

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-530703

(P2004-530703A)

(43) 公表日 平成16年10月7日(2004.10.7)

(51) Int.Cl.⁷

C07H 17/00
// A61K 31/7052
A61P 31/04
A61P 33/00
C07M 7:00

F I

C O 7 H 17/00
A 6 1 K 31/7052
A 6 1 P 31/04
A 6 1 P 33/00
C O 7 M 7:00

テーマコード (参考)

4 C O 5 7
4 C O 8 6

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 109 頁)

(21) 出願番号 特願2002-591516 (P2002-591516)
(86) (22) 出願日 平成14年5月1日 (2002.5.1)
(85) 翻訳文提出日 平成15年11月21日 (2003.11.21)
(86) 国際出願番号 PCT/IB2002/001570
(87) 国際公開番号 W02002/094843
(87) 国際公開日 平成14年11月28日 (2002.11.28)
(31) 優先権主張番号 60/292, 565
(32) 優先日 平成13年5月22日 (2001.5.22)
(33) 優先権主張国 米国 (US)
(31) 優先権主張番号 60/297, 741
(32) 優先日 平成13年6月12日 (2001.6.12)
(33) 優先権主張国 米国 (US)
(31) 優先権主張番号 60/343, 041
(32) 優先日 平成13年12月21日 (2001.12.21)
(33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 397067152
ファイザー・プロダクツ・インク
アメリカ合衆国コネチカット州グロトン市
イースタン・ポイント・ロード
(74) 代理人 100099759
弁理士 青木 篤
(74) 代理人 100077517
弁理士 石田 敬
(74) 代理人 100087413
弁理士 古賀 哲次
(74) 代理人 100127085
弁理士 越阪部 倫子
(74) 代理人 100082898
弁理士 西山 雅也

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 結晶形アジスロマイシン

(57) 【要約】

本発明は、新規な結晶形アジスロマイシン、及び感染症の治療に有用な抗生物質に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の：

D 形、E 形、実質的に純粋な F 形、実質的に純粋な G 形、H 形、J 形、アジスロマイシン二水和物が実質的に存在しない M 形、N 形、O 形、P 形、Q 形、及び R 形から成る群から選ばれる結晶形アジスロマイシン。

【請求項 2】

前記形態が D 形であり、かつ、さらに ^{13}C 固形 NMR スペクトルがほぼ 178.1 ppm 、 103.9 ppm 、 95.1 ppm 、 84.2 ppm 、 10.6 ppm 、 9.0 ppm 及び 8.6 ppm の化学シフトのピークを有することに特徴を有する、請求項 1 に記載の結晶形アジスロマイシン。 10

【請求項 3】

前記形態が、E 形である、請求項 1 に記載の結晶形アジスロマイシン。

【請求項 4】

前記形態が実質的に純粋な F 形であり、かつ、さらに ^{13}C 固形 NMR スペクトルがほぼ 179.5 ppm 、 178.6 ppm 、 58.0 ppm 、 10.1 ppm 、 9.8 ppm 、 9.3 ppm 、 7.9 ppm 及び 6.6 ppm の化学シフトのピークを有することに特徴を有する、請求項 1 に記載の結晶形アジスロマイシン。

【請求項 5】

前記アジスロマイシンが、90 重量%以上の F 形アジスロマイシンを含む、請求項 4 に記載の結晶形アジスロマイシン。 20

【請求項 6】

前記形態が実質的に純粋な G 形であり、かつ、さらに ^{13}C 固形 NMR スペクトルがほぼ 179.5 ppm 、 10.4 ppm 、 9.9 ppm 、 9.3 ppm 、 7.6 ppm 及び 6.5 ppm の化学シフトのピークを有することに特徴を有する、請求項 1 に記載の結晶形態。

【請求項 7】

前記アジスロマイシンが、90 重量%以上の G 形アジスロマイシンを含む、請求項 6 に記載の結晶形アジスロマイシン。

【請求項 8】

前記形態が H 形であり、かつ、さらに ^{13}C 固形 NMR スペクトルがほぼ 179.5 ppm 、 178.7 ppm 、 9.9 ppm 、 9.1 ppm 、 7.9 ppm 及び 7.0 ppm の化学シフトのピークを有することに特徴を有する、請求項 1 に記載の結晶形態。 30

【請求項 9】

前記形態が J 形であり、かつ、さらに ^{13}C 固形 NMR スペクトルがほぼ 179.6 ppm 、 178.4 ppm 、 25.2 ppm 、 11.5 ppm 、 10.0 ppm 、 9.3 ppm 、 8.1 ppm 及び 6.8 ppm の化学シフトのピークを有することに特徴を有する、請求項 1 に記載の結晶形態。

【請求項 10】

前記形態が実質的にアジスロマイシン二水和物が存在しない M 形であり、かつ、さらに ^{13}C 固形 NMR スペクトルがほぼ 179.6 ppm 、 41.9 ppm 、 26.0 ppm 、 16.3 ppm 、 10.3 ppm 、 9.6 ppm 、 9.3 ppm 、 7.7 ppm 及び 7.1 ppm の化学シフトのピークを有することに特徴を有する、請求項 1 に記載の結晶形態。 40

【請求項 11】

前記形態が N 形であり、かつ、さらに ^{13}C 固形 NMR スペクトルがほぼ 179.6 ppm 、 178.7 ppm 、 105.6 ppm 、 58.1 ppm 、 26.0 ppm 、 9.9 ppm 、 9.4 ppm 、 7.9 ppm 及び 6.6 ppm の化学シフトのピークを有することに特徴を有する、請求項 1 に記載の結晶形態。

【請求項 12】

前記形態が、O形である、請求項1に記載の結晶形態。

【請求項13】

前記形態が、P形である、請求項1に記載の結晶形態。

【請求項14】

前記形態が、Q形である、請求項1に記載の結晶形態。

【請求項15】

前記形態がR形であり、かつ、さらに ^{13}C 固形NMRスペクトルがほぼ177.9 ppm、103.6 ppm、95.3 ppm、10.3 ppm、9.6 ppm、8.9 ppm及び8.6 ppmの化学シフトのピークを有することに特徴を有する、請求項1に記載の結晶形態。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、結晶形アジスロマイシン (Azithromycin) に関する。アジスロマイシンは、市販されており、広範な細菌感染の治療に効果的な抗生物質である。本発明による結晶形アジスロマイシンは、同様にヒトを含む哺乳動物だけでなく、魚類や鳥類にも抗菌剤として有用である。

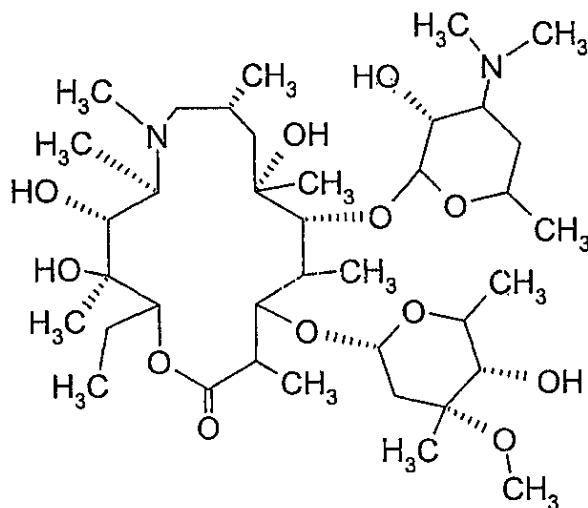
【背景技術】

【0002】

アジスロマイシンは、以下の構造式で表される：

20

【化1】



30

【0003】

アジスロマイシンが、米国特許第4,517,359号及び第4,474,768号で記載且つ請求されている。アジスロマイシンは、また9-デオキソ-9a-アザ-9a-メチル-9a-ホモエリトマイシンAとしても知られている。

40

【0004】

アジスロマイシンを直接的又は間接的にカバーしている他の特許又は特許出願に、アジスロマイシン二水和物を請求しているヨーロッパ特許出願第EP298,650号；トキソプラズマ原虫 (Toxoplasma gondii) 種の菌株の処理方法を請求している米国特許第4,963,531号；苦みを減少させたチュアブル錠又は懸濁液医薬組成物を請求している米国特許第5,633,006号；アジスロマイシンの調製に有用な中間体を請求している米国特許第5,686,587号；アジスロマイシンの投与に関連し

50

た「食物効果」を減少させる経口投与剤形を請求している米国特許第5,605,889号；アジスロマイシンを含有する制御された剤形を請求している米国特許第6,068,859号；アジスロマイシンを二価金属又は三価金属と組み合わせて含有する組成物を請求している米国特許第5,498,699号；眼感染の治療方法を請求しているEP925,789；アジスロマイシンの水溶性塩に関する中国特許出願CN1123279A；アジスロマイシンソジウムジヒドロジェンホスフェート複塩に関する中国特許出願CN1046945C；アジスロマイシン結晶に関する中国特許出願CN1114960A；アジスロマイシン結晶に関する中国特許出願CN1161971A；アジスロマイシンの水溶性塩の調製方法に関する中国特許出願CN1205338A；アジスロマイシンのエタノール和物に関する国際公開WO00/32203；及びアジスロマイシンー水和物イソプロパノールクラスレートに関するEP984,020などがある。

10

【発明の開示】

【0005】

発明の要約

【0006】

本発明は、結晶形アジスロマイシンに関する。本明細書で使用される用語「結晶形（形態）」又は「形（形態）」は、特記のない限りは、一種以上の結晶形アジスロマイシンを意味する。

【0007】

特に、本発明は、結晶形が、C形、D形、E形、F形、G形、H形、J形、M形、N形、O形、P形、Q形及びR形（本明細書で定義される）から選ばれるものである結晶形アジスロマイシンに関する。F形、G形、H形、J形、M形、N形、O形及びP形は、ファミリーIアジスロマイシンに属し、セル寸法が $a = 16.3 \pm 0.3$ 、 $b = 16.2 \pm 0.3$ 、 $c = 18.4 \pm 0.3$ 及びベータ $= 109 \pm 2^\circ$ である単斜晶系 $P2_1$ 空間群に属する。C形、D形、E形及びR形は、ファミリーIIアジスロマイシンに属し、セル寸法が $a = 8.9 \pm 0.4$ 、 $b = 12.3 \pm 0.5$ 及び $c = 45.8 \pm 0.5$ である斜方晶系 $P2_12_12_1$ 空間群に属する。Q形は、ファミリーI及びファミリーIIとは異なる。

20

【0008】

F形アジスロマイシンは、単結晶構造において式 $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_2H_5OH$ で表される、アジスロマイシンー水和物半エタノール溶媒和物である。F形は、さらに粉末試料において水2～5重量%とエタノール1～4重量%とを含有し、表9で定義するような粉末X線回折2ピークを有するものとして特徴付けられる。F形の $^{13}Cs s NMR$ （固形核磁気共鳴）スペクトルは、約 $179 \pm 1 ppm$ （ $179.5 \pm 0.2 ppm$ 及び $178.6 \pm 0.2 ppm$ ）で2つの化学シフトピークを有し、 $6.4 \sim 11.0 ppm$ に一組のピーク（5つのピークからなる）を有し、 $58.0 \pm 0.5 ppm$ 及び $17.2 \pm 0.5 ppm$ にエタノールピークを有する。溶媒ピークは、ブロードで且つ強度が比較的弱い場合がある。

30

【0009】

また、本発明は、実質的に純粋なF形アジスロマイシン、G形アジスロマイシンを実質的に含まないF形アジスロマイシン及びアジスロマイシン二水和物を実質的に含まないF形アジスロマイシンに関する。

40

【0010】

さらに、本発明は、アジスロマイシンをエタノールで処理して40～70で完全に溶解し、エタノールを減少させて冷却するか、水を添加して冷却することにより結晶化させることにより、F形アジスロマイシンを調製する方法に関する。また、本発明は、実質的に純粋なF形アジスロマイシン、G形アジスロマイシンを実質的に含まないF形アジスロマイシン及びアジスロマイシン二水和物を実質的に含まないF形アジスロマイシンの製造方法をも含む。

【0011】

50

G形アジスロマイシンは、単結晶構造において式 $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 1.5H_2O$ で表される、アジスロマイシンセスキ水和物である。G形は、さらに粉末試料において水2.5～6重量%と有機溶媒（単一又は複数）1重量%未満とを含有し、表9で定義するような粉末X線回折2ピークを有するものとして特徴付けられる。G形の ^{13}C ssNMRスペクトル約 179 ± 1 ppm (179.5 ± 0.2 ppm; 0.3 ppm未満での開裂が存在してもよい)で一つの化学シフトピークを有し、 $6.3 \sim 11.0$ ppmに一組のピーク（5つのピークからなる）を有する。

【0012】

また、本発明は、実質的に純粋なG形アジスロマイシン及びアジスロマイシン二水和物を実質的に含まないG形アジスロマイシンに関する。

10

【0013】

さらに、本発明は、アジスロマイシンを、メタノールと水との混合物又はアセトンと水との混合物で処理して40～60で完全に溶解し、冷却して結晶化させることにより、実質的に純粋なG形アジスロマイシン及びアジスロマイシン二水和物を実質的に含まないG形アジスロマイシンを調製する方法に関する。

【0014】

H形アジスロマイシンは、式 $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_3H_8O_2$ で表されるアジスロマイシンー水和物半-1, 2-プロパンジオール溶媒和物である。

【0015】

J形アジスロマイシンは、単結晶構造において式 $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_3H_7OH$ で表される、アジスロマイシンー水和物半-n-プロパノール溶媒和物である。J形は、さらに粉末試料において水2～5重量%と1-プロパノール1～5重量%とを含有し、表9で定義するような粉末X線回折2ピークを有するものとして特徴付けられる。J形の ^{13}C ssNMRスペクトルは、約 179 ± 1 ppm (179.6 ± 0.2 ppm及び 178.4 ± 0.2 ppm)で2つの化学シフトピークを有し、 $6.6 \sim 11.7$ ppmに一組のピーク（5つのピークからなる）を有し、 25.2 ± 0.4 ppmにn-プロパノールのピークを有する。溶媒ピークは、ブロードで且つ強度が比較的弱い場合がある。

20

【0016】

さらに、本発明は、アジスロマイシンをn-プロパノールで処理して25～55で完全に溶解し、水を添加して冷却することにより結晶化させることにより、J形を調製する方法に関する。

30

【0017】

M形アジスロマイシンは、式 $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_3H_7OH$ で表される、アジスロマイシンー水和物半-イソプロパノール溶媒和物である。M形は、さらに粉末試料において水2～5重量%と2-プロパノール1～4重量%とを含有し、表9で定義するような粉末X線回折2ピークを有するものとして特徴付けられる。M形の ^{13}C ssNMRスペクトルは、約 179 ± 1 ppm (179.6 ± 0.2 ppm)で一つの化学シフトピークを有し、 41.9 ± 0.2 ppmにピークを有し、 $6.9 \sim 16.4$ ppmに一組のピーク（6つのピークからなる）を有し、 26.0 ± 0.4 ppmにイソプロパノールのピークを有する。溶媒ピークは、ブロードで且つ強度が比較的弱い場合がある。

40

【0018】

また、本発明は、実質的に純粋なM形アジスロマイシン、G形アジスロマイシンを実質的に含まないM形アジスロマイシン及びアジスロマイシン二水和物を実質的に含まないM形アジスロマイシンに関する。

【0019】

さらに、本発明は、アジスロマイシンを、イソプロパノールで処理して40～60で完全に溶解し、イソプロパノールの量を減少させた後に冷却するか、冷却してから水を添加することにより結晶化させることにより、実質的に純粋なM形アジスロマイシン、G形アジスロマイシンを実質的に含まないM形アジスロマイシン及びアジスロマイシン二水和物を実質的に含まないM形アジスロマイシンを調製する方法に関する。

50

【0020】

N形アジスロマイシンは、ファミリーIの同形の混合物である。この混合物は、種々の割合(%)で同形、F形、G形、H形、J形、M形等並びに種々の量の水及び有機溶媒、例えば、エタノール、イソプロパノール、n-プロパノール、プロピレングリコール、アセトン、アセトニトリル、ブタノール、ペンタノール等を含含有してもよい。水の重量%は1~5%の範囲であることができ、有機溶媒の総重量%は2~5%(各溶媒含量が0.5~4%)であることができる。N形の試料は、ファミリーIに属するものの全ての特性ピークを種々の割合で示す。N形は、ファミリーI同形の「混晶」又は「結晶性固溶体」として特徴付けられることができる。

【0021】

N形は、ファミリーIにおける同形の組み合わせとして化学シフトを示す。ピークは、N形結晶性固溶体に含有される可変割合の同形の混合のため、化学シフトppmにおいて±0.2ppm内で異なり、また相対強度及び幅において異なることがある。

【0022】

P形アジスロマイシンは、式 $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_5H_{12}O$ で表されるアジスロマイシン-水和物半-n-ペンタノール溶媒和物である。

【0023】

Q形アジスロマイシンは、式 $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_4H_8O$ で表されるアジスロマイシン-水和物半-テトラヒドロフラン溶媒和物である。

【0024】

R形アジスロマイシンは、式 $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_5H_{12}O$ で表されるアジスロマイシン-水和物モノ-メチルト-ブチルエーテル溶媒和物である。

【0025】

D形アジスロマイシンは、その単結晶構造において式 $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_6H_{12}$ で表される、アジスロマイシン-水和物モノシクロヘキサン溶媒和物である。D形は、さらに粉末試料において水2~6重量%とシクロヘキサン3~12重量%とを含有し、表9で定義するような代表的な粉末X線回折2ピークを有するものとして特徴付けられる。D形の ^{13}C ssNMRスペクトルは、約 179 ± 1 ppm(178.1 ± 0.2 ppm)で一つの化学シフトピークを有し、 103.9 ± 0.2 ppm、 95.1 ± 0.2 ppm、 84.2 ± 0.2 ppmにピークを有し、 $8.4 \sim 11$ ppmに一組のピーク(3つのピークからなる)を有する。

【0026】

さらに、本発明は、アジスロマイシン二水和物をシクロヘキサンによりスラリー化することにより、D形を調製する方法に関する。

【0027】

E形アジスロマイシンは、式 $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_4H_8O$ で表されるアジスロマイシン-水和物モノ-テトラヒドロフラン溶媒和物である。

【0028】

さらに、本発明は、非晶質アジスロマイシンに関し、さらにアジスロマイシン結晶格子から水及び/又は溶媒を除去することを含む、非晶質アジスロマイシンの調製方法に関する。非晶質アジスロマイシンについてのX線回折粉末パターンは、シャープな2ピークを示さないが、2つのブロードな丸いピークを有する。第一のピークは、 $4^\circ \sim 13^\circ$ で生じる。第二ピークは、 $13^\circ \sim 25^\circ$ で生じる。

【0029】

また、本発明は、治療に有効な量の上記した結晶化合物又は非晶質アジスロマイシンと、薬学的に許容される担体とを含む、哺乳動物、魚又は鳥における細菌感染又は原生動物感染の治療のための医薬組成物に関する。

【0030】

また、本発明は、治療に有効な量の上記した結晶化合物又は非晶質アジスロマイシンを哺乳動物、魚又は鳥に投与することを含む、哺乳動物、魚又は鳥における細菌感染又は原生

10

20

30

40

50

動物感染を治療するための方法に関する。

【0031】

また、本発明は、適当な溶媒にアジスロマイシンをスラリー化するか、加熱した有機溶媒又は有機溶媒／水溶液にアジスロマイシンを溶解し、溶媒の容量を減少させて溶液を冷却して結晶形アジスロマイシンを沈殿させるか、又はアジスロマイシンを溶媒又は溶媒混合物に溶解し、水をこの溶液に添加して結晶形アジスロマイシンを沈殿させることを含む、結晶形アジスロマイシンの調製方法に関する。非晶質アジスロマイシンは、結晶形アジスロマイシンを真空中で加熱することにより調製する。

【0032】

本明細書で使用される用語「治療」とは、特記のない限りは、細菌感染又は原生動物感染の症状を治したり、減少させるか、又はこのような感染の進行を遅らせることを含む、本発明の方法により提供されるような細菌感染又は原生動物感染の治療又は予防を意味する。用語「治療する」は、上記用語「治療」に準じて定義される。

10

【0033】

所定の結晶形アジスロマイシンに関して使用される用語「実質的に含まない」とは、存在する所定の結晶形の20%（重量基準）未満、より好ましくは存在する所定の結晶形の10%（重量基準）未満、最も好ましくは存在する所定の結晶形の1%（重量基準）未満であることを意味する。例えば、アジスロマイシン二水和物を実質的に含まないF形アジスロマイシンとは、アジスロマイシン二水和物の含有量が20%（重量基準）以下、より好ましくは10%（重量基準）以下、最も好ましくは1%（重量基準）であるF形を意味する。

20

【0034】

所定の結晶形アジスロマイシンに関して使用される用語「実質的に純粋な」とは、所定の結晶形態が、別の多形又は同形結晶形アジスロマイシン等の残留成分の含量が20%（重量基準）未満であることを意味する。実質的に純粋な形態のアジスロマイシンにおける別の多形又は同形結晶形アジスロマイシンの含量が、10%（重量基準）未満、より好ましくは5%（重量基準）未満、最も好ましくは1%（重量基準）未満であることが、好ましい。

【0035】

バルク結晶形アジスロマイシン又は結晶形アジスロマイシン含有組成物について用いられる用語「実質的にアジスロマイシン二水和物を含まない」とは、結晶形アジスロマイシンにおけるアジスロマイシン二水和物の含量が、約5%（重量基準）未満、より好ましくは約3%（重量基準）未満、最も好ましくは1%（重量基準）未満であることを意味する。

30

【0036】

本明細書で使用される用語「細菌感染」又は「原生動物感染」とは、特記のない限りは、本発明の化合物等の抗生物質を投与することにより治療又は予防できる、哺乳動物、魚及び鳥において生じる細菌感染及び原生動物感染並びにこのような感染により生じる疾病だけでなく、細菌感染及び原生動物感染に関連した障害をも含む。このような細菌感染及び原生動物感染並びに障害には、以下のもの等があるが、これらには限定されない：肺炎レンサ球菌（*Streptococcus pneumoniae*）、ヘモフィルス・インフルエンザエ（*Haemophilus influenzae*）、モラキセラ・カタラリス（*Moraxella catarrhalis*）、黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）又はペプトストレプトコッカス種（*Peptostreptococcus* spp.）による感染に関連した肺炎、中耳炎、静脈洞炎、気管支炎、扁桃炎及び乳様突起炎；ストレプトコッカス・ピオゲルス（*Streptococcus pyogenes*）、C群及びG群のレンサ球菌（*Streptococci*）、クロストリジウム・ジフテリアエ（*Clostridium diphtheriae*）又はアクチノバシラス・ヘモリティカム（*Actinobacillus haemolyticum*）による感染に関連した咽頭炎、リウマチ熱若しくは糸球体腎炎；肺炎マイコプラズマ菌（*Mycoplasma pneumoniae*）、レジオネラ・ニューモ

40

50

フィラ (*Legionella pneumophila*)、肺炎レンサ球菌 (*Streptococcus pneumoniae*)、ヘモフィルス・インフルエンザエ (*Haemophilus influenzae*) 若しくは肺炎クラミジア菌 (*Chlamydia pneumoniae*) による感染に関連した気道感染症；黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)、コアグラゼ陽性ブドウ球菌 (*coagulase-positive staphylococci*) (即ち、エス・エピデルミディス (*S. epidermidis*)、エス・ヘモリティカス (*S. hemolyticus*) 等)、ストレプトコッカス・ピオゲンス (*Streptococcus pyogenes*)、ストレプトコッカス・アガラクティアエ (*Streptococcus agalactiae*)、レンサ球菌 C ~ F 群 (微小なコロニーレンサ球菌)、ピリダ
 ンス群レンサ球菌、コリネバクテリウム・マイニウチシマム (*Corynebacterium minutissimum*)、クロストリジウム種 (*Clostridium*
spp.) 又はバルトネラ・ヘンセラエ (*Bartonella henselae*)
 による感染に関連した非併発性皮膚及び軟組織感染症、膿瘍及び骨髄炎、及び産じゅく熱
 ；スタフィロコッカス・サプロフィチカス (*Staphylococcus saprophyticus*) 又は腸球菌種 (*Enterococcus spp.*) による感染に
 関連した非併発性急性尿道感染症；クラミジア・トラコーマティス (*Chlamydia*
trachomatis)、軟性下疳菌 (*Haemophilus ducreyi*)
 、トレポネマ・パリデュム (*Treponema pallidum*)、ウレアプラズ
 マ・ウレアリティカム (*Ureaplasma urealyticum*) 又は淋菌 (*Neisseria gonorrhoeae*) による感染に関連した尿道炎及び子宮頸管炎
 及び性的伝染病；黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) (食中毒及び中毒性ショック症候
 群) 又は A 群、B 群及び C 群のレンサ球菌による感染に関連した毒素疾患；ヘリコバクテ
 ー・ピロリ (*Helicobacter pylori*) による感染に関連した潰瘍；回
 帰熱ボレリア (*Borrelia recurrentis*) による感染に関連した全身
 性発熱症候群；ボレリア・ブルグドルフェリ (*Borrelia burgdorferi*) による感染に関連したライム病；クラミジア・トラコーマティス (*Chlamydia*
trachomatis)、淋菌 (*Neisseria gonorrhoeae*)
 、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*)、肺炎レンサ球菌 (*S. pneumoniae*)
 、ストレプトコッカス・ピオゲンス (*S. pyogenes*)、ヘモフィルス・インフル
 エンザエ (*H. influenzae*) 又はリステリア種 (*Listeria spp.*
spp.) による感染に関連した結膜炎、角膜炎及び涙嚢炎；マイコバクテリウム・アビウム (*Mycobacterium avium*) 又はマイコバクテリウム・イントラセルラレ (*Mycobacterium intracellulare*) による感染に関連した散
 在性マイコバクテリウム・アビウム・コンプレックス (MAC) 疾患；カンピロバクター
 ・ジェジュニ (*Campylobacter jejuni*) による感染に関連した胃腸
 炎；クリプトスポリジウム種 (*Cryptosporidium spp.*) による感染
 に関連した腸プロトゾア (*intestinal protozoa*)；ピリダンス群レ
 ンサ球菌 (*viridans streptococci*) による感染に関連した歯原性
 感染症 (*odontogenic infection*)；百日咳菌 (*Bordetella*
pertussis) による感染に関連した持続性咳；クロストリジウム・パーフ
 リンゲンス (*Clostridium perfringens*) 又はバクテロイデス種
 (*Bacteroides spp.*) による感染に関連したガス壊疽；並びにヘリコバ
 クター・ピロリ (*Helicobacter pylori*) 又は肺炎クラミジア菌 (*Chlamydia pneumoniae*) による感染に関連したアテローム硬化症。ア
 テローム硬化症及びマラリアも含まれる。動物における治療されうる又は予防されうる、
 細菌感染症及び原生動物感染症並びにこのような感染症に関連した障害は下記のものも含
 まれるが、これらには限定されない：ピー・ヘモリティカ (*P. haem.*)、ピー・ム
 ルトシダ (*P. multocida*)、マイコプラズマ・ボヴィス (*Mycoplasma bovis*) 又はボルデテラ種 (*Bordetella spp.*) による感染に關

10

20

30

40

50

連したウシ呼吸器疾患；大腸菌（*E. coli*）又は原生動物（即ち、コクシジア（*coccidia*）、クリプトスポリジア（*cryptosporidia*）等）による感染に関連したウシ腸疾患；黄色ブドウ球菌（*Staph. aureus*）、ストレプトコッカス・ウベリス（*Strep. uberis*）、ストレプトコッカス・アガラクタエ（*Strep. agalactiae*）、ストレプトコッカス・ディスガラクタエ（*Strep. dysgalactiae*）、クレブシエラ種（*Klebsiella spp.*）、コリネバクテリウム（*Corynebacterium*）又は腸球菌種（*Enterococcus spp.*）による感染に関連した乳牛乳腺炎；エイ・プロイロ（*A. pleuro.*）、ピー・ムルトシダ（*P. multocida*）又はマイコプラズマ種（*Mycoplasma spp.*）による感染に関連したブタ呼吸器疾患；大腸菌（*E. coli*）、ロウソニア・イントラセルラリス（*Lawsonia intracellularis*）、サルモネラ又はセルプリナ・ヒョーディスインテリアエ（*Serpulina hyodysenteriae*）による感染に関連したブタ腸疾患；フソバクテリウム種（*Fusobacterium spp.*）による感染に関連したウシ腐蹄症；大腸菌（*E. coli*）による感染に関連したウシ子宮炎；フソバクテリウム・ネクロホルム（*Fusobacterium necrophorum*）又はバクテロイデス・ノドサス（*Bacteroides nodosus*）による感染に関連したウシ有毛いぼ；モラキセラ・ボヴィス（*Moraxella bovis*）による感染に関連したウシ伝染性角結膜炎；原生動物（即ち、ネオスポリウム（*neosporium*））による感染に関連したウシ早産；大腸菌（*E. coli*）による感染に関連したイヌ及びネコにおける尿道感染症；スタフィロコッカス・エピデルミディス（*Staph. epidermidis*）、スタフィロコッカス・インターメディウス（*Staph. intermedius*）、コアグラエゼ陰性レンサ球菌又はピー・ムルトシダ（*P. multocida*）による感染に関連したイヌ及びネコにおける皮膚及び軟組織感染症；並びにアルカリゲネス種（*Alcaligenes spp.*）、バクテロイデス種（*Bacteroides spp.*）、クロストリジウム種（*Clostridium spp.*）、エンテロバクター種（*Enterobacter spp.*）、オイバクテリウム（*Eubacterium*）、ペプトストレプトコッカス（*Peptostreptococcus*）、ポルフィロモナス（*Porphyromonas*）又はプレボテラ（*Prevotella*）による感染に関連したイヌ及びネコにおける歯又は口内感染症。本発明の方法によって治療又は予防されうる、他の細菌感染症及び原生動物感染症並びにこのような感染症に関連した障害は、J. P. Sanford等，“The Sanford Guide To Antimicrobial Therapy（サンフォードによる抗菌療法の指針”，第26版（*Antimicrobial Therapy, Inc., 1996*）に記載されている。

【0037】

また、本発明は、一つ以上の原子が、通常天然で見られる原子質量又は質量数とは異なる原子質量又は質量数を有する原子により置き換えられた同位体標識化合物を含む。本発明の化合物に含有させることのできる同位体としては、例えば、水素、炭素、窒素、酸素、リン、イオウ、フッ素及び塩素、例えば、 ^2H 、 ^3H 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 及び ^{17}O などがある。このような放射性同位体標識化合物及び安定な同位体標識化合物は、研究又は診断ツールとして有用である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0038】

アジスロマイシンは、異なる結晶形態で存在することが見いだされた。二水和物であるA形、非化学量論的水和物であるB形が、それぞれヨーロッパ特許出願第EP298650号及び米国特許第4,512,359号に開示されている。16の他の形態、すなわち、C形、D形、E形、F形、G形、H形、I形、J形、K形、L形、M形、N形、O形、P形、Q形及びR形が見いだされた。これらの形態は、アジスロマイシン遊離塩基の水和物又は水和物／溶媒和物である。L形及びK形は、高温で検出されるA形の準安定低級水和

物形態である。A形、C形、D形、E形、F形、G形、H形、J形及びO形の結晶構造が解明された。これらの結晶形の構造のデータを、以下に示す：

【表 1】

表 1 : アジスロマイシンA形態の結晶学的データ

	A形態
実験式	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 2H_2O$
式量	785.2
結晶サイズ(mm)	$0.19 \times 0.24 \times 0.36$
空間群	$P2_12_12_1$ 斜方晶系
単位格子寸法	$a = 14.735(5) \text{ \AA}$ $b = 16.844(7) \text{ \AA}$ $c = 17.81(1) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 90^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Z (式あたり)	4
密度 (g/cm^3)	1.18
R	0.060

10

20

【表 2】

表 2 : アジスロマイシンC形態の結晶学的データ

	C形態
実験式	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O$
式量	767.15
結晶サイズ(mm)	$0.16 \times 0.16 \times 0.19$
空間群	$P2_12_12_1$ 斜方晶系
単位格子寸法	$a = 8.809(3) \text{ \AA}$ $b = 12.4750(8) \text{ \AA}$ $c = 45.59(3) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 90^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Z (式あたり)	4
密度 (g/cm^3)	1.01
R	0.106

30

40

【表 3】

表 3 : アジスロマイシンD形態の結晶学的データ

	D 形態
実験式	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_6H_{12}$
式量	851.15
結晶サイズ (mm)	$0.52 \times 0.32 \times 0.16$
空間群	$P2_1 2_1 2_1$ 斜方晶系
単位格子寸法	$a = 8.8710(10) \text{ \AA}$ $b = 12.506(2) \text{ \AA}$ $c = 45.697(7) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 90^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Z (式あたり)	4
密度 (g/cm^3)	1.12
R	0.0663

10

20

【表 4】

表 4 : アジスロマイシンE形態の結晶学的データ

	E 形態
実験式	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_4H_8O$
式量	839.2
結晶サイズ (mm)	$0.17 \times 0.19 \times 0.20$
空間群	$P2_1 2_1 2_1$ 斜方晶系
単位格子寸法	$a = 8.869(3) \text{ \AA}$ $b = 12.086(3) \text{ \AA}$ $c = 46.00(1) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 90^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Z (式あたり)	4
密度 (g/cm^3)	1.13
R	0.087

30

40

【表 5】

表5：アジスロマイシンF形態の結晶学的データ

	F 形態
実験式	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_2H_6O$
結晶サイズ (mm)	$0.14 \times 0.20 \times 0.24$
式量	790.2
空間群	$P2_1$ 単斜晶系
単位格子寸法	$a = 16.281(2) \text{ \AA}$ $b = 16.293(1) \text{ \AA}$ $c = 18.490(3) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 109.33(1)^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Z (式あたり)	4
密度 (g/cm^3)	1.13
R	0.0688

10

20

【表6】

表6：アジスロマイシンG形態の結晶学的データ

	G 形態
式	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 1.5H_2O$
式量	776.0
結晶サイズ (mm)	$0.04 \times 0.20 \times 0.24$
空間群	$P2_1$ 単斜晶系
単位格子寸法	$a = 16.4069(8) \text{ \AA}$ $b = 16.2922(8) \text{ \AA}$ $c = 18.3830(9) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 110.212(2)^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Z (式あたり)	4
密度 (g/cm^3)	1.12
R	0.0785

30

40

【表7】

表 7 : アジスロマイシン H 形態の結晶学的データ

	H 形態
実験式	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_3H_8O_2$
結晶サイズ (mm)	$0.14 \times 0.20 \times 0.24$
式量	805.0
空間群	$P2_1$ 単斜晶系
単位格子寸法	$a = 16.177(1) \text{ \AA}$ $b = 16.241(2) \text{ \AA}$ $c = 18.614(1) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 108.34(1)^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Z (式あたり)	4
密度 (g/cm^3)	1.15
R	0.0687

10

20

【表 8】

表 8 : アジスロマイシン J 形態の結晶学的データ

	J 形態
式	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_3H_8O$
式量	796.0
結晶サイズ (mm)	$0.40 \times 0.36 \times 0.20$
空間群	$P2_1$ 単斜晶系
単位格子寸法	$a = 16.191(6) \text{ \AA}$ $b = 16.237(10) \text{ \AA}$ $c = 18.595(14) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 108.92(4)^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Z (式あたり)	4
密度 (g/cm^3)	1.14
R	0.0789

30

40

【表 9】

表 8-A : アジスロマイシン O 形態の結晶学的データ

	O 形態
式	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 0.5H_2O \cdot 0.5C_4H_{10}O$
式量	795.04
結晶サイズ (mm)	0.40 × 0.36 × 0.20
空間群	P2 ₁ 単斜晶系
単位格子寸法	a = 16.3602 (11) Å b = 16.2042 (11) Å c = 18.5459 (12) Å α = 90° β = 109.66 (10)° γ = 90°
Z (式あたり)	4
密度 (g/cm ³)	1.14
R	0.0421

10

20

【 0 0 3 9 】

これらの 16 個の結晶形態の間で、2 つの同形ファミリーがある。ファミリー I には、F 形、G 形、H 形、J 形、M 形、N 形、O 形及び P 形などがある。ファミリー II には、C 形、D 形、E 形及び R 形などがある。Q 形は、ファミリー I 及び II とは異なる。ファミリー内の形態は、セルパラメータがわずかに異なる同じ空間群で結晶化する同形であり、化学的に関連しているが元素組成が異なる構造を有する。この場合、同形間の化学組成の差異は、異なる水 / 溶媒分子の含有から生じる。その結果、同形は、類似しているが同一ではない X 線回折パターン及び固形 NMR スペクトル (s s NMR) を示す。他の手法、例えば、近赤外分光分析法 (NIR)、示差走査熱量法 (DSC)、ガスクロマトグラフィー (GC)、熱重量分析 (TGA) 又は熱重量分析 / 赤外分光分析 (TG - IR)、K a r l F i s c h e r 水分分析 (KF) 及び分子モデル化 / 可視化により、同形の追試同定のためのデータが得られる。脱水 / 脱溶媒和温度を、DSC により、加熱速度 5 / 分の条件で求めた。

30

【 0 0 4 0 】

C 形：この結晶形態は、単結晶構造 (表 2) - アジスロマイシンの一水和物から同定した。C 形は、空間群 P 2₁ 2₁ 2₁ を有し、且つ D 形及び E 形と同様なセルパラメータを有しているので、ファミリー II 同形に属している。その計算された粉末パターンは、D 形及び E 形と類似している。

【 0 0 4 1 】

D 形：D 形は、シクロヘキサンから結晶化した。D 形の単結晶構造は、アジスロマイシンの一水和物 / モノシクロヘキサン溶媒和物の化学量論組成を示す (表 3)。シクロヘキサン分子は、結晶格子において無秩序となることが分かった。単結晶データから得た D 形の水含量及びシクロヘキサン含量の計算値は、それぞれ 2 . 1 % 及び 9 . 9 % である。D 形の粉末パターン及び計算による粉末パターンの両方は、C 形及び E 形のものと類似している。D 形の粉末試料は、30 ~ 300 の 5 / 分での DSC 分析において、開始温度約 87 で脱溶媒和 / 脱水吸熱を示し、200 ~ 280 でブロードな吸熱 (分解) を示した。

40

【 0 0 4 2 】

D 形は、アジスロマイシンをシクロヘキサンに 2 ~ 4 日間スラリー化することにより調製する。固形の D 形アジスロマイシンを濾取し、乾燥する。

50

【 0 0 4 3 】

E 形：E 形を、T H F / 水媒体から集めた単結晶として得た。E 形は、単結晶分析したところ、一水和物及びモノ - T H F 溶媒和物である（表 4）。この単結晶構造により、計算による P X R D パターンは、C 形及び D 形のものと同形であり、ファミリー I 同形である。

【 0 0 4 4 】

E 形は、アジスロマイシンを T H F（テトラヒドロフラン）に溶解することにより調製する。水蒸気を時間をかけて飽和アジスロマイシン T H F 溶液に拡散することにより、E 形結晶が生じる。

【 0 0 4 5 】

F 形：F 形の単結晶は、モノ水和物 / 半エタノール和物として、2 つのアジスロマイシン、2 つの水及び 1 つのエタノールを含有する非対称単位を有する単斜晶系空間群 $P 2_1$ で結晶化した（表 5）。F 形は、同形であり、全てのファミリー I アジスロマイシン結晶形を形成する。この形態の計算された P X R D パターンは、他のファミリー I 同形のものと同形している。理論水含量とエタノール含量は、それぞれ 2 . 3 % 及び 2 . 9 % である。粉末試料は、1 1 0 ~ 1 2 5 の開始温度で脱水 / 脱溶媒和吸熱を示す。F 形は、アジスロマイシンをエタノール（1 ~ 3 容（重量基準））に約 5 0 ~ 7 0 の温度で溶解することにより、調製する。完全に溶解したら、溶液を、周囲以下の温度に冷却して沈殿を生じさせる。攪拌しながら 1 ~ 2 時間真空蒸留することによりエタノールの容積を減少させて、収量を増加させることができる。別法として、約 0 . 1 ~ 2 容の水（必要に応じて 0 ~ 2 0 に冷却）を加え、水の添加後 3 0 分以内に固形物を集めることができる。水の添加に先立ち、アジスロマイシンのエタノール溶液を、2 0 未満、好ましくは 1 5 未満、より好ましくは 1 0 未満、最も好ましくは 5 に冷却することにより、実質的に純粋な F 形アジスロマイシンが得られる。固形 F 形アジスロマイシンを、濾取し、乾燥する。

【 0 0 4 6 】

G 形：G 形の単結晶構造は、一つの非対称単位当たりアジスロマイシン 2 分子と水 3 分子からなっている（表 6）。これは、理論水含量が 3 . 5 % である、セスキ水和物に相当する。G 形の粉末試料の水含量は、約 2 . 5 ~ 約 6 % の範囲である。総残留有機溶媒は、結晶化に使用される対応の溶媒の 1 % 未満であり、この値は溶媒和物の理論量よりもはるかに小さい。この形態は、約 1 1 0 ~ 1 2 0 の開始温度で脱水する。

【 0 0 4 7 】

アジスロマイシンを予め混合した有機溶媒（メタノール、アセトン、アセトニトリル、エタノール又はイソプロパノールであることができる） / 水混合物（容積比 1 / 1）に添加することにより、G 形を調製できる。この混合物を、攪拌し、高温、例えば、4 5 ~ 5 5 で 4 ~ 6 時間加熱して溶解させる。周囲温度に冷却する間に沈殿が生じる。この固形 G 形アジスロマイシンを、濾取し、乾燥する。

【 0 0 4 8 】

H 形：この結晶形は、アジスロマイシン遊離塩基の一水和物 / 半 - プロピレングリコール溶媒和物である（表 7）。これを、プロピレングリコールを含有する配合溶液から単離した。H 形の結晶構造は、ファミリー I の結晶形と同形である。

【 0 0 4 9 】

アジスロマイシン二水和物をプロピレングリコール 6 容に溶解することにより、H 形アジスロマイシンを調製する。得られたアジスロマイシンのプロピレングリコール溶液に、水を 2 容添加し、沈殿を生じさせる。スラリーを、2 4 時間攪拌し、固形物を濾過し、周囲温度で空気乾燥して H 形結晶を得る。

【 0 0 5 0 】

J 形：J 形は、一水和物 / 半 - n - プロパノール溶媒和物である（表 8）。溶媒含量の計算値は、n - プロパノール約 3 . 8 %、水約 2 . 3 % である。実験データによれば、粉末試料については、n - プロパノール約 2 . 5 ~ 約 4 . 0 %、水分約 2 . 5 ~ 約 3 % である。その P X R D パターンは、その同形の F 形、G 形、H 形、M 形及び N 形のものに極めて

10

20

30

40

50

類似している。F形及びG形のように、粉末試料は、115～125 で脱水/脱溶媒和吸熱を示す。

【0051】

アジスロマイシンをn-プロパノール4容に約25～55 の温度で溶解することにより、J形を調製する。水約6～7容を室温で添加し、スラリーを0.5～2時間連続して攪拌する。固形のJ形アジスロマイシンを、濾取し、乾燥する。

【0052】

K形：K形のPXRDパターンから、95 で3時間アニーリング後、A形アジスロマイシンとマイクロクリスタリンワックスとの混合物であることが分かった。K形は、A形の低級水和物であり、準安定高温形態である。

10

【0053】

L形：この形態は、二水和物（A形）を加熱したときのみに観察された。可変温度粉末X線回折（VT-PXRD）実験では、A形を約90 に加熱すると、新しい粉末X線回折パターンが現れる。L形と称するこの新しい形態は、A形がTGAにより90 で約2.5重量%を損失するので一水和物への転化に相当することから、A形の低級水和物である。周囲温度に冷却すると、L形は、迅速にA形に戻る。

【0054】

M形：イソプロパノール/水スラリーから単離したM形は、水とイソプロパノールの両方を含む。そのPXRDパターン及びss-NMRスペクトルは、ファミリーI同形のものに極めて類似しており、M形がファミリーIに属していることが明らかである。公知のファミリーI同形の結晶構造に類似しているため、M形の単結晶構造は、一水和物/半イソプロパノール和物であろう。M形の脱水/脱溶媒和温度は、約115～125 である。

20

【0055】

アジスロマイシンをイソプロパノール（IPA）2～3容に40～50 で溶解することにより、M形を調製できる。この溶液を、15 未満、好ましくは10 未満、より好ましくは約5 に冷却し、約5 の冷水2～4容を添加して沈殿させる。M形の種結晶を、結晶化の開始に添加してもよい。スラリーを、約5時間未満、好ましくは約3時間未満、より好ましくは約1時間未満、最も好ましくは約30分以下攪拌し、固形物を濾取する。固形物を、イソプロパノールに再スラリー化してもよい。この操作により、アジスロマイシン二水和物を実質的に含まないM形が得られる。

30

【0056】

N形：A形の水/エタノール/イソプロパノールスラリーから単離したN形結晶は、可変量の結晶化溶媒及び水を含むしてもよい。その水含量は、約3.4～約5.3重量%の範囲で異なる。GCヘッドスペースによる分析から、エタノールとイソプロパノールの溶媒含量が可変であることが分かる。N形試料の総溶媒含量は、通常調製及び乾燥条件によって、約5%未満である。N形のPXRDパターンは、ファミリーI同形のF形、G形、H形、J形及びM形のものに類似している。N形の試料の脱水/脱溶媒和吸熱は、よりブロードで且つ110～130 で異なっている。

40

【0057】

アジスロマイシン結晶格子組み込み有機溶媒、例えば、エタノール、イソプロパノール、n-プロパノール、アセトン、アセトニトリル等と水の混合物からアジスロマイシンを再結晶することにより、N形アジスロマイシンを調製できる。この溶媒混合物を45～60 に加熱し、アジスロマイシンを加熱した溶媒混合物に、総容積約4容まで添加する。溶解したら、45～60 で連続的に攪拌しながら水1～3容を添加する。N形アジスロマイシンは、白色固形物として沈殿する。スラリーを、攪拌しながら周囲温度まで冷却させる。固形のN形アジスロマイシンを、濾過により単離し、乾燥する。

【0058】

O形：この結晶形態は、単結晶構造データからみて、アジスロマイシン遊離塩基の半水和物半-n-ブタノール溶媒和物である（表8-A）。O形を、逆溶媒の拡散によりアジス

50

ロマイシンの n - ブタノール溶液から単離した。O 形の結晶構造は、ファミリー I の結晶形に同形である。

【0059】

アジスロマイシンを、 n - ブタノールに完全に溶解する。逆溶媒、例えば、ヘキサン、水、IPE 又は他の非溶媒を拡散により添加すると、O 形が沈殿する。

【0060】

P 形：これは、アジスロマイシン遊離塩基の半水和物半 - n - ペンタノール溶媒和物である提案結晶形である。P 形は、アジスロマイシンの n - ペンタノール溶液から逆溶媒の拡散により単離できる。P 形の結晶構造は、ファミリー I の結晶形に同形である。

【0061】

P 形アジスロマイシンは、以下のようにして調製できる：アジスロマイシンを、 n - ペンタノールに完全に溶解させる；逆溶媒、例えば、ヘキサン、水、イソプロピルエーテル (IPE) 又は他の非溶媒を拡散添加することにより、P 形が沈殿する。

【0062】

Q 形：Q 形結晶は、独特の粉末 X 線回折パターンを示す。Q 形は、水約 4 % と THF 約 4 . 5 % を含有し、水和物半 THF 溶媒和物である。主脱水 / 脱溶媒和温度は、約 80 ~ 約 110 である。

【0063】

アジスロマイシン二水和物を、THF 6 容に溶解し、水 2 容を添加する。この溶液を、周囲条件で蒸発乾固させて Q 形結晶を得る。

【0064】

R 形：この結晶形は、非晶質アジスロマイシンを t - ブチルメチルエーテル (MTBE) 2 . 5 容に添加することにより、調製する。得られた粘ちょうな白色懸濁液を、周囲条件で 3 日間攪拌する。固形物を、真空濾過で集め、空気乾燥する。得られた R 形バルクアジスロマイシンは、理論水含量 2 . 1 重量 % 及び理論メチル t - ブチルエーテル含量 10 . 3 重量 % を有する。

【0065】

これらの構造が似ているので、同形は、「混晶」又は「結晶固溶体」と称されることもあるファミリー内の形態の混合物を形成する傾向がある。N 形はこのような結晶固溶体であり、溶媒組成及び固形 NMR データからファミリー I 同形の混合物であることが分かった。

【0066】

ファミリー I 同形とファミリー II 同形の両方が、アジスロマイシンの水和物及び / 又は溶媒和物である。キャピティ内の溶媒分子は、特定の条件下で溶媒と水との交換を生じる傾向がある。したがって、同形の溶媒 / 水含量は、ある程度異なっていてよい。

【0067】

同形ファミリー I の結晶形は、加熱したときに A 形よりも安定である。F 形、G 形、H 形、J 形、M 形及び N 形の開始脱水温度 110 ~ 125 は、開始脱水温度約 90 ~ 約 110 であり且つ約 90 で同時に L 形に固体転化する A 形よりも高かった。

【0068】

非晶質アジスロマイシン：全てのアジスロマイシンの結晶形は、水若しくは溶媒 (単一又は複数) 又は水と溶媒 (単一又は複数) の両方を含有する。水と溶媒を結晶固形物から除去すると、アジスロマイシンが非晶質となる。非晶質固形物は、初期溶解速度が高いという利点がある。

【0069】

以下の実施例では、種々の結晶形態の合成の出発材料として、特記のない限りはアジスロマイシン二水和物を使用した。他の形態のアジスロマイシン、例えば、非晶質アジスロマイシン又はアジスロマイシンの他の非二水和物結晶形を、用いてもよい。

【実施例】

【0070】

10

20

30

40

50

例 1 : D 形の調製

アジスロマイシン二水和物をシクロヘキサンに高温、例えば、25 ~ 50 で2 ~ 4日間スラリー化することにより、D形を調製した。D形結晶固形物を、濾取し、乾燥した。

【0071】

例 2 : F 形の調製

2A : アジスロマイシン二水和物を、約70 の温エタノール1容にゆっくりと添加し、65 ~ 70 で完全に溶解するまで攪拌した。F形の種晶1 ~ 2重量%を入れて結晶化を容易にしてもよい。溶液を、徐々に2 ~ 5 に冷却させ、冷却水1容を添加した。水を添加後短時間(好ましくは30分未満)で真空濾過により、結晶固形物を濾取した。

【0072】

2B : アジスロマイシン二水和物を、約70 の温エタノール1容にゆっくりと添加し、65 ~ 70 で完全に溶解するまで攪拌した。F形の種晶1 ~ 2重量%を入れて結晶化を容易にしてもよい。溶液を、徐々に2 ~ 5 に冷却させる。エタノール容積を、真空蒸留により減少させてもよい。2時間以下攪拌した後、結晶固形物を、真空濾過で集める。結晶を単離することにより、実質的に純粋なF形アジスロマイシン、G形アジスロマイシンを実質的に含まないF形アジスロマイシン及びアジスロマイシン二水和物を実質的に含まないF形アジスロマイシンが得られる。

【0073】

例 3 : G 形の調製

反応容器に、A形アジスロマイシンを入れた。別の容器で、メタノール1.5容と水1.5容とを混合した。溶媒混合物を、A形アジスロマイシンを含有する反応容器に添加した。スラリーを、約5時間50 で加熱攪拌した。加熱を停止し、スラリーを攪拌しながら冷却して周囲温度とした。G形アジスロマイシンを、濾取し、約30分間空気乾燥した。集めたG形アジスロマイシンを、さらに真空オーブン中で45 で乾燥した。この操作により、実質的に純粋なG形アジスロマイシンが得られ、このG形アジスロマイシンはアジスロマイシン二水和物を実質的に含まない。

【0074】

例 4 : J 形の調製

アジスロマイシンをn-プロパノール4容に約25 の温度で溶解することにより、J形を調製した。水(6.7容)を添加し、スラリーを1時間連続攪拌した後、約0 に冷却する。固形のJ形アジスロマイシンを、濾取し、乾燥した。

【0075】

例 5 : アジスロマイシン二水和物を実質的に含まないM形の調製

5A : アジスロマイシン二水和物を、温イソプロパノール2容に40 ~ 50 で完全に溶解する。M形の種晶を、必要に応じて入れて結晶化を容易にしてもよい。次に、この溶液を0 ~ 5 に冷却し、逆溶媒としての冷却水4容を添加し、固形物を真空濾過により集める。固形物を、イソプロパノール1容に、40 ~ 45 で3 ~ 5時間再スラリー化した後、0 ~ 5 に冷却する。水を添加後短時間(約15分)で、真空濾過により結晶固形物を集める。得られた固形物を、イソプロパノール0.5 ~ 1容に25 ~ 40 で再スラリー化し、約5 に冷却した後、M形固形物を濾取する。

【0076】

5B : アジスロマイシン二水和物(1940g)を、温イソプロパノール(45)2容に完全に溶解した。得られた透明溶液を、インライン0.2マイクロメートルフィルターにより濾過して清浄なフラスコに入れた。温度を45 に維持し、溶液にM形種晶を加えた。冷却水7.8リットルを、8分間かけて添加した。この溶液を、5 に冷却し、粘ちようスラリーを得た。固形物を、真空濾過で単離し、清浄なフラスコに移した。結晶アジスロマイシンを、35 に暖めながらイソプロパノール1容にスラリー化した。このスラリーを、次に5 で30分間冷却し、固形結晶物質を濾取した。

【0077】

これらの操作により、実質的に純粋なM形アジスロマイシン、G形アジスロマイシンを実

10

20

30

40

50

質的に含まないM形アジスロマイシン及びアジスロマイシン二水和物を実質的に含まないM形アジスロマイシンが得られる。

【0078】

例6：N形の調製

エタノール2容とイソプロパノール2容を、反応容器に添加し、50 に加熱した。A形アジスロマイシンを、加熱したエタノール/イソプロパノール混合物に攪拌しながら添加して透明溶液を得た。反応容器に、蒸留水2容（周囲温度）を入れた。50 で攪拌を継続したところ、約1時間後に固形のN形アジスロマイシンが沈殿した。水を添加して5時間後、加熱を停止した。スラリーを、周囲温度に冷却した。沈殿したN形アジスロマイシンを、濾取し、真空オーブン中45 で4時間乾燥した。

10

【0079】

例7：非晶質アジスロマイシンの調製

A形結晶アジスロマイシンを、オーブン中、真空下110～120 で一晩加熱した。非晶質固形物を、集め、必要に応じて乾燥剤を用いて保存した。

【0080】

例8：H形の調製

アジスロマイシン二水和物又は他の結晶形を、プロピレングリコール6容に溶解した。得られたアジスロマイシンのプロピレングリコール溶液に、水2容を添加したところ、沈殿が生じた。スラリーを24時間攪拌し、得られた固形物を、濾取し、周囲温度で空気乾燥してH形結晶を得た。

20

【0081】

例9：Q形の調製

A形アジスロマイシン500mgをTHF2mlに溶解することにより、結晶粉末を調製した。透明無色溶液に、水1mlを室温で添加した。溶液が白濁したら、さらにTHFを1ml添加してアジスロマイシンを完全に溶解させ、得られた溶液を周囲温度で攪拌した。溶媒を7日間かけて蒸発させ、その後、乾燥固形物を集め、特性付けした。

【0082】

例10：粉末X線回折分析

銅X線、固定スリット（1.0、1.0、0.6mm）及びKevex固体検出器を備えたBrukerD5000回折計（ウィスコンシン州にあるMadison社製）を用いて、粉末パターンを収集した。ステップサイズ0.04度及びステップ時間1.0秒を用いて、23.0度から40.0度までのデータを収集した。得られた結果を、表9に示す。

30

【0083】

A形アジスロマイシンの実験PXRD回折パターンを、図2に示す。

【0084】

D形アジスロマイシンの実験PXRD回折パターンを、図6に示す。

【0085】

F形アジスロマイシンの実験PXRD回折パターンを、図10に示す。

【0086】

G形アジスロマイシンの実験PXRD回折パターンを、図13に示す。

40

【0087】

J形アジスロマイシンの実験PXRD回折パターンを、図16に示す。

【0088】

M形アジスロマイシンの実験PXRD回折パターンを、図18に示す。

【0089】

N形アジスロマイシンの実験PXRD回折パターンを、図19に示す。

【0090】

非晶質アジスロマイシンの実験PXRD回折パターンを、図20に示す。

【0091】

50

Q 形アジスロマイシンの実験 P X R D 回折パターンを、図 3 0 に示す。

【 0 0 9 2 】

R 形アジスロマイシンの実験 P X R D 回折パターンを、図 3 1 に示す。

【 0 0 9 3 】

実験の試料間のばらつきは、2 で約 $\pm 0.2^\circ$ であり、同じばらつきが、単結晶構造からの粉末の計算値と実験データとの間で観察された。詳細な分析から、ファミリー I における同形が P X R D により表 9 に示した特性ピーク組ではっきりと認められることが分かった。

【 0 0 9 4 】

【 表 1 0 】

10

表 9 : アジスロマイシンの $2\theta \pm 0.2^\circ$ における粉末 X 線回折のピーク

A	D	F	G	J	M	N	Q
7.2	<u>3.9</u>	5.7	5.0	5.0	5.0	<u>6.2</u>	5.7
7.9	7.3	<u>6.2</u>	5.8	5.7	5.6	7.3	6.1
<u>9.3</u>	<u>7.7</u>	7.4	<u>6.2</u>	<u>6.2</u>	<u>6.2</u>	7.8	<u>6.8</u>
9.9	<u>10.1</u>	7.8	7.4	7.3	7.3	9.8	<u>8.4</u>
11.2	<u>10.6</u>	8.9	7.9	7.8	7.8	<u>11.2</u>	9.5
12.0	11.5	9.8	9.8	8.2	8.2	11.9	10.6
12.7	12.3	10.3	10.2	9.7	9.8	12.5	11.2
<u>13.0</u>	12.8	<u>11.2</u>	10.8	10.3	10.2	<u>14.0</u>	11.5
14.0	13.6	<u>11.5</u>	<u>11.2</u>	<u>11.2</u>	<u>11.2</u>	<u>14.3</u>	12.4
15.6	14.5	11.9	<u>11.6</u>	<u>11.4</u>	11.9	<u>14.7</u>	12.7
16.0	15.4	12.2	12.0	11.9	12.2	15.3	13.4
16.4	15.6	12.5	12.5	12.3	12.5	15.7	13.6
16.8	16.9	<u>13.9</u>	13.3	12.5	<u>14.0</u>	<u>16.1</u>	14.1
17.5	18.3	<u>14.3</u>	<u>14.0</u>	<u>13.9</u>	<u>14.6</u>	<u>16.6</u>	14.4
18.2	19.0	<u>14.7</u>	<u>14.4</u>	<u>14.2</u>	15.3	<u>17.1</u>	14.9
<u>18.7</u>	19.9	<u>14.8</u>	<u>14.6</u>	<u>14.6</u>	<u>15.9</u>	<u>17.4</u>	16.3
19.1	20.8	15.3	<u>14.9</u>	15.3	<u>16.6</u>	18.5	17.2
19.8	<u>21.4</u>	15.7	15.3	15.7	<u>17.1</u>	19.0	18.2
20.5	21.6	<u>16.2</u>	15.7	<u>16.0</u>	<u>17.5</u>	19.6	19.0
20.9	22.0	<u>16.6</u>	<u>16.3</u>	<u>16.6</u>	18.4	20.0	19.5
21.2	23.0	<u>17.1</u>	<u>16.6</u>	<u>17.0</u>	18.5	20.4	19.8

20

30

40

【 表 1 1 】

21.6	23.3	<u>17.2</u>	<u>17.2</u>	<u>17.2</u>	19.1	<u>21.0</u>	<u>20.2</u>
21.8		<u>17.7</u>	<u>17.4</u>	<u>17.5</u>	19.6	21.8	20.5
24.0		18.0	<u>17.8</u>	18.1	20.0	<u>22.5</u>	21.1
		18.5	18.1	18.5	20.4	23.5	21.6
		19.0	18.6	19.0	<u>20.9</u>		21.9
		19.6	19.0	19.7	21.7		22.2
		20.0	19.6	20.0	<u>22.5</u>		23.6
		20.5	20.0	20.4	23.2		25.1
		<u>21.0</u>	20.5	<u>20.9</u>	23.6		
		21.7	<u>21.1</u>	21.7			
		22.0	21.8	22.4			
		<u>22.4</u>	<u>22.5</u>	<u>22.6</u>			
		22.6	23.5	23.3			
		23.1		23.5			
		23.5					
A	D	F	G	J	M	N	Q

10

20

下線を付したピークは、A、D形態、I及びQファミリー中の特徴的なピークである。
 イタリック体で下線を付したピークは、ファミリーIの同形中で特徴的なピークの組である。

【0095】

ファミリーI同形は、以下の共通の特性を有する：2 6 . 2 度、1 1 . 2 度、2 1 . 0 ± 0 . 1 度及び2 2 . 5 ± 0 . 1 度での回折ピーク。各同形は、以下の代表的な回折ピーク組を示し、各組は特徴的なピーク間距離を有する。

【0096】

記載の回折ピーク位置の精度は、2 の ± 0 . 2 度内である。

【0097】

A形の代表的なPXRDPターンを、図2に示す。A形は、2 9 . 3 度、1 3 . 0 度及び1 8 . 7 度でピークを示す。

【0098】

D形の代表的なPXRDPターンを、図6に示す。D形は、2 3 . 9 度、1 0 . 1 度、1 0 . 6 度及び2 1 . 4 度でピークを示す。

40

【0099】

F形の代表的なPXRDPターンを、図10に示す。F形は、ファミリーIの特徴的なピークを示し、3組のピーク、すなわち、2 1 1 . 2 度及び1 1 . 5 度に1組目；2 1 3 . 9 度、1 4 . 3 度、1 4 . 7 度及び1 4 . 8 度に2組目；2 1 6 . 2 度、1 6 . 6 度、1 7 . 1 度、1 7 . 2 度及び1 7 . 7 度に3組目を示す。

【0100】

G形の代表的なPXRDPターンを、図13に示す。G形は、ファミリーIの特徴的なピークを示し、3組のピーク、すなわち、2 1 1 . 2 度及び1 1 . 6 度に1組目；2 1 4 . 0 度、1 4 . 4 度、1 4 . 6 度及び1 4 . 9 度に2組目；2 1 6 . 3 度、1 6 . 6 度、1 7 . 2 度、1 7 . 4 度及び1 7 . 8 度に3組目を示す。

50

【 0 1 0 1 】

J形の代表的なP X R Dパターンを、図16に示す。J形は、ファミリーIの特徴的なピークを示し、3組のピーク、すなわち、2 11 . 2度及び11 . 4度に1組目；2 13 . 9度、14 . 2度及び14 . 6度に2組目；2 16 . 0度、16 . 6度、17 . 0度、17 . 2度及び17 . 5度に3組目を示す。

【 0 1 0 2 】

M形の代表的なP X R Dパターンを、図18に示す。M形は、ファミリーIの特徴的なピークを示し、3組のピーク、すなわち、2 11 . 2度に1組目；2 14 . 0度及び14 . 6度に2組目；2 15 . 9度、16 . 6度、17 . 1度及び17 . 5度に3組目を示す。

10

【 0 1 0 3 】

N形の代表的なP X R Dパターンを、図10に示す。N形は、ファミリーIの特徴的なピークを示す。N形のピーク組は、F形、G形、J形及びM形のものと似ており、2 11 . 2度～11 . 6度に1組目；2 13 . 9度～15 . 0度に2組目；2 15 . 9度～17 . 9度に3組目を示す。ピークは、ファミリーIにおける同形の可変割合での混合のために、位置、強度及び幅がわずかに異なることがある。

【 0 1 0 4 】

Q形の代表的なP X R Dパターンを、図30に示す。Q形は、2 6 . 8度、8 . 4度及び20 . 2度にピークを示す。

【 0 1 0 5 】

R形の代表的なP X R Dパターンを、図31に示す。

20

【 0 1 0 6 】

例 1 1：単結晶 X 線分析

銅 X 線及び黒鉛モノクロメーターを備えた B r u k e r X 線回折計を用いて、室温でデータを収集した。直接法を用いて、構造を解明した。全ての必要な結晶学的計算と分子ディスプレイを容易にするために、B r u k e r A X S 社製の S H E L X T L コンピュータライブラリー (S H E L X T L (商 標)、米 国 ウ ィ ス コ ン シ ン 州 マ デ ィ ソ ン に あ る B r u k e r A X S 社 の リ フ ェ レ ン ス マ ニ ュ ア ル、バ ー ジ ョ ン 5 . 1 (1 9 9 7)) を 用 い た。

【 0 1 0 7 】

例 1 2：単結晶データからの P X R D パターンの計算

単結晶と粉末試料との間の結果を比較するために、単結晶の結果から計算粉末パターンを得ることができる。S H E L X T L コンピュータライブラリーの一部分として提供された X F O G 及び X P O W コンピュータプログラムを使用して、この計算をおこなった。計算粉末パターンと実験粉末パターンとを比較することにより、粉末試料が割り当てられた単結晶構造に相当するかどうかを確認する (表 9 - A)。この操作を、A 形、D 形、F 形、G 形及び J 形結晶形態のアジスロマイシンについておこなった。

30

【 0 1 0 8 】

A 形アジスロマイシンの計算 P X R D 回折パターンを、図1に示す。

【 0 1 0 9 】

D 形アジスロマイシンの計算 P X R D 回折パターンを、図5に示す。

40

【 0 1 1 0 】

F 形アジスロマイシンの計算 P X R D 回折パターンを、図9に示す。

【 0 1 1 1 】

G 形アジスロマイシンの計算 P X R D 回折パターンを、図12に示す。

【 0 1 1 2 】

J 形アジスロマイシンの計算 P X R D 回折パターンを、図15に示す。

【 0 1 1 3 】

図3、図7、図11、図14及び図17におけるそれぞれA形、D形、F形、G形及びJ形のオーバーレイ粉末X線回折パターンに結果を示す。下の方のパターンは、計算粉末パ

50

ターン（単結晶の結果から得た）に相当し、上の方のパターンは、代表的な実験粉末パターンに相当する。2つのパターンが一致している場合、粉末試料と対応する単結晶構造とが一致していた。

【 0 1 1 4 】

【 表 1 2 】

表 9-A : ファミリー I の同形のPXRDピークの計算値及び実験値

Fの計算値	Fの実験値	Gの計算値	Gの実験値	Jの計算値	Jの実験値	Mの実験値
		5.2	5.0			
		5.7	5.8	5.8	5.7	5.6
6.3	6.2	6.2	6.2	6.3	6.2	6.2
7.4	7.4	7.5	7.4	7.4	7.3	7.3
7.9	7.8	7.9	7.9	7.9	7.8	7.8
8.8	8.9	8.9	9.3	8.3	8.2	8.2
9.9	9.8	9.9	9.9	9.8	9.7	9.8
10.3	10.3		10.2	10.4	10.3	10.2
10.9		10.9	10.8			
11.3	11.2	11.3	11.2	11.2	11.2	11.2
11.5	11.4	11.6	11.6	11.4	11.4	なし
12.0	11.9	12.0	11.9	12.0	11.9	11.9
12.3	12.2	12.3		12.3	12.3	12.2
12.6	12.5	12.5	12.5	12.6	12.5	12.5
14.0	14.0	13.4	13.3	14.0	13.9	14.0
14.3	14.3	14.1	14.0	14.2	14.2	なし
		14.4	14.4			
14.7	14.7	14.7	14.6	14.7	14.6	14.6
14.9	14.8	14.9	14.9	14.8		
15.4	15.3	15.4	15.3	15.3	15.3	15.3
15.8	15.7	15.7	15.7	15.8	15.7	15.9
16.2	16.2	16.3	16.3	16.0	16.0	なし
16.6	16.6	16.6	16.6	16.7	16.6	16.6
17.1	17.2	17.1		17.1	17.0	17.1
17.3	17.3	17.3	17.2	17.4	17.2	なし
17.5	17.4	17.5	17.4	17.6	17.5	17.5
17.7	17.7	17.9	17.8	17.9		
18.0	18.0	18.1	18.1	18.2	18.1	18.4
18.6	18.5	18.7	18.7	18.5	18.5	18.5
19.1	19.0	19.1	19.0	19.1	19.0	19.1
19.7	19.6	19.6	19.6	19.8	19.7	19.6
20.0	20.0	20.0	20.0	20.1	20.0	20.0
20.5	20.4	20.6	20.5	20.5	20.4	20.4
21.1	21.0	21.2	21.0	20.8	20.9	20.9
21.8	21.7		21.6	21.6	21.7	21.7
22.1	22.0	21.8	21.8	21.8		
22.5	22.4	22.3	22.2	22.5	22.4	22.5
22.7	22.6	22.5	22.5	22.8	22.6	
23.1	23.1	22.9		23.4	23.3	23.2
23.6	23.5	23.5	23.5	23.7	23.5	23.6

10

20

30

40

50

【 0 1 1 5 】

例 1 3 : 固体 NMR 分析

固体 NMR 分析 :

全ての¹³C 固体 NMR スペクトルを、11.75 T 分光計（（マサチューセッツ州ビレリカにある Bruker Biospin 社）125 MHz¹³C 周波数に対応）により収集した。スペクトルを、交差分極マジック角スピニング（CPMAS）プローブを周囲温度及び圧力で操作して収集した。分析した試料の量に応じて、7 mm B L 又は 4 mm B L Bruker プローブ（試料 300 mg 及び 75 mg にそれぞれ最大速度 7 kHz 及び 15 kHz を適用）を用いた。データを、5.0 Hz の指数ライン広がり関数により処理した。65 kHz 及び 100 kHz のプロトンデカップリングを、それぞれ 7 mm プローブ及び 4 mm プローブとともに使用した。十分な取得数を平均して、全てのピークについ

て適切な信号対ノイズ比を得た。典型的には、リサイクル遅延 3.0 秒で 600 スキャン（ほぼ総獲得時間 30 分間に相当）を得た。標準 NMR ベンダー プラクティスに従って KBr 粉末を用いて、マジック角を調整した。スペクトルは、ヘキサメチルベンゼン（HMB）のメチル共鳴（17.3 ppm）又はアダマンタン（ADM）のアップフィールド共鳴（29.5 ppm）を基準とした。HMB 基準スペクトルは、ADM 基準の同じスペクトルに対して全てのピークが 0.08 ppm だけ下のフィールドにシフトした化学シフトを示す。スペクトルウィンドウは、極微の 190 ~ 0 ppm のスペクトル領域を含んでいた。結果を、表 10 に示す。M 形、H 形及び R 形についての ^{13}C - NMR スペクトルは、ADM 基準とした。A 形、D 形、G 形、F 形、J 形及び N 形の ^{13}C - NMR スペクトルは、HMB 基準とした。H 形と R 形は、15 kHz の速度でスピニングした。

10

【0116】

【表13】

表10：アジスロマイシンの ^{13}C ss-NMR化学シフト(±0.2ppm)

A	D	G	F	J	M	N	H	R
178.1	178.1	179.5*	179.5	179.6	179.6	179.6	179.5	177.9
104.1	103.9	105.5	178.6	178.4	105.6	178.7	178.7	104.6
98.4	95.1	103.5	105.5	105.5	103.4	105.6	105.4	103.6
84.6	84.2	95.0	103.4	103.4	94.9	103.6	103.2	95.3
82.6	79.4	86.2	94.9	95.0	86.7	95.0	95.0	85.4
79.3	78.9	83.1	86.4	86.4	82.9	86.5	86.4	84.0
78.3	75.7	78.9	83.0	82.9	79.3	83.1	82.7	79.4
75.6	74.6	78.2	79.1	79.2	78.1	79.0	79.2	79.0
74.7	74.0	77.6	78.1	78.1	77.0	77.9	78.3	75.6
73.9	72.9	76.4	77.9	76.8	76.7	76.5	78.0	74.5
73.5	71.9	75.7	76.5	76.2	74.7	74.8	76.4	73.9
70.8	71.0	74.7	74.7	74.7	74.2	74.2	74.7	73.9
68.0	69.4	74.3	74.1	74.1**	71.3	73.6	74.1	72.9
66.2	67.8	73.5	73.5	72.0	69.2	71.5	73.5	71.8
63.8	65.7	71.3	71.4	71.3	68.6	69.2	73.1	71.0
63.2	64.7	69.1	69.1	69.2	67.3	68.7	71.2	69.1
52.2	49.2	68.8	68.6	68.6	66.2	67.3	69.1	67.5

20

30

40

【0117】

【表14】

44.3	45.8	67.4	67.3	67.3**	65.5	66.2	68.4	65.6
42.6	43.1	65.9	66.1	66.2**	63.8	65.7	67.3	64.5
41.7	40.6	65.2	65.6	65.5**	63.3	63.7	66.9	49.4
39.1	37.1	64.0	63.6	63.7	50.0	58.1	66.1	45.7
35.4	36.4	63.3	58.0	50.0	47.1	50.1	65.5*	42.9
34.6	29.6	50.0	50.0	46.9	45.9	47.1	63.7*	41.6
26.9	29.3	46.9	47.0	45.9	44.7	46.0	49.9	40.4
26.3	28.0	46.0	45.9	44.7	43.8	44.8	46.8	37.0
23.7	27.7	44.5	44.7	43.7	41.9	43.8	45.9	36.2
23.3	22.1	43.7	43.7	41.6	41.1	41.5	44.5	29.4
21.7	21.1	41.5	41.5	41.0	37.4	41.1	43.8*	29.0
19.5	18.6	40.8	41.1	37.1	36.2	37.3	41.7	28.2
17.5	16.7	37.5	37.3	36.5**	33.6	36.5	40.9	27.4
15.9	16.1	36.5	36.4	35.4**	30.1	33.7	37.1	21.4
13.2	10.6	33.6	33.6	33.5	28.1	30.4	36.3	20.8
11.3	9.0	30.0	30.3	30.4	27.2	28.1	33.7	18.7
7.2	8.6	27.9	28.0	28.0	26.0	27.2	33.3	16.5
		27.3	27.1	27.1	23.2	26.0	30.5*	16.1
		23.1	23.2	25.2	22.8	23.2	27.9	15.7
		22.5	22.6	23.2	22.5	22.6	27.1	10.3
		21.9	21.9	22.5**	21.8	22.0	23.1	9.6

10

20

太字で下線を付して明示した化学シフトは、各形態の代表的なピーク又はピークの組である。イタリック体で明示した化学シフトは広範で可変であることのできる溶媒ピークである ($\pm 0.4\text{ppm}$)。単一のアスタリスクで明示した化学シフトは、 0.3ppm 未満の開裂を示すことができる。2重のアスタリスクで明示した化学シフトは、 $\pm 0.3\text{ppm}$ の変動を示すことができる。

30

【 0 1 1 8 】

【 表 1 5 】

表10 (続き) : アジスロマイシンの ^{13}C ss-NMR化学シフト($\pm 0.2\text{ppm}$)

A	D	G	F	J	M	N	H	R
		20.9	20.8	21.9**	20.2	20.8	22.6	<u>8.9</u>
		20.2	20.4	20.7	18.9	19.0	22.3	<u>8.6</u>
		18.8	18.9	18.9	17.4	16.9	21.9	
		17.0	16.8	16.8	16.3	15.8	20.7	
		16.0	<u>17.2</u>	15.6**	15.5	12.2	20.3	
		12.2	15.7	12.1	12.1	<u>9.9</u>	18.8	
		<u>10.4</u>	12.2	<u>11.5</u>	<u>10.3</u>	<u>9.4</u>	17.1	
		<u>9.9</u>	<u>10.1</u>	12.1	<u>9.6</u>	<u>7.9</u>	16.6	
		<u>9.3</u>	<u>9.8</u>	<u>10.0</u>	<u>9.3</u>	<u>6.6</u>	15.8	
		<u>7.6</u>	<u>9.3</u>	<u>9.3</u>	<u>7.7</u>		15.4	
		<u>6.5</u>	<u>7.9</u>	<u>8.1</u>	<u>7.1</u>		12.0	
			<u>6.6</u>	<u>6.8**</u>			<u>9.9</u>	
							<u>9.1</u>	
							<u>7.9</u>	
							<u>7.0</u>	

10

20

太字で下線を付して明示した化学シフトは各形態の代表的なピーク又はピークの組である。イタリック体で明示した化学シフトは広範で可変であることのできる溶媒ピークである($\pm 0.4\text{ppm}$)。単一のアスタリスクで明示した化学シフトは、 0.3ppm 未満の開裂を示すことができる。2重のアスタリスクで明示した化学シフトは、 $\pm 0.3\text{ppm}$ の変動を示すことができる。

30

【0119】

記載の化学シフトの精度は、特記のない限りは $\pm 0.2\text{ppm}$ 内である。

【0120】

A形の代表的な ^{13}C ss-NMRスペクトルを、図21に示す。A形は、 178.1ppm にピーク、さらに 104.1ppm 、 98.4ppm 、 84.6ppm 、 26.9ppm 、 13.2ppm 、 11.3ppm 及び 7.2ppm にピークを示す。

【0121】

D形の代表的な ^{13}C ss-NMRスペクトルを、図22に示す。D形は、 178.1ppm に最高化学シフトピークを示し、さらに 103.9ppm 、 95.1ppm 、 84.2ppm 、 10.6ppm 、 9.0ppm 及び 8.6ppm の化学シフトにピークを示す。

40

【0122】

F形の代表的な ^{13}C ss-NMRスペクトルを、図23に示す。F形は、約 $179.1 \pm 2\text{ppm}$ (179.5ppm 及び 178.6ppm)に2つの化学シフトピークを有し、 10.1ppm 、 9.8ppm 、 9.3ppm 、 7.9ppm 及び 6.6ppm に5つのピークの組を有し、 $58.0 \pm 0.5\text{ppm}$ 及び $17.2 \pm 0.5\text{ppm}$ にエタノールピークを示す。溶媒ピークは、ブロードで且つ強度が比較的弱いことがある。

【0123】

G形の代表的な ^{13}C ss-NMRスペクトルを、図24に示す。G形は、 179.5ppm

50

の最高化学シフトピーク (< 0.3 ppmの開裂を有することのある単一ピーク) を有し、 10.4 ppm、 9.9 ppm、 9.3 ppm、 7.6 ppm及び 6.5 ppmに5つのピークの組を有する。

【0124】

J形の代表的な ^{13}C ss NMRスペクトルを、図25に示す。J形は、約 179.1 ± 2 ppm (179.6 ppm及び 178.4 ppm) に2つの化学シフトピークを有し、 10.0 ppm、 9.3 ppm、 8.1 ppm及び 6.8 ppmに4つのピークの組を有し、 11.5 ± 0.5 ppm及び 25.2 ± 0.5 ppmにn-プロパノールピークを有する。溶媒ピークは、ブロードで且つ強度が比較的弱いことがある。

【0125】

M形の代表的な ^{13}C ss NMRスペクトルを、図26に示す。M形は、 179.1 ± 1 ppm (179.6 ppm) に一つの化学シフトピークを有し、 41.9 ppm及び 16.3 ppmにピークを有し、 10.3 ppm、 9.6 ppm、 9.3 ppm、 7.7 ppm及び 7.1 ppmに5つのピークの組を有し、 26.0 ± 0.5 ppmにイソプロパノールピークを有する。溶媒ピークは、ブロードで且つ強度が比較的弱いことがある。

【0126】

N形の代表的な ^{13}C ss NMRスペクトルを、図27に示す。N形は、ファミリーIにおける同形の組み合わせとしての化学シフトを示す。これらのピークは、N形結晶固溶体に含まれる同形の可変割合での混合のため、化学シフト並びに相対強度及び幅が異なることがある。

【0127】

非晶質形の代表的な ^{13}C ss NMRスペクトルを、図28に示す。非晶質アジスロマイシンは、ブロードな化学シフトを示す。特徴的な化学シフトのピーク位置は、 179 及び 11 ± 0.5 ppmである。

【0128】

A形、D形、F形、G形、H形、J形、M形、N形及びR形アジスロマイシンについて観察されたss NMRピークを、まとめて表10に示す。

【0129】

例14：剤形のNMR分析

^{13}C ss NMRにより医薬剤形に含有されるアジスロマイシンの形態を同定できることを示すために、G形アジスロマイシンを含有する被覆アジスロマイシン錠剤を作製し、 ^{13}C ss NMRにより分析した。錠剤を、湿式顆粒化し、 $0.262'' \times 0.531''$ ツーリングを用いてF-Press (英国リバプールにあるManesty社) により錠剤化した。錠剤は、以下に示す処方により総錠剤重量が 450mg でG形アジスロマイシン 250mg を含有するように配合及び錠剤化した。錠剤に、ピンク色のOpadry II (登録商標) (ラクトース水和物と、ヒドロキシプロピルメチルセルロースと、二酸化チタン、Drug & Cosmeticレッド#30と、トリアセチンとの混合物) (ペンシルバニア州ウェストポイントにあるColorcon社製) を均一に被覆した。

【0130】

【表16】

物質	パーセント	バッチ(g)
アジスロマイシン "G" 形態	58.23	174.69
アルファ化コーンスターチ	6.00	18.00

【0131】

【表17】

無水リン酸2カルシウム	30.85	92.55
クロスカルメロースナトリウム	2.00	6.00
10%ラウリル硫酸ナトリウムを含むステアリン酸マグネシウム	2.92	8.76
合計	100.00	300.00

【0132】

10

被覆錠剤を、徐々に破碎し、得られた粉末試料を、充填ツールにより、 ^{13}C バックグラウンド含まない固体ロータに充填した。試料の分析は、例13に概略を示す条件下で実施した。

【0133】

G形アジスロマイシンを含有する錠剤の代表的な ^{13}C ss NMRスペクトルを、図29に示す。

【0134】

例15：抗菌活性：

細菌及び原生動物の病原体に対する本発明の結晶形の活性は、ヒト病原体（アッセイI）又は動物病原体（アッセイII及びIII）の確定している菌株の増殖を阻害する化合物の能力により示される。

20

【0135】

アッセイI

以下に述べるアッセイIでは、通常の方法と判定基準を用いる。アッセイIは、マクロライド耐性の確定している機構を回避する化合物を得ることができる化学的変性の指針が得られるように設計する。アッセイIでは、細菌菌株のパネルを、特徴付けられたマクロライド耐性機構の代表的なものを含む、種々の標的病原体種を含むようにして作製する。このパネルを使用すると、化学構造／活性の関係を、効力、活性スペクトル、耐性機構を除去するために必要であると考えられる構造要素又は変性（修飾）とに関連して決定することができる。スクリーニングパネルを含む細菌病原体を、下表に示す。多くの場合、マクロライド感受性親菌株とそれに由来するマクロライド耐性菌株の両方が、耐性機構を回避する化合物の能力をより正確に評価するのに有効である。ermA/ermB/ermCと命名されている遺伝子を含有する菌株は、Ermメチラーゼによる23SrRNA分子の修飾（メチル化）のため、マクロライド、リンコサミド及びストレプトグラミンB抗生物質に対して耐性を有するので、一般的に3種の構造の全ての結合を防止する。2種類のマクロライドエフラックスについての記載がなされている；msrAは、マクロライド及びストレプトグラミンの侵入を阻止するブドウ球菌のエフラックス系の成分をコードし、me f A/Eはマクロライドのみを流出させるとされる膜貫通タンパク質をコードする。マクロライド抗生物質の不活性化が生じることがあり、これは2'-ヒドロキシル（mph）のリン酸化又は大環式ラクトン（エステラーゼ）の開裂のいずれかが介在することがある。これらの菌株は、通常のポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法を用いて及び／又は耐性決定因子を配列決定することによって特徴付けることができる。この用途におけるPCR法の使用については、J. Sutcliffe等，“Detection Of Erythromycin-Resistant Determinants By PCR”，Antimicrobial Agents and Chemotherapy，40（11），2562-2566（1996）に記載されている。このアッセイは、マイクロタイタープレートでおこなわれ、Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests - 第6版；Approved Standard（The National Committee for Clinical Laboratory Standar

30

40

50

d s (N C C L S) 発行) ガイドラインによって判定される ; 最小阻止濃度 (M I C) を、菌株の比較に用いる。結晶化合物を、最初にジメチルスルホキシド (D M S O) 中に 40 m g / m l 原液として溶解する。

【 0 1 3 6 】

【 表 1 8 】

菌株名	マクロライド耐性メカニズム
スタフィロコッカス・アウルス (Staphylococcus aureus) 1116	感受性のある親
スタフィロコッカス・アウルス (Staphylococcus aureus) 1117	ErmB
スタフィロコッカス・アウルス (Staphylococcus aureus) 0052	感受性のある親
スタフィロコッカス・アウルス (Staphylococcus aureus) 1120	ErmC
スタフィロコッカス・アウルス (Staphylococcus aureus) 1032	msrA, mph, エラスターゼ
スタフィロコッカス・ヘリチカス (Staphylococcus hemolyticus) 1006	msrA, mph
スタフィロコッカス・ピオゲネス (Staphylococcus pyogenes) 0203	感受性のある親
スタフィロコッカス・ピオゲネス (Staphylococcus pyogenes) 1079	ErmB
スタフィロコッカス・ピオゲネス (Staphylococcus pyogenes) 1062	感受性のある親
スタフィロコッカス・ピオゲネス (Staphylococcus pyogenes) 1061	ErmB
スタフィロコッカス・ピオゲネス (Staphylococcus pyogenes) 1064	ErmB
スタフィロコッカス・アガラクチ (Staphylococcus agalactiae) 1024	感受性のある親
スタフィロコッカス・アガラクチ (Staphylococcus agalactiae) 1023	ErmB
スタフィロコッカス・ニューモニエ (Staphylococcus pneumoniae) 1016	感受性を有する
スタフィロコッカス・ニューモニエ (Staphylococcus pneumoniae) 1046	ErmB
スタフィロコッカス・ニューモニエ (Staphylococcus pneumoniae) 1095	ErmB
スタフィロコッカス・ニューモニエ (Staphylococcus pneumoniae) 1175	MefE
スタフィロコッカス・ニューモニエ (Staphylococcus pneumoniae) 0085	感受性を有する
ヘモフィルス・インフルエンゼ (Haemophilus influenzae) 0131	感受性を有する
モラクセラ・カタリス (Moraxella catarrhalis) 0040	感受性を有する
モラクセラ・カタリス (Moraxella catarrhalis) 1055	エリスロマイシン中間体に耐性を有する
エシェリシア・コリ (Escherichia coli) 0266	感受性を有する

10

20

30

【 0 1 3 7 】

アッセイ I I は、パスツレラ・ムルトシダ (P a s t e u r e l l a m u l t o c i d a) に対する活性についての試験に利用され、アッセイ I I I は、パスツレラ・ヘモリティカ (P a s t e u r e l l a h a e m o l y t i c a) に対する活性についての試験に利用される。

【 0 1 3 8 】

アッセイ I I

このアッセイは、マイクロリットルフォーマットでの液体希釈法に基づいている。ピー・ムルトシダ (P . m u l t o c i d a) (菌株 5 9 A 0 6 7) の単一コロニーを、ブレインハートインフュージョン (B H I) プロス 5 m l に接種する。化合物 1 m g を、ジメチルスルホキシド (D M S O) 1 2 5 μ l に可溶化することによって、試験化合物を調製する。接種されない B H I プロスを用いて、試験化合物の希釈物を調製する。用いた試験化合物の濃度は、二倍連続希釈法によって 2 0 0 μ g / m l ~ 0 . 0 9 8 μ g / m l の範囲である。ピー・ムルトシダ (P . m u l t o c i d a) 接種 B H I を接種されない B H I プロスによって希釈して、細胞懸濁液 1 0 ⁴ / 2 0 0 μ l を形成する。B H I 細胞懸濁液に試験化合物の各連続希釈物を混合して、3 7 °C で 1 8 時間インキュベートする。最小阻止

40

50

濃度 (M I C) は、接種されない対照と比較して判定したときに、ピー・ムルトシダ (P . m u l t o c i d a) の増殖の 1 0 0 % 阻害を示した化合物の濃度に等しい。

【 0 1 3 9 】

アッセイ I I I

このアッセイは、S t e e r s R e p l i c a t o r を用いた寒天希釈法に基づいている。寒天プレートから単離した 2 ~ 5 コロニーを、B H I ブロスに接種して、振とうしながら (2 0 0 r p m)、3 7 °C において一晚インキュベートする。翌朝、3 0 0 μ l の完全増殖ピー・ヘモリティカ (P . h a e m o l y t i c a) 前培養物を 3 m l の新鮮な B H I ブロスに接種して、振とうしながら (2 0 0 r p m)、3 7 °C においてインキュベートする。適当な量の試験化合物を、エタノール中に溶解して、一連の二倍連続希釈物を調製する。各連続希釈物 2 m l を溶解 B H I 寒天 1 8 m l と混合して、凝固させる。接種したピー・ヘモリティカ (P . h a e m o l y t i c a) 培養物が 0 . 5 M c F a r l a n d 標準密度に達したときに、ピー・ヘモリティカ (P . h a e m o l y t i c a) 培養物約 5 μ l を、種々な濃度の試験化合物を含有する B H I 寒天プレート上に、S t e e r s R e p l i c a t o r を用いて接種し、3 7 °C で 1 8 時間インキュベートする。試験化合物の初期濃度は、1 0 0 ~ 2 0 0 μ g / m l の範囲である。M I C は、接種されない対照と比較して判定したときに、ピー・ヘモリティカ (P . h a e m o l y t i c a) の増殖の 1 0 0 % 阻害を示した試験化合物の濃度に等しい。

10

【 0 1 4 0 】

本発明の結晶形のインビボ活性は、マウスにおいて通常行われる、当業者に周知の通常の動物保護試験によって測定することができる。

20

【 0 1 4 1 】

マウスを、それらの到着時に、ケージに割り当て (1 0 匹 / ケージ)、用いる前に少なくとも 4 8 時間順化させる。動物に、0 . 5 m l の 3×10^3 C F U / m l 細菌懸濁液 (ピー・ムルトシダ (P . m u l t o c i d a) 菌株 5 9 A 0 0 6) を腹腔内接種する。各実験は、0 . 1 X チャレンジ量で感染された 1 群と、1 X チャレンジ量で感染された 2 群とを含めた、少なくとも 3 つの非薬剤投与対照群を有し ; 1 0 X チャレンジデータ群も用いることができる。一般に、ある一定の試験における総てのマウスを、特に反復使用注射器 (例えば、C o r n w a l l (登録商標) 注射器) を用いて、チャレンジ投与する場合には、3 0 ~ 9 0 分以内にチャレンジすることができる。チャレンジを開始してから 3 0 分後に、最初の化合物処置をする。3 0 分間の終了までに動物の総てがチャレンジされなかった場合には、化合物投与を開始するために、もう一人必要なことがある。投与経路は皮下投与又は経口投与である。皮下投与の場合、首の背部における緩い皮膚に投与され、経口投与の場合、栄養針を用いておこなう。両方の場合に、マウス 1 匹当りに 0 . 2 m l の容量が用いられる。化合物はチャレンジ後 3 0 分間目、4 時間目及び 2 4 時間目に投与される。各試験には、同じ経路で投与される既知効力の対照化合物を含める。動物を毎日観察し、各群の生存動物数を記録する。ピー・ムルトシダ (P . m u l t o c i d a) モデルの監視を、チャレンジ後 9 6 時間 (4 日間) 続ける。

30

【 0 1 4 2 】

P D₅₀ は、試験した化合物が薬物治療のない場合に致命的であろう細菌感染症による死亡からマウス群の 5 0 % を保護する、計算投与量である。

40

【 0 1 4 3 】

本発明の結晶形 (以下、「活性化合物」と称する) は、細菌感染症又は原生動物感染症の治療又は予防に経口、非経口、局所又は直腸経路によって投与することができる。一般に、これらの活性化合物は、1 回投与量又は分割投与量 (即ち、1 ~ 4 回投与 / 日) として約 0 . 2 m g / k g 体重 / 日 (m g / k g / 日) ~ 約 2 0 0 m g / k g / 日の範囲である投与量で投与するのが最も望ましいが、治療される対象の種、体重及び状態並びに選択された特定の投与経路によって変化が必然的に生じることがある。しかしながら、約 2 m g / k g / 日 ~ 約 5 0 m g / k g / 日の範囲内である投与量レベルを用いるのが、最も望ましい。それにもかかわらず、治療される哺乳動物、魚類又は鳥類の種、前記薬物に対する

50

その個体の反応並びに選択された医薬的製剤の種類及びこのような投与が行われる時間と間隔によって、変化が生じることがある。場合によっては、上記範囲の下限未満の投与量レベルで十分であることがあり、他の場合には、さらに投与量を増やしても有害な副作用を生じることなく用いることができるが、このような大きな投与量の場合は、1日間を通して投与するために最初にいくつかの小さい投与量に分割する。

【0144】

活性化合物を、単独で又は薬学的に許容される担体又は希釈剤と組み合わせて、予め指定された経路によって投与することができ、このような投与は1回投与量で又は複数回投与量で行うことができる。より具体的には、活性化合物を、非常に多様な異なる投与形で投与することができる、即ち、活性化合物を、種々な薬学的に許容される不活性担体と、錠剤、カプセル、菱形剤、トローチ、硬質キャンディ、粉末、スプレー、クリーム、膏薬、座薬、ゼリー、ゲル、ペースト、ローション、軟膏、薬袋、経口投与用懸濁剤用粉末、水性懸濁液、注射可能な溶液、エリキシル剤、シロップ等の形態で組み合わせることができる。このような担体には、固体希釈剤若しくは充填剤、無菌水性媒質及び種々な非毒性有機溶媒等がある。さらに、経口医薬組成物は、適当に甘味及び/又はフレーバーをつけることができる。一般に、活性化合物はこのような投与形中に約1.0重量%～約70重量%の範囲の濃度レベルで存在する。

10

【0145】

経口投与の場合、例えば微結晶セルロース、クエン酸ナトリウム、炭酸カルシウム、リン酸二カルシウム及びグリシンのような、種々な賦形剤を含有する錠剤を、ポリビニルピロリドン、スクロース、ゼラチン及びアラビアゴムのような造粒結合剤と共に、例えば、澱粉（好ましくは、トウモロコシ澱粉、ジャガイモ澱粉若しくはタピオカ澱粉）、アルギン酸及びある一定の複合シリケートのような種々な崩壊剤とともに、用いることができる。さらに、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム及びタルクのような滑剤が、錠剤形成のためにしばしば非常に有用である。同様な種類の固体組成物を、ゼラチンカプセル中の充填剤として用いることもでき；これに関連して好ましい物質には、ラクトース又は乳糖だけでなく、高分子量ポリエチレングリコールなどもある。経口投与のために水性懸濁液及び/又はエリキシル剤が望ましい場合には、活性化合物を種々な甘味剤又はフレーバー剤、着色剤又は染料と組み合わせることができ、必要に応じて、乳化剤及び/又は懸濁化剤も、例えば水、エタノール、プロピレングリコール、グリセリン及びこれらの種々な同様な組み合わせのような希釈剤と共に組み合わせることができる。

20

30

【0146】

非経口投与の場合、胡麻油若しくは落花生油中又は水性プロピレングリコール中の活性化合物の溶液を用いることができる。水溶液は、必要に応じて適当に緩衝化しなければならない（好ましくは、8より大きいpH）、液体希釈剤は最初に等張性にしなければならない。これらの水溶液は、静脈内注射に好適である。油性溶液は、関節内、筋肉内及び皮下注射に好適である。無菌条件下での総てのこれらの溶液の製造は、当業者に周知の標準製薬技術によって容易におこなうことができる。

【0147】

さらに、活性化合物を、局所投与することも可能であり、これは標準的製薬法に従って、クリーム、ゼリー、ゲル、ペースト、パッチ、軟膏等によっておこなうことができる。

40

【0148】

ヒト以外の動物、例えば、家畜又は家庭内動物への投与の場合、活性化合物を、動物の飼料に含めて又は経口的にドレンチ組成物として投与することができる。

【0149】

また、活性化合物を、例えば小さい単ラメラ小胞、大きい単ラメラ小胞及び多重ラメラ小胞のようなリポソーム放出系として投与することもできる。リポソームは、例えばコレステロール、ステアリルアミン又はホスファチジルコリンのような、種々のリン脂質から形成することができる。

【図面の簡単な説明】

50

【 0 1 5 0 】

【図 1】A 形のアジスロマイシンの計算粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 2】A 形のアジスロマイシンの実験粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 3】図 1 と図 2 を重ねた図であって、下の方が A 形アジスロマイシンの計算回折パターン (図 1) であり、上の方が A 形アジスロマイシンの実験回折パターン (図 2) であり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 4】C 形アジスロマイシンの計算粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。 10

【図 5】D 形アジスロマイシンの計算粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 6】D 形アジスロマイシンの実験粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 7】図 5 と図 6 を重ねた図であって、下の方が D 形アジスロマイシンの計算回折パターン (図 5) であり、上の方が D 形アジスロマイシンの実験回折パターン (図 6) であり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 8】E 形アジスロマイシンの計算粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。 20

【図 9】F 形アジスロマイシンの計算粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 10】F 形アジスロマイシンの実験粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 11】図 9 と図 10 を重ねた図であって、下の方が F 形アジスロマイシンの計算回折パターン (図 9) であり、上の方が F 形アジスロマイシンの実験回折パターン (図 10) であり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 12】G 形アジスロマイシンの計算粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。 30

【図 13】G 形アジスロマイシンの実験粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 14】図 12 と図 13 を重ねた図であって、下の方が G 形アジスロマイシンの計算回折パターン (図 12) であり、上の方が G 形アジスロマイシンの実験回折パターン (図 13) であり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 15】J 形アジスロマイシンの計算粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 16】J 形アジスロマイシンの実験粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。 40

【図 17】図 15 と図 16 を重ねた図であって、下の方が J 形アジスロマイシンの計算回折パターン (図 15) であり、上の方が J 形アジスロマイシンの実験回折パターン (図 16) であり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 18】M 形アジスロマイシンの実験粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 19】N 形アジスロマイシンの実験粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度 (2 シータ (2)) であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 20】非晶質アジスロマイシンの実験粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛り 50

の単位は、度（ 2θ ）であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 2 1】A 形アジスロマイシンの ^{13}C 固体 NMR スペクトルである。

【図 2 2】D 形アジスロマイシンの ^{13}C 固体 NMR スペクトルである。

【図 2 3】F 形アジスロマイシンの ^{13}C 固体 NMR スペクトルである。

【図 2 4】G 形アジスロマイシンの ^{13}C 固体 NMR スペクトルである。

【図 2 5】J 形アジスロマイシンの ^{13}C 固体 NMR スペクトルである。

【図 2 6】M 形アジスロマイシンの ^{13}C 固体 NMR スペクトルである。

【図 2 7】N 形アジスロマイシンの ^{13}C 固体 NMR スペクトルである。

【図 2 8】非晶質アジスロマイシンの ^{13}C 固体 NMR スペクトルである。

【図 2 9】G 形アジスロマイシンを含有する医薬錠剤の ^{13}C 固体 NMR スペクトルである 10

。【図 3 0】Q 形アジスロマイシンの実験粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度（ 2θ ）であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 3 1】R 形アジスロマイシンの実験粉末 X 線回折パターンであり、横座標の目盛りの単位は、度（ 2θ ）であり、縦座標は強度カウント値である。

【図 3 2】H 形アジスロマイシンの ^{13}C 固体 NMR スペクトルである。

【図 3 3】R 形アジスロマイシンの ^{13}C 固体 NMR スペクトルである。

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
28 November 2002 (28.11.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/094843 A1

- (51) International Patent Classification: **C07H 17/08** **Andrew, Vincent** [US/US]; Pfizer Global Research and Development, Eastern Point Road, Groton, CT 06340 (US).
- (21) International Application Number: PCT/US02/01570
- (22) International Filing Date: 1 May 2002 (01.05.2002) (74) Agents: **LU MB, J., Trevor** et al.; Pfizer Inc., 201 Tabor Road, Morris Plains, NJ 07950 (US).
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60/292,565 22 May 2001 (22.05.2001) US
60/297,741 12 June 2001 (12.06.2001) US
60/343,041 21 December 2001 (21.12.2001) US
- (63) Related by continuation (CON) or continuation-in-part (CIP) to earlier applications:
US 60/292,565 (CON)
Filed on 22 May 2001 (22.05.2001)
US 60/297,741 (CON)
Filed on 12 June 2001 (12.06.2001)
US 60/343,041 (CON)
Filed on 21 December 2001 (21.12.2001)
- (81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GI, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
with international search report
before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments
- (71) Applicant (for all designated States except US): **PFIZER PRODUCTS INC.** [US/US]; Eastern Point Road, Groton, CT 06340 (US).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): **LI, Zheng, Jane** [US/US]; Pfizer Global Research and Development, Eastern Point Road, Groton, CT 06340 (US); **TRASK,**
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/094843 A1

(54) Title: CRYSTAL FORMS OF AZITHROMYCIN

(57) Abstract: The invention relates to novel crystal forms of azithromycin, and antibiotic useful in the treatment of infections.

WO 02/094843

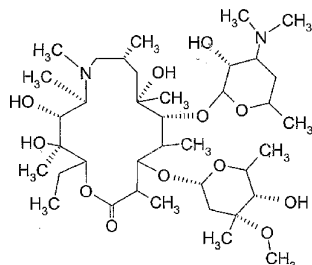
PCT/IB02/01570

-1-

Crystal Forms of AzithromycinBackground of the Invention

This invention relates to crystal forms of azithromycin. Azithromycin is sold commercially and is an effective antibiotic in the treatment of a broad range of bacterial infections. The crystal forms of this invention are likewise useful as antibiotic agents in mammals, including man, as well as in fish and birds.

Azithromycin has the following structural formula:



Azithromycin is described and claimed in United States Patents 4,517,359 and 4,474,768. It is also known as 9-deoxy-9a-aza-9a-methyl-9a-homoerythromycin A.

Other patents or patent applications which directly or indirectly cover azithromycin include: EP 298,650 which claims azithromycin dihydrate; U.S. Patent 4,963,531 which claims a method of treating a strain of *Toxoplasma gondii* species; U.S. Patent 5,633,006 which claims a chewable tablet or liquid suspension pharmaceutical composition having reduced bitterness; U.S. Patent 5,686,587 which claims an intermediate useful in the preparation of azithromycin; U.S. Patent 5,605,869 which claims an oral dosage form that reduces the "food effect" associated with the administration of azithromycin; U.S. Patent 6,068,859 which claims a controlled dosage form containing azithromycin; U.S. Patent 5,498,699 which claims a composition containing azithromycin in combination with bivalent or trivalent metals; EP 925,789 which claims a method of treating eye infections; Chinese patent application CN 1123279A which relates to water soluble salts of azithromycin; Chinese patent application CN 1046945C which relates to azithromycin sodium dihydrogenphosphate double salts; Chinese patent application CN 1114960A which relates to azithromycin crystals; Chinese patent application CN 1161971A which relates to azithromycin crystals; Chinese patent application CN 1205338A which relates to a method of preparing water soluble salts of azithromycin; International Publication WO 00/32203 which relates to an ethanolate of azithromycin; and

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-2-

European patent application EP 984,020 which relates to an azithromycin monohydrate isopropanol clathrate.

Summary of the Invention

The present invention relates to crystal forms of azithromycin. As used herein, the term "crystal form(s)" or "form(s)", unless otherwise noted, means one or more crystal forms of azithromycin.

In particular, the present invention relates to a crystal form of azithromycin wherein said crystal form is selected from forms C, D, E, F, G, H, J, M, N, O, P, Q and R wherein said forms are as defined herein. Forms F, G, H, J, M, N, O, and P belong to family I azithromycin and belong to a monoclinic $P2_1$ space group with cell dimensions of $a = 16.3 \pm 0.3$ Å, $b = 16.2 \pm 0.3$ Å, $c = 18.4 \pm 0.3$ Å and $\beta = 109 \pm 2^\circ$. Forms C, D, E and R belong to family II azithromycin and belong to an orthorhombic $P2_1 2_1 2_1$ space group with cell dimensions of $a = 8.9 \pm 0.4$ Å, $b = 12.3 \pm 0.5$ Å and $c = 45.8 \pm 0.5$ Å. Form Q is distinct from families I and II.

Form F azithromycin is of the formula $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_2H_5OH$ in the single crystal structure, being azithromycin monohydrate hemi-ethanol solvate. Form F is further characterized as containing 2-5% water and 1-4% ethanol by weight in powder samples and having powder X-ray diffraction 2θ peaks as defined in Table 9. The ^{13}C ssNMR (solid state Nuclear Magnetic Resonance) spectrum of form F has two chemical shift peaks at approximately 179±1 ppm, those being 179.5±0.2 ppm and 178.6±0.2 ppm, a set of five peaks between 6.4 to 11.0 ppm, and ethanol peaks at 58.0±0.5 ppm and 17.2±0.5 ppm. The solvent peaks can be broad and relatively weak in intensity.

The invention also relates to substantially pure form F azithromycin, form F azithromycin substantially free of form G azithromycin and form F azithromycin substantially free of azithromycin dihydrate.

The invention further relates to methods of preparing form F azithromycin by treating azithromycin with ethanol to complete dissolution at 40-70°C and cooling with reduction of ethanol or addition of water to effect crystallization. Also included are methods of making substantially pure form F azithromycin, form F azithromycin substantially free of form G azithromycin and form F azithromycin substantially free of azithromycin dihydrate.

Form G azithromycin is of the formula $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 1.5H_2O$ in the single crystal structure, being azithromycin sesquihydrate. Form G is further characterized as containing 2.5-6% water and <1 % organic solvent(s) by weight in powder samples and having powder X-ray diffraction 2θ peaks as defined in Table 9. The ^{13}C ssNMR spectrum of form G has one chemical shift peak at approximately 179±1 ppm, being a peak at 179.5±0.2 ppm (splitting <0.3 ppm may present), and a set of five peaks between 6.3 to 11.0 ppm.

The invention also relates to substantially pure form G azithromycin, and form G azithromycin substantially free of azithromycin dihydrate.

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-3-

The invention further relates to methods of preparing substantially pure form G azithromycin, and form G azithromycin substantially free of azithromycin dihydrate by treating azithromycin with a mixture of methanol and water or acetone and water to complete dissolution at 40-60°C and cooling to effect crystallization.

5 Form H azithromycin is of the formula $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_3H_5O_2$ being azithromycin monohydrate hemi-1,2 propanediol solvate.

Form J azithromycin is of the formula $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_3H_7OH$ in the single crystal structure, being azithromycin monohydrate hemi-n-propanol solvate. Form J is further characterized as containing 2-5% water and 1-5% 1-propanol by weight in powder samples and having powder X-ray diffraction 29 peaks as defined in Table 9. The ^{13}C ssNMR spectrum of form J has two chemical shift peaks at approximately 179±1 ppm, those being 179.6±0.2 ppm and 178.4±0.2 ppm, a set of five peaks between 6.6 to 11.7 ppm and an n-propanol peak at 25.2±0.4 ppm. The solvent peak can be broad and relatively weak in intensity.

15 The invention further relates to methods of preparing form J by treating azithromycin with n-propanol to complete dissolution at 25-55°C and cooling with addition of water to effect crystallization.

Form M azithromycin is of the formula $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_3H_7OH$, being azithromycin monohydrate hemi-isopropanol solvate. Form M is further characterized as containing 2-5% water and 1-4% 2-propanol by weight in powder samples and having powder X-ray diffraction 29 peaks as defined in Table 9. The ^{13}C ssNMR spectrum of form M has one chemical shift peak at approximately 179±1 ppm, being 179.6±0.2 ppm, a peak at 41.9±0.2 ppm and a set of six peaks between 6.9 to 16.4 ppm and an isopropanol peak at 26.0±0.4 ppm. The solvent peak can be broad and relatively weak in intensity.

25 The invention also relates to substantially pure form M azithromycin, form M azithromycin substantially free of form G azithromycin and form M azithromycin substantially free of azithromycin dihydrate.

The invention further relates to methods of preparing substantially pure form M azithromycin, form M azithromycin substantially free of form G azithromycin and form M azithromycin substantially free of azithromycin dihydrate by treating azithromycin with isopropanol to complete dissolution at 40-60°C and reduction of isopropanol followed by cooling or cooling followed by addition of water to effect crystallization.

30 Form N azithromycin is a mixture of isomorphs of Family I. The mixture may contain variable percentages of isomorphs, F, G, H, J, M and others, and variable amounts of water and organic solvents, such as ethanol, isopropanol, n-propanol, propylene glycol, acetone, acetonitrile, butanol, pentanol, etc. The weight percent of water can range from 1-5% and the total weight percent of organic solvents can be 2-5% with each solvent content of 0.5 to 4%.

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-4-

The samples of form N display all characteristic peaks of members of Family I in various proportions. Form N may be characterized as 'mixed crystals' or 'crystalline solid solutions' of Family I isomorphs.

- Form N displays chemical shifts as a combination of isomorphs in Family I. The peaks may vary in chemical shift ppm within ± 0.2 ppm and in relative intensities and width due to the mixing of variable proportion of isomorphs contained in the form N crystalline solid solution.

Form P azithromycin is of the formula $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_5H_{12}O$ being azithromycin monohydrate hemi-n-pentanol solvate.

- Form Q azithromycin is of the formula $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_4H_8O$ being azithromycin monohydrate hemi-tetrahydrofuran solvate.

Form R azithromycin is of the formula $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_6H_{12}O$ being azithromycin monohydrate mono-methyl tert-butyl ether solvate.

- Form D azithromycin is of the formula $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_6H_{12}$ in its single crystal structure, being azithromycin monohydrate monocyclohexane solvate. Form D is further characterized as containing 2-6% water and 3-12% cyclohexane by weight in powder samples and having representative powder X-ray diffraction 2θ peaks as defined in Table 9. The ^{13}C ssNMR spectrum of form D displays has one chemical shift peak at approximately 179 ± 1 ppm, being 178.1 ± 0.2 ppm and peaks at 103.9 ± 0.2 ppm, 95.1 ± 0.2 ppm, 84.2 ± 0.2 ppm, and a set of 3 peaks between 8.4 to 11 ppm.

The invention further relates to methods of preparing form D by slurring azithromycin dihydrate with cyclohexane.

Form E azithromycin is of the formula $C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot C_4H_8O$ being azithromycin monohydrate mono-tetrahydrofuran solvate.

- The invention further relates to azithromycin in an amorphous state and a method of preparing amorphous azithromycin that comprises the removal of water and/or solvents from the azithromycin crystal lattice. The X-ray diffraction powder pattern for amorphous azithromycin displays no sharp 2θ peaks but has two broad rounded peaks. The first peak occurs between 4° and 13° . The second peak occurs between 13° and 25° .

- The invention also relates to pharmaceutical compositions for the treatment of a bacterial infection or a protozoa infection in a mammal, fish, or bird which comprises a therapeutically effective amount of the crystalline compounds referred to above, or amorphous azithromycin, and a pharmaceutically acceptable carrier.

- The invention also relates to a method of treating a bacterial infection or a protozoa infection in a mammal, fish, or bird which comprises administering to said mammal, fish or bird a therapeutically effective amount of the crystalline compounds referred to above, or amorphous azithromycin.

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-5-

The present invention also relates to methods of preparing crystal forms of azithromycin which comprise the slurring of azithromycin in an appropriate solvent or the dissolution of azithromycin in a heated organic solvent or organic solvent/water solution and precipitating the crystalline azithromycin by cooling the solution with reduction of solvent volume or by dissolving azithromycin in a solvent or solvent mixture and precipitating crystalline azithromycin by the addition of water to the solution. Azithromycin in amorphous state is prepared by heating crystalline azithromycin in a vacuum.

The term "treatment", as used herein, unless otherwise indicated, means the treatment or prevention of a bacterial infection or protozoa infection as provided in the method of the present invention, including curing, reducing the symptoms of or slowing the progress of said infection. The terms "treat" and "treating" are defined in accord the foregoing term "treatment".

The term "substantially free" when referring to a designated crystalline form of azithromycin means that there is less than 20% (by weight) of the designated crystalline form(s) present, more preferably, there is less than 10% (by weight) of the designated form(s) present, more preferably, there is less than 5% (by weight) of the designated form(s) present, and most preferably, there is less than 1% (by weight) of the designated crystalline form(s) present. For instance, form F azithromycin substantially free of azithromycin dihydrate means form F with 20% (by weight) or less of azithromycin dihydrate, more preferably, 10% (by weight) or less of azithromycin dihydrate, most preferably, 1% (by weight) of azithromycin dihydrate.

The term "substantially pure" when referring to a designated crystalline form of azithromycin means that the designated crystalline form contains less than 20% (by weight) of residual components such as alternate polymorphic or isomorphous crystalline form(s) of azithromycin. It is preferred that a substantially pure form of azithromycin contain less than 10% (by weight) of alternate polymorphic or isomorphous crystalline forms of azithromycin, more preferred is less than 5% (by weight) of alternate polymorphic or isomorphous crystalline forms of azithromycin, and most preferably less than 1% (by weight) of alternate polymorphic or isomorphous crystalline forms of azithromycin.

The term "substantially in the absence of azithromycin dihydrate" when referring to bulk crystalline azithromycin or a composition containing crystalline azithromycin means the crystalline azithromycin contains less than about 5% (by weight) azithromycin dihydrate, more preferably less than about 3% (by weight) azithromycin dihydrate, and most preferably less than 1% (by weight) azithromycin dihydrate.

As used herein, unless otherwise indicated, the term "bacterial infection(s)" or "protozoa infection" includes bacterial infections and protozoa infections and diseases caused by such infections that occur in mammals, fish and birds as well as disorders related to

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-6-

bacterial infections and protozoa infections that may be treated or prevented by administering antibiotics such as the compound of the present invention. Such bacterial infections and protozoa infections and disorders related to such infections include, but are not limited to, the following: pneumonia, otitis media, sinusitis, bronchitis, tonsillitis, and mastoiditis related to infection by *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, or *Peptostreptococcus* spp.; pharyngitis, rheumatic fever, and glomerulonephritis related to infection by *Streptococcus pyogenes*, Groups C and G streptococci, *Clostridium diphtheriae*, or *Actinobacillus haemolyticum*; respiratory tract infections related to infection by *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, or *Chlamydia pneumoniae*; uncomplicated skin and soft tissue infections, abscesses and osteomyelitis, and puerperal fever related to infection by *Staphylococcus aureus*, coagulase-positive staphylococci (i.e., *S. epidermidis*, *S. hemolyticus*, etc.), *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, Streptococcal groups C-F (minute-colony streptococci), viridans streptococci, *Corynebacterium minutissimum*, *Clostridium* spp., or *Bartonella henselae*; uncomplicated acute urinary tract infections related to infection by *Staphylococcus saprophyticus* or *Enterococcus* spp.; urethritis and cervicitis; and sexually transmitted diseases related to infection by *Chlamydia trachomatis*, *Haemophilus ducreyi*, *Treponema pallidum*, *Ureaplasma urealyticum*, or *Neisseria gonorrhoeae*; toxin diseases related to infection by *S. aureus* (food poisoning and Toxic shock syndrome), or Groups A, B, and C streptococci; ulcers related to infection by *Helicobacter pylori*; systemic febrile syndromes related to infection by *Borrelia recurrentis*; Lyme disease related to infection by *Borrelia burgdorferi*; conjunctivitis, keratitis, and dacryocystitis related to infection by *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *H. influenzae*, or *Listeria* spp.; disseminated *Mycobacterium avium* complex (MAC) disease related to infection by *Mycobacterium avium*, or *Mycobacterium intracellulare*; gastroenteritis related to infection by *Campylobacter jejuni*; intestinal protozoa related to infection by *Cryptosporidium* spp.; odontogenic infection related to infection by viridans streptococci; persistent cough related to infection by *Bordetella pertussis*; gas gangrene related to infection by *Clostridium perfringens* or *Bacteroides* spp.; and atherosclerosis related to infection by *Helicobacter pylori* or *Chlamydia pneumoniae*. Also included are atherosclerosis and malaria. Bacterial infections and protozoa infections and disorders related to such infections that may be treated or prevented in animals include, but are not limited to, the following: bovine respiratory disease related to infection by *P. haem.*, *P. multocida*, *Mycoplasma bovis*, or *Bordetella* spp.; cow enteric disease related to infection by *E. coli* or protozoa (i.e., coccidia, cryptosporidia, etc.); dairy cow mastitis related to infection by *Staph. aureus*, *Strep. uberis*, *Strep. agalactiae*, *Strep. dysgalactiae*, *Klebsiella* spp., *Corynebacterium*, or *Enterococcus* spp.; swine respiratory disease related to infection

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-7-

- by *A. pleuro*, *P. multocida*, or *Mycoplasma* spp.; swine enteric disease related to infection by *E. coli*, *Lawsonia intracellularis*, *Salmonella*, or *Serpulina hyodysenteriae*; cow footrot related to infection by *Fusobacterium* spp.; cow metritis related to infection by *E. coli*; cow hairy warts related to infection by *Fusobacterium necrophorum* or *Bacteroides nodosus*; cow pink-eye related to infection by *Moraxella bovis*; cow premature abortion related to infection by protozoa (i.e. neosporium); urinary tract infection in dogs and cats related to infection by *E. coli*; skin and soft tissue infections in dogs and cats related to infection by *Staph. epidermidis*, *Staph. intermedius*, *coagulase neg. Staph.* or *P. multocida*; and dental or mouth infections in dogs and cats related to infection by *Alcaligenes* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Enterobacter* spp., *Eubacterium*, *Peptostreptococcus*, *Porphyromonas*, or *Prevotella*. Other bacterial infections and protozoa infections and disorders related to such infections that may be treated or prevented in accord with the method of the present invention are referred to in J. P. Sanford et al., "The Sanford Guide To Antimicrobial Therapy," 26th Edition, (Antimicrobial Therapy, Inc., 1996).
- The present invention also includes isotopically-labeled compounds wherein one or more atoms are replaced by an atom having an atomic mass or mass number different from the atomic mass or mass number usually found in nature. Examples of isotopes that can be incorporated into compounds of the invention include isotopes of hydrogen, carbon, nitrogen, oxygen, phosphorous, sulfur, fluorine and chlorine, such as ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , and ^{17}O .
- Such radiolabelled and stable-isotopically labelled compounds are useful as research or diagnostic tools.

Brief Description of the Drawings

- Figure 1 is a calculated powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form A. The scale of the abscissa is degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.
- Figure 2 is an experimental powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form A. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.
- Figure 3 is an overlay of Figures 1 and 2 with the calculated diffraction patterns of azithromycin form A (Figure 1) on the bottom and the experimental diffraction pattern of azithromycin form A (Figure 2) on the top. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.
- Figure 4 is a calculated powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form C. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.
- Figure 5 is a calculated powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form D. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.
- Figure 6 is an experimental powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form D. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-8-

Figure 7 is an overlay of Figures 5 and 6 with the calculated diffraction pattern of azithromycin form D (Figure 5) on the bottom and the experimental diffraction pattern of azithromycin form D (Figure 6) on the top. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.

5 Figure 8 is a calculated powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form E. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.

Figure 9 is a calculated powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form F. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.

10 Figure 10 is an experimental powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form F. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.

Figure 11 is an overlay of Figures 9 and 10 with the calculated diffraction pattern of azithromycin form F (Figure 9) on the bottom and the experimental diffraction pattern of azithromycin form F (Figure 10) on the top. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.

15 Figure 12 is a calculated powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form G. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.

Figure 13 is an experimental powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form G. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.

20 Figure 14 is an overlay of Figures 12 and 13 with the calculated diffraction pattern of azithromycin form G (Figure 12) on the bottom and the experimental diffraction pattern of azithromycin form G (Figure 13) on the top. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.

Figure 15 is a calculated powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form J. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.

25 Figure 16 is an experimental powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form J. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.

Figure 17 is an overlay of Figures 15 and 16 with the calculated diffraction pattern of azithromycin form J (Figure 15) on the bottom and the experimental diffraction pattern of azithromycin form J (Figure 16) on the top. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.

30 The ordinate is the intensity in counts.

Figure 18 is an experimental powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form M. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.

Figure 19 is an experimental powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form N. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-9-

Figure 20 is an experimental powder X-ray diffraction pattern of amorphous azithromycin. The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.

- Figure 21 is a ^{13}C solid state NMR spectrum of azithromycin form A.
 5 Figure 22 is a ^{13}C solid state NMR spectrum of azithromycin form D.
 Figure 23 is a ^{13}C solid state NMR spectrum of azithromycin form F.
 Figure 24 is a ^{13}C solid state NMR spectrum of azithromycin form G.
 Figure 25 is a ^{13}C solid state NMR spectrum of azithromycin form J.
 Figure 26 is a ^{13}C solid state NMR spectrum of azithromycin form M.
 10 Figure 27 is a ^{13}C solid state NMR spectrum of azithromycin form N.
 Figure 28 is a ^{13}C solid state NMR spectrum of amorphous azithromycin.
 Figure 29 is a ^{13}C solid state NMR spectrum of a pharmaceutical tablet containing form G azithromycin.
 Figure 30 is an experimental powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form Q.
 15 The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.
 Figure 31 is an experimental powder X-ray diffraction pattern of azithromycin form R.
 The scale of the abscissa is in degrees 2-theta (2θ). The ordinate is the intensity in counts.
 Figure 32 is a ^{13}C solid state NMR spectrum of azithromycin form H.
 Figure 33 is a ^{13}C solid state NMR spectrum of azithromycin form R.
 20

Detailed Description of the Invention

- Azithromycin has been found to exist in different crystalline forms. A dihydrate, form
 25 A, and a non-stoichiometric hydrate, form B, are disclosed in European Patent EP 298 650
 and U.S. Patent 4,512,359, respectively. Sixteen other forms have been discovered, namely
 forms C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q and R. These forms are either hydrates or
 hydrate/solvates of azithromycin free base. Forms L and K are the metastable lower hydrate
 forms of A, detected at high temperature. Crystal structures of forms A, C, D, E, F, G, H, J
 30 and O have been solved. The structural data of these crystal forms are given below:

Table 1: Crystallographic data of azithromycin form A.

	Form A
Empirical formula	$\text{C}_{33}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{13} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Formula weight	785.2
Crystal size (mm)	0.19 x 0.24 x 0.36
Space group	$P2_12_12_1$ orthorhombic

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-10-

Unit cell dimensions	a = 14.735 (5) Å
	b = 16.844 (7) Å
	c = 17.81 (1) Å
	$\alpha = 90^\circ$
	$\beta = 90^\circ$
	$\gamma = 90^\circ$
Z (per formula)	4
Density (g/cm ³)	1.18
R	0.060

Table 2: Crystallographic data of azithromycin form C.

Form C	
Empirical formula	C ₃₈ H ₇₂ N ₂ O ₁₂ •H ₂ O
Formula weight	767.15
Crystal size (mm)	0.16 x 0.16 x 0.19
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ orthorhombic
Unit cell dimensions	a = 8.809 (3) Å
	b = 12.4750 (8) Å
	c = 45.59 (3) Å
	$\alpha = 90^\circ$
	$\beta = 90^\circ$
	$\gamma = 90^\circ$
Z (per formula)	4
Density (g/cm ³)	1.01
R	0.106

5

Table 3: Crystallographic data of azithromycin form D.

Form D	
Empirical formula	C ₃₈ H ₇₂ N ₂ O ₁₂ •H ₂ O•C ₆ H ₁₂
Formula weight	851.15
Crystal size (mm)	0.52 x 0.32 x 0.16
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ orthorhombic
Unit cell dimensions	a = 8.8710 (10) Å

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-11-

	b = 12.506 (2) Å
	c = 45.697 (7) Å
	$\alpha = 90^\circ$
	$\beta = 90^\circ$
	$\gamma = 90^\circ$
Z (per formula)	4
Density (g/cm ³)	1.12
R	0.0663

Table 4: Crystallographic data of azithromycin form E.

	Form E
Empirical formula	C ₃₈ H ₇₂ N ₂ O ₁₂ ·H ₂ O·C ₄ H ₈ O
Formula weight	839.2
Crystal size (mm)	0.17 x 0.19 x 0.20
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ orthorhombic
Unit cell dimensions	a = 8.869 (3) Å
	b = 12.086 (3) Å
	c = 46.00 (1) Å
	$\alpha = 90^\circ$
	$\beta = 90^\circ$
	$\gamma = 90^\circ$
Z (per formula)	4
Density (g/cm ³)	1.13
R	0.087

5 Table 5: Crystallographic data of azithromycin form F.

	Form F
Empirical formula	C ₃₈ H ₇₂ N ₂ O ₁₂ ·H ₂ O·0.5C ₂ H ₆ O
Crystal size (mm)	0.14 x 0.20 x 0.24
Formula weight	790.2
Space group	P2 ₁ monoclinic
Unit cell dimensions	a = 16.281 (2) Å
	b = 16.293(1) Å
	c = 18.490 (3) Å

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-12-

	$\alpha = 90^\circ$
	$\beta = 109.33(1)^\circ$
	$\gamma = 90^\circ$
Z (per formula)	4
Density (g/cm ³)	1.13
R	0.0688

Table 6: Crystallographic data of azithromycin form G.

	Form G
Formula	$C_{28}H_{72}N_2O_{12} \cdot 1.5H_2O$
Formula weight	776.0
Crystal size (mm)	0.04 x 0.20 x 0.24
Space group	$P2_1$ monoclinic
Unit cell dimensions	$a = 16.4069(8) \text{ \AA}$ $b = 16.2922(8) \text{ \AA}$ $c = 18.3830(9) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 110.212(2)^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Z (per formula)	4
Density (g/cm ³)	1.12
R	0.0785

5

Table 7: Crystallographic data of azithromycin form H.

	Form H
Empirical formula	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_2H_4O_2$
Crystal size (mm)	0.14 x 0.20 x 0.24
Formula weight	805.0
Space group	$P2_1$ monoclinic
Unit cell dimensions	$a = 16.177(1) \text{ \AA}$ $b = 16.241(2) \text{ \AA}$ $c = 18.614(1) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 108.34(1)^\circ$

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-13-

	$\gamma = 90^\circ$
Z (per formula)	4
Density (g/cm ³)	1.15
R	0.0687

Table 8: Crystallographic data of azithromycin form J.

	Form J
Formula	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot H_2O \cdot 0.5C_3H_8O$
Formula weight	796.0
Crystal size (mm)	0.40 x 0.36 x 0.20
Space group	$P2_1$ monoclinic
Unit cell dimensions	a = 16.191(6) Å b = 16.237(10) Å c = 18.595(14) Å $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 108.92(4)^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Z (per formula)	4
Density (g/cm ³)	1.14
R	0.0789

5 Table 8A: Crystallographic data of azithromycin form O.

	Form O
Formula	$C_{38}H_{72}N_2O_{12} \cdot 0.5H_2O \cdot 0.5C_4H_{10}O$
Formula weight	795.04
Crystal size (mm)	0.40 x 0.36 x 0.20
Space group	$P2_1$ monoclinic
Unit cell dimensions	a = 16.3602(11) Å b = 16.2042(11) Å c = 18.5459(12) Å $\alpha = 90^\circ$ $\beta = 109.66(10)^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Z (per formula)	4

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-14-

Density (g/cm ³)	1.14
R	0.0421

Among these sixteen crystal forms, two isomorphous families are identified. Family I includes forms F, G, H, J, M, N, O, and P. Family II includes forms C, D, E and R. Form Q is distinct from families I and II. The forms within a family are isomorphs that crystallize in the same space group with slight variation of cell parameters and comprise chemically related structures but different elemental composition. In this case, the variation in chemical composition among the isomorphs arises from incorporation of different water/solvent molecules. Consequently, the isomorphs display similar but non-identical X-ray diffraction patterns and solid-state NMR spectra (ssNMR). Other techniques such as near infrared spectroscopy (NIR), differential scanning calorimetry (DSC), gas chromatography (GC), thermalgravimetric analysis (TGA), or thermalgravimetric analysis/infrared spectroscopy analysis (TG-IR), Karl Fischer water analysis (KF) and molecular modeling/visualization provide data for affirmative identification of isomorphs. Dehydration/desolvation temperatures were determined by DSC with a heating rate of 5°C/min

Form C: This crystal form was identified from a single crystal structure (Table 2) - a monohydrate of azithromycin. It has the space group of P2₁2₁2₁ and similar cell parameters as that of forms D and E; therefore, it belongs to Family II isomorphs. Its calculated powder pattern is similar to that of forms D and E.

Form D: Form D was crystallized from cyclohexane. The single crystal structure of form D shows a stoichiometry of a monohydrate/monocyclohexane solvate of azithromycin (Table 3). Cyclohexane molecules were found to be disordered in the crystal lattice. From single crystal data, the calculated water and cyclohexane content of form D is 2.1 and 9.9%, respectively. Both the powder pattern and the calculated powder pattern of form D are similar to those of forms C and E. The powder samples of form D showed a desolvation/dehydration endotherm with an onset temperature of about 87°C and a broad endotherm between 200-280°C (decomposition) in DSC analysis at 5°C/min from 30-300°C.

Form D is prepared by slurring azithromycin in cyclohexane for 2-4 days. The solid form D azithromycin is collected by filtration and dried.

Form E: Form E was obtained as a single crystal collected in a THF/water medium. It is a monohydrate and mono-THF solvate by single crystal analysis (Table 4). By its single crystal structure, the calculated PXRD pattern is similar to that of form C and form D making it a family II isomorph.

Form E is prepared by dissolving azithromycin in THF (tetrahydrofuran). Diffusing water vapor to saturated azithromycin THF solution over time yields crystals of Form E.

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-15-

Form F: The single crystal of form F crystallized in a monoclinic space group, $P2_1$, with the asymmetric unit containing two azithromycin, two waters, and one ethanol, as a monohydrate/hemi-ethanolate (Table 5). It is isomorphic to forms all family I azithromycin crystalline forms. The calculated PXRD pattern of this form is similar to those of other family I isomorphs. The theoretical water and ethanol contents are 2.3 and 2.9%, respectively. The powder samples show a dehydration/desolvation endotherm at an onset temperature between 110-125°C. Form F is prepared by dissolving azithromycin in ethanol (1-3 volumes by weight) at a temperature of about 50-70°C. Upon complete dissolution, the solution is cooled to subambient temperature to cause precipitation. The volume of ethanol can be reduced by vacuum distillation with stirring for 1-2 hours to increase the yield. Alternatively, water (optionally chilled to 0-20°C) about 0.1-2 volume can be added with collection of solids within 30 minute after water addition. Cooling the ethanol solution of azithromycin prior to the addition of water to below 20°C, preferably below 15°C, more preferably below 10, and most preferably 5°C results in substantially pure azithromycin form F. The solid form F azithromycin is collected by filtration and dried.

Form G: The single crystal structure of form G consists of two azithromycin molecules and three water molecules per asymmetric unit (Table 6). This corresponds to a sesquihydrate with a theoretical water content of 3.5%. The water content of powder samples of form G ranges from about 2.5 to about 6%. The total residual organic solvent is less than 1% of the corresponding solvent used for crystallization, which is well below stoichiometric quantities of solvate. This form dehydrates with an onset temperature of about 110 -120°C.

Form G may be prepared by adding azithromycin to a premixed organic solvent/water mixture (1/1 by volume), where the organic solvent can be methanol, acetone, acetonitrile, ethanol or isopropanol. The mixture is stirred and heated to an elevated temperature, e.g. 45-55°C for 4-6 hours to cause dissolution. Precipitation occurs during cooling to ambient temperature. The solid form G azithromycin is collected by filtration and dried.

Form H: This crystal form is a monohydrate/hemi-propylene glycol solvate of azithromycin free base (Table 7). It was isolated from a formulation solution containing propylene glycol. The crystal structure of form H is isomorphic to crystal forms of Family I.

Azithromycin form H is prepared by dissolving azithromycin dihydrate in 6 volumes of propylene glycol. To the resulting propylene glycol solution of azithromycin, 2 volumes of water is added and precipitation occurs. The slurry is stirred for 24 hours and the solids are filtered and air-dried at ambient temperature to afford crystalline Form H.

Form J: Form J is a monohydrate/hemi n-propanol solvate (Table 8). The calculated solvent content is about 3.8% n-propanol and about 2.3% water. The experimental data shows from about 2.5 to about 4.0% n-propanol and from about 2.5 to about 3% water content for powder samples. Its PXRD pattern is very similar to those of its isomorphs F, G,

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-16-

H, M and N. Like F and G, the powder samples have a dehydration/desolvation endotherm at 115 - 125°C.

Form J is prepared by dissolving azithromycin in 4 volumes of n-propanol at a temperature of about 25-55°C. Water, about 6-7 volumes, is added at room temperature and the slurry is continuously stirred for 0.5-2 hours. The solid form J azithromycin is collected by filtration and dried.

Form K: The PXRD pattern of form K was found in a mixture of azithromycin form A and microcrystalline wax after annealing at 95°C for 3 hours. It is a lower hydrate of form A and is a metastable high temperature form.

Form L: This form has only been observed upon heating the dihydrate; form A. In variable temperature powder X-ray diffraction (VT-PXRD) experiments, a new powder X-ray diffraction pattern appears when form A is heated to about 90°C. The new form, designated form L, is a lower hydrate of form A because form A loses about 2.5 weight % at 90 °C by TGA, thus corresponding to a conversion to a monohydrate. When cooled to ambient temperature, form L rapidly reverts to form A.

Form M: Isolated from an isopropanol/water slurry, form M incorporates both water and isopropanol. Its PXRD pattern and ss-NMR spectrum are very similar to those of Family I isomorphs, indicating that it belongs to Family I. By analogy to the known crystal structures of Family I isomorphs, the single crystal structure of form M would be a monohydrate/hemi-isopropanolate. The dehydration/desolvation temperature of form M is about 115-125°C.

Form M may be prepared by dissolving azithromycin in 2-3 volumes of isopropanol (IPA) at 40-50°C. The solution is cooled to below 15°C, preferably below 10°C, more preferably about 5°C and 2-4 volumes of cold water about 5°C are added to effect precipitation. Seeds of form M crystals may be added at the onset of crystallization. The slurry is stirred less than about 5 hours, preferably less than about 3 hours, more preferably less than about 1 hour and most preferably about 30 minutes or less and the solids are collected by filtration. The solids may be reslurried in isopropanol. This procedure provides form M substantially in the absence of azithromycin dihydrate.

Form N: Isolated from water/ethanol/isopropanol slurry of form A, form N crystals may contain variable amounts of the crystallization solvents and water. Its water content varies from about 3.4 to about 5.3 weight percent. Analysis by GC Headspace reveals a variable solvent content of ethanol and isopropanol. The total solvent content of form N samples is usually lower than about 5% depending on the conditions of preparation and drying. The PXRD pattern of form N is similar to that of forms F, G, H, J and M of the Family I isomorphs. The dehydration/desolvation endotherm(s) of the samples of form N may be broader and may vary between 110-130°C.

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-17-

Form N azithromycin may be prepared by recrystallizing azithromycin from a mixture of azithromycin crystal lattice-incorporating organic solvents and water, such as ethanol, isopropanol, n-propanol, acetone, acetonitrile etc. The solvent mixture is heated to 45-60°C and azithromycin is added to the heated solvent mixture, up to a total of about 4 volumes. Upon dissolution, 1-3 volumes of water are added with continuous agitation at 45-60°C. Form N azithromycin precipitates as a white solid. The slurry is allowed to cool to ambient temperature with stirring. Solid form N azithromycin is isolated by filtration and dried.

Form O: This crystal form is a hemihydrate hemi-n-butanol solvate of azithromycin free base by single crystal structural data (Table 8A). It was isolated from n-butanol solution of azithromycin with diffusion of antisolvent. The crystal structure of form O is isomorphic to crystal forms of Family I.

Azithromycin is completely dissolved in n-butanol. Addition of an antisolvent, such as hexane, water, IPE or other non-solvent, by diffusion results in precipitation of Form O.

Form P: This is a proposed crystal form, being a hemihydrate hemi-n-pentanol solvate of azithromycin free base. It can be isolated from an n-pentanol solution of azithromycin with diffusion of an antisolvent. The crystal structure of form P is isomorphic to crystal forms of Family I.

Form P of azithromycin may be prepared as following: Azithromycin is completely dissolved in n-pentanol; addition of an antisolvent, such as hexane, water, isopropyl ether (IPE) or other non-solvent, by diffusion results in precipitation of Form P.

Form Q: The crystal form of Q exhibits a unique powder X-ray diffraction pattern. It contains about 4% water and about 4.5% THF, being a hydrate hemi THF solvate. The main dehydration/desolvation temperature is from about 80 to about 110°C.

Azithromycin dihydrate is dissolved in 6 volumes of THF and 2 volumes of water are added. The solution is allowed to evaporate to dryness at ambient conditions to afford crystalline Form Q.

Form R: This crystalline form is prepared by adding amorphous azithromycin to 2.5 volumes of tert-butyl methyl ether (MTBE). The resulting thick white suspension is stirred 3 days at ambient conditions. Solids are collected by vacuum filtration and air dried. The resulting bulk azithromycin form R has a theoretical water content of 2.1 weight % and a theoretical methyl tert-butyl ether content of 10.3 weight %.

Due to the similarity in their structures, isomorphs have propensity to form a mixture of the forms within a family, sometimes termed as 'mixed crystals' or 'crystalline solid solution'. Form N is such a solid crystalline solution and was found to be a mixture of Family I isomorphs by solvent composition and solid-state NMR data.

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-18-

Both Family I and Family II isomorphs are hydrates and/or solvates of azithromycin. The solvent molecules in the cavities have tendency to exchange between solvent and water under specific conditions. Therefore, the solvent/water content of the isomorphs may vary to a certain extent.

- 5 The crystal forms of isomorphous Family I are more stable than form A when subjected to heating. Forms F, G, H, J, M and N showed higher onset dehydration temperatures at 110-125 °C than that of form A with an onset dehydration temperature at about 90 to about 110 °C and simultaneous solid-state conversion to form L at about 90 °C.

- 10 **Amorphous azithromycin:** All crystal forms of azithromycin contain water or solvent(s) or both water and solvent(s). When water and solvent(s) are removed from the crystalline solids, azithromycin becomes amorphous. Amorphous solids have advantages of high initial dissolution rates.

- 15 The starting material for the synthesis of the various crystal forms in the examples below was azithromycin dihydrate unless otherwise noted. Other forms of azithromycin such as amorphous azithromycin or other non-dihydrate crystalline forms of azithromycin may be used.

Examples

Example 1: Preparation of Form D

- 20 Form D was prepared by slurring azithromycin dihydrate in cyclohexane for 2-4 days at an elevated temperature, e.g. 25-50 °C. The crystalline solids of form D were collected by filtration and dried.

Example 2: Preparation of Form F

- 25 2A: Azithromycin dihydrate was slowly added to one volume of warm ethanol, about 70 °C, and stirred to complete dissolution at 65 to 70 °C. Seeds of Form F 1- 2% wt may be introduced to facilitate the crystallization. The solution was allowed to cool gradually to 2 – 5 °C and one volume of chilled water was added. The crystalline solids were collected shortly (preferably less than 30 minutes) after addition of water by vacuum filtration.

- 30 2B: Azithromycin dihydrate is slowly added to one volume of warm ethanol, about 70 °C, and stirred to complete dissolution at 65 to 70 °C. Seeds of Form F 1- 2% wt may be introduced to facilitate the crystallization. The solution is allowed to cool gradually to 2 – 5 °C and ethanol volume may be reduced by vacuum distillation. After stirring up to 2 hours the crystalline solids are collected by vacuum filtration. The isolation of the crystals yields substantially pure form F azithromycin, form F azithromycin substantially free of form G azithromycin and form F azithromycin substantially free of azithromycin dihydrate.
- 35

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-19-

Example 3: Preparation of Form G

A reaction vessel was charged with form A azithromycin. In a separate vessel, 1.5 volumes methanol and 1.5 volumes water were mixed. The solvent mixture was added to the reaction vessel containing the form A azithromycin. The slurry was stirred with heating to 50°C for approximately 5 hours. Heating was discontinued and the slurry was allowed to cool with stirring to ambient temperature. The form G azithromycin was collected by filtration and allowed to air dry for approximately 30 minutes. The collected form G azithromycin was further dried in a vacuum oven at 45°C. This procedure yields substantially pure form G azithromycin, and form G azithromycin substantially free of azithromycin dihydrate.

Example 4: Preparation of Form J

Form J was prepared by dissolving azithromycin in 4 volumes of n-propanol at a temperature of about 25°C. Water (6.7 volumes) was added and the slurry is continuously stirred for 1 hour, followed by cooling to about 0°C. The solid form J azithromycin was collected by filtration and dried.

Example 5: Preparation of Form M Substantially in the Absence of Azithromycin Dihydrate

5A: Azithromycin dihydrate is completely dissolved in 2 volumes of warm isopropanol 40 – 50°C. Seeds of Form M may be optionally introduced to facilitate the crystallization. The solution is then cooled to 0-5°C and 4 volumes of chilled water as antisolvent are added and the solids are collected by vacuum filtration. The solids are reslurried in 1 volume of isopropanol for 3-5 hours at 40-45 °C and then cooled to 0-5°C. The crystalline solids are collected shortly (about 15 minutes) after addition of water by vacuum filtration. The solids are reslurried in 0.5 to 1 volume of isopropanol at 25-40°C and cooled to about 5°C followed by filtration to collect solids of form M.

5B: Azithromycin dihydrate (1940 grams) was completely dissolved in 2 volumes of warm isopropanol (45°C). The resulting clear solution was filtered through an inline 0.2 µm filter into a clean flask. The temperature was maintained at 45°C and the solution was seeded with form M crystals. 7.8 L of chilled water was added over 8 minutes. The solution was cooled to 5°C and a thick slurry was noted. The solids were isolated by vacuum filtration and transferred to a clean flask. The crystalline azithromycin was slurried in 1 volume of isopropanol alcohol with warming to 35°C. The slurry was then cooled to 5°C for 30 minutes and the solid crystalline material was filtered off.

These procedures yield substantially pure form M azithromycin, form M azithromycin substantially free of form G azithromycin and form M azithromycin substantially free of azithromycin dihydrate

Example 6: Preparation of Form N

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-20-

Two volumes of ethanol and 2 volumes of isopropanol were added to a reaction vessel and heated to 50°C. Azithromycin form A was added with stirring to the heated ethanol/isopropanol mixture to yield a clear solution. The reaction vessel was charged with 2 volumes distilled water (ambient temperature). Stirring was continued at 50°C and solid form N azithromycin precipitated after approximately 1 hr. Heating was discontinued 5 hours after the addition of the water. The slurry was allowed to cool to ambient temperature. Precipitated form N azithromycin was collected by filtration and dried for 4 hours in vacuum oven at 45°C.

Example 7: Preparation of amorphous azithromycin

Crystalline form A azithromycin was heated to 110-120°C in an oven for overnight under vacuum. The amorphous solids were collected and stored with desiccant as needed.

Example 8: Preparation of Form H

Azithromycin dihydrate or other crystal forms was dissolved in 6 volumes of propylene glycol. To the resulting propylene glycol solution of azithromycin, 2 volumes of water were added and precipitation occurred. The slurry was stirred for 24 hours and the solids were filtered and air-dried at ambient temperature to afford crystalline Form H.

Example 9: Preparation of Form Q

The crystalline powder was prepared by dissolving 500 mg azithromycin Form A in 2 ml THF. To the clear, colorless solution at room temperature was added 1 ml water. When the solution became cloudy an additional 1ml THF was added to dissolve the azithromycin completely, and the solution was stirred at ambient temperature. Solvent was allowed to evaporate over 7 days, after which the dry solids were collected and characterized.

Example 10: Powder X-ray diffraction analysis

Powder patterns were collected using a Bruker D5000 diffractometer (Madison, Wisconsin) equipped with copper radiation, fixed slits (1.0, 1.0, 0.6mm), and a Kevex solid state detector. Data was collected from 3.0 to 40.0 degrees in 2 theta using a step size of 0.04 degrees and a step time of 1.0 seconds. The results are summarized in Table 9.

The experimental PXRD diffraction pattern of azithromycin form A is given in figure 2.

The experimental PXRD diffraction pattern of azithromycin form D is given in figure 6.

The experimental PXRD diffraction pattern of azithromycin form F is given in figure 10.

The experimental PXRD diffraction pattern of azithromycin form G is given in figure 13.

The experimental PXRD diffraction pattern of azithromycin form J is given in figure 16.

The experimental PXRD diffraction pattern of azithromycin form M is given in figure 18.

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-21-

The experimental PXRD diffraction pattern of azithromycin form N is given in figure 19.

The experimental PXRD diffraction pattern of amorphous azithromycin is given in figure 20.

5 The experimental PXRD diffraction pattern of azithromycin form Q is given in figure 30.

The experimental PXRD diffraction pattern of azithromycin form R is given in figure 31.

10 The experimental variability from sample to sample is about $\pm 0.2^\circ$ in 2 theta, and the same variations were observed between the calculated powder from single crystal structure and experimental data. Detailed analysis showed that the isomorphs in Family I can be discerned by PXRD with sets of characteristic peaks given in Table 9.

Table 9. Azithromycin Powder X-ray Diffraction Peaks in 2-theta $\pm 0.2^\circ$

15

A	D	F	G	J	M	N	Q
7.2	<u>3.9</u>	5.7	5.0	5.0	5.0	<u>6.2</u>	5.7
<u>7.9</u>	7.3	<u>6.2</u>	5.8	5.7	5.6	7.3	8.1
<u>9.3</u>	7.7	7.4	<u>6.2</u>	<u>6.2</u>	<u>6.2</u>	7.8	<u>6.8</u>
<u>9.9</u>	<u>10.1</u>	7.8	7.4	7.3	7.3	<u>9.8</u>	<u>8.4</u>
11.2	<u>10.6</u>	8.9	7.9	7.8	7.8	<u>11.2</u>	9.5
12.0	11.5	9.8	9.8	8.2	8.2	11.9	10.6
12.7	12.3	10.3	10.2	9.7	9.8	12.5	11.2
<u>13.0</u>	12.8	<u>11.2</u>	10.8	10.3	10.2	<u>14.0</u>	11.5
14.0	13.6	<u>11.5</u>	<u>11.2</u>	<u>11.2</u>	<u>11.2</u>	<u>14.3</u>	12.4
<u>15.6</u>	14.5	11.9	<u>11.6</u>	<u>11.4</u>	11.9	<u>14.7</u>	12.7
16.0	15.4	12.2	12.0	11.9	12.2	15.3	13.4
16.4	15.8	12.5	12.5	12.3	12.5	15.7	13.6
16.8	16.9	<u>13.9</u>	13.3	12.5	<u>14.0</u>	<u>16.1</u>	14.1
17.5	18.3	<u>14.3</u>	<u>14.0</u>	<u>13.9</u>	<u>14.6</u>	<u>16.6</u>	14.4
18.2	19.0	<u>14.7</u>	<u>14.4</u>	<u>14.2</u>	15.3	<u>17.1</u>	14.9
<u>18.7</u>	19.9	<u>14.8</u>	<u>14.6</u>	<u>14.6</u>	<u>15.9</u>	<u>17.4</u>	16.3
19.1	20.8	15.3	<u>14.9</u>	15.3	<u>16.6</u>	18.5	17.2
19.8	<u>21.4</u>	15.7	15.3	15.7	<u>17.1</u>	19.0	18.2
20.5	21.6	<u>16.2</u>	15.7	<u>16.0</u>	<u>17.5</u>	19.6	19.0
20.9	22.0	<u>16.6</u>	<u>16.3</u>	<u>16.6</u>	18.4	20.0	19.5
21.2	23.0	<u>17.1</u>	<u>16.6</u>	<u>17.0</u>	18.5	20.4	18.8

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-22-

21.6	23.3	<u>17.2</u>	<u>17.2</u>	<u>17.2</u>	19.1	<u>21.0</u>	<u>20.2</u>
21.8		<u>17.7</u>	<u>17.4</u>	<u>17.5</u>	19.3	21.8	20.5
24.0		18.0	<u>17.8</u>	18.1	20.0	<u>22.5</u>	21.1
		18.5	18.1	18.5	20.4	23.5	21.6
		19.0	18.6	19.0	<u>20.9</u>		21.9
		19.6	19.0	19.7	21.7		22.2
		20.0	19.6	20.0	<u>22.5</u>		23.6
		20.5	20.0	20.4	23.2		25.1
		<u>21.0</u>	20.5	<u>20.9</u>	23.6		
		21.7	<u>21.1</u>	21.7			
		22.0	21.8	22.4			
		<u>22.4</u>	<u>22.5</u>	<u>22.6</u>			
		22.6	23.5	23.3			
		23.1		23.5			
		23.5					
A	D	F	G	J	M	N	Q

The peaks underlined are the characteristic peaks among forms A, D, Family I and Q.

The peaks in italic and underlined are the sets of peaks that are characteristic within Family I isomorphs.

5

Family I isomorphs have the following common characteristics: the diffraction peaks at 6.2, 11.2, 21.0 ± 0.1 and 22.5 ± 0.1 degree in 2-theta. Each isomorph displays representative sets of diffraction peaks given in the following, and each set has characteristic spacing between the peaks.

10

The diffraction peak positions reported are accurate to within ± 0.2 degree of 2-theta.

A representative PXRD pattern of form A is shown in figure 2. Form A displays peaks at 9.3, 13.0 and 18.7 degrees of 2-theta.

A representative PXRD pattern of form D is shown in figure 6. Form D displays peaks at 3.9, 10.1, 10.6 and 21.4 degrees of 2-theta.

15

A representative PXRD pattern of Form F is shown in figure 10. Form F displays the characteristic peaks of Family I and three sets of peaks, being set 1 at 2-theta of 11.2 and 11.5; set 2 at 2-theta of 13.9, 14.3, 14.7 and 14.8; set 3 at 2-theta of 16.2, 16.6, 17.1, 17.2 and 17.7.

20

A representative PXRD pattern of Form G is shown in figure 13. Form G displays the characteristic peaks of Family I and three sets of peaks, being set 1 at 2-theta of 11.2 and

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-23-

11.6 2; set at 2-theta of 14.0, 14.4, 14.6 and 14.9; set 3 at 2-theta of 16.3, 16.6, 17.2, 17.4 and 17.8.

A representative PXRD pattern of Form J is shown in figure 16. Form J displays the characteristic peaks of Family I and three sets of peaks, being set 1 at 2-theta of 11.2 and 11.4; set 2 at 2-theta of 13.9, 14.2 and 14.6; set 3 at 2-theta of 16.0, 16.6, 17.0, 17.2 and 17.5.

A representative PXRD pattern of Form M is shown in figure 18. Form M displays the characteristic peaks of Family I and three sets of peaks, being set 1 at 2-theta of 11.2; set 2 at 2-theta of 14.0 and 14.6; set 3 at 2-theta of 15.9, 16.6, 17.1 and 17.5.

A representative PXRD pattern of Form N is shown in figure 10. Form N displays the characteristic peaks of Family I. The sets of peaks of form N are similar to those of forms F, G, J and M, being set 1 at 2-theta of 11.2 to 11.6; set 2 at 2-theta of 13.9 to 15.0; and set 3 at 2-theta of 15.9 to 17.9, with the peaks may vary slightly in position, intensity and width due to mixing of variable proportion of isomorphs in Family I.

A representative PXRD pattern of form Q is shown in figure 30. Form Q displays peaks at 2-theta of 6.8, 8.4 and 20.2 degree.

A representative PXRD pattern of form R is shown in figure 31.

Example 11: Single crystal X-ray analysis

Data were collected at room temperature using Bruker X-ray diffractometers equipped with copper radiation and graphite monochromators. Structures were solved using direct methods. The SHELXTL computer library provided by Bruker AXS, Inc facilitated all necessary crystallographic computations and molecular displays (SHELXTL™ Reference Manual, Version 5.1, Bruker AXS, Madison, Wisconsin, USA (1997)).

Example 12: Calculation of PXRD pattern from single crystal data

To compare the results between a single crystal and a powder sample, a calculated powder pattern can be obtained from single crystal results. The XFOG and XPOW computer programs provided as part of the SHELXTL computer library were used to perform this calculation. Comparing the calculated powder pattern with the experimental powder pattern confirms whether a powder sample corresponds to an assigned single crystal structure (Table 9A). This procedure was performed on the crystal forms of azithromycin A, D, F, G, and J.

The calculated PXRD diffraction pattern of azithromycin form A is given in figure 1.

The calculated PXRD diffraction pattern of azithromycin form D is given in figure 5.

The calculated PXRD diffraction pattern of azithromycin form F is given in figure 9.

The calculated PXRD diffraction pattern of azithromycin form G is given in figure 12.

The calculated PXRD diffraction pattern of azithromycin form J is given in figure 15.

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-24-

The results are displayed in the overlaid powder X-ray diffraction patterns for forms A, D, F, G, and J in figures 3, 7, 11, 14 and 17, respectively. The lower pattern corresponds to the calculated powder pattern (from single crystal results) and the upper pattern corresponds to a representative experimental powder pattern. A match between the two patterns indicated the agreement between powder sample and the corresponding single crystal structure.

Table 9A: Calculated and Experimental PXRD Peaks of Isomorphs of Family I

F calculated	F experimental	G calculated	G experimental	J calculated	J experimental	M experimental
		5.2	5.0			
		5.7	5.8	5.8	5.7	5.5
6.3	6.2	6.2	6.2	6.3	6.2	6.2
7.4	7.4	7.5	7.4	7.4	7.3	7.3
7.9	7.8	7.9	7.9	7.9	7.8	7.8
8.8	8.9	8.9	9.3	8.3	8.2	8.2
9.9	9.8	9.9	9.9	9.8	9.7	9.8
10.3	10.3		10.2	10.4	10.3	10.2
10.9		10.9	10.8			
11.3	11.2	11.3	11.2	11.2	11.2	11.2
11.5	11.4	11.6	11.6	11.4	11.4	missing
12.0	11.9	12.0	11.9	12.0	11.9	11.9
12.3	12.2	12.3		12.3	12.3	12.2
12.8	12.5	12.5	12.5	12.6	12.5	12.5
14.0	14.0	13.4	13.3	14.0	13.9	14.0
14.3	14.3	14.1	14.0	14.2	14.2	missing
		14.4	14.4			
14.7	14.7	14.7	14.8	14.7	14.6	14.6
14.9	14.8	14.9	14.9	14.8		
15.4	15.3	15.4	15.3	15.3	15.3	15.3
15.8	15.7	15.7	15.7	15.8	15.7	15.9
15.2	16.2	16.3	16.3	16.0	16.0	missing
16.8	16.6	16.6	16.6	16.7	16.6	16.6
17.1	17.2	17.1		17.1	17.0	17.1
17.3	17.3	17.3	17.2	17.4	17.2	missing
17.5	17.4	17.5	17.4	17.6	17.5	17.5
17.7	17.7	17.9	17.8	17.9		
18.0	18.0	18.1	18.1	18.2	18.1	18.4
18.6	18.5	18.7	18.7	18.5	18.5	18.5
19.1	19.0	19.1	19.0	19.1	19.0	19.1
19.7	19.6	19.6	19.6	19.8	19.7	19.6
20.0	20.0	20.0	20.0	20.1	20.0	20.0
20.5	20.4	20.6	20.5	20.5	20.4	20.4
21.1	21.0	21.2	21.0	20.8	20.9	20.9
21.8	21.7		21.6	21.6	21.7	21.7
22.1	22.0	21.8	21.8	21.8		
22.5	22.4	22.3	22.2	22.5	22.4	22.5
22.7	22.6	22.5	22.5	22.8	22.6	
23.1	23.1	22.9		23.4	23.3	23.2
23.5	23.5	23.5	23.5	23.7	23.5	23.5

10

Example 13: Solid State NMR Analysis

Solid State NMR analysis:

All ^{13}C solid state NMR spectra were collected on an 11.75 T spectrometer (Bruker Biospin, Inc., Billerica, MA), corresponding to 125 MHz ^{13}C frequency. The spectra were collected using a cross-polarization magic angle spinning (CPMAS) probe operating at

15

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-25-

ambient temperature and pressure. Depending on the quantity of sample analyzed, 7 mm BL or 4 mm BL Bruker probes were employed, accomodating 300 mg and 75 mg of sample with maximum speeds of 7 kHz and 15 kHz, respectively. Data were processed with an exponential line broadening function of 5.0 Hz. Proton decoupling of 65 kHz and 100 kHz were used with the 7mm and 4 mm probes, respectively. A sufficient number of acquisitions were averaged out to obtain adequate signal-to-noise ratios for all peaks. Typically, 600 scans were acquired with recycle delay of 3.0 s, corresponding approximately to a 30 minute total acquisition time. Magic angle was adjusted using KBr powder according to standard NMR vendor practices. The spectra were referenced relative to either the methyl resonance of hexamethylbenzen (HMB) at 17.3 ppm or the upfield resonance of adamantane (ADM) at 29.5 ppm. HMB referenced spectra show chemical shifts of all peaks shifted down field by 0.08 ppm with respect to same spectra referenced to ADM. The spectral window minimally included the spectra region from 190 to 0 ppm. The results are summarized in Table 10. Ss-NMR spectra for forms M, H and R were referenced to ADM. Ss-NMR spectra for forms A, D, G, F, J and N were referenced to HMB. Forms H and R were spun at a rate of 15 kHz.

Table 10. ¹³C ss-NMR chemical shifts of Azithromycin (± 0.2 ppm)

A	D	G	F	J	M	N	H	R
178.1	178.1	179.5*	179.5	179.6	179.6	179.6	179.5	177.9
104.1	103.9	105.5	178.6	178.4	105.6	178.7	178.7	104.6
98.4	95.1	103.5	105.5	105.5	103.4	105.6	105.4	103.6
84.6	84.2	95.0	103.4	103.4	94.9	103.6	103.2	85.3
82.6	79.4	86.2	94.9	95.0	86.7	95.0	95.0	85.4
79.3	78.9	83.1	86.4	86.4	82.9	86.5	86.4	84.0
78.3	75.7	78.9	83.0	82.9	79.3	83.1	82.7	79.4
75.6	74.6	78.2	79.1	79.2	78.1	79.0	79.2	79.0
74.7	74.0	77.6	78.1	78.1	77.0	77.9	78.3	75.6
73.9	72.9	76.4	77.9	76.8	76.7	76.5	78.0	74.5
73.5	71.9	75.7	76.5	76.2	74.7	74.8	76.4	73.9
70.8	71.0	74.7	74.7	74.7	74.2	74.2	74.7	73.9
68.0	69.4	74.3	74.1	74.1**	71.3	73.6	74.1	72.9
66.2	67.8	73.5	73.5	72.0	69.2	71.5	73.5	71.8
63.8	65.7	71.3	71.4	71.3	68.6	69.2	73.1	71.0
63.2	64.7	69.1	69.1	69.2	67.3	68.7	71.2	69.1
62.2	49.2	68.8	68.6	68.6	66.2	67.3	69.1	67.5

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-26-

44.3	45.8	67.4	67.3	67.3**	65.5	66.2	68.4	65.6
42.8	43.1	65.9	66.1	66.2**	63.8	65.7	67.3	64.5
41.7	40.6	65.2	65.6	65.5**	63.3	63.7	66.9	49.4
39.1	37.1	64.0	63.6	63.7	50.0	<u>58.1</u>	66.1	45.7
35.4	36.4	63.3	<u>58.0</u>	50.0	47.1	50.1	65.5*	42.9
34.6	29.6	50.0	50.0	46.9	45.9	47.1	63.7*	41.6
<u>26.9</u>	29.3	46.9	47.0	45.9	44.7	46.0	49.9	40.4
<u>26.3</u>	28.0	46.0	45.9	44.7	43.8	44.8	46.8	37.0
23.7	27.7	44.5	44.7	43.7	41.9	43.8	45.9	36.2
23.3	22.1	43.7	43.7	41.6	41.1	41.5	44.5	29.4
21.7	21.1	41.5	41.5	41.0	37.4	41.1	43.8*	29.0
19.5	18.6	40.8	41.1	37.1	36.2	37.3	41.7	28.2
17.5	16.7	37.5	37.3	36.5**	33.6	36.5	40.9	27.4
15.9	16.1	36.5	36.4	35.4**	30.1	33.7	37.1	21.4
<u>13.2</u>	<u>10.6</u>	33.6	33.6	33.5	28.1	30.4	36.3	20.8
<u>11.3</u>	9.0	30.0	30.3	30.4	27.2	28.1	33.7	18.7
7.2	8.6	27.9	28.0	28.0	<u>26.0</u>	27.2	33.3	16.5
		27.3	27.1	27.1	23.2	<u>26.0</u>	30.5*	16.1
		23.1	23.2	<u>25.2</u>	22.8	23.2	27.9	15.7
		22.5	22.6	23.2	22.5	22.6	27.1	10.3
		21.9	21.9	22.5**	21.8	22.0	23.1	<u>9.6</u>

The chemical shifts labeled in bold and underlined are the peaks or sets of peaks representative of each form. The chemical shifts labeled in italic are the solvent peaks that may be broad and variable (± 0.4 ppm). The chemical shifts labeled with single asterisk may show splitting of < 0.3 ppm. The chemical shifts labeled with double asterisks may show variation of ± 0.3 ppm

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-27-

Table 10 (continued). ^{13}C ss-NMR chemical shifts of Azithromycin (± 0.2 ppm)

A	D	G	F	J	M	N	H	R
		20.9	20.8	21.9**	20.2	20.8	22.6	<u>8.9</u>
		20.2	20.4	20.7	18.9	19.0	22.3	<u>8.6</u>
		<u>18.8</u>	18.9	18.9	17.4	16.9	21.9	
		17.0	16.8	16.8	16.3	15.8	20.7	
		16.0	<u>17.2</u>	15.6**	15.5	12.2	20.3	
		12.2	15.7	12.1	12.1	<u>9.9</u>	18.8	
		<u>10.4</u>	12.2	<u>11.5</u>	<u>10.3</u>	<u>9.4</u>	17.1	
		9.9	<u>10.1</u>	12.1	9.6	<u>7.9</u>	16.6	
		<u>9.3</u>	<u>9.8</u>	10.0	<u>9.3</u>	<u>6.6</u>	15.8	
		7.6	9.3	9.3	7.7		15.4	
		8.5	<u>7.9</u>	<u>8.1</u>	<u>7.1</u>		12.0	
			<u>6.6</u>	<u>6.8**</u>			<u>9.9</u>	
							<u>9.1</u>	
							<u>7.9</u>	
							<u>7.0</u>	

5 The chemical shifts labeled in bold and underlined are the peaks or sets of peaks representative of each form. The chemical shifts labeled in *italic* are the solvent peaks that may be broad and variable (± 0.4 ppm). The chemical shifts labeled with single asterisk may show splitting of < 0.3 ppm. The chemical shifts labeled with double asterisks may show variation of ± 0.3 ppm

10 The chemical shifts reported are accurate to within ± 0.2 ppm unless otherwise indicated.

A representative ^{13}C ssNMR spectrum of form A is shown in figure 21. Form A displays a peak at 178.1 ppm, and peaks at 104.1, 98.4, 84.6, 26.9, 13.2, 11.3 and 7.2 ppm.

15 A representative ^{13}C ssNMR spectrum of form D is shown in figure 22. Form D displays the highest chemical shift peak of 178.1 ppm and peaks at chemical shifts of 103.9, 95.1, 64.2, 10.6, 9.0 and 8.6 ppm.

A representative ^{13}C ssNMR spectrum of form F is shown in figure 23. Form F has two chemical shift peaks at approximately 179.1 ± 2 ppm, being 179.5 ppm and 178.6 ppm,

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-28-

and a set of 5 peaks at 10.1, 9.8, 9.3, 7.9, and 6.6 ppm, and ethanol peaks at 58.0 ± 0.5 ppm and 17.2 ± 0.5 ppm. The solvent peaks can be broad and relatively weak in intensity.

A representative ^{13}C ssNMR spectrum of form G is shown in figure 24. Form G has the highest chemical shift peak of 179.5 ppm, being a single peak with possible splitting of < 0.3 ppm and a set of 5 peaks at 10.4, 9.9, 9.3, 7.6, 6.5 ppm.

A representative ^{13}C ssNMR spectrum of form J is shown in figure 25. Form J has two chemical shift peaks at approximately 179.1 ± 2 ppm, those being 179.6 ppm and 178.4 ppm, a set of 4 peaks at 10.0, 9.3, 8.1 and 6.8 ppm and n-propanol peaks at 11.5 ± 0.5 ppm and 25.2 ± 0.5 ppm. The solvent peak can be broad and relatively weak in intensity.

A representative ^{13}C ssNMR spectrum of form M is shown in figure 26. Form M has one chemical shift peak at 179 ± 1 ppm, being 179.8 ppm, peaks at 41.9, and 16.3 ppm, a set of 5 peaks at 10.3, 9.6, 9.3, 7.7 and 7.1 ppm and an isopropanol peak at 26.0 ± 0.5 ppm. The solvent peak can be broad and relatively weak in intensity.

A representative ^{13}C ssNMR spectrum of form N is shown in figure 27. Form N displays chemical shifts as a combination of isomorphs in Family I. The peaks may vary in chemical shift and in relative intensities and width due to the mixing of variable proportion of isomorphs contained in the form N crystalline solid solution.

A representative ^{13}C ssNMR spectrum of amorphous form is shown in figure 28. The amorphous azithromycin displays broad chemical shifts. The characteristic chemical shifts have the peak positions at 179 and 11 ± 0.5 ppm.

A summary of the observed ssNMR peaks for forms A, D, F, G, H, J, M, N and R azithromycin is given in Table 10.

Example 14: NMR Analysis of a Dosage Form

To demonstrate the ability of ^{13}C ssNMR to identify the form of azithromycin contained in a pharmaceutical dosage form, coated azithromycin tablets containing form G azithromycin were prepared and analyzed by ^{13}C ssNMR. Tablets were wet granulated and tableted on an F-Press (Manesty, Liverpool, UK) using 0.262" x 0.531" tooling. Tablets were formulated and tableted to contain 250 mg of form G azithromycin with a total tablet weight of 450 mg using the formula given below. The tablets were uniformly coated with pink Opadry II® (mixture of lactose monohydrate, hydroxypropylmethylcellulose, titanium dioxide, Drug & Cosmetic red # 30, and triacetin) (Colorcon, West Point, PA).

Material	Percentage	Batch(g)
Azithromycin form "G"	56.23	174.69
Pregelatinized corn starch	6.00	18.00

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-29-

Anhydrous dicalcium phosphate	30.85	92.55
Sodium croscarmellose	2.00	6.00
Magnesium stearate with 10% sodium laurel sulfate	2.92	8.76
Total	100.00	300.00

A coated tablet was gently crushed and the powdered sample was packed with a packing tool in solid state rotor containing no ^{13}C background. Analysis of the sample was performed under conditions outlined in Example 13.

- 5 A representative ^{13}C ssNMR spectrum of the tablet containing form G azithromycin is given in Figure 29.

Example 15: Antimicrobial activity:

- The activity of the crystal forms of the present invention against bacterial and protozoa pathogens is demonstrated by the compound's ability to inhibit growth of defined strains of human (Assay I) or animal (Assays II and III) pathogens.

Assay I

- Assay I, described below, employs conventional methodology and interpretation criteria and is designed to provide direction for chemical modifications that may lead to compounds that circumvent defined mechanisms of macrolide resistance. In Assay I, a panel of bacterial strains is assembled to include a variety of target pathogenic species, including representatives of macrolide resistance mechanisms that have been characterized. Use of this panel enables the chemical structure/activity relationship to be determined with respect to potency, spectrum of activity, and structural elements or modifications that may be necessary to obviate resistance mechanisms. Bacterial pathogens that comprise the screening panel are shown in the table below. In many cases, both the macrolide-susceptible parent strain and the macrolide-resistant strain derived from it are available to provide a more accurate assessment of the compound's ability to circumvent the resistance mechanism. Strains that contain the gene with the designation of *ermA/ermB/ermC* are resistant to macrolides, lincosamides, and streptogramin B antibiotics due to modifications (methylation) of 23S rRNA molecules by an Erm methylase, thereby generally prevent the binding of all three structural classes. Two types of macrolide efflux have been described; *msrA* encodes a component of an efflux system in staphylococci that prevents the entry of macrolides and streptogramins while *msfA/E* encodes a transmembrane protein that appears to efflux only macrolides. Inactivation of macrolide antibiotics can occur and can be mediated by either a phosphorylation of the 2'-hydroxyl (*mph*) or by cleavage of the macrocyclic lactone (esterase). The strains may be characterized using conventional polymerase chain reaction (PCR) technology and/or by sequencing the resistance determinant. The use of PCR technology in

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-30-

- this application is described in J. Sutcliffe et al., "Detection Of Erythromycin-Resistant Determinants By PCR", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40(11), 2562-2566 (1996). The assay is performed in microtiter trays and interpreted according to Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests - Sixth Edition; Approved Standard, published by The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) guidelines; the minimum inhibitory concentration (MIC) is used to compare strains. The crystalline compound is initially dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO) as 40 mg/ml stock solution.

Strain Designation	Macrolide Resistance Mechanism(s)
Staphylococcus aureus 1116	susceptible parent
Staphylococcus aureus 1117	ErmB
Staphylococcus aureus 0052	susceptible parent
Staphylococcus aureus 1120	ErmC
Staphylococcus aureus 1032	msrA, mph, esterase
Staphylococcus hemolyticus 1006	msrA, mph
Streptococcus pyogenes 0203	susceptible parent
Streptococcus pyogenes 1079	ErmB
Streptococcus pyogenes 1062	susceptible parent
Streptococcus pyogenes 1081	ErmB
Streptococcus pyogenes 1064	ErmB
Streptococcus agalactiae 1024	susceptible parent
Streptococcus agalactiae 1023	ErmB
Streptococcus pneumoniae 1016	Susceptible
Streptococcus pneumoniae 1046	ErmB
Streptococcus pneumoniae 1095	ErmB
Streptococcus pneumoniae 1175	MefE
Streptococcus pneumoniae 0085	Susceptible
Haemophilus influenzae 0131	Susceptible
Moraxella catarrhalis 0040	Susceptible
Moraxella catarrhalis 1055	erythromycin intermediate resistance
Escherichia coli 0266	Susceptible

- 10 Assay II is utilized to test for activity against *Pasteurella multocida* and Assay III is utilized to test for activity against *Pasteurella haemolytica*.

Assay II

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-31-

This assay is based on the liquid dilution method in microtiter format. A single colony of *P. multocida* (strain 59A067) is inoculated into 5 ml of brain heart infusion (BHI) broth. The test compound is prepared by solubilizing 1 mg of the compound in 125 μ l of dimethylsulfoxide (DMSO). Dilutions of the test compound are prepared using uninoculated BHI broth. The concentrations of the test compound used range from 200 μ g/ml to 0.098 μ g/ml by two-fold serial dilutions. The *P. multocida* inoculated BHI is diluted with uninoculated BHI broth to make a 10^4 cell suspension per 200 μ l. The BHI cell suspensions are mixed with respective serial dilutions of the test compound, and incubated at 37°C for 18 hours. The minimum inhibitory concentration (MIC) is equal to the concentration of the compound exhibiting 100% inhibition of growth of *P. multocida* as determined by comparison with an uninoculated control.

Assay III

This assay is based on the agar dilution method using a Steers Replicator. Two to five colonies isolated from an agar plate are inoculated into BHI broth and incubated overnight at 37°C with shaking (200 rpm). The next morning, 300 μ l of the fully grown *P. haemolytica* preculture is inoculated into 3 ml of fresh BHI broth and is incubated at 37°C with shaking (200 rpm). The appropriate amounts of the test compounds are dissolved in ethanol and a series of two-fold serial dilutions are prepared. Two ml of the respective serial dilution is mixed with 18 ml of molten BHI agar and solidified. When the inoculated *P. haemolytica* culture reaches 0.5 McFarland standard density, about 5 μ l of the *P. haemolytica* culture is inoculated onto BHI agar plates containing the various concentrations of the test compound using a Steers Replicator and incubated for 18 hours at 37°C. Initial concentrations of the test compound range from 100-200 μ g/ml. The MIC is equal to the concentration of the test compound exhibiting 100% inhibition of growth of *P. haemolytica* as determined by comparison with an uninoculated control.

The *in vivo* activity of the crystal forms of the present invention can be determined by conventional animal protection studies well known to those skilled in the art, usually carried out in mice.

Mice are allotted to cages (10 per cage) upon their arrival, and allowed to acclimate for a minimum of 48 hours before being used. Animals are inoculated with 0.5 ml of a 3×10^8 CFU/ml bacterial suspension (*P. multocida* strain 59A006) intraperitoneally. Each experiment has at least 3 non-medicated control groups including one infected with 0.1X challenge dose and two infected with 1X challenge dose; a 10X challenge data group may also be used. Generally, all mice in a given study can be challenged within 30-90 minutes, especially if a repeating syringe (such as a Cornwall® syringe) is used to administer the challenge. Thirty minutes after challenging has begun, the first compound treatment is given. It may be necessary for a second person to begin compound dosing if all of the animals have not been challenged at the end of 30 minutes. The routes of administration are subcutaneous or oral doses. Subcutaneous doses are administered into the loose skin in the back of the neck

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-32-

whereas oral doses are given by means of a feeding needle. In both cases, a volume of 0.2 ml is used per mouse. Compounds are administered 30 minutes, 4 hours, and 24 hours after challenge. A control compound of known efficacy administered by the same route is included in each test. Animals are observed daily, and the number of survivors in each group is recorded.

5 The *P. multocida* model monitoring continues for 96 hours (four days) post challenge.

The PD_{50} is a calculated dose at which the compound tested protects 50% of a group of mice from mortality due to the bacterial infection that would be lethal in the absence of drug treatment.

10 The crystal forms of the present invention (hereinafter "the active compound(s)"), may be administered through oral, parenteral, topical, or rectal routes in the treatment or prevention of bacterial or protozoa infections. In general, the active compound is most desirably administered in dosages ranging from about 0.2 mg per kg body weight per day (mg/kg/day) to about 200 mg/kg/day in single or divided doses (i.e., from 1 to 4 doses per day), although variations will necessarily occur depending upon the species, weight and condition of the
15 subject being treated and the particular route of administration chosen. However, a dosage level that is in the range of about 2 mg/kg/day to about 50 mg/kg/day is most desirably employed. Variations may nevertheless occur depending upon the species of mammal, fish or bird being treated and its individual response to said medicament, as well as on the type of pharmaceutical formulation chosen and the time period and interval at which such
20 administration is carried out. In some instances, dosage levels below the lower limit of the aforesaid range may be more than adequate, while in other cases still larger doses may be employed without causing any harmful side effects, provided that such larger doses are first divided into several small doses for administration throughout the day.

The active compound may be administered alone or in combination with
25 pharmaceutically acceptable carriers or diluents by the routes previously indicated, and such administration may be carried out in single or multiple doses. More particularly, the active compound may be administered in a wide variety of different dosage forms, i.e., they may be combined with various pharmaceutically acceptable inert carriers in the form of tablets, capsules, lozenges, troches, hard candies, powders, sprays, creams, salves, suppositories,
30 jellies, gels, pastes, lotions, ointments, sachets, powders for oral suspension, aqueous suspensions, injectable solutions, elixirs, syrups, and the like. Such carriers include solid diluents or fillers, sterile aqueous media and various non-toxic organic solvents, etc. Moreover, oral pharmaceutical compositions can be suitably sweetened and/or flavored. In general, the active compound is present in such dosage forms at concentration levels ranging from about
35 1.0% to about 70% by weight.

For oral administration, tablets containing various excipients such as microcrystalline cellulose, sodium citrate, calcium carbonate, dicalcium phosphate and glycine may be

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-33-

employed along with various disintegrants such as starch (and preferably corn, potato or tapioca starch), alginic acid and certain complex silicates, together with granulation binders like polyvinylpyrrolidone, sucrose, gelatin and acacia. Additionally, lubricating agents such as magnesium stearate, sodium lauryl sulfate and talc are often very useful for tableting purposes.

- 5 Solid compositions of a similar type may also be employed as fillers in gelatin capsules; preferred materials in this connection also include lactose or milk sugar as well as high molecular weight polyethylene glycols. When aqueous suspensions and/or elixirs are desired for oral administration, the active compound may be combined with various sweetening or flavoring agents, coloring matter or dyes, and, if so desired, emulsifying and/or suspending agents as well, together with such diluents as water, ethanol, propylene glycol, glycerin and various like combinations thereof.

- 10 For parenteral administration, solutions of the active compound in either sesame or peanut oil or in aqueous propylene glycol may be employed. The aqueous solutions should be suitably buffered (preferably pH greater than 8) if necessary and the liquid diluent first rendered isotonic. These aqueous solutions are suitable for intravenous injection purposes. The oily solutions are suitable for intraarticular, intramuscular and subcutaneous injection purposes. The preparation of all these solutions under sterile conditions is readily accomplished by standard pharmaceutical techniques well known to those skilled in the art.

- 15 Additionally, it is also possible to administer the active compound topically and this may be done by way of creams, jellies, gels, pastes, patches, ointments and the like, in accordance with standard pharmaceutical practice.

For administration to animals other than humans, such as cattle or domestic animals, the active compounds may be administered in the feed of the animals or orally as a drench composition.

- 25 The active compound may also be administered in the form of liposome delivery systems, such as small unilamellar vesicles, large unilamellar vesicles and multilamellar vesicles. Liposomes can be formed from a variety of phospholipids, such as cholesterol, stearylamine or phosphatidylcholines.

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-34-

CLAIMS

What is claimed is:

1. A crystalline form of azithromycin selected from the group consisting of forms D, E, substantially pure F, substantially pure G, H, J, M substantially in the absence of azithromycin dihydrate, N, O, P, Q, and R.
2. A crystalline form of azithromycin according to claim 1 wherein said form is form D and is further characterized as having a ¹³C solid state NMR spectrum having a peaks with chemical shifts of about 178.1 ppm, 103.9 ppm, 95.1 ppm, 84.2 ppm, 10.6 ppm, 9.0 ppm and 8.6 ppm.
3. A crystalline form of azithromycin according to claim 1 wherein said form is form E.
4. A crystalline form of azithromycin according to claim 1 wherein said form is substantially pure form F and is further characterized as having a ¹³C solid state NMR spectrum having a peaks with chemical shifts of about 179.5 ppm, 178.6 ppm, 58.0 ppm, 10.1 ppm 9.8 ppm, 9.3 ppm, 7.9 ppm and 6.6 ppm.
5. A crystalline form of azithromycin according to claim 4 wherein said azithromycin comprises 90% or more by weight of form F azithromycin.
6. A crystal form according to claim 1 wherein said form is substantially pure form G and is further characterized as having a ¹³C solid state NMR spectrum having a peaks with chemical shifts of about 179.5 ppm, 10.4 ppm, 9.9 ppm, 9.3 ppm, 7.6 ppm and 6.5 ppm.
7. A crystalline form of azithromycin according to claim 6 wherein said azithromycin comprises 90% or more by weight of form G azithromycin.
8. A crystal form according to claim 1 wherein said form is form H and is further characterized as having a ¹³C solid state NMR spectrum having a peaks with chemical shifts of about 179.5 ppm, 178.7 ppm, 9.9 ppm, 9.1 ppm, 7.9 ppm and 7.0 ppm.
9. A crystal form according to claim 1 wherein said form is form J and is further characterized as having a ¹³C solid state NMR spectrum having a peaks with chemical shifts of about 179.6 ppm, 178.4 ppm, 25.2 ppm, 11.5 ppm, 10.0 ppm, 9.3 ppm, 8.1 ppm and 6.8 ppm.

WO 02/094843

PCT/IB02/01570

-35-

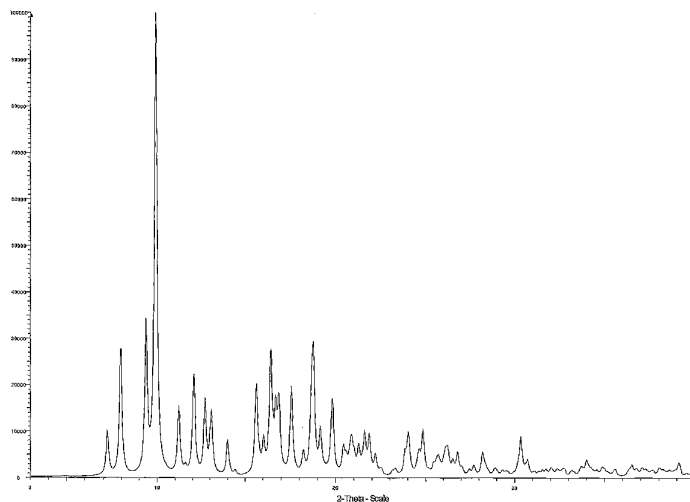
10. A crystal form according to claim 1 wherein said form is form M substantially in the absence of azithromycin dihydrate and is further characterized as having a ¹³C solid state NMR spectrum having a peaks with chemical shifts of about 179.6 ppm, 41.9 ppm, 26.0 ppm, 16.3 ppm, 10.3 ppm, 9.6 ppm, 9.3 ppm, 7.7 ppm and 7.1 ppm.
- 5 11. A crystal form according to claim 1 wherein said form is form N and is further characterized as having a ¹³C solid state NMR spectrum having a peaks with chemical shifts of about 179.6 ppm, 178.7 ppm, 105.6 ppm, 58.1 ppm, 26.0 ppm, 9.9 ppm, 9.4 ppm, 7.9 ppm, and 6.6 ppm.
12. A crystal form according to claim 1 wherein said form is form O.
- 10 13. A crystal form according to claim 1 wherein said form is form P.
14. A crystal form according to claim 1 wherein said form is form Q.
15. A crystal form according to claim 1 wherein said form is form R and is further characterized as having a ¹³C solid state NMR spectrum having a peaks with chemical shifts of about 177.9 ppm, 103.6 ppm, 95.3 ppm, 10.3 ppm, 9.6 ppm, 8.9 ppm, and 8.6 ppm.
- 15

WO 02/094843

1/33

PCT/IB02/01570

Figure 1

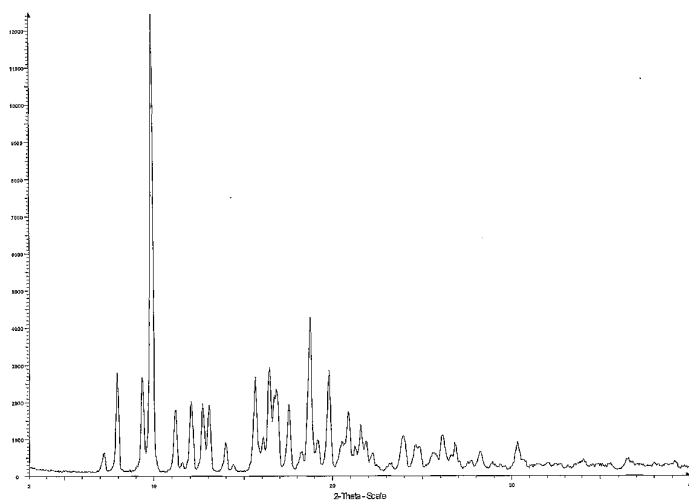


WO 02/094843

2/33

PCT/IB02/01570

Figure 2

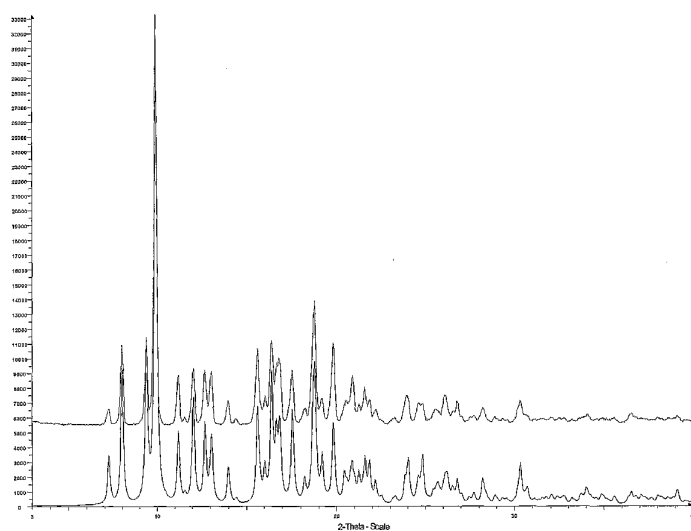


WO 02/094843

3/33

PCT/IB02/01570

Figure 3

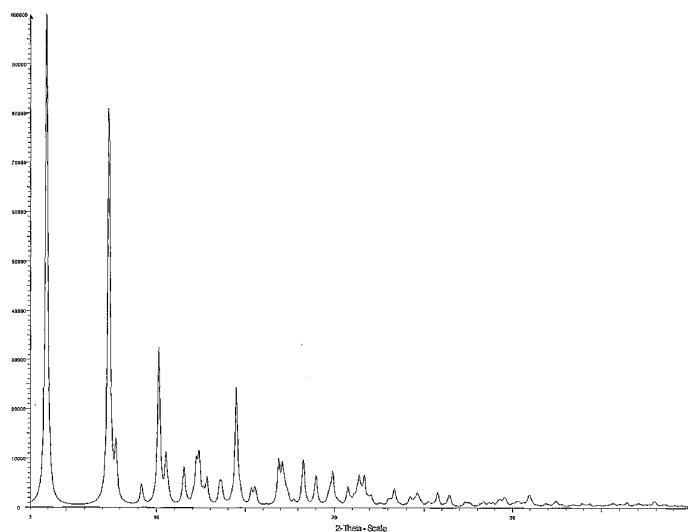


WO 02/094843

4/33

PCT/IB02/01570

Figure 4

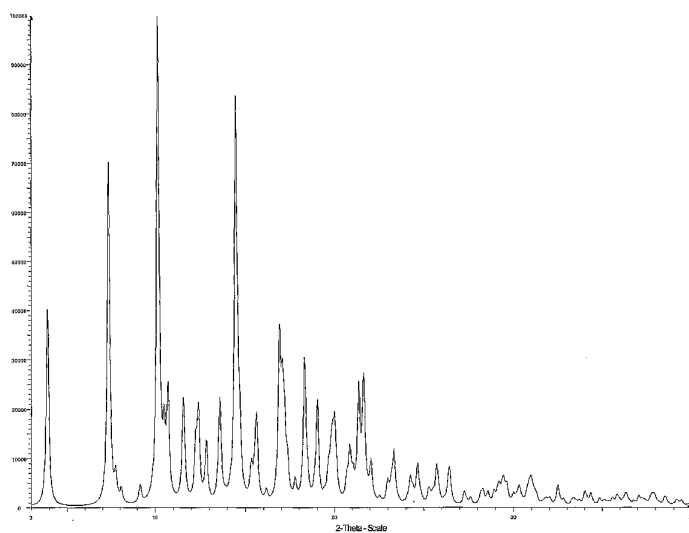


WO 02/094843

5/33

PCT/IB02/01570

Figure 5

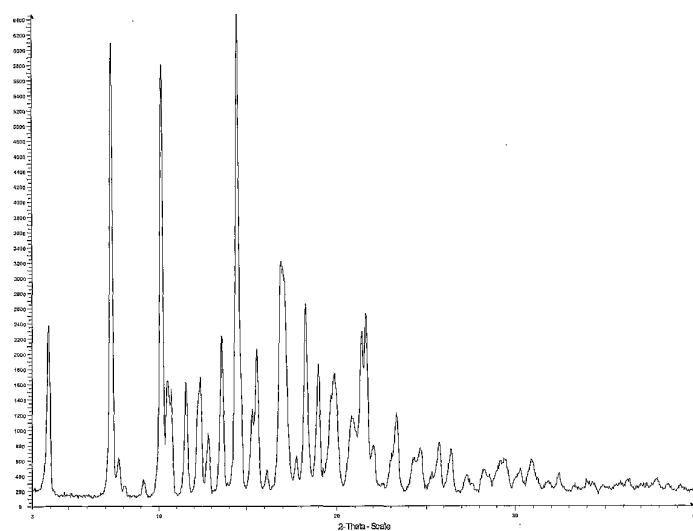


WO 02/094843

6/33

PCT/IB02/01570

Figure 6

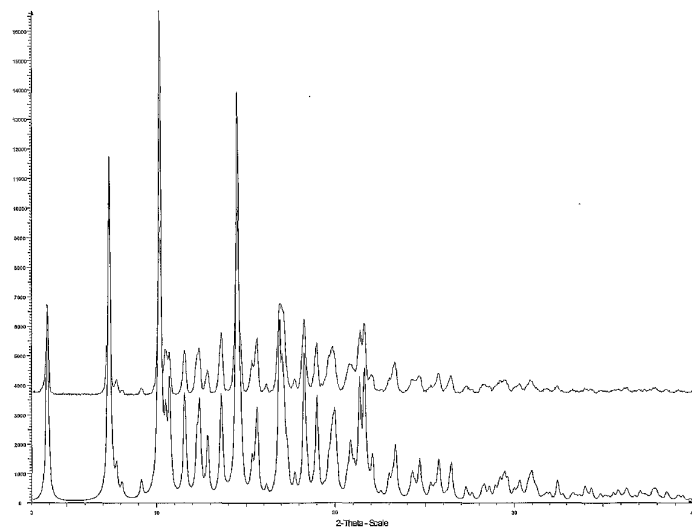


WO 02/094843

7/33

PCT/IB02/01570

Figure 7

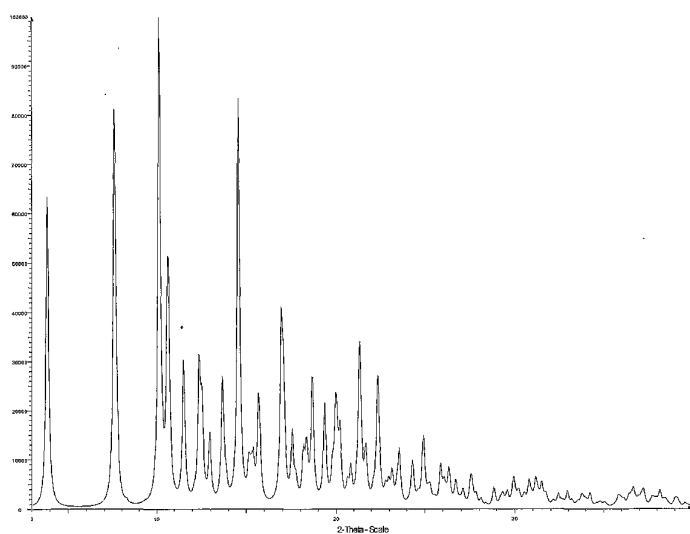


WO 02/094843

8/33

PCT/IB02/01570

Figure 8

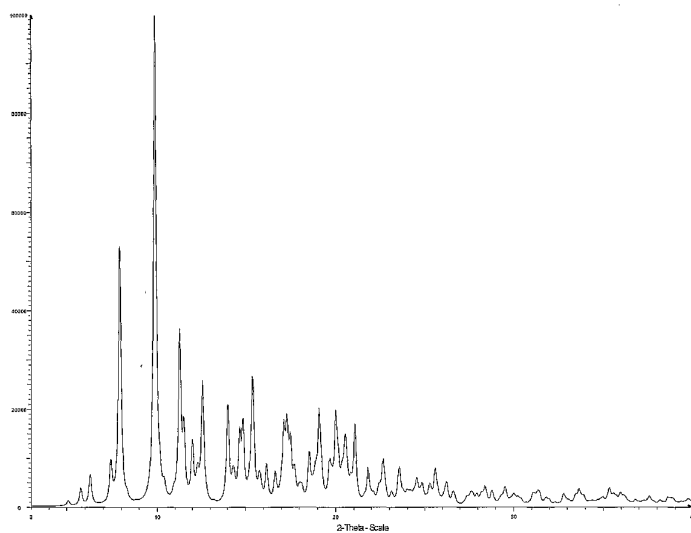


WO 02/094843

9/33

PCT/IB02/01570

Figure 9

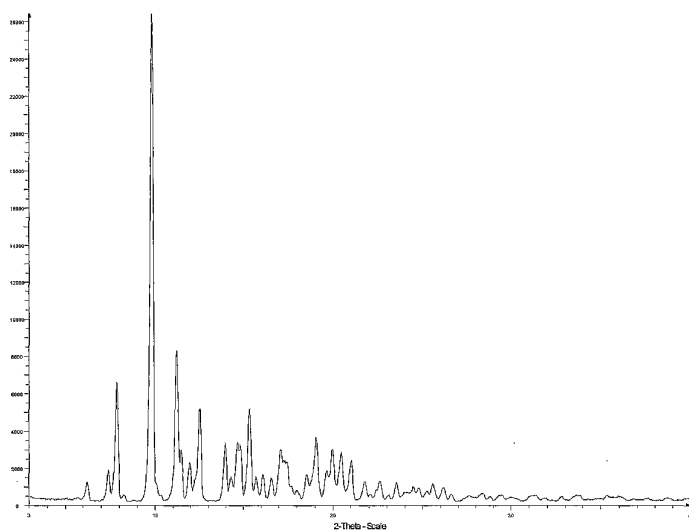


WO 02/094843

10/33

PCT/IB02/01570

Figure 10

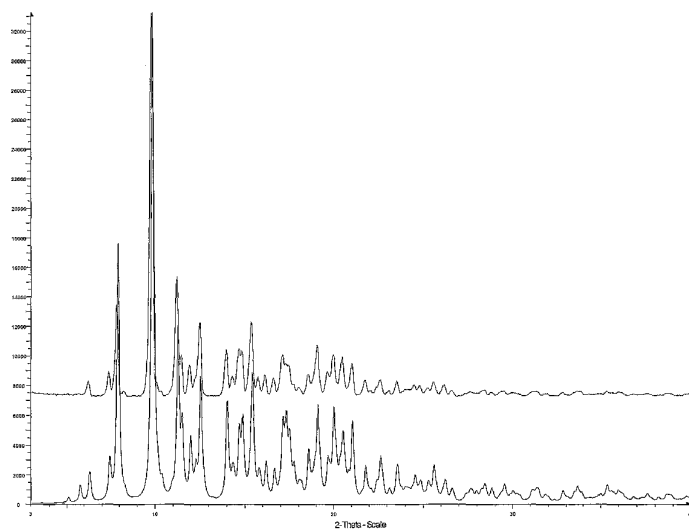


WO 02/094843

11/33

PCT/IB02/01570

Figure 11

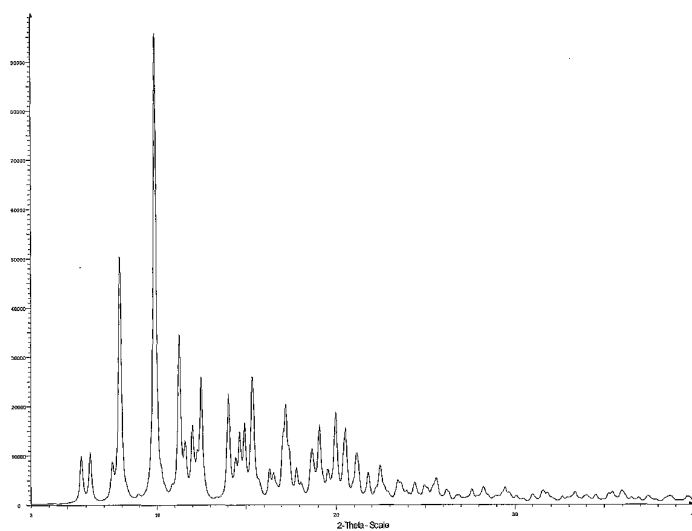


WO 02/094843

12/33

PCT/IB02/01570

Figure 12

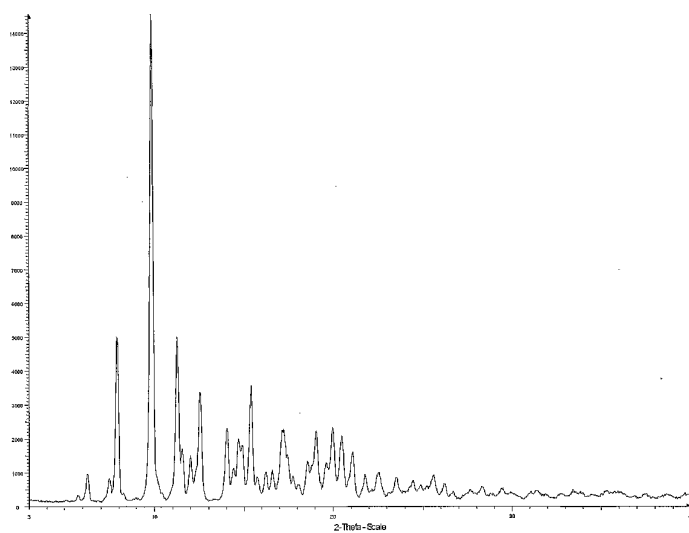


WO 02/094843

13/33

PCT/IB02/01570

Figure 13

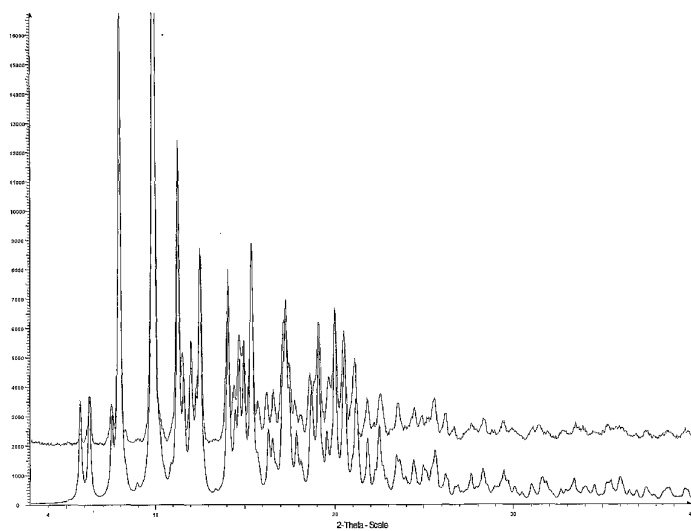


WO 02/094843

14/33

PCT/IB02/01570

Figure 14

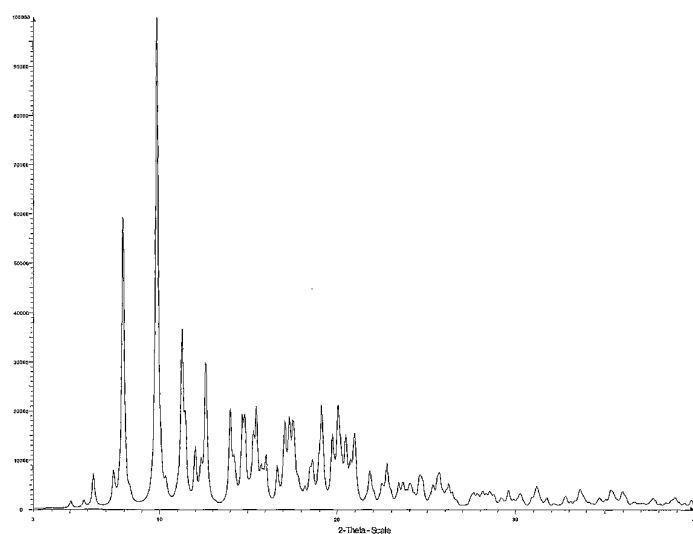


WO 02/094843

15/33

PCT/IB02/01570

Figure 15

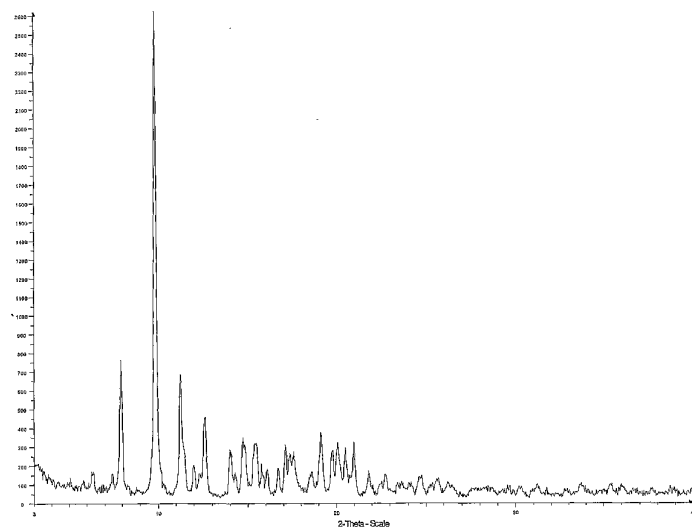


WO 02/094843

16/33

PCT/IB02/01570

Figure 16

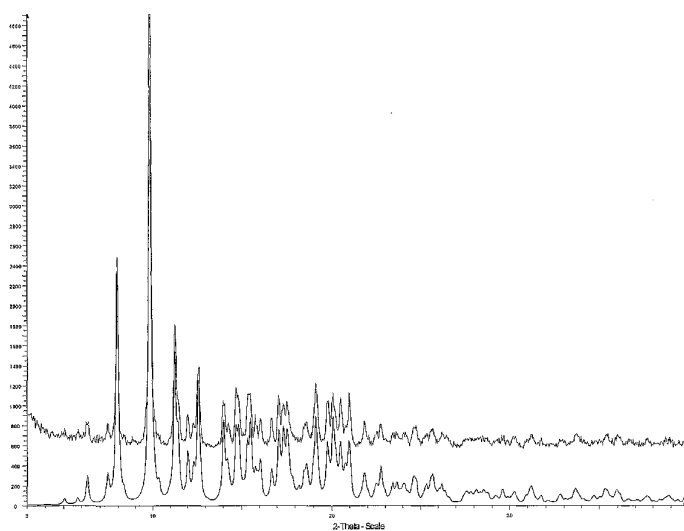


WO 02/094843

17/33

PCT/IB02/01570

Figure 17

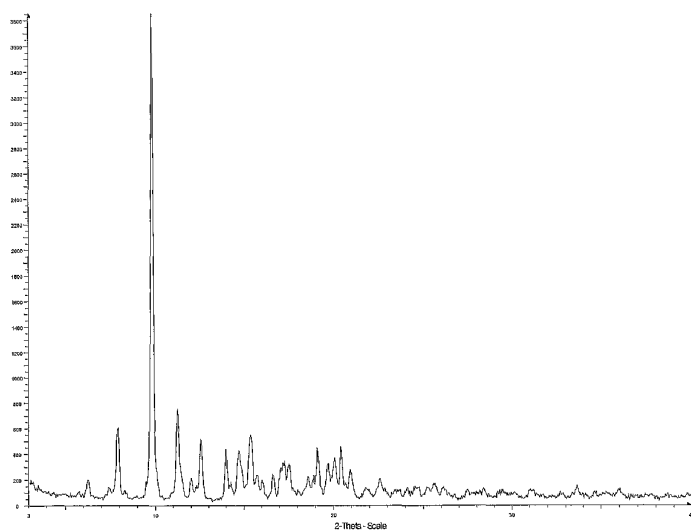


WO 02/094843

18/33

PCT/IB02/01570

Figure 18

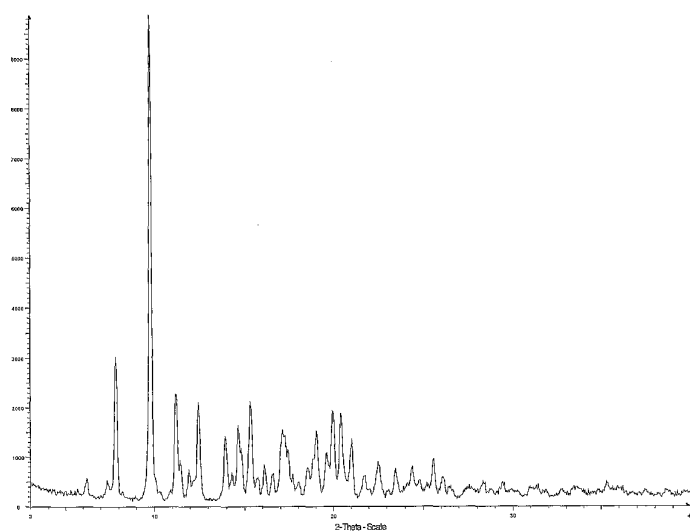


WO 02/094843

19/33

PCT/IB02/01570

Figure 19

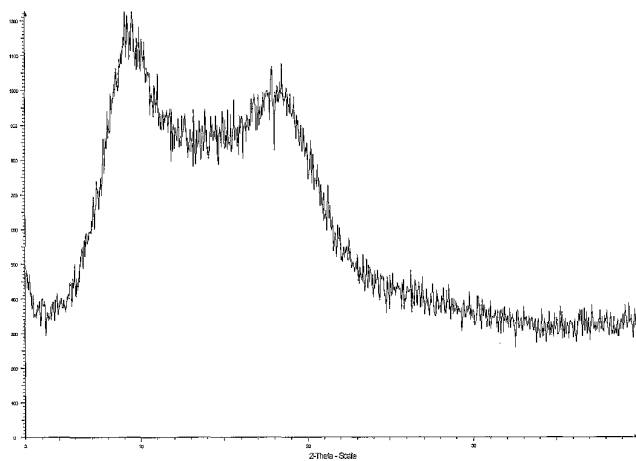


WO 02/094843

20/33

PCT/IB02/01570

Figure 20

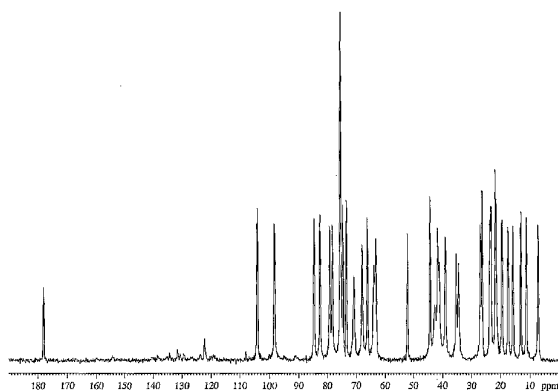


WO 02/094843

21/33

PCT/IB02/01570

Figure 21

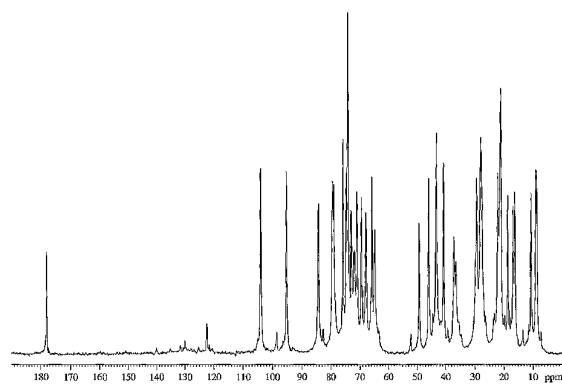


WO 02/094843

22/33

PCT/IB02/01570

Figure 22

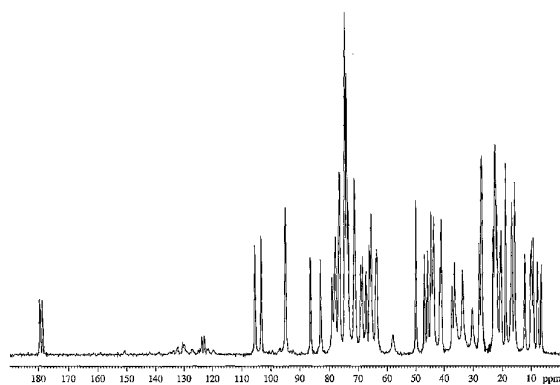


WO 02/094843

23/33

PCT/IB02/01570

Figure 23

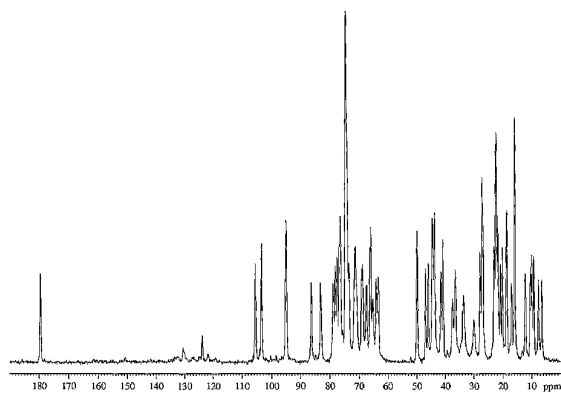


WO 02/094843

24/33

PCT/IB02/01570

Figure 24

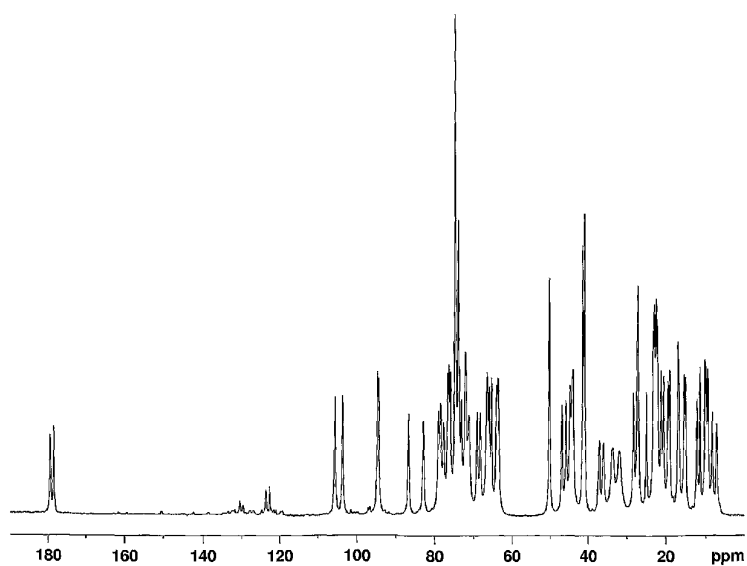


WO 02/094843

25/33

PCT/IB02/01570

Figure 25

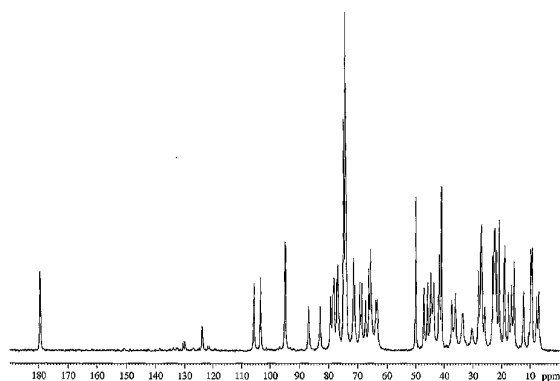


WO 02/094843

26/33

PCT/IB02/01570

Figure 26

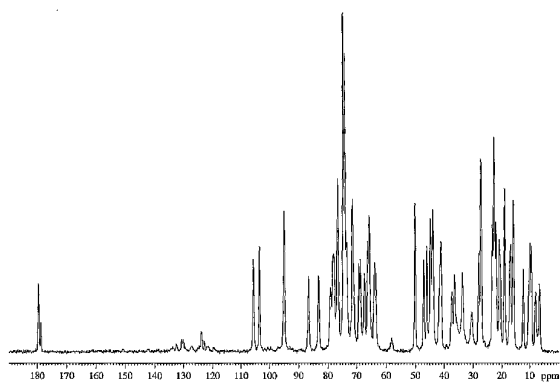


WO 02/094843

27/33

PCT/IB02/01570

Figure 27

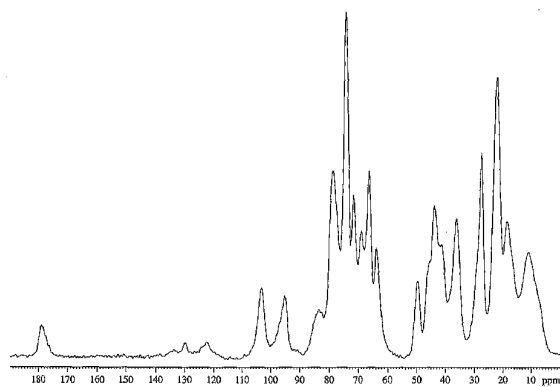


WO 02/094843

28/33

PCT/IB02/01570

Figure 28

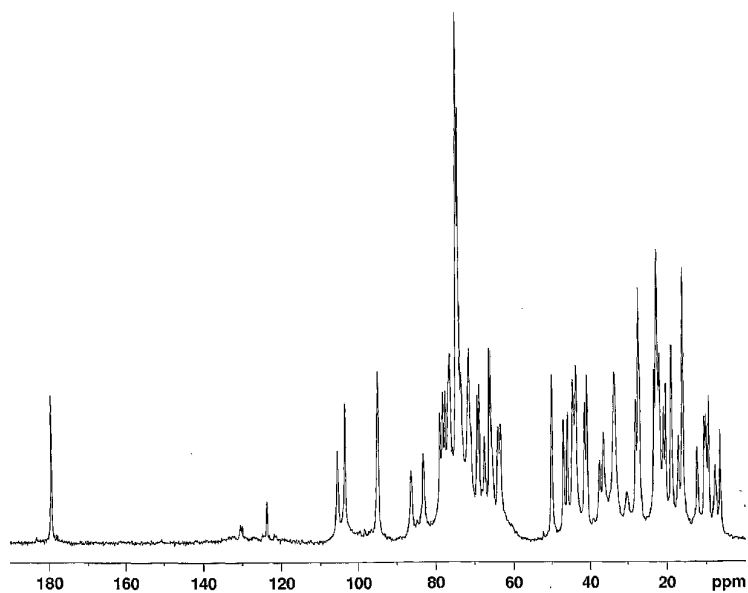


WO 02/094843

29/33

PCT/IB02/01570

Figure 29

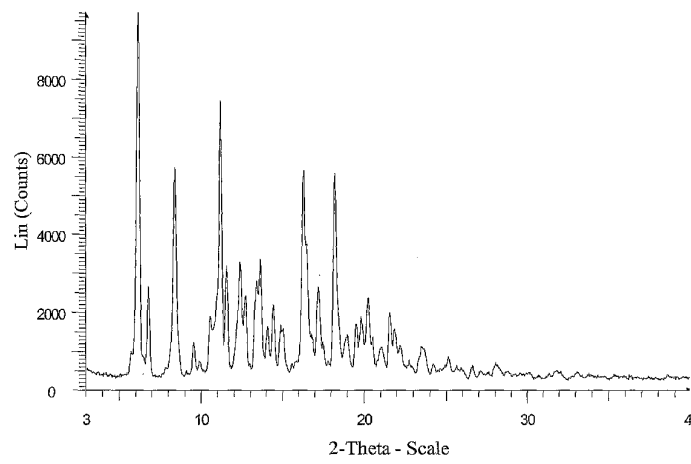


WO 02/094843

30/33

PCT/IB02/01570

Figure 30

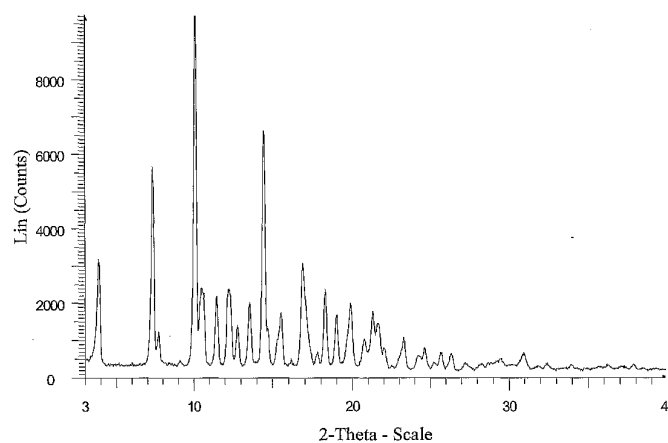


WO 02/094843

31/33

PCT/IB02/01570

Figure 31

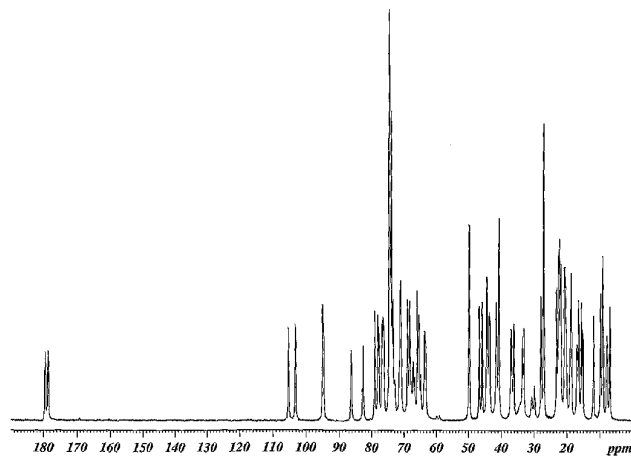


WO 02/094843

32/33

PCT/IB02/01570

Figure 32

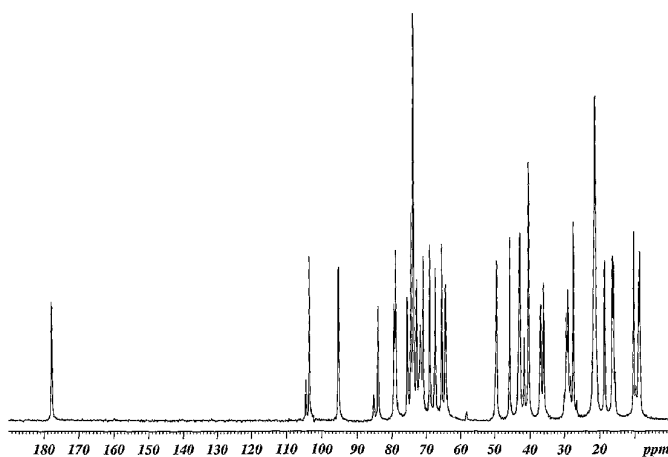


WO 02/094843

33/33

PCT/IB02/01570

Figure 33



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/IB 02/01570
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C07H17/08		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07H		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 298 650 A (PFIZER) 11 January 1989 (1989-01-11) cited in the application page 4 method B	1,2,15
P,A	EP 1 103 558 A (ASTUR PHARMA S A) 30 May 2001 (2001-05-30) page 4; table	1,2,15
A	WO 01 00640 A (LUDESCHER JOHANNES ; GARCIA RAFAEL (ES); BIOCHEMIE SA (ES); DIAZO J) 4 January 2001 (2001-01-04) page 10, line 26 - line 28	1,4,5, 8-13
X	CA 2 245 398 A (MOTAMED M., KARIMIAN K., APOTEX INC.) 21 February 2000 (2000-02-21) whole document	1,4,5, 8-13
--- -/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 1 October 2002		Date of mailing of the international search report 11.1.02
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. Box 6818 Paternoster 2 NL - 2200 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Klein, D

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/IB 02/01570

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00 32203 A (SINGER CLAUDE ;TEVA PHARMA (IL); ARONHEIM JUDITH (IL); TEVA PHARMA) 8 June 2000 (2000-06-08) cited in the application whole document -----	1,4,5, 8-13
A	CN 1 093 370 A (JICAI MEDICINE RESEARCH INST B) 12 October 1994 (1994-10-12) & CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 124, no. 3, 15 January 1996 (1996-01-15) Columbus, Ohio, US; abstract no. 29525, abstract -----	1-15
X	WO 98 04574 A (ABBOTT LAB) 5 February 1998 (1998-02-05) examples -----	1-15
A	WO 00 14099 A (KIM MAN JOO ;LEE KYOUNG IK (KR); LEE TAE SUK (KR); LEE GWAN SUN (K)) 16 March 2000 (2000-03-16) the whole document -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/IB 02/01570
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)		
This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:		
1.	<input type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2.	<input type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3.	<input type="checkbox"/>	Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)		
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:		
see additional sheet		
1.	<input checked="" type="checkbox"/>	As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2.	<input type="checkbox"/>	As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.	<input type="checkbox"/>	As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.	<input type="checkbox"/>	No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Remark on Protest		<input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
		<input checked="" type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/IB 02 01570

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. Claims: 1(part), 2, 15

Crystals of azithromycin obtained in non polar solvents :
monohydrate monocyclohexane solvate of azithromycin (form D).
monomonomethyl tertibutyl ether solvate of azithromycin
(form R).

2. Claims: 1(part), 3, 14

Crystals of azithromycin obtained in the presence of THF :
monohydrate monotetrahydrofuran solvate of azithromycin
(form E).
monohydrate hemitetrahydrofuran solvate of azithromycin
(form Q).

3. Claims: 1(part), 4, 5, 8-13

Crystals of azithromycin consisting in alcohol solvates:
Forms F, H, J, M, N, O, P.

4. Claims: 6, 7

Crystals of azithromycin obtained in the sesquihydrate form:
(form G).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/IB 02/01570

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0298650	A	11-01-1989	WO 8900576 A1 26-01-1989
			AP 44 A 27-07-1989
			AT 72446 T 15-02-1992
			AU 604553 B2 20-12-1990
			AU 1883988 A 12-01-1989
			BA 98213 B1 02-08-1999
			BG 47348 A3 15-06-1990
			CA 1314876 A1 23-03-1993
			CN 1030422 A ,B 18-01-1989
			CS 8804896 A2 14-03-1990
			CY 1776 A 20-10-1995
			DD 271705 A5 13-09-1989
			DE 3868296 D1 19-03-1992
			DK 380688 A 10-01-1989
			EP 0298650 A2 11-01-1989
			ES 2038756 T3 01-08-1993
			FI 900087 A ,B, 08-01-1990
			GR 3003737 T3 16-03-1993
			HK 127594 A 25-11-1994
			HU 9500738 A3 28-11-1995
			IE 60354 B 29-06-1994
			IL 86979 A 15-11-1992
			IN 168879 A1 29-06-1991
			JP 1038096 A 08-02-1989
			JP 1903527 C 08-02-1995
			JP 6031300 B 27-04-1994
			KR 9006218 B1 25-08-1990
			LV 10624 A 20-04-1995
			MX 12213 A 01-05-1993
			NZ 225338 A 26-02-1990
			OA 8743 A 31-03-1989
			PT 87933 A ,B 30-06-1989
			RO 107257 B1 30-10-1993
			SG 27794 G 14-10-1994
			SI 8811325 A8 31-12-1996
			RU 2066324 C1 10-09-1996
			US 6268489 B1 31-07-2001
			YU 132588 A1 28-02-1990
			ZA 8804925 A 28-02-1990
EP 1103558	A	30-05-2001	EP 1103558 A2 30-05-2001
			EP 1234833 A2 28-08-2002
			JP 2001187797 A 10-07-2001
			PL 344101 A1 04-06-2001
			TR 200003474 A2 23-07-2001
WO 0100640	A	04-01-2001	US 6451990 B1 17-09-2002
			AU 5820400 A 31-01-2001
			WO 0100640 A1 04-01-2001
CA 2245398	A	NONE	EP 1189915 A1 27-03-2002
WO 0032203	A	08-06-2000	
			AU 3106500 A 19-06-2000
			BG 105547 A 31-12-2001
			CN 1334735 T 06-02-2002
			CZ 20011886 A3 17-10-2001
EP			EP 1152765 A1 14-11-2001

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1999)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/IB 02/01570

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0032203	A		LV 12735 A LV 12735 B PL 347971 A1 SI 20639 A WO 0032203 A1 US 2002007049 A1	20-10-2001 20-03-2002 06-05-2002 28-02-2002 08-06-2000 17-01-2002
CN 1093370	A	12-10-1994	CN 1114960 A ,B	17-01-1996
WO 9804574	A	05-02-1998	US 5844105 A AU 733646 B2 AU 3740597 A EP 0915899 A1 JP 2002514171 T WO 9804574 A1	01-12-1998 17-05-2001 20-02-1998 19-05-1999 14-05-2002 05-02-1998
WO 0014099	A	16-03-2000	EP 1112280 A1 JP 2002524465 T WO 0014099 A1	04-07-2001 06-08-2002 16-03-2000

Form: PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1999)

フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN, TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE, GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,P L,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 リ, ツェン ジェーン

アメリカ合衆国, コネチカット 06340, グロトン, イースタン ポイント ロード, ファイ
ザー グローバル リサーチ アンド ディベロップメント

(72)発明者 トラスク, アンドリュー ピンセント

アメリカ合衆国, コネチカット 06340, グロトン, イースタン ポイント ロード, ファイ
ザー グローバル リサーチ アンド ディベロップメント

Fターム(参考) 4C057 BB02 CC03 DD01 KK30

4C086 AA03 EA12 GA15 GA16 MA01 MA04 ZB35 ZB37