiminį artritą, išsėtinę sklerozę, restinozę ir psoriazę.

I formulės analogo polimorfinės formos sukels arba inhibuos apoptozę – fiziologinį ląstelės žūties procesą, nepaprastai svarbų normaliam vystymuisi ir homeostazei. Apoptozės kelių pakitimai duoda įnašą į įvairių žmogaus ligų patogenezę. Aptariamose polimorfinės formos, kaip apoptozės modulatoriai, bus naudingos gydant įvairiausias žmonių ligas su apoptozės nukrypimais, įskaitant, bet neapsiribojant, vėžinius ir priešvėžinius pažeidimus, su imuniniu

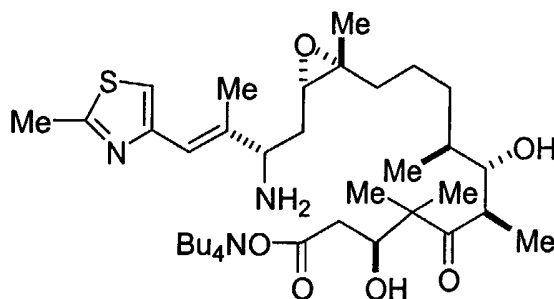
atsaku susijusias ligas, virusines infekcijas, raumenų-skeleto sistemos degeneracines ligas ir inkstų ligas.

Nenorint būti susijusiems su koku nors mechanizmu arba morfologija, tokios I formulės epotilono analogo kristalinės formos taip pat gali būti naudojamos gydyti būklėmis, kurios yra kitokios nei vėžys arba kitos proliferacinės ligos. Tokiomis būklėmis yra, bet jomis neapsiribojama, virusinės infekcijos, tokios kaip herpeso virusas, raupų virusas, Epšteino-Baro virusas, Sindbis'o virusas ir adenovirusas; autoimuninės ligos, tokios kaip sisteminė raudonoji vilkligė, imuniškai tarpininkaujamas glomerulonefritas, reumatinis artritas, psoriazė, uždegiminė žarnų liga ir autoimuninis cukrinis diabetas; neurodegeneraciniai sutrikimai, tokie kaip Alchaimerio liga, su AIDS susijusi silpnaprotystė, Parkinsono liga, amiotrofinė šoninė sklerozė, pigmentinis retinitas, nugaros raumenų atrofija ir cerebelinis išsigimimas; AIDS; mielodisplaziniai sindromai; hipoplazinė anemija; su miokardo infarktais susijęs išeminis pažeidimas; insultas ir reperfuzinis pažeidimas; restenozė; aritmija; aterosklerozė; toksinų arba alkoholio sukeltos kepenų ligos; hematologinės ligos, tokios kaip chroniška anemija ir hipoplazinė anemija; raumenų-skeleto sistemos degeneracinės ligos, tokios kaip osteoporozė ir artritas; aspirinui jautrus rinosinusitas; cistinė fibrozė; išsėtinė sklerozė; inkstų ligos; ir vėžinis skausmas.

Aptariamų polimorfinių formų, ypač A formos, efektyvų kiekį gali nustatyti paprastas šios srities specialistas, o dozių žmonėms pavyzdžiais gali būti nuo maždaug 0,05 iki 200 mg/kg/per dieną, kurios gali būti įvedamos kaip viena dozė arba atskiromis padalintomis dozėmis, pavyzdžiui, 1-4 kartus per dieną. Geriausia, kai aptariamos polimorfinės formos yra vartojamos mažesnėmis nei 100 mg/kg/per dieną, dozėmis, kaip viena dozė arba 2-4 padalintos dozės. Turėtų būti suprantama, kad konkreti dozė ir dozavimo dažnis konkrečiam subjektui gali kisti ir priklausyti nuo įvairių faktorių, įskaitant konkretaus naudojamo junginio aktyvumą, šio junginio metabolinį stabilumą ir veikimo trukmę, subjekto rūšį, amžių, kūno masę, bendrą sveikatos stovį, lytį ir maistą, vartojimo būdą ir laiką, šalinamojo išskyrimo dažnį, vaistų derinį ir konkrečios būklės sunkumą. Geriausia aptariamas polimorfines formas vartoti parenteriniu būdu, tačiau čia aptariami ir kiti onkologijoje priimti vartojimo būdai. Tinkamiausiais gydymo subjektais yra gyvūnai, geriau žinduoliai, tokie

kaip žmonės ir naminiai gyvuliai, kaip antai šunys, katės ir panašūs, kurie turi aukščiau minėtus sutrikimus.

JAV patentinėje paraiškoje Ser. No. 09/170,582 aprašytas I formulės epotilono analogų gavimas davė alyvos pavidalo aptariamą epotilono analogą, kuris gali būti chromatografiškai išgrynintas ir gaunami amorfiniai milteliai. Tinkamesnis gavimo būdas yra aprašytas paraiškos tęsinyje Ser. No. 09/528,526, paduotoje 2000 m. kovo 20 d., kurios aprašymas duodamas kaip literatūros šaltinis. Šiame gavimo būde, kuris yra susijęs I formulės analogais, B epotilonas yra veikiamas azidiniu donoriniu agentu ir buferuojančiu agentu, esant paladžio katalizatoriaus, ir redukcijos agentu, gaunant tarpinį junginį, kurio formulė yra:



Po to yra vykdoma šio tarpinio junginio makrolaktamizacijos reakcija ir gaunamas I formulės analogas. Dabar buvo rasta, kad šis analogas savo kristalinėje formoje susideda iš A ir B formų mišinio, kurios čia yra pilnai aprašytos. I formulės epotilono analogo amorfinė forma gali būti ištirpinama tinkamame tirpiklyje, geriausia tirpiklių mišinyje, kaip antai etilacetate/dichlormetane/trietilamine, išgryninama, pavyzdžiui, perleidžiant per silikagelio sluoksnį, ir kristalinama šaldant iki maždaug 5 °C temperatūros, gaunant kristalinę medžiagą, kuri yra A formos ir B formos mišinys. Gryninimo stadija, naudojant tirpiklių mišinį, turintį komponentą, tokį kaip dichlormetanas, pašalina likusius iš sintezės tirpiklius, kurie gali trukdyti kristalizacijos procesui.

Paprastai, pridėjus į išgrynintą medžiagą ribotą kiekį etilacetato ir šildant gautą suspensiją iki maždaug 75-80 °C, sukeliamas A formos susidarymas. Ribotu kiekiu yra laikoma nuo maždaug 8 iki 16 ml, geriau nuo maždaug 8 iki 12 ml etilacetato gramui išgrynintos medžiagos. Šildant tirpalą, susidaro skysta suspensija, ir buvo rasta, kad tai yra daugiausia B forma.

Maždaug 75 °C temperatūroje suspensija sutirštėja, ir buvo rasta, kad susidaro A forma. Ši suspensija yra laikoma maždaug 75-80 °C temperatūroje maždaug 1 valandą, kad pilnai susidarytų A forma, po to į suspensiją yra pridedama cikloheksano, kad jo santykis su etilacetatu būtų nuo maždaug 1:2 iki 2:2, geriau apie 1:2, ir mišiniui leidžiama atšalti iki kambario temperatūros, kurioje jis yra laikomas maišant nuo maždaug 12 iki maždaug 96 valandų. Po to mišinys per maždaug 2 valandas atšaldomas iki maždaug 5 °C ir po to yra išskiriami aptariamo epotilono analogo A formos kristalai. A forma yra gauta gera išeiga ir gero grynumo.

Į kitą A formos gavimo metodiką įeina kristaliklių pridėjimas. Tolimesniame aprašyme buvo naudoti A formos kristalikliai, bet taip pat gali būti naudojami B formos kristalikliai arba jų mišiniai. Vienoje tokioje metodikoje į išgrynintą medžiagą pridedama ribotas kiekis etilacetato, kaip aprašyta aukščiau, kaitinama iki maždaug 75 °C, pridedama kristaliklių ir mišinys palaikomas maždaug 30 minučių. Tada, palaikant apie 70 °C temperatūrą, sulašinamas aukščiau aprašytas kiekis cikloheksano. Po to mišinys atšaldomas iki 20 °C ir laikomas maišant 18 valandų, po to jis yra atšaldomas iki 5 °C ir išgaunami balti A formos kristalai fiziškai atskiriant, pvz. nufiltruojant.

Kitoje metodikoje pradinis medžiagos tirpalas etilacetate yra kaitinamas iki 75 °C mažiausiai valandą, kol susidaro tirpalas. Šis tirpalas atšaldomas iki maždaug 50 °C maždaug per dvi valandas, pridedant A formos kristaliklių, kai temperatūra pasiekia maždaug 60 °C. Kristalai pradeda rodytis apie maždaug 55 °C. Temperatūra vėl sumažinama iki maždaug 20 °C per kitas dvi valandas, o po vienos iš šių dviejų valandų yra sulašinamas aukščiau aprašytas kiekis cikloheksano. Galutinė suspensija toliau atšaldoma per dvi valandas iki -10 °C ir laikoma šioje temperatūroje dar valandą. Po to suspensija nufiltruojama ir gaunami balti A formos kristalai.

Dar kitoje metodikoje medžiaga ištirpinama didesniame kiekyje, t.y. maždaug 40 ml/g etilacetato ir gauta suspensija kaitinama maždaug 80 °C temperatūroje tol, kol susidaro tirpalas, kuris po to yra atšaldomas iki maždaug 70 °C per maždaug vieną valandą. Kai temperatūra pasiekia maždaug 70 °C, pridedama A formos kristaliklių. Po to temperatūra sumažinama iki maždaug 30 °C per kitas tris valandas. Maždaug 65 °C

temperatūroje pradeda rodytis kristalai. Per kitas tris valandas temperatūra sumažinama iki -10°C ir per trisdešimt minučių šiame laikotarpyje sulašinamas aukščiau aprašytas kiekis cikloheksano. Dar valandą temperatūra yra palaikoma -10°C . Galutinė suspensija nufiltruojama ir gaunami A formos balti kristalai. Pagal šią metodiką gautos A formos išeiga ir grynumas yra laikomi labai gerais.

Aptariamų aukščiau duotos I formulės epotilonų B forma yra gaunama pagaminant negrynos medžiagos suspensiją didesniame kiekyje etilacetato, t.y. maždaug 40-50 ml gramui medžiagos, šildant ją $70-80^{\circ}\text{C}$ temperatūroje valandą, kurios metu susidaro tirpalas, ir šis tirpalas palaikomas toje temperatūroje apie 30 minučių. Per maždaug dvi valandas šis tirpalas atšaldomas iki maždaug 30°C ; maždaug 38°C temperatūroje pradeda rodytis kristalai. Temperatūra toliau mažinama iki maždaug -10°C per valandą ir šios valandos bėgyje sulašinamas aukščiau minėtas kiekis cikloheksano per maždaug 30 minučių. Galutinė suspensija yra laikoma -10°C temperatūroje dar dvi valandas, nufiltruojama ir gaunami B formos kristalai.

Kitame šio gavimo būdo variante pagaminama negrynos medžiagos suspensija panašiam kiekyje etilacetato ir kaitinama iki maždaug 78°C , gaunant tirpalą, kuris laikomas šioje temperatūroje maždaug 30 minučių. Per maždaug dvi valandas šis tirpalas atšaldomas iki maždaug 10°C , ir kai temperatūra pasiekia maždaug 10°C , pridedama A formos kristaliko. Per kitas dvi valandas temperatūra vėl mažinama iki -10°C per valandą ir per 30 minučių sulašinamas aukščiau minėtas kiekis cikloheksano. Palaikoma -10°C temperatūra dvi valandas. Galutinė suspensija nufiltruojama ir gaunami balti B formos kristalai.

Dar kitoje metodikoje išgryninta medžiaga sudedama į kitą tirpiklį, geriausia tolueną, imant jo maždaug 10-20 ml gramui medžiagos, pašildoma $75-80^{\circ}\text{C}$ temperatūroje 30 minučių, po to leidžiama atvėsti iki 20°C ir maišant laikoma 18 valandų. Balti B formos kristalai išgaunami iš suspensijos fiziškai atskiriant. Pagal šias metodikas gautos B formos išeiga ir grynumas yra laikomi labai gerais.

FIG. 1-3 yra aptariamo analogo atitinkamai A, B ir jų mišinio miltelių Rentgeno spindulių difraktogramos. FIG. 4 yra sumodeliuotų iš atskirų A ir B formų kristalų struktūrų ir tikrų miltelių Rentgeno spindulių difraktogramų

palyginimas. Rentgeno spindulių difraktogramos buvo gautos, naudojant Philips Xpert prietaisą su 44 kV ir 40 mA generatoriumi ir $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ bangos ilgio $\text{CuK}\alpha$ spindulių pluoštelio, kambario temperatūroje. FIG.1-4 bei toliau duodamose 1 ir 2 lentelėse, kuriose duomenys pateikti susumuotoje formoje, yra aiškiai matyti, kad aptariamo epotilono analogo A ir B formos turi skirtingas kristalines struktūras. Lentelėse smailių intensyvumai nuo 1 iki 12 yra skirstomi kaip labai silpna smailė, nuo 13 iki 32 – silpna, nuo 33 iki 64 – vidutinė, nuo 65 iki 87 – stipri ir nuo 88 iki 100 – labai stipri.

1 lentelė

A formos reikšmės

Smailės padėtis (du teta) ($\text{CuK}\alpha \lambda = 1,5406 \text{ \AA}$) kambario temperatūroje	Santykinis smailės intensy- vumas	Smailės padėtis (du teta)	Santykinis smailės intensy-vumas
5,69	labai silpna	21,06	labai stipri
6,76	labai silpna	21,29	silpna
8,38	labai silpna	22,31	silpna
11,43	silpna	23,02	silpna
12,74	labai silpna	23,66	silpna
13,62	labai silpna	24,18	labai silpna
14,35	labai silpna	24,98	silpna
15,09	labai silpna	25,50	silpna
15,66	silpna	26,23	labai silpna
16,43	labai silpna	26,46	labai silpna
17,16	labai silpna	27,59	labai silpna
17,66	labai silpna	28,89	labai silpna
18,31	silpna	29,58	labai silpna
19,03	silpna	30,32	labai silpna
19,54	vidutinė	31,08	labai silpna
20,57	silpna	31,52	labai silpna

2 lentelė

B formos reikšmės

Smailės padėtis (du teta) (CuK α λ = 1,5406 Å) kambario temperatūroje	Santykinis smailės intensy- vumas	Smailės padėtis (du teta)	Santykinis smailės intensy-vumas
6,17	labai silpna	21,73	vidutinė
10,72	labai silpna	22,48	labai stipri
12,33	silpna	23,34	vidutinė
14,17	silpna	23,93	vidutinė
14,93	vidutinė	24,78	vidutinė
15,88	vidutinė	25,15	silpna
16,17	vidutinė	25,90	silpna
17,11	vidutinė	26,63	vidutinė
17,98	silpna	27,59	labai silpna
19,01	labai stipri	28,66	silpna
19,61	vidutinė	29,55	silpna
20,38	vidutinė	30,49	silpna
21,55	vidutinė	31,22	silpna

FIG. 5-7 yra duoti aptariamo analogo atitinkamai A, B formų ir jų mišinio Ramano spektroskopijos rezultatai. Spektrai taip pat rodo dvi skirtingas kristalines formas, ypač juostos ties 3130 cm⁻¹ ir 3115 cm⁻¹.

Abiejų polimorfinių formų būdingos charakteristikos yra parodytos toliau duodamoje 3 lentelėje. Tirpimo kalorimetrija buvo nustatyta, naudojant Thermometrics Microcalorimeter prietaisą, etanolyje 25 °C temperatūroje. Tirpumai taip pat buvo nustatyti 25 °C temperatūroje. Iš tam tikrų duomenų, ypač iš tirpimo šilumų, taip pat yra matyti, kad A forma yra stabilesnė ir todėl ji yra tinkamesnė.

3 lentelė

Charakteristika	A forma	B forma
Tirpumas vandenyje	0,1254	0,1907
Tirpumas 3 % polisorbate 80 (vandeninis)	0,2511	0,5799
Tirpimo šiluma	20,6 kJ/mol	9,86 kJ/mol

I formulės epotilono analogų A ir B formos dar gali būti apibūdinamos vienietinės gardelės parametrais, gautais iš atskiro kristalo Rentgeno spindulių kristalografinės analizės, kaip parodyta toliau. Smulkų vienietinės gardelės apibūdinimą galima rasti Stout & Jensen, *X-Ray Structure Determination: A Practical Guide*. MacMillian Co., New York, NY (1968).

A formos vienietinės gardelės parametrai:

Gardelės dimensijos	$a = 14,152(6) \text{ \AA}$ $b = 30,72(2) \text{ \AA}$ $c = 6,212(3) \text{ \AA}$ $tūris = 2701(4) \text{ \AA}^3$
Erdvinė grupė	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ ortorombinė
Molekulių skaičius/vientinėje gardelėje	4
Tankis (apskaičiuotas) (g/cm ³)	1,247
Lydymosi temperatūra	182-185 °C (skyla)

B formos vienietinės gardelės parametrai:

Gardelės dimensijos	$a = 16,675(2) \text{ \AA}$ $b = 28,083(4) \text{ \AA}$ $c = 6,054(1) \text{ \AA}$ $tūris = 2835(1) \text{ \AA}^3$
Erdvinė grupė	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ ortorombinė
Molekulių skaičius/vientinėje gardelėje	4
Tankis (apskaičiuotas) (g/cm ³)	1,187
Lydymosi temperatūra	191-199 °C (skyla)

Skirtumai tarp aptariamo epotilono analogo A ir B formų toliau yra pademonstruoti kiekvienos iš jų kietos būsenos konformacijose, parodytose atitinkamai FIG.8 ir FIG.9, remiantis toliau duotose 4-7 lentelėse pateiktomis dalinėmis atominėmis koordinatėmis.

4 lentelė

I formulės epotilono analogo A formos dalinės atominės koordinatės:

Atomas	X	Y	Z	U11*10e2
C1	0,3879(3)	0,4352(1)	0,5503(9)	60(6)
O1	0,4055(2)	0,4300(1)	0,7435(5)	68(4)
C2	0,2864(3)	0,4340(1)	0,4675(7)	42(6)
C3	0,2696(3)	0,4210(1)	0,2325(7)	56(6)
O3	0,3097(2)	0,4550(1)	0,1027(5)	71(4)
C4	0,1615(3)	0,4154(1)	0,1852(7)	50(6)
C5	0,1289(3)	0,3732(1)	0,2895(8)	58(6)
O5	0,0935(3)	0,3748(1)	0,4713(6)	135(6)
C6	0,1343(3)	0,3296(1)	0,1769(8)	66(6)
C7	0,1503(3)	0,2921(1)	0,3353(8)	84(6)
O7	0,1410(3)	0,2528(1)	0,2127(6)	127(5)
C8	0,2449(4)	0,2936(1)	0,4540(8)	83(7)
C9	0,3284(4)	0,2824(1)	0,3072(9)	81(7)
C10	0,4258(4)	0,2877(1)	0,4141(8)	76(7)
C11	0,4467(3)	0,3359(1)	0,4622(8)	67(6)
C12	0,5220(3)	0,3426(1)	0,6294(8)	53(6)
O12	0,6171(2)	0,3288(1)	0,5612(5)	56(4)
C13	0,5983(3)	0,3746(1)	0,5991(8)	50(6)
C14	0,6099(3)	0,4053(1)	0,4113(8)	47(6)
C15	0,5568(3)	0,4477(1)	0,4538(8)	44(6)
N16	0,4552(3)	0,4426(1)	0,4005(6)	41(5)
C17	0,1482(4)	0,4138(2)	-0,0603(8)	103(7)
C18	0,1043(4)	0,4539(1)	0,2734(8)	62(6)
C19	0,0386(4)	0,3232(2)	0,0572(10)	92(8)
C20	0,2404(5)	0,2630(2)	0,6482(10)	145(9)
C21	0,4974(4)	0,3301(2)	0,8563(9)	109(8)
C22	0,5935(3)	0,4860(1)	0,3281(8)	48(6)
C23	0,5989(4)	0,4515(2)	0,0875(8)	132(8)
C24	0,6154(3)	0,5222(1)	0,4376(8)	59(6)
C25	0,6392(3)	0,5656(1)	0,3573(8)	61(6)
N26	0,6786(3)	0,5941(1)	0,5076(6)	75(6)
C27	0,6902(3)	0,6325(2)	0,4255(8)	59(6)
S28	0,6529(1)	0,6381(1)	0,1655(2)	92(2)
C29	0,6196(4)	0,5646(2)	0,1632(9)	85(7)
C30	0,7292(4)	0,6703(2)	0,5523(10)	106(8)

4 lentelė (tęsinys)

U22*10e2	U33*10e2	U12*10e2	U13*10e2	U23*10e2
25(4)	138(8)	-2(4)	16(5)	-9(4)
85(4)	100(5)	6(3)	4(3)	1(3)
64(5)	106(6)	0(4)	3(4)	-5(4)
44(5)	103(6)	-7(4)	5(4)	13(4)
58(3)	128(4)	-6(3)	18(3)	3(3)
63(5)	112(6)	-12(4)	-3(4)	7(4)
82(6)	103(7)	-6(4)	-13(5)	4(5)
83(4)	144(5)	-16(4)	39(4)	5(3)

LT 5138 B

71(5)	118(6)	-13(5)	-7(4)	-10(4)
43(5)	134(6)	-27(4)	-2(5)	-10(5)
61(4)	163(5)	-34(3)	-17(4)	-9(3)
56(5)	127(6)	-26(5)	-4(5)	3(5)
68(5)	153(7)	-1(5)	-4(5)	-26(5)
56(5)	166(8)	13(5)	-19(5)	-15(5)
61(5)	126(7)	-3(4)	-19(4)	-5(5)
64(5)	138(7)	16(4)	8(5)	-1(5)
61(3)	155(4)	15(3)	8(3)	4(3)
45(5)	162(7)	3(4)	2(5)	-8(5)
63(5)	159(7)	2(4)	5(5)	7(5)
44(5)	143(6)	-4(4)	7(4)	-1(4)
65(4)	106(5)	-3(3)	6(3)	-2(3)
128(7)	104(7)	-29(6)	-10(5)	18(5)
67(5)	164(7)	17(5)	9(5)	12(5)
115(7)	217(10)	-17(6)	-70(7)	-19(7)
114(7)	158(8)	-34(6)	-20(6)	47(6)
92(6)	131(7)	19(5)	10(5)	8(5)
63(5)	122(6)	6(4)	4(5)	-1(5)
78(6)	116(7)	-7(5)	12(5)	-13(5)
55(5)	132(6)	-6(4)	9(5)	7(5)
65(5)	127(7)	-12(4)	8(5)	5(5)
58(5)	129(5)	-9(4)	4(4)	-5(4)
69(6)	128(6)	9(4)	2(5)	7(5)
79(1)	163(2)	-10(1)	-3(1)	20(1)
78(6)	161(8)	-13(5)	-9(6)	3(6)
75(6)	186(8)	-29(5)	-5(6)	-10(6)

5 lentelė

Vandenilio padėtys: A forma

Atomas	X	Y	Z	U*10e2
H21	0,2475(0)	0,4114(0)	0,5659(0)	4,86(0)
H22	0,2576(0)	0,4663(0)	0,4871(0)	4,86(0)
H31	0,3056(0)	0,3905(0)	0,2005(0)	4,59(0)
H3	0,3433(0)	0,4414(0)	-0,0241(0)	5,55(0)
H61	0,1951(0)	0,3304(0)	0,0646(0)	5,55(0)
H71	0,0960(0)	0,2932(0)	0,4607(0)	5,80(0)
H7	0,1332(0)	0,2276(0)	0,3158(0)	7,23(0)
H81	0,2588(0)	0,3266(0)	0,5107(0)	5,85(0)
H91	0,3274(0)	0,3037(0)	0,1672(0)	6,41(0)
H92	0,3217(0)	0,2491(0)	0,2527(0)	6,41(0)
H101	0,4802(0)	0,2743(0)	0,3130(0)	6,34(0)
H102	0,4253(0)	0,2697(0)	0,5663(0)	6,34(0)
H111	0,4687(0)	0,3519(0)	0,3132(0)	5,60(0)
H112	0,3823(0)	0,3519(0)	0,5172(0)	5,60(0)
H131	0,6275(0)	0,3905(0)	0,7410(0)	5,60(0)
H141	0,6837(0)	0,4117(0)	0,3814(0)	5,88(0)
H142	0,5803(0)	0,3901(0)	0,2659(0)	5,88(0)

LT 5138 B

H151	0,5638(0)	0,4542(0)	0,6281(0)	5,35(0)
H16	0,4353(0)	0,4447(0)	0,2429(0)	4,88(0)
H171	0,1722(0)	0,4437(0)	-0,1367(0)	6,90(0)
H172	0,1919(0)	0,3871(0)	-0,1308(0)	6,90(0)
H173	0,0763(0)	0,4077(0)	-0,1076(0)	6,90(0)
H181	0,1273(0)	0,4835(0)	0,1956(0)	6,31(0)
H182	0,0295(0)	0,4491(0)	0,2355(0)	6,31(0)
H183	0,1123(0)	0,4566(0)	0,4436(0)	6,31(0)
H191	0,0370(0)	0,2923(0)	-0,0226(0)	8,78(0)
H192	-0,0186(0)	0,3233(0)	0,1794(0)	8,78(0)
H193	0,0259(0)	0,3491(0)	-0,0525(0)	8,78(0)
H201	0,3050(0)	0,2635(0)	0,7355(0)	8,17(0)
H202	0,1828(0)	0,2733(0)	0,7536(0)	8,17(0)
H203	0,2252(0)	0,2304(0)	0,5923(0)	8,17(0)
H211	0,4260(0)	0,3415(0)	0,8951(0)	6,84(0)
H212	0,4998(0)	0,2955(0)	0,8754(0)	6,84(0)

6 lentelė

I formulės epotilono analogo B formos dalinės atominės koordinatės:

Atomas	X	Y	Z	U11*10e2
C1	0,2316(2)	0,1043(2)	0,7342(8)	56(4)
O1	0,2321(2)	0,1159(1)	0,5376(5)	131(4)
C2	0,1812(2)	0,0623(1)	0,8106(7)	62(4)
C3	0,1535(2)	0,0622(1)	1,0506(7)	52(4)
O3	0,2226(2)	0,0539(1)	1,1856(5)	65(3)
C4	0,0876(2)	0,0237(1)	1,0903(7)	63(4)
C5	0,0096(2)	0,0415(1)	0,9838(8)	57(4)
O5	-0,0132(2)	0,0252(1)	0,8117(6)	100(4)
C6	-0,0409(2)	0,0796(1)	1,1023(6)	53(4)
C7	-0,0754(2)	0,1151(1)	0,9373(9)	60(4)
O7	-0,1316(2)	0,1434(1)	1,0606(7)	79(3)
C8	-0,0135(3)	0,1468(1)	0,8213(8)	75(5)
C9	0,0274(2)	0,1817(1)	0,9812(9)	80(5)
C10	0,0946(3)	0,2107(2)	0,8766(10)	95(5)
C11	0,1389(3)	0,2407(2)	1,0447(11)	97(5)
C12	0,2065(3)	0,2688(2)	0,9440(11)	110(6)
O12	0,2653(2)	0,2862(1)	1,1070(8)	124(4)
C13	0,2894(3)	0,2520(2)	0,9406(10)	104(6)
C14	0,3190(3)	0,2049(2)	1,0281(10)	117(6)
C15	0,3253(3)	0,1676(1)	0,8388(8)	86(5)
N16	0,2738(2)	0,1273(1)	0,8901(7)	64(4)
C17	0,0762(3)	0,0176(2)	1,3416(8)	102(6)
C18	0,1109(2)	-0,0244(1)	0,9909(8)	82(5)
C19	-0,1098(3)	0,0529(2)	1,2197(10)	79(5)
C20	-0,0528(3)	0,1729(2)	0,6272(9)	149(7)
C21	0,1829(4)	0,3056(2)	0,7748(15)	175(9)
C22	0,4128(3)	0,1527(2)	0,7991(8)	80(5)
C23	0,4521(4)	0,1784(3)	0,6109(13)	141(8)
C24	0,4477(3)	0,1216(2)	0,9319(9)	88(5)

LT 5138 B

C25	0,5303(3)	0,1032(2)	0,9346(9)	76(5)
N26	0,5822(2)	0,1091(2)	0,7577(8)	71(5)
C27	0,6498(3)	0,0890(2)	0,7986(10)	98(6)
S28	0,6565(1)	0,0612(1)	1,0487(3)	107(1)
C29	0,5605(3)	0,0785(2)	1,1053(10)	93(6)
C30	0,7206(4)	0,0891(3)	0,6410(12)	102(7)

6 lentelė (tęsinys)

U22*10e2	U33*10e2	U12*10e2	U13*10e2	U23*10e2
75 (5)	86(6)	5(4)	-6(4)	-16(5)
88(3)	74(4)	-24(3)	-13(3)	-7(3)
85(5)	68(5)	-7(4)	-6(4)	-22(5)
67(4)	71(5)	1(3)	-19(4)	-6(4)
123(4)	96(4)	7(3)	-29(3)	-19(4)
75(4)	63(5)	5(4)	-4(4)	-10(4)
61(4)	78(5)	-7(3)	-2(4)	-10(4)
103(4)	100(4)	19(3)	-38(3)	-38(4)
77(4)	92(6)	14(4)	2(5)	-17(5)
11(4)	185(5)	40(3)	22(4)	-10(4)
74(5)	106(6)	4(4)	8(5)	-14(5)
69(4)	136(7)	-10(4)	-1(5)	-19(5)
89(5)	175(8)	-21(4)	15(7)	-27(6)
98(6)	191(9)	-22(5)	27(7)	-48(7)
64(5)	208(9)	-16(5)	10(7)	-28(6)
98(4)	241(7)	-36(3)	30(5)	-77(5)
82(5)	169(9)	-25(5)	23(6)	-38(6)
102(6)	160(8)	-3(5)	-26(6)	-53(6)
74(5)	107(6)	-18(4)	-17(5)	-15(5)
100(4)	98(5)	-26(3)	-13(4)	-19(4)
129(6)	66(5)	-13(5)	-5(5)	10(5)
58(4)	113(6)	13(4)	-11(5)	-9(5)
139(7)	187(9)	1(5)	54(6)	29(7)
116(6)	123(8)	10(6)	-19(6)	22(6)
86(6)	338(15)	-8(6)	0(11)	21(9)
80(5)	108(6)	-29(4)	-5(5)	-6(5)
261(11)	237(13)	28(8)	54(9)	146(11)
111(6)	111(7)	-5(5)	3(5)	21(6)
96(5)	119(7)	-12(4)	2(5)	-2(6)
192(7)	114(6)	2(5)	-6(5)	3(6)
165(7)	125(7)	-5(6)	-13(6)	-19(7)
128(2)	173(2)	12(1)	-25(2)	0(2)
122(6)	166(9)	4(5)	3(6)	43(7)
443(17)	150(10)	45(10)	18(7)	-17(12)

5 lentelė

Vandenilio padėtys: B forma

Atomas	X	Y	Z	U*10e2
H21	0,1283(0)	0,0616(0)	0,7084(0)	4,86(0)
H22	0,2159(0)	0,0306(0)	0,7857(0)	4,86(0)
H31	0,1272(0)	0,0969(0)	1,0910(0)	4,51(0)
H3	0,2243(0)	0,0785(0)	1,3075(0)	6,11(0)
H61	-0,0043(0)	0,0983(0)	1,2199(0)	4,99(0)
H71	-0,1059(0)	0,0964(0)	0,8057(0)	5,69(0)
H7	-0,1609(0)	0,1655(0)	0,9542(0)	7,62(0)
H81	0,0313(0)	0,1244(0)	0,7484(0)	5,58(0)
H91	-0,0180(0)	0,2062(0)	1,0453(0)	6,10(0)
H92	0,0520(0)	0,1619(0)	1,1189(0)	6,10(0)
H101	0,1365(0)	0,1874(0)	0,7953(0)	7,47(0)
H102	0,0691(0)	0,2349(0)	0,7527(0)	7,47(0)
H111	0,0976(0)	0,2651(0)	1,1204(0)	7,74(0)
H112	0,1633(0)	0,2170(0)	1,1686(0)	7,74(0)
H131	0,3308(0)	0,2613(0)	0,8107(0)	7,31(0)
H141	0,3779(0)	0,2094(0)	1,1016(0)	7,61(0)
H142	0,2780(0)	0,1920(0)	1,1530(0)	7,61(0)
H151	0,3046(0)	0,1836(0)	0,6859(0)	5,74(0)
H16	0,2693(0)	0,1161(0)	1,0487(0)	5,71(0)
H171	0,0304(0)	-0,0088(0)	1,3753(0)	6,33(0)
H172	0,1318(0)	0,0064(0)	1,4171(0)	6,33(0)
H173	0,0577(0)	0,0512(0)	1,4165(0)	6,33(0)
H181	0,0633(0)	-0,0501(0)	1,0184(0)	5,58(0)
H182	0,1192(0)	-0,0207(0)	0,8122(0)	5,58(0)
H183	0,1655(0)	-0,0370(0)	1,0628(0)	5,58(0)
H191	-0,1481(0)	0,0774(0)	1,3099(0)	8,04(0)
H192	-0,1459(0)	0,0330(0)	1,1036(0)	8,04(0)
H193	-0,0849(0)	0,0274(0)	1,3402(0)	8,04(0)
H201	-0,0094(0)	0,1955(0)	0,5429(0)	7,89(0)
H202	-0,0763(0)	0,1475(0)	0,5059(0)	7,89(0)
H203	-0,1024(0)	0,1951(0)	0,6816(0)	7,89(0)
H211	0,1596(0)	0,2886(0)	0,6259(0)	11,47(0)
H212	0,1382(0)	0,3292(0)	0,8404(0)	11,47(0)
H213	0,2355(0)	0,3265(0)	0,7267(0)	11,47(0)
H231	0,5051(0)	0,1602(0)	1,0559(0)	6,57(0)
H291	0,5291(0)	0,0702(0)	1,2584(0)	7,73(0)
H301	0,7003(0)	0,0920(0)	0,4744(0)	13,05(0)
H302	0,7623(0)	0,1165(0)	0,6811(0)	13,05(0)
H303	0,7525(0)	0,0542(0)	0,6572(0)	13,05(0)

Remiantis aukščiau duotais duomenimis daroma išvada, kad A ir B formos yra unikalios kristalinės modifikacijos.

Toliau duodami pavyzdžiai yra skirti išradimo praktikai pailiustruoti.

1 pavyzdys

[1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-Dihidroksi-8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etenil]-4-aza-17-oksabicyklo[14.1.0]-heptadekan-5,9-dionas

Į 125 ml talpos apvaliadugnę kolbą su apvalkalu, sujungtą su mechaniniu maišikliu, pridedama epotilono-B (5,08 g), tetrabutilamonio azido (Bu_4NN_3) (3,55 g, 1,25 ekv.), amonio chlorido (1,07 g, 2 ekv.), vandens (1,8 ml, 10 ekv.), tetrahidrofurano (THF) (15 ml) ir N,N-dimetilformamido (DMF) (15 ml). Per mišinį 15 minučių prie paviršiaus leidžiamas dujinis azotas, kad būtų inertinė atmosfera. Į kitą kolbą įpilama tetrahidrofurano (70 ml), po to trimetilfosfino (PMe_3) (1,56 ml, 1,5 ekv.), po to tris(dibenzilidenacetono)-dipaladžio(0)-chloroformo adukto ($\text{Pd}(\text{dba})_3\text{CHCl}_3$) (0,259 g, 0,025 ekv.). Katalizatoriaus mišinys maišomas 20 min. kambario temperatūroje, po to sudedamas į epotilono-B mišinį. Sumaišytas mišinys maišomas 4,5 val. 30 °C temperatūroje. Pabaigus maišyti, reakcijos mišinys nufiltruojamas, kad būtų atskiriamas kietas amonio chloridas (NH_4Cl). Filtrate yra ($\beta\text{S},\varepsilon\text{R},\zeta\text{S},\eta\text{S},2\text{R},3\text{S}$)-3-[(2S,3E)-2-amino-3-metil-4-(2-metil-4-tiazolil)-3-butenil]- β,ζ -dihidroksi- $\gamma,\gamma,\varepsilon,\eta$ -2-pentametil- δ -oksooksiranundekanoinės rūgšties tetrabutilamonio druska (1:1), kurios HPLC smailės plotas atitinka 94,1 %.

Į 500 ml talpos kolbą įdedama 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilkarbodiimido hidrochlorido (EDCI) (3,82 g, 2 ekv.), 1-hidroksi-7-benzotriazolo hidrato (HOBt) (1,68 g, 1,1 ekv.), kalio karbonato (1,38 g, 1 ekv.), N,N-dimetilformamido (DMF) (40 ml) ir tetrahidrofurano (THF) (160 ml). Mišinys sušildomas iki 35 °C ir į jį per 3 valandas sulašinamas aukščiau aprašytas filtratas. Po to šis mišinys maišomas dar 1 valandą 35 °C temperatūroje. Tada reakcijos mišinys distiliuojamas vakuume, sumažinant tūrį iki maždaug 80 ml. Gautas tirpalas paskirstomas tarp 100 ml etilacetato ir 100 ml vandens. Vandėninis sluoksnis vėl ekstrahuojamas 100 ml etilacetato. Sumaišyti organiniai sluoksniai ekstrahuojami 50 ml vandens, po to 20 ml sotaus NaCl tirpalo. Gautas produkto tirpalas nufiltruojamas per Zeta Plus® sluoksnelį ir nugarinamas gaunant alyvą. Ši negryna alyva ištirpinama

dichlormetane (20 ml) ir plaunama vandeniu, kad būtų pašalinami sintezės tirpiklių pėdsakai, ir nugarinus gaunama kieta medžiaga. Ši negryna kieta medžiaga chromatografuojama per silikagelį 60 (35 ml silikagelio gramui teorinio produkto kiekio), eluentu naudojant mišinį, susidedantį iš 88 % dichlormetano (CH_2Cl_2), 10-30 % etilacetato (EtOAc) ir 2 % trietilamino (Et_3N). Frakcijos analizuojamos HPLC metodu; gryniausios frakcijos sumaišomos, ir nugarinus gaunama išgryninta kieta medžiaga. Gauta kieta medžiaga (maždaug 2 g) sudedama į etilacetatą (32 ml), palaikoma 40 min. 75 °C temperatūroje, po to lėtai pridedama cikloheksano (C_6H_{12}) (16 ml) ir mišinys atšaldomas iki 5 °C. Išgryninta kieta medžiaga surenkama ant filtro popieriaus, perplaunama šaltu etilacetatu/cikloheksanu ir išdžiovinama. Šio balto kieto produkto, **[1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-dihidroksi-8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etenil]-4-aza-17-oksabicyklo[14.1.0]-heptadekan-5,9-diono**, išeiga buvo 1,72 g (38 %); jo HPLC smailės plotas atitiko 99,2 %.

2 pavyzdys

[1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-Dihidroksi-8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etenil]-4-aza-17-oksabicyklo[14.1.0]-heptadekan-5,9-dionas, A forma

Į 250 ml talpos trigurklę kolbą įdedama 0,61 g titulinio junginio, kuris buvo grynintas (nufiltruota per silikagelio sluoksnį, eluentu naudojant EtOAc /heksaną/ Et_3N , HPLC smailės plotas 96,88), ir įpilama etilacetato (28 ml, 46 ml/1 g). Gauta suspensija kaitinama iki 75 °C. Pamašius suspensiją 75 °C temperatūroje 60 min., ištirpsta visos kietos medžiagos. Gautas tirpalas atšaldomas nuo 75 °C iki 50 °C per 120 min. ir 60 °C temperatūroje pridedama A formos kristalikių. Kristalai pasirodo 55 °C temperatūroje. Po to per 120 min. atšaldoma iki 20 °C temperatūros ir per 60 minučių į šį mišinį sulašinamas cikloheksanas (35 ml, 57 ml/1 g). Gauta suspensija per 120 min. atšaldoma iki -10 °C ir palaikoma dar 60 minučių. Ši suspensija nufiltruojama ir išdžiovinus susidariusius baltus kristalus gaunama 0,514 g titulinio junginio A formos (84,3 % išeiga), kurios HPLC smailė atitinka 99,4 plotą.

A forma – Kita metodika

Į 250 ml talpos trigurklę kolbą įdedama 0,51 g titulinio junginio, kuris buvo grynintas (nufiltruota per silikagelio sluoksnį, eliuentu naudojant EtOAc/heksaną/ Et_3N , HPLC smailės plotas 96), ir įpilama etilacetato (8,5 ml, 16,7 ml/1 g). Gauta suspensija kaitinama iki 80 °C. Gautas tirpalas atšaldomas nuo 80 °C iki 70 °C per 60 min. ir 70 °C temperatūroje pridedama A formos kristalikių. Po to per 180 min. atšaldoma iki 30 °C temperatūros. Kristalai pasirodo 65 °C temperatūroje. Tirpalas toliau šaldomas iki –10 °C per 180 minučių ir per 30 minučių į šį mišinį sulašinamas cikloheksanas (10,2 ml, 20 ml/1 g). Gauta suspensija palaikoma atšaldyta dar 60 min. Ši suspensija nufiltruojama ir išdžiovinus susidariusius baltus kristalus gaunama 0,43 g titulinio junginio A formos (84,3 % išeiga), kurios HPLC smailė atitinka 99,7 plotą.

A forma – Kita metodika

Į 500 ml talpos trigurklę kolbą įdedama 18,3 g A ir B formų mišinio, kuris buvo grynintas (nufiltruota per silikagelio sluoksnį, eliuentu naudojant EtOAc/dichlormetaną/ Et_3N , HPLC smailės plotas 99), ir įpilama etilacetato (183 ml, 10 ml/1 g). Gauta suspensija kaitinama iki 75 °C, pridedama A formos kristalikių ir temperatūra palaikoma 30 minučių. Į šį mišinį, laikant 70 °C temperatūrą, sulašinamas cikloheksanas (90,2 ml, 5 ml/1 g). Pabaigus lašinti, temperatūra sumažinama iki 20 °C ir mišinys laikomas maišant dar 18 valandų. Po to temperatūra sumažinama iki 5 °C ir laikoma 5 valandas. Suspensija nufiltruojama ir išdžiovinus susidariusius baltus kristalus gaunama 16,1 g titulinio junginio A formos (88 % išeiga), kurios HPLC smailė atitinka 99,49 plotą.

3 pavyzdys

[1S-[1R*,3R*(E),7R*,10S*,11R*,12R*,16S*]]-7,11-Dihidroksi-8,8,10,12,16-pentametil-3-[1-metil-2-(2-metil-4-tiazolil)etenil]-4-aza-17-oksabicyklo[14.1.0]-heptadekan-5,9-dionas, B forma

Į 250 ml talpos trigurklę kolbą įdedama 0,108 g titulinio junginio, kuris nebuvo grynintas kaip 2 pavyzdyje, N,N-dimetilformamido (0,0216 g) ir įpilama etilacetato (5 ml, 46 ml/1 g). Gauta suspensija kaitinama iki 80 °C ir maišoma 30 min., kad ištirptų visos kietos medžiagos. Gautas tirpalas atšaldomas nuo 80 °C iki 30 °C per 120 min.; 38 °C temperatūroje pasirodo kristalai. Į mišinį per 30 min. sulašinamas cikloheksanas (7,5 ml, 69,5 ml/1 g), per 60 minučių atšaldoma iki -10 °C ir palaikoma dar 120 minučių. Ši suspensija nufiltruojama ir išdžiovinus susidariusius baltus kristalus gaunama 0,082 g titulinio junginio B formos (76 % išeiga), kurios HPLC smailė atitinka 99,6 plotą.

B forma – Kita metodika

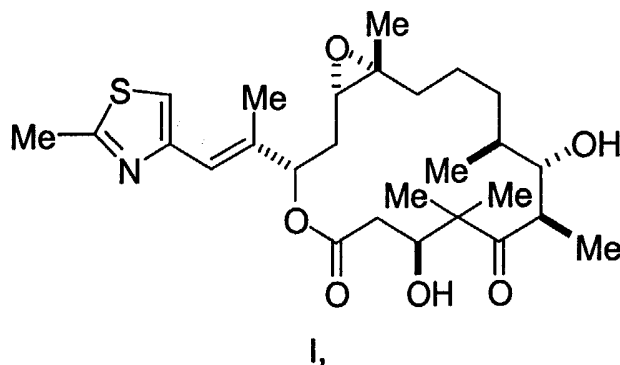
Į 250 ml talpos trigurklę kolbą įdedama 0,458 g titulinio junginio, kuris nebuvo grynintas kaip 2 pavyzdyje ir turėjo apie 6 % N,N-dimetilformamido, ir įpilama etilacetato (10 ml, 21,8 ml/1 g). Gauta suspensija kaitinama iki 78 °C ir maišoma 30 min., kad ištirptų visos kietos medžiagos. Gautas tirpalas atšaldomas nuo 78 °C iki 10 °C per 120 min.; 10 °C temperatūroje pridedama A formos kristalikių. Į mišinį per 60 min. sulašinamas cikloheksanas (20 ml, 43,7 ml/1 g), per 120 minučių atšaldoma iki -10 °C ir palaikoma dar 120 minučių. Ši suspensija nufiltruojama ir išdžiovinus susidariusius baltus kristalus gaunama 0,315 g titulinio junginio B formos (68,8 % išeiga), kurios HPLC smailė atitinka 98,2 plotą.

B forma – Kita metodika

Į 5ml talpos Wheaton'o butelį įdedama 250 mg titulinio junginio, kuris nebuvo grynintas kaip 2 pavyzdyje, ir tolueno (3,75 ml, 15 ml/g), gauta suspensija pašildoma iki 75 °C ir laikoma 30 min. Gautai suspensijai leidžiama atvėsti iki 20 °C ir maišant laikoma šioje temperatūroje 18 valandų. Suspensija nufiltruojama ir išdžiovinus susidariusius baltus kristalus gaunama 150 mg titulinio junginio B formos (60 % išeiga), kurios HPLC smailė atitinka 99,2 plotą.

Išradimo apibrėžtis

1. Epotilono analogo, kurio formulė



kristalinė polimorfinė forma, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji yra A forma, kuriai būdingi:

vienetinės gardelės parametrai, maždaug lygūs tokioms reikšmėms:

gardelės dimensijos	$a = 14,152(6) \text{ \AA}$
	$b = 30,72(2) \text{ \AA}$
	$c = 6,212(3) \text{ \AA}$
	tūris = $2701(4) \text{ \AA}^3$
erdvinė grupė	$P2_12_12_1$
	ortorombinė
molekulių skaičius/vientinėje gardelėje	4
tankis (apskaičiuotas) (g/cm^3)	1,247
lydymosi temperatūra	182-185 °C (skyla); ir

charakteringos smailės miltelių Rentgeno spindulių difraktogramoje, turinčios du teta reikšmes ($\text{CuK}\alpha \lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ 22 °C temperatūroje): 5,69, 6,76, 8,38, 11,43, 12,74, 13,62, 14,35, 15,09, 15,66, 16,43, 17,16, 17,66, 18,31, 19,03, 19,54, 20,57, 21,06, 21,29, 22,31, 23,02, 23,66, 24,18, 24,98, 25,50, 26,23, 26,46, 27,59, 28,89, 29,58, 30,32, 31,08 ir 31,52; arba

B forma, kuriai būdingi:

vienetinės gardelės parametrai, maždaug lygūs tokioms reikšmėms:

gardelės dimensijos	$a = 16,675(2) \text{ \AA}$
	$b = 28,083(4) \text{ \AA}$
	$c = 6,054(1) \text{ \AA}$
	tūris = $2835(1) \text{ \AA}^3$

erdvinė grupė

P2₁2₁2₁

ortorombinė

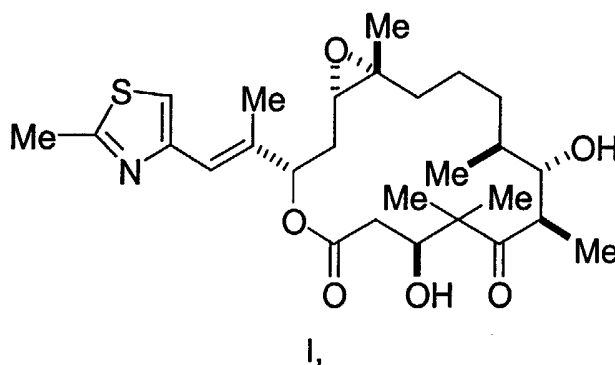
molekulių skaičius/vientinėje gardelėje 4

tankis (apskaičiuotas) (g/cm³) 1,187

lydymosi temperatūra 191-199 °C (skyla); ir

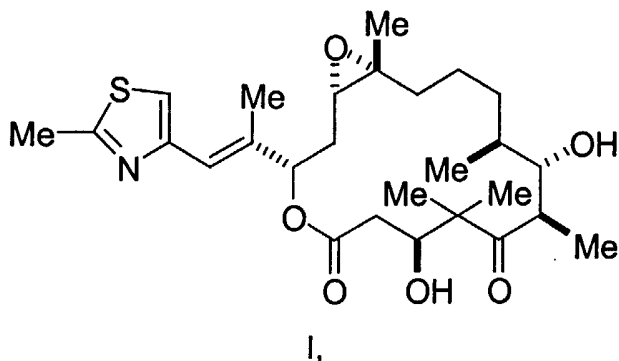
charakteringos smailės miltelių Rentgeno spindulių difraktogramoje, turinčios du teta reikšmes (CuK α λ = 1,5406 Å 22 °C temperatūroje): 6,17, 10,72, 12,33, 14,17, 14,93, 15,88, 16,17, 17,11, 17,98, 19,01, 19,61, 20,38, 21,55, 21,73, 22,48, 23,34, 23,93, 24,78, 25,15, 25,90, 26,63, 27,59, 28,66, 29,55, 30,49 ir 31,22.

2. Epotilono analogo, kurio formulė:



kristalinė polimorfinė forma, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji yra A forma, kuriai būdinga miltelių Rentgeno spindulių difraktograma, iš esmės tokia, kaip parodyta FIG.1, ir Ramano spektras, iš esmės toks, kaip parodytas FIG.5; arba B forma, kuriai būdinga miltelių Rentgeno spindulių difraktograma, iš esmės tokia, kaip parodyta FIG.2, ir Ramano spektras, iš esmės toks, kaip parodytas FIG.6.

3. Epotilono analogo, kurio formulė:



kristalinė polimorfinė forma, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji yra A forma, kuriai yra būdingas 0,1254 tirpumas vandenyje, 0,2511 tirpumas 3 % vandeniniame

polisorbato 80 tirpale, 182-185 °C lydymosi temperatūra su medžiagos skilimu ir 20,6 kJ/mol tirpimo šiluma; arba yra B forma, kuriai yra būdingas 0,1907 tirpumas vandenyje, 0,5799 tirpumas 3 % vandeniniame polisorbato 80 tirpale, 191-199 °C lydymosi temperatūra su medžiagos skilimu ir 9,89 kJ/mol tirpimo šiluma.

4. Kristalinė polimorfinė forma pagal 1, 2 arba 3 punktą, kuri yra A forma.

5. Kristalinė polimorfinė forma pagal 1, 2 arba 3 punktą, kuri yra B forma.

6. Kristalinė medžiaga, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji yra A formos ir B formos pagal 1, 2 arba 3 punktą mišinys.

7. Kristalinės polimorfinės formos, kuri yra I formulės epotilono analogo A forma, gavimo būdas, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis apima minėto I formulės analogo suspensijos nuo maždaug 8 iki maždaug 16 ml etilacetato gramui minėto analogo šildymą maždaug 75°C temperatūroje, palaikant temperatūrą maždaug vieną valandą, cikloheksano pridėjimą santykiu su etilacetatu nuo maždaug 1:2 iki maždaug 2:2, leidimą mišiniui atvėsti iki kambario temperatūros, mišinio palaikymą maišant nuo maždaug 12 iki 96 valandų, tolesnį mišinio atšaldymą iki maždaug 5°C per maždaug dvi valandas ir kristalinės A formos išskyrimą iš šio mišinio.

8. Būdas pagal 7 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad cikloheksano pridedama santykiu 1:2 su suspensijai gauti naudojamu etilacetato kiekiu.

9. Būdas pagal 7 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad minėto I formulės analogo suspensija etilacetate yra šildoma iki maždaug 75°C, į ją pridedama kristaliklių ir mišinys išlaikomas maždaug 30 minučių, o po to į jį pridedamas minėtas kiekis cikloheksano, laikant mišinį maždaug 70°C temperatūroje, mišinys atvėsinaamas iki kambario temperatūros, palaikoma maišant mišinį maždaug 18 valandų, toliau atšaldoma iki maždaug 5°C per maždaug 2 valandas ir iš jo išskiriama kristalinė A forma.

10. Būdas pagal 7 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad minėto I formulės analogo suspensija etilacetate yra šildoma iki maždaug 75°C mažiausiai valandą, kol susidaro tirpalas, šis tirpalas atvėsinaamas iki maždaug 50°C per maždaug dvi valandas, į jį pridedama kristaliklių, kai temperatūra pasiekia maždaug 60 °C, tirpalas atšaldomas iki maždaug 30 °C

per tris valandas, toliau mažinama tirpalo temperatūra iki -10°C per maždaug tris valandas ir šiame laikotarpyje per vieną valandą į tirpalą sulašinamas minėtas kiekis cikloheksano, gautas mišinys palaikomas -10°C temperatūroje maždaug vieną valandą ir iš jo išskiriama kristalinė A forma.

11. Kristalinės polimorfinės formos, kuri yra I formulės epotilono analogo B forma, gavimo būdas, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis apima minėto I formulės analogo suspensijos nuo maždaug 40 iki maždaug 50 ml etilacetato gramui minėto analogo šildymą nuo maždaug 75°C iki 80°C temperatūroje, palaikant temperatūrą maždaug vieną valandą ir tokiu būdu gaunant tirpalą, tirpalo išlaikymą šioje temperatūroje maždaug 30 minučių, tirpalo atvėsšinimą iki maždaug 30°C per maždaug dvi valandas, tolimesnį tirpalo temperatūros sumažinimą iki -10°C per maždaug vieną valandą, kurios metu per 30 minučių sulašinamas toks kiekis cikloheksano, kad jo santykis su etilacetatu būtų nuo maždaug 1:2 iki maždaug 2:2, gauto mišinio palaikymą -10°C temperatūroje maždaug dvi valandas ir kristalinės B formos išskyrimą iš šio mišinio.

12. Būdas pagal 11 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad minėto I formulės analogo suspensija etilacetate yra šildoma iki maždaug 78°C tokiu būdu gaunant tirpalą, šis tirpalas atšaldomas iki maždaug 10°C per maždaug dvi valandas, pridėdama kristaliklių, kai temperatūra pasiekia 10°C , toliau mažinama temperatūra iki -10°C maždaug per dvi valandas, kurių metu per maždaug 30 minučių į jį sulašinamas minėtas kiekis cikloheksano, gautas mišinys išlaikomas -10°C temperatūroje maždaug dvi valandas ir iš jo išskiriama kristalinė B forma.

13. Kristalinės polimorfinės formos, kuri yra I formulės epotilono analogo B forma, gavimo būdas, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis apima minėto I formulės analogo suspensijos nuo maždaug 10 iki maždaug 20 ml tolueno gramui minėto analogo šildymą nuo maždaug 75°C iki 80°C temperatūroje, palaikant temperatūrą maždaug 30 minučių, mišinio atvėsšinimą iki maždaug 20°C , šios temperatūros palaikymą maišant maždaug 18 valandų ir kristalinės B formos išskyrimą.

14. Farmacinė kompozicija, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad kaip veiklusis ingredientas į ją įeina efektyvus kiekis kristalinės polimorfinės formos pagal 1,

2 arba 3 punktą ir vienas arba daugiau farmaciškai priimtinių nešiklių, pagalbinių medžiagų arba skiediklių.

15. Farmacinė kompozicija pagal 14 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėta kristalinė polimorfinė forma yra A forma.

16. Farmacinė kompozicija pagal 14 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėta kristalinė polimorfinė forma yra B forma.

17. Farmacinė kompozicija pagal 14 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėta kristalinė polimorfinė forma yra A formos ir B formos mišinys.

18. Kristalinė polimorfinė forma pagal 1, 2 arba 3 punktą, skirta panaudoti gydymui vėžio arba kitų proliferacinių ligų, skiriant jos efektyvų kiekį tokio gydymo reikalingam žinduoliui.

19. Kristalinė polimorfinė forma pagal 18 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėta kristalinė polimorfinė forma yra A forma.

20. Kristalinė polimorfinė forma pagal 18 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėta kristalinė polimorfinė forma yra B forma.

21. Kristalinė polimorfinė forma pagal 18 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad minėta kristalinė polimorfinė forma yra vartojama parenteriniu būdu.

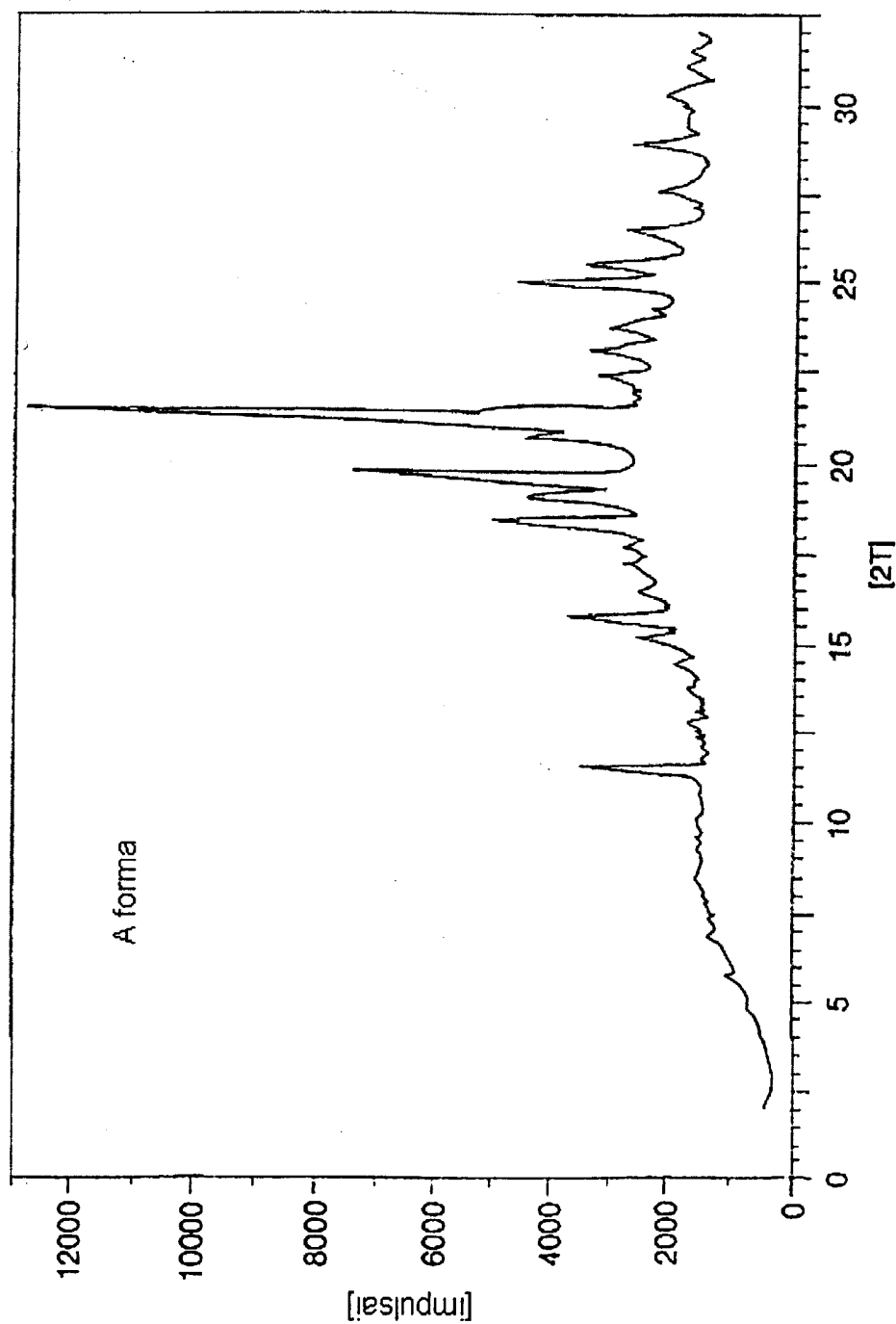


FIG. 1

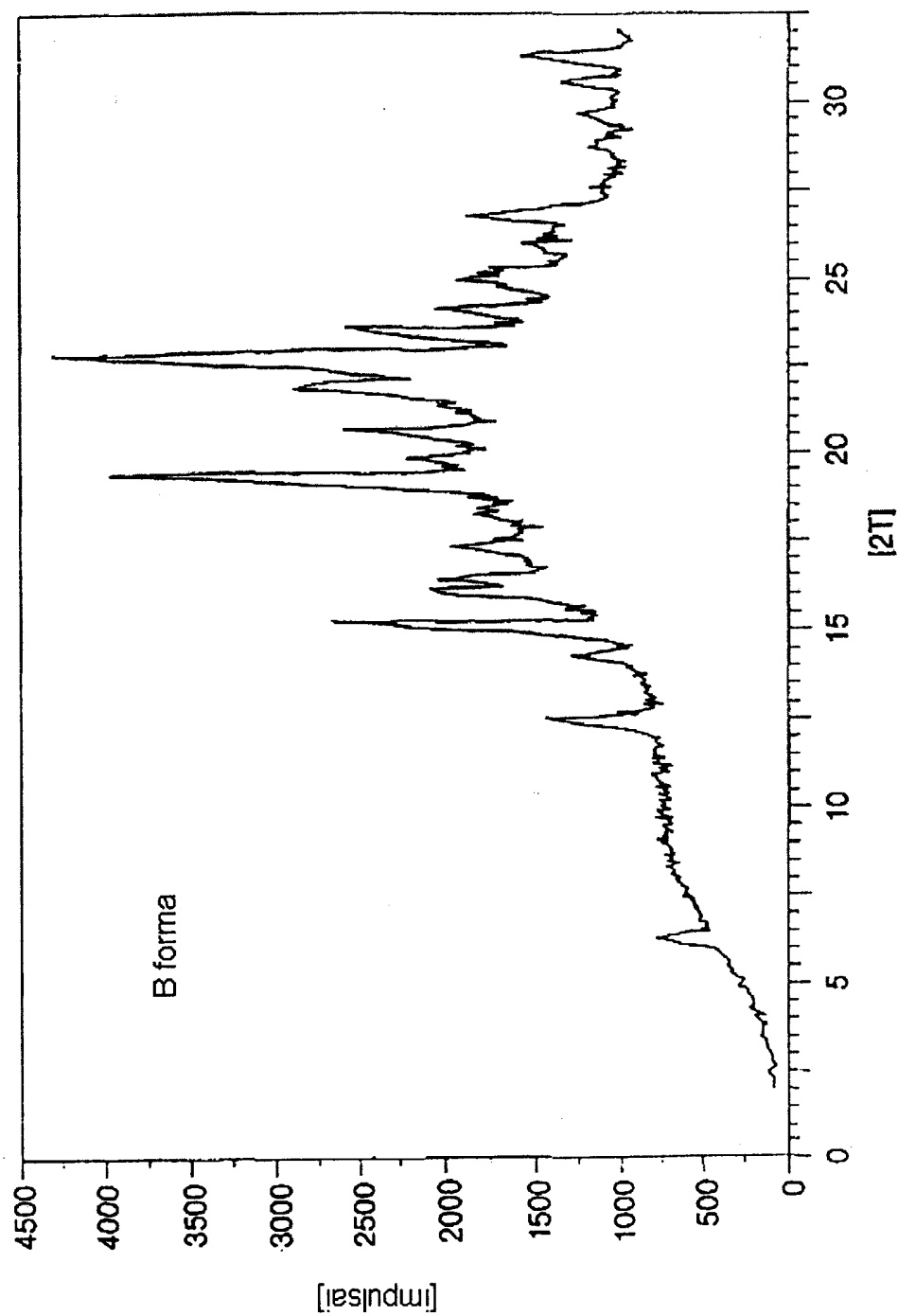


FIG. 2

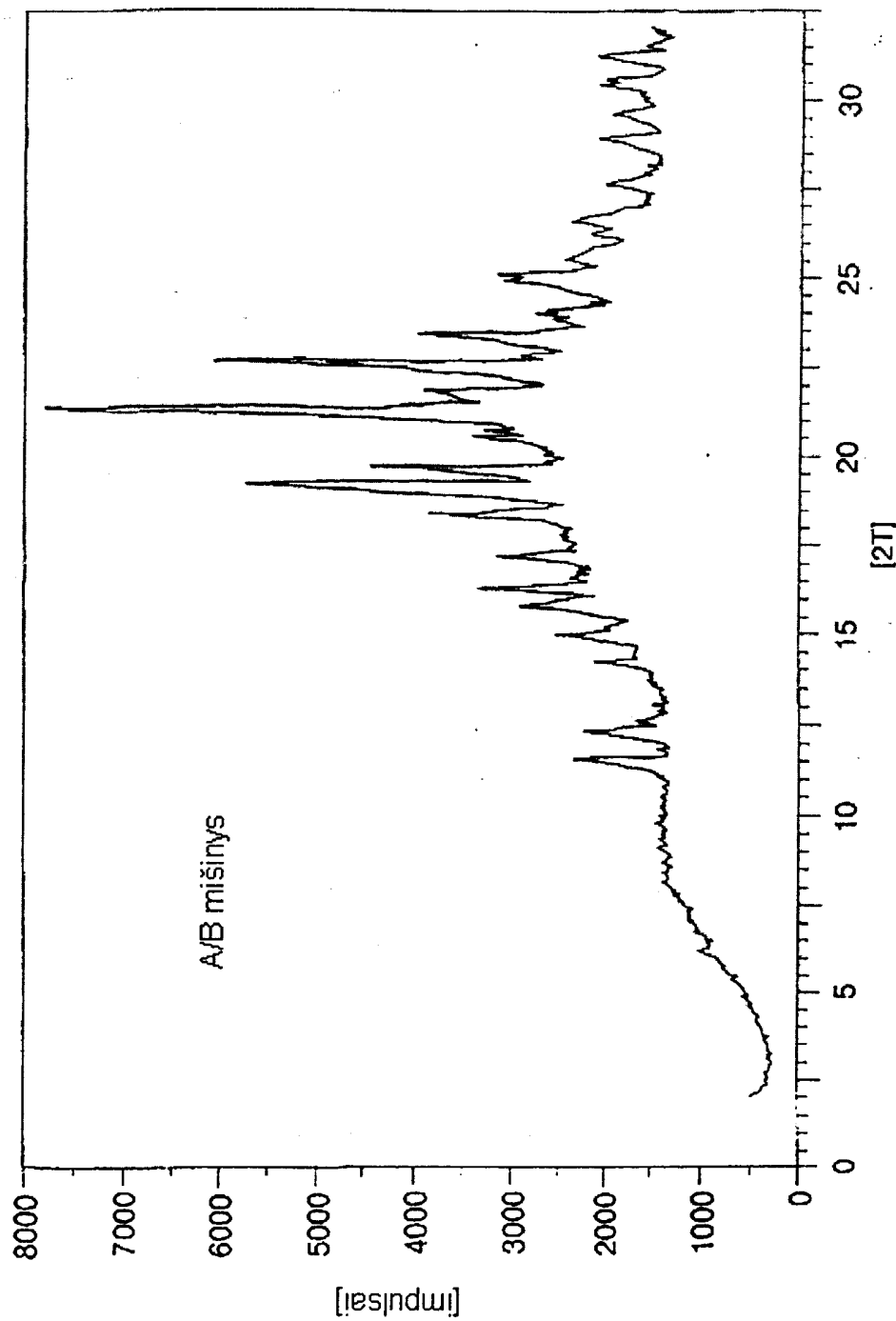


FIG. 3

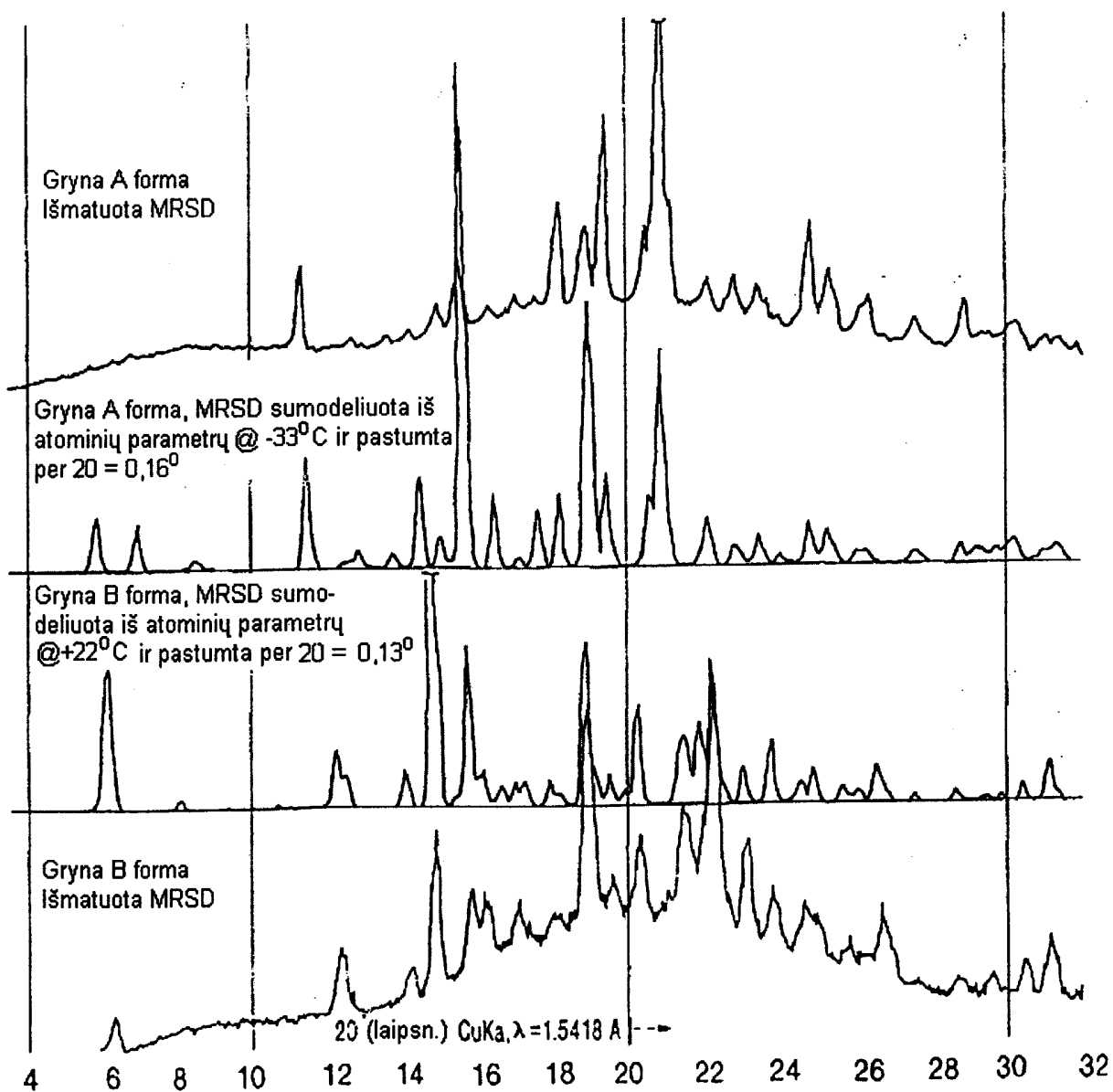


FIG. 4

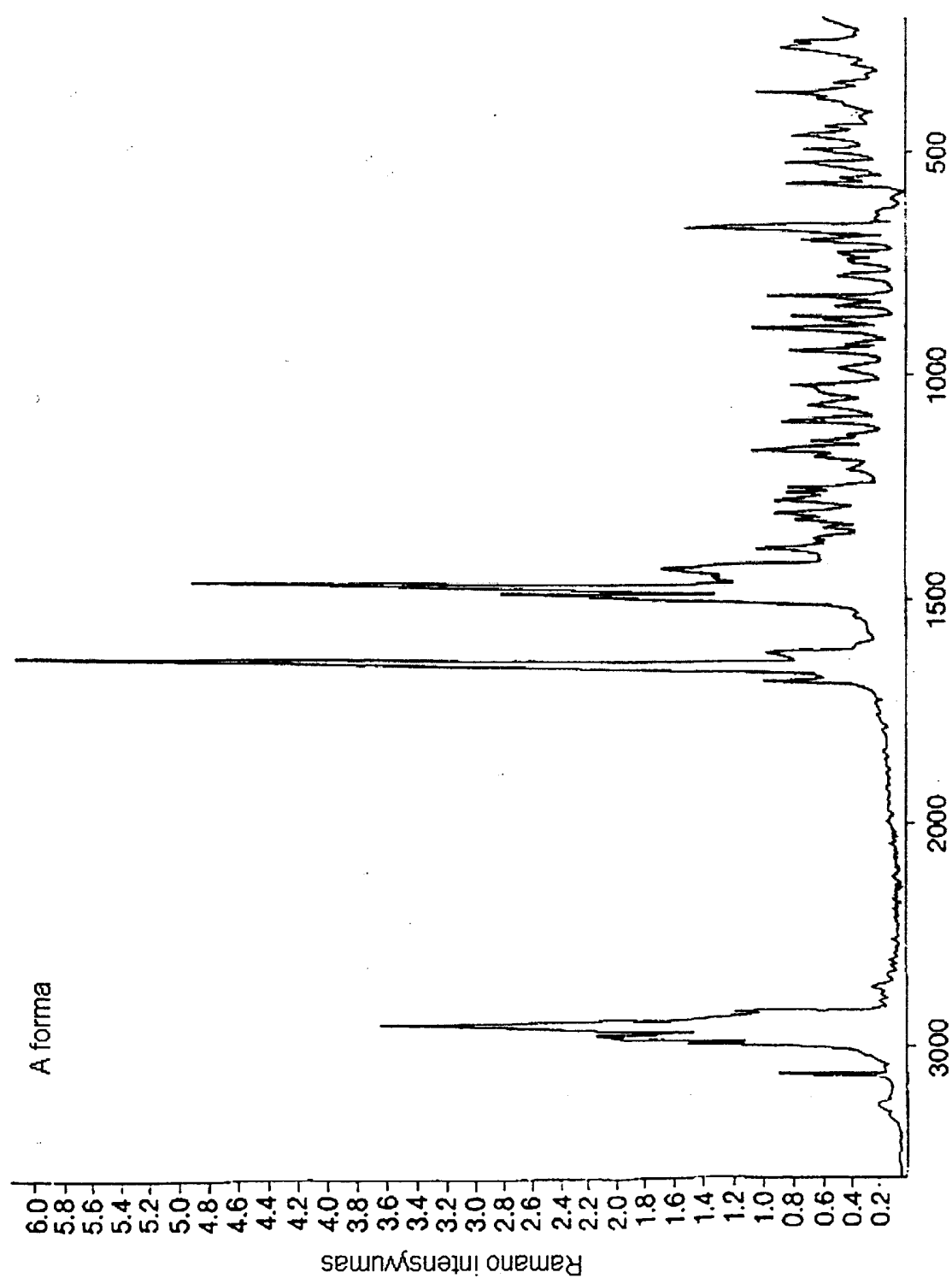


FIG. 5

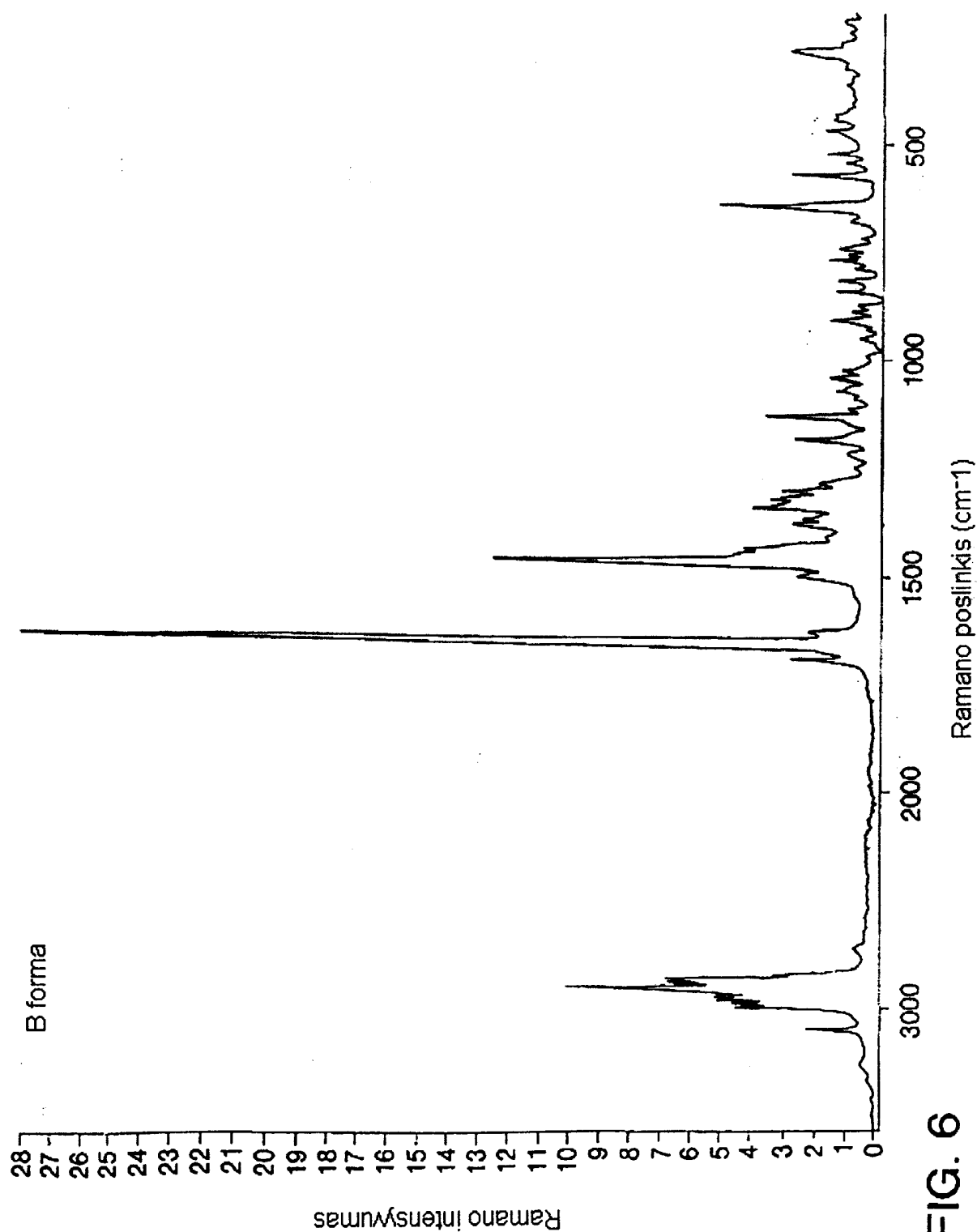
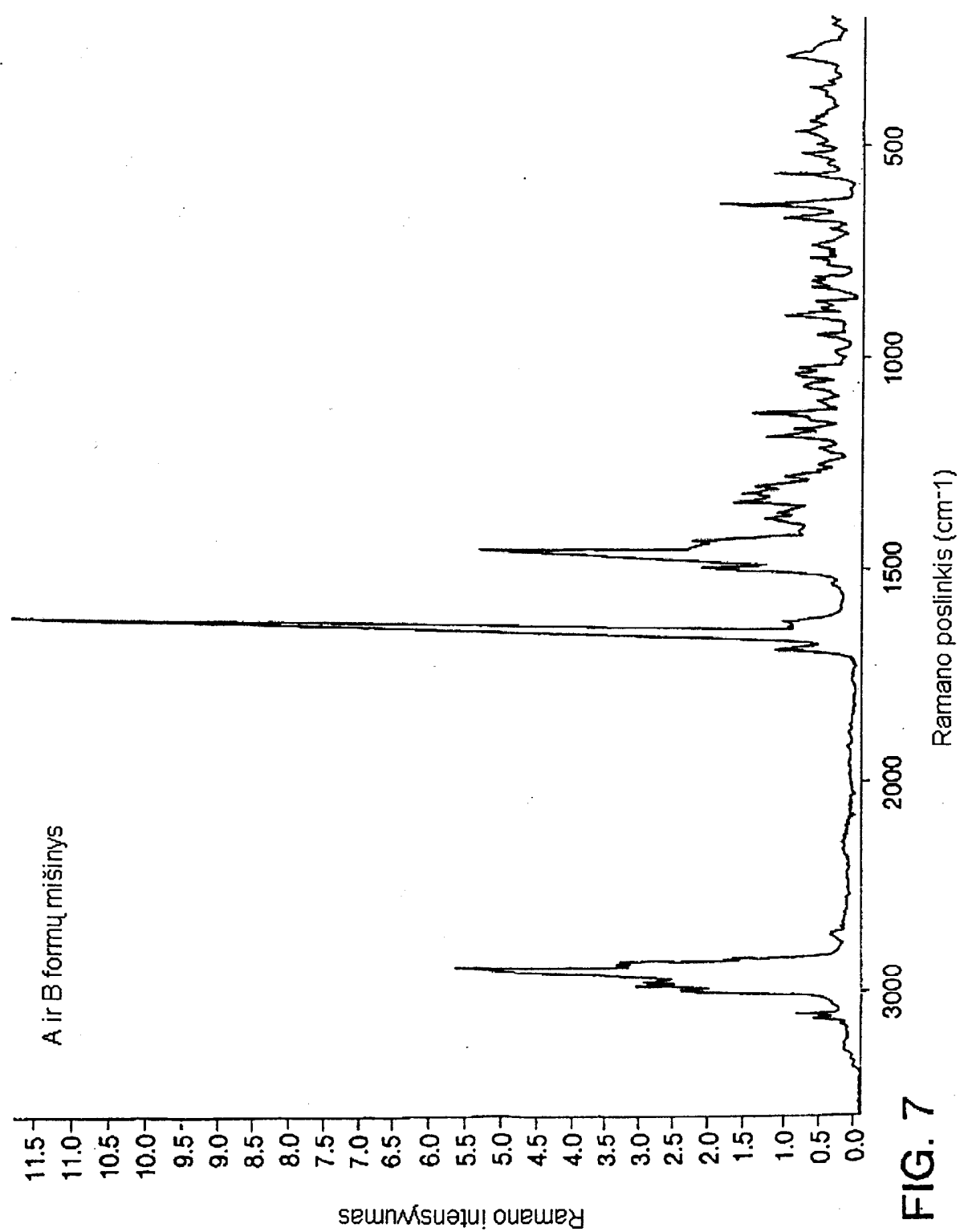
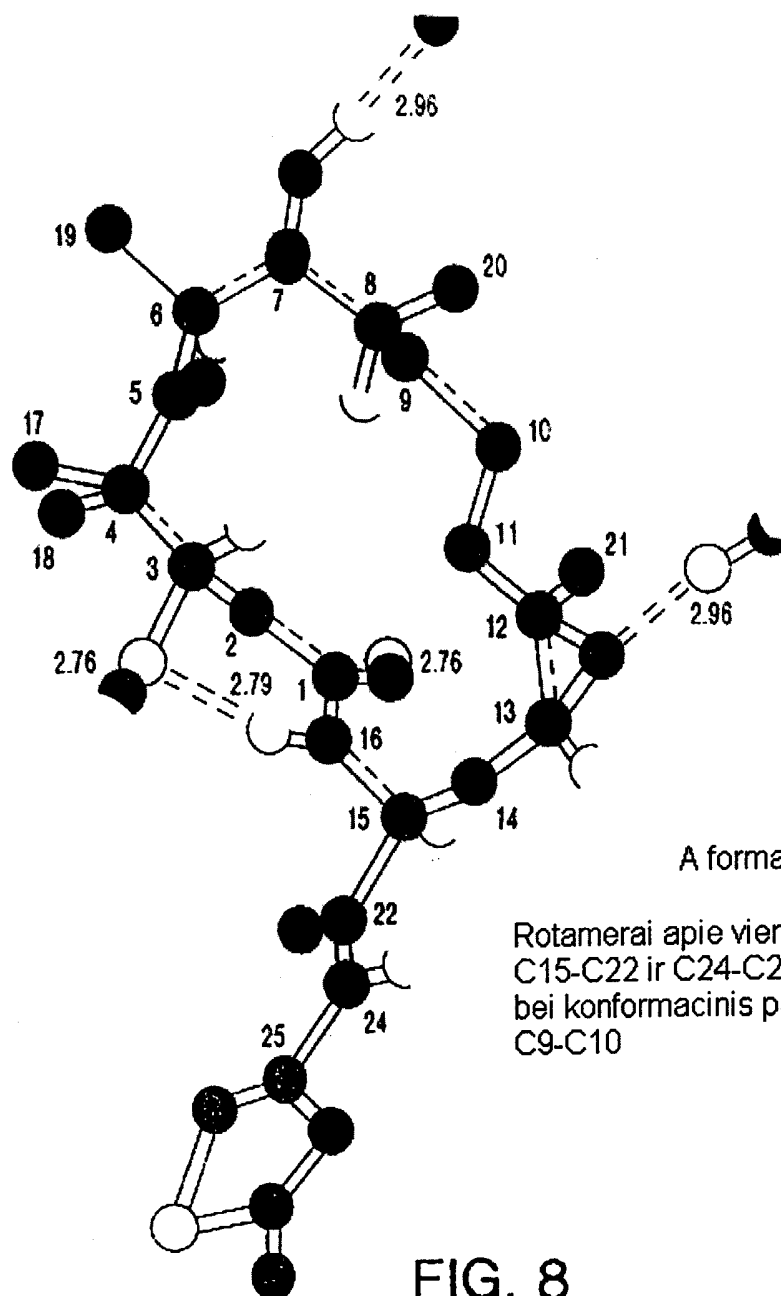
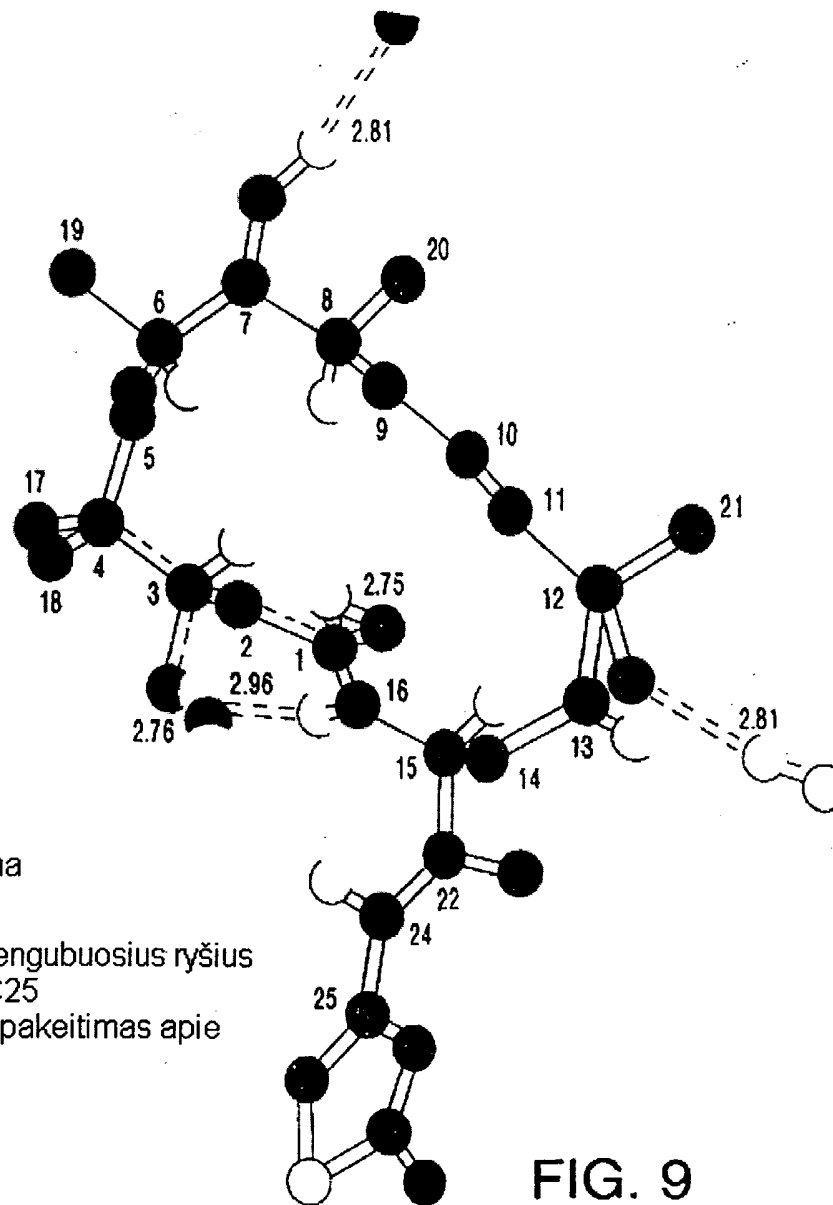


FIG. 6







B forma

Rotamerai apie viengubuosius ryšius
C15-C22 ir C24-C25
bei konformacinis pakeitimas apie
C9-C10

FIG. 9