



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 698 28 692 T2** 2006.01.12

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 994 880 B1**

(51) Int Cl.⁸: **C07D 498/18** (2006.01)

(21) Deutsches Aktenzeichen: **698 28 692.8**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/EP98/03929**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **98 936 392.4**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 99/001458**

(86) PCT-Anmeldetag: **26.06.1998**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **14.01.1999**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **26.04.2000**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **19.01.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **12.01.2006**

(30) Unionspriorität:

9713730 30.06.1997 GB

(73) Patentinhaber:

Novartis AG, Basel, CH

(74) Vertreter:

Spott & Weinmiller, 80336 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**DOSENBACH, Cornelia, D-79588
Efringen-Kirchen, DE; GRASSBERGER,
Maximilian, A-1040 Wien, AT; HARTMANN, Otto,
CH-4055 Basel, CH; HORVATH, Amarylla, A-1120
Wien, AT; MUTZ, Jean-Paul, F-68730 Blotzheim,
FR; PENN, Gerhard, CH-4104 Oberwil, CH;
PFEFFER, Sabine, D-79576 Weil, DE;
WIECKHUSEN, Dierk, D-79589 Binzen, DE**

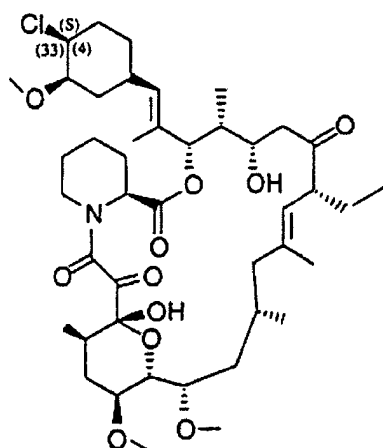
(54) Bezeichnung: **KRISTALLINE MACROLIDE UND VERFAHREN ZU IHRER HERSTELLUNG**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die Erfindung bezieht sich auf die Makrolid-Chemie. Sie betrifft die Verbindung der Formel I



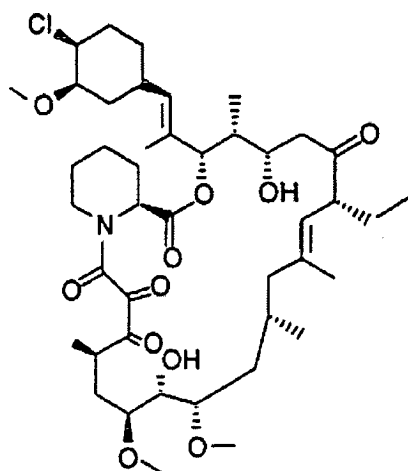
I

nämlich

{[1E-(1R,3R,4S)]1R,9S,12S,13R,14S,17R,18E,21S,23S,24R,25S,27R}-12-[2-(4-Chlor-3-methoxycyclohexyl)-1-methylvinyl]-17-ethyl-1,14-dihydroxy-23,25-dimethoxy-13,19,21,27-tetramethyl-11,28-dioxa-4-azatricyclo[2.2.3.1.0(4,9)]octacos-18-en-2,3,10,16-tetraon,

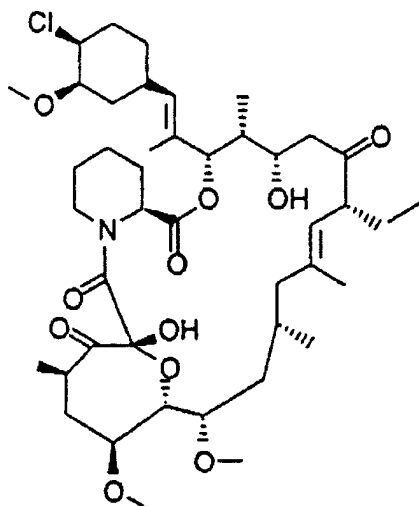
welche im folgenden kurz bezeichnet wird als 33-Epichlor-33-desoxy-FR520 der 33-Epichlor-33-desoxyascamycin, in kristalliner Form.

[0002] Der Einfachheit halber sollte hierin eine Bezugnahme auf die Formel I so verstanden werden, dass davon die Verbindung der Formel I umfasst wird in den verschiedenen tautomeren Formen, in welchen sie sich in einem Gleichgewicht befindet, insbesondere in Lösung, und auch solvatisierte Formen, beispielsweise hydratisierte Formen, wie die tautomeren Formen der Formel



Ia

und der Formel



Ib

[0003] Die Verbindung der Formel I ist in amorpher Form bekannt, beispielsweise von Sandoz gemäß EP 0 427 680 A, Beispiel 66a, in Form eines farblosen schaumigen Harzes [mit $^1\text{H NMR} = 4,56$ (m, H-33)] und von Merck gemäß EP 0 480 623 A, Beispiel 53 – ohne jegliche physikochemische Charakterisierung. In der Literatur werden hierfür verschiedene Namen und Nummerierungen der Kohlenstoffatome verwendet.

[0004] Vor der vorliegenden Erfindung ist die Verbindung der Formel I noch niemals in kristalliner Form gewonnen worden.

[0005] Anscheinend hat die Anwesenheit eines Halogenatoms, insbesondere von Chlor, im Cyclohexylteil des Moleküls, insbesondere in dessen Position 4, welche in den Formeln I und Ic hierin auch als Position 33 bezeichnet ist, einen ungünstigen Einfluss auf die Kristallisationseigenschaften dieser Strukturklasse von Verbindungen. In EP 0 427 680 A ist daher keines der halogenierten Endprodukte in kristalliner Form erhalten worden, wobei diese Produkte farblose Schäume oder schaumige Harze darstellen und durch ihre NMR Spektren charakterisiert sind.

[0006] Ähnliches gilt für die EP 0 480 623 A, welche ausschließlich auf Makrolid-Endprodukte gerichtet ist, die im Cyclohexylteil halogeniert sind, und worin keine der darin offenbarten speziellen Verbindungen durch Daten charakterisiert ist, welche auf eine Kristallinität hinweisen würden, wie ein Schmelzpunkt. Der Großteil der darin enthaltenen Endprodukte ist überhaupt nicht durch physikochemische Daten charakterisiert, wobei die darin überhaupt charakterisierten Produkte nur durch ihre Massenspektren charakterisiert sind, welche nichts über den jeweiligen physikalischen Zustand aussagen, und keines der darin offenbarten 4-Chlor-Endprodukte überhaupt charakterisiert ist.

[0007] Analoge Makrolide, die im Cyclohexylteil halogeniert sind, werden beispielsweise auch durch Fisons gemäß WO 91 13 889 A1 beschrieben, insbesondere in Form der Beispiele 42a), 42b) und 49a), wobei die darin offenbarten Verbindungen nicht in kristalliner Form erhalten, sondern als ein Schaum oder ein Öl gewonnen werden.

[0008] Schließlich lassen sich die 23-gliedrigen Tricyclomakrolide, welche von FK 506 abgeleitet sind, nur, wenn überhaupt, unter Schwierigkeiten in kristalliner Form erhalten, wie sich dies beispielsweise aus der WO 97 08 182 A von Merck ergibt, welche eine Makrolid-Verbindung mit einem basischen Substituenten betrifft, der zur Bildung von Salzen befähigt ist, die zwar in kristalliner Form erhalten werden konnte, aber nur als ein Tartratsalz. Dagegen hat die Verbindung der vorliegenden Erfindung überhaupt keinen solchen basischen Substituenten.

[0009] Es ist daher als überraschend anzusehen, dass die Verbindung der Formel I nun erfolgreich kristallisiert werden konnte.

[0010] Gegenstand der Erfindung ist daher die Verbindung der Formel I in kristalliner Form. Diese kristalline Form kann als solvatisierte, beispielsweise hydratisierte, oder wasserfreie Form auftreten oder ein Tautomer sein.

[0011] Die Verbindung der Formel I wurde in kristalliner Form erstmals zwar erst mehrere Jahre nach der ersten Synthese dieser Verbindung gewonnen und konnte anfangs nur in amorpher Form erhalten werden, doch

hat sich dann im Anschluss an ihre Kristallisation herausgestellt, dass diese Verbindung aus der morphen Form ganz leicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Dieses kristalline Material ist daher jetzt leicht zugänglich geworden, und zwar unter Anwendung einer Vielfalt an experimentellen Bedingungen, welche über die ursprünglich angewandten Umkristallisationsbedingungen hinausgehen, und die den Zusatz von Wasser zu einer ethanolischen Lösung der amorphen Verbindungen erforderten.

[0012] Zur Erfindung gehört daher auch ein Verfahren zur Herstellung der Verbindung der Formel I oder einer tautomeren oder solvatisierten Form hiervon in kristalliner Form durch geeignete Umwandlung einer amorphen Verbindung der Formel I aus einer Lösung hiervon unter Bedingungen, die eine Kristallisation einleiten.

[0013] Weiter bezieht sich die Erfindung auf die Verbindung der Formel I oder auf eine tautomere oder solvatisierte Form hiervon in einer kristallinen Form, sofern sie nach dem vorliegenden Verfahren hergestellt worden ist, und auf die Verbindung der Formel I in einer nicht kristallinen Form, beispielsweise in einem gelösten Zustand, oder auf eine tautomere oder solvatisierte Form hiervon, sofern sie aus einer kristallinen Form hergestellt ist.

[0014] Das erfindungsgemäße Verfahren wird in herkömmlicher Weise durchgeführt. Die genauen Bedingungen, unter welchen Kristalle gebildet werden, können jetzt empirisch bestimmt werden, wobei in der Praxis eine Reihe an Methoden geeignet ist, wie unter anderem die anfängliche Zugabe von Wasser zu einer ethanolischen Lösung der Verbindung der Formel I in amorpher Form.

[0015] Bedingungen, die eine Kristallisation einleiten, beinhalten die Verwendung eines geeigneten Kristallisationseinleitenden Lösemittels, wie Methanol, Ethanol, Isopropanol oder Wasser oder Gemische hiervon. Zweckdienlich wird die amorphe Verbindung im Lösemittel bei einer Temperatur von normal wenigstens 10 °C gelöst. Die Lösung kann hergestellt werden durch Auflösung einer oder mehrerer amorpher Formen der Verbindung und Solvate hiervon, wie Hydrate, Methanolate, Ethanolate, Isopropanolate und Acetonitrilate, in einem Lösemittel. Anschließend können Kristalle gebildet werden durch Umwandlung aus einer Lösung, wobei die Kristallisation bei einer Temperatur von zwischen etwa 10 °C und dem Siedepunkt des Lösemittels stattfindet. Die Auflösung und Kristallisation können nach verschiedenen herkömmlichen Wegen durchgeführt werden. So lässt sich beispielsweise eine amorphe Verbindung in einem Lösemittel oder einem Lösemittelgemisch lösen, worin diese Verbindung bei erhöhten Temperaturen leicht löslich ist, sich aber bei niedrigeren Temperaturen nur schlecht löst. Nach Auflösung bei erhöhter Temperatur folgt eine Abkühlung, während der die gewünschten Kristalle aus der Lösung auskristallisieren. Zu hierfür geeigneten Lösemitteln gehören Ester, wie Methylacetat und Ethylacetat, Toluol und Acetonitril. Es können auch Lösemittelgemische verwendet werden, die ein gutes Lösemittel, in welchem die Verbindung leicht löslich ist, vorzugsweise in Mengen von wenigstens 1 Gew.-% bei 30 °C, und ein schlechtes Lösemittel, in welchem die Verbindung schlechter löslich ist, vorzugsweise in Mengen von nicht mehr als etwa 0,01 Gew.-% bei 30 °C, enthalten, sofern eine Kristallisation aus dem Gemisch bei erniedrigter Temperatur von normalerweise wenigstens etwa 10 °C unter Verwendung des ausgewählten Lösemittelgemisches möglich ist.

[0016] Alternativ kann auch vom Unterschied in der Löslichkeit der Kristalle in unterschiedlichen Lösemitteln Gebrauch gemacht werden. Beispielsweise kann man hierzu die amorphe Verbindung in einem guten Lösemittel lösen, in welchem die Verbindung hoch löslich ist, wie einem Lösemittel, worin sich die Verbindung in Mengen von wenigstens 1 Gew.-% bei etwa 30°C löst, und diese Lösung dann mit einem schlechten Lösemittel vermischen, in welchem sie noch schlechter löslich ist, wie in einem Lösemittel, worin sich die Verbindung in Mengen von nicht mehr als etwa 0,01 Gew.-% bei etwa 30°C löst. Hierzu kann man die Lösung der Verbindung im guten Lösemittel zum schlechten Lösemittel geben, während normalerweise eine Temperatur von über etwa 10°C aufrechterhalten wird, oder man kann das schlechte Lösemittel auch zur Lösung der Verbindung im guten Lösemittel geben, und zwar wiederum normalerweise unter Aufrechterhaltung einer Temperatur von über etwa 10°C. Zu Beispielen für gute Lösemittel gehören niedere Alkohole, wie Methanol, Ethanol und Isopropanol, sowie auch Aceton, Tetrahydrofuran und Dioxan. Beispiele für schlechte Lösemittel sind Wasser, Hexan und Diethylether. Vorzugsweise wird die Kristallisation bei einer Temperatur im Bereich von etwa 10°C bis etwa 60°C bewirkt.

[0017] In einer alternativen Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens suspendiert man die feste amorphe Verbindung bei einer Temperatur von normalerweise wenigstens etwa 10°C in einem Lösemittel, in welchem diese Verbindung bei der gleichen Temperatur unvollständig löslich und vorzugsweise nur schwach löslich ist. Hierdurch kommt es zur Bildung einer Suspension, in welcher feste Teilchen dispergiert sind und im Lösemittel unvollständig gelöst bleiben. Vorzugsweise werden die Feststoffe durch Bewegung im Zustand einer Suspension gehalten, beispielsweise durch Schütteln oder Rühren. Dabei wird die Suspension auf einer

Temperatur von normalerweise etwa 10°C oder darüber gehalten, um so eine Umwandlung der anfänglichen Feststoffe zu Kristallen zu bewirken. Die in einem geeigneten Lösemittel suspendierte amorphe feste Verbindung kann ein Solvat sein, beispielsweise ein Hydrat, Methanolat, Ethanolat, Isopropanolat oder Acetonitrilat. Das amorphe Pulver kann durch Trocknung eines Solvats erhalten sein.

[0018] Vorzugsweise wird die Lösung zur Animpfung mit einem kristallinen Material versetzt, um hierdurch eine Kristallisation einzuleiten.

[0019] Die Verbindung der Formel I in kristalliner Form kann ohne weiteres isoliert werden, beispielsweise durch Filtration oder Zentrifugation des Kristallisationsmediums, gewünschtenfalls nach Abkühlung, sowie durch Waschen und Trocknen und optional durch weitere Umkristallisation unter Anwendung ähnlicher Bedingungen.

[0020] Die anfängliche Gewinnung führt zu einem Material in einer kristallinen Form, welche hierin als Form A bezeichnet wird, doch hat sich überraschenderweise auf Basis einer weiteren Untersuchung herausgestellt, dass hierbei auch wenigstens eine zusätzliche Kristallform der Verbindung gewonnen werden kann, welche hierin als Form B bezeichnet wird, und die sich von der Form A in verschiedenen Charakteristiken unterscheidet, wie in ihrer Solubilität. Zur Erfindung gehört daher auch die Verbindung der Formel I oder eine tautomere oder solvatisierte Form hiervon in kristalliner Form als solche und insbesondere als Form A und Form B, wobei die Form A bevorzugt ist.

[0021] Die Form A liegt bei Raumtemperatur normalerweise in hydratisierter Form vor. Diese hydratisierte Form kann durch Erhitzung auf etwa 110°C reversibel dehydratisiert werden. Sie verbleibt hierdurch in der Form A. Die hydratisierte Form ist bei Raumtemperatur der stabilere Zustand der Form A. Die Form B liegt normalerweise nicht in hydratisierter Form vor, und zwar nicht einmal bei Raumtemperatur. Sie ist eine thermodynamisch stabilere Form als die Form A.

[0022] Eine Kristallform wird hierin als kristallografisch reine Form bezeichnet, wenn sie höchstens etwa 0,5 % (Gew./Gew.), beispielsweise höchstens etwa 0,1 % (Gew./Gew.) der anderen Form enthält. Eine kristallografisch reine Form A enthält somit beispielsweise etwa $\leq 0,5$ % (Gew./Gew.) beispielsweise etwa $\leq 0,1$ % (Gew./Gew.) der Form B und/oder der amorphen Form.

[0023] Die Herstellung der Formen A und B kann in herkömmlicher Weise erfolgen, beispielsweise ausgehend entweder von amorphem Material oder von der Form B oder der Form A oder von Gemischen hiervon. Normalerweise wird das Ausgangsmaterial in einem geeigneten Lösemittel gelöst und daraus unter Bedingungen kristallisiert oder umkristallisiert, durch welche präferentiell entweder die Form A oder die Form B gebildet wird, so dass man entweder die Form A oder die Form B in kristallografischer Reinheit erhält.

[0024] Zur Erfindung gehört daher auch eine Verfahrensvariante zur Herstellung der Verbindung der Formel I oder einer tautomeren oder solvatisierten Form hiervon in kristalliner Form durch geeignete Umwandlung einer Verbindung der Formel I in anderer Form als der Form A oder einer tautomeren oder solvatisierten Form hiervon aus einer Lösung hiervon unter Bedingungen, die präferentiell eine Kristallisation der Form A einleiten. Weiter gehört zur Erfindung die Verbindung der Formel I in der Form A, sofern sie nach dieser Verfahrensvariante hergestellt ist.

[0025] Umgekehrt bezieht sich die Erfindung auch auf eine Verfahrensvariante zur Herstellung der Verbindung der Formel I oder einer tautomeren oder solvatisierten Form hiervon in die kristalline Form B durch geeignete Umwandlung einer Verbindung der Formel I in anderer Form als der Form B aus einer Lösung hiervon unter Bedingungen, die präferentiell eine Kristallisation der Form B einleiten. Ferner betrifft die Erfindung auch die Verbindung der Formel I in Form B, sofern diese nach dieser Verfahrensvariante hergestellt ist.

[0026] Zur Herstellung der Form A wird das Ausgangsmaterial bequemerweise in einem geeigneten Lösemittel, vorzugsweise Ethanol/Wasser, vorzugsweise in den Verhältnissen von 9,5:0,5 (Vol/Vol) gelöst. Die Temperatur zur Auflösung beträgt etwa 60°C bis etwa 75°C, vorzugsweise etwa 70°C. Das Verhältnis von Ausgangsmaterial zu Lösemittel beträgt vorzugsweise etwa 1:5 bis etwa 1:6 auf Gewichtsbasis, vorzugsweise etwa 1:5 (Gew./Gew.). Die Lösung wird filtriert und dann auf eine erniedrigte Temperatur abgekühlt, vorzugsweise auf etwa 70°C bis etwa 20°C, bevorzugt etwa 10°C, und es wird vorsichtig eine Flüssigkeit, in welcher die Form A unlöslich ist, wie Wasser, zugesetzt. Hierdurch ergibt sich eine übersättigte Lösung. Es können zwar spontan Kristalle der Form A gebildet werden, doch wird die übersättigte Lösung vorzugsweise mit einigen Kristallen an kristallografisch reiner Form A angeimpft. Gewöhnlich empfiehlt es sich, die Reinheit der Impfkristalle mit ei-

nem Schmelzmikroskop zu prüfen. Durch weiteren Zusatz von Flüssigkeit unter vorsichtigem Rühren ergeben sich mehr Kristalle der Form A. Eine niedrige Temperatur, nämlich von unter etwa 20°C, und eine Animpfung mit kristallografisch reinen Kristallen der Form A scheinen die Bildung von Kristallen der Form B zu verhindern. Ein zu langes Rühren kann kontraproduktiv sein, insbesondere bei Temperaturen von über 10°C, wobei die Form B die thermodynamisch stabilere Form ist.

[0027] Bequemerweise wird als erster Schritt das Ausgangsmaterial vorzugsweise gründlich in einem polaren organischen Lösemittel, wie einem Alkohol, beispielsweise Methanol, Ethanol, Isopropanol, vorzugsweise Isopropanol, oder in Aceton, insbesondere in Aceton, vorzugsweise bei Siedetemperatur, gelöst, und das Lösemittel dann zur Trockne verdampft.

[0028] Zur Herstellung der Form B wird das Ausgangsmaterial wiederum in einem Lösemittel gelöst, wie dies oben bei der Herstellung der Form A beschrieben worden ist, und zwar vorzugsweise in einem Gemisch aus Ethanol und Wasser unter einem Verhältnis von 9,5:0,5 (Gew./Gew.). Die Temperatur zur Auflösung beträgt wiederum etwa 60°C bis etwa 75°C, vorzugsweise etwa 70°C, worauf die erhaltene Lösung filtriert wird. Das Verhältnis aus Ausgangsmaterial und Lösemittel ist etwas niedriger als bei der Herstellung der Form A und beträgt vorzugsweise etwa 1:7 (Gew./Gew.). Es wird jedoch bis zu einer höheren Temperatur abgekühlt als bei der Herstellung der Form B, und zwar vorzugsweise auf über 20 °C, beispielsweise auf etwa 25°C oder 30°C, wobei auch die weitere Aufarbeitung bei etwa dieser Temperatur oder einer ähnlichen Temperatur vorgenommen wird. Eine Animpfung mit Kristallen der Form B ist optional, ist aber mit einer starken Erleichterung der Kristallisation verbunden und erlaubt beispielsweise eine breitere Temperatur. Die Geschwindigkeit der Bildung der übersättigten Lösung scheint ebenfalls einen gewissen Einfluss auf das erhaltene Ergebnis zu haben, wobei eine schnelle Übersättigung mit einer erhöhten Bildung der Form B verbunden ist.

[0029] Ein Solvat, beispielsweise ein Hydrat, kann in herkömmlicher Weise in die entsprechende nicht solvatisierte Form umgewandelt werden und umgekehrt, beispielsweise durch geeignete Erhitzung der solvatisierten Form und eine Abkühlung der nicht solvatisierten Form der Kristallform, die einer Solvation zugänglich ist.

[0030] Die beiden identifizierten Kristallformen sind unter anderem durch die folgenden physikochemischen Daten gekennzeichnet:

1) Form A

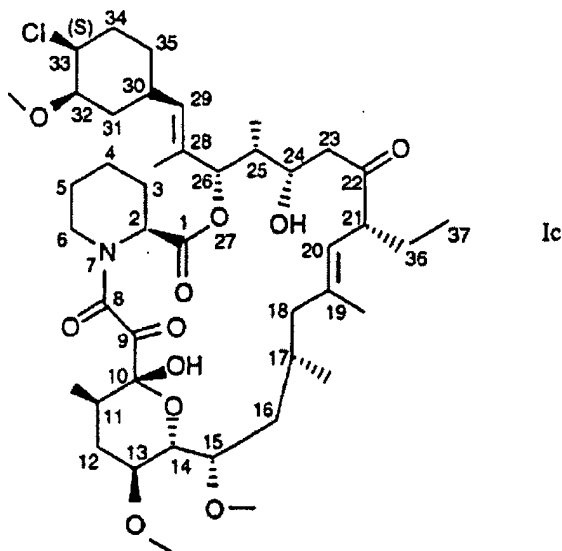
- Aussehen: weißes bis weißliches fein kristallines Pulver (aus Ethanol/Wasser),
- Schmelzpunkt bestimmt durch DSC (10°K/min) Schmelzbeginn etwa 132 °C,
- Löslichkeit (bei 5 °C): Wasser: unlöslich Methanol, Ethanol, Ethylacetat, Diethylether, Diisopropylether: > 100 mg/ml
- Hexan: < 10 mg/ml,
- Löslichkeit (bei 25°C): Aceton, Acetonitril, Ethanol, Ethylacetat, Isopropanol, Methanol: > 50 mg/ml
- Wasser: < 1 mg/ml
- Löslichkeit in der Ölphase einer Creme (Ölalkohol/Miglyol 812^R 4:6): 2,49 %,
- Chemische Reinheit: 98,5 %,
- Thermogravimetrie: Massenverlust bei einer Trocknung bis zur Schmelze: 1,46 % (Carl Fischer Titration),
- Morphologie (SEM): Stäbchen und Agglomerate (1 bis 100 µm),
- Hygroskopizität (Aufnahme durch Thermogravimetrie bestimmt): 1,49 % (1 Tag: 92 % RF), 1,78 % (1 Woche, 25°C, 75 % RF),
- DSC Kurve: s. [Fig. 1](#) (Differentialabtastrkalorimeter DSC-7 von Perkin Elmer; Messung bei 40°C bis 200°C, wobei die Taste unter einer Geschwindigkeit von 10°K/min erhitzt wird)
- FT-IR Spektrum: s. [Fig. 3](#) und [Fig. 5](#) (PE FT-IR Spektrometer 1725 x; KBr, Paraffinöl, Abtastbereich 4000 bis 400 cm⁻¹)
- Röntgenbeugungsspektrum am Pulver – s. [Fig. 6](#) (Pulverdiffraktometer XDS 2000 von Scintag Scintag, Santa Clara, CA, USA); Abtastgeschwindigkeit 0,5 ° oder 1 ° /min (2 Thetawert),

2) Form B

- Schmelzpunktbestimmung durch DSC (10°K/min): Schmelzbeginn bei etwa 159 °C,
- Löslichkeit (bei 5 °C): Wasser: 0,3 mg/ml
- Methanol: 46,3 mg/ml
- Ethanol: 18,1 mg/ml
- Ethylacetat: > 50 mg/ml
- Diethylether: 9,3 mg/ml
- Diisopropylether: 1,9 mg/ml
- Hexan: 0,8 mg/ml

- Löslichkeit (bei 25°C): Wasser: 0,4 mg/ml
- Methanol: > 50 mg/ml
- Ethanol: 34,4 mg/ml
- Ethylacetat: > 50 mg/ml
- Diethylether: 16,3 mg/ml
- Diisopropylether: 3,1 mg/ml
- Hexan: 1,5 mg/ml
- Löslichkeit in der Ölphase einer TMF Creme (Ölalkohol/Myglyol 812^R 4:6): 0,37 %
- Chemische Reinheit: 99,9 %
- Thermogravimetrie: Massenverlust bei einer Trocknung bis zur Schmelze: < 0,05 %
- Morphologie (SEM): Nadeln
- Hygroskopizität (Aufnahmebestimmung durch Thermogravimetrie): 1 Tag, 92 % RF und 1 Woche, 25°C, 75 % RF: keine
- DSC Kurte: s. [Fig. 2](#) (Differentialabstastkalorimeter DSC-7 von Perkin Elmer; Messung bei 40°C bis 200°C, wobei die Taste unter einer Geschwindigkeit von 10 °K/min erhitzt wird)
- FT-IR Spektrum: s. [Fig. 4](#) und [Fig. 5](#) (PE FT-IR Spektrometer 1725 x; KBr, Paraffinöl, Abtastbereich 4000 bis 400 cm⁻¹)
- Röntgenbeugungsspektrum am Pulver – s. [Fig. 6](#) (Pulverdiffraktometer XDS 2000 von Scintag Scintag, Santa Clara, CA, USA); Abtastgeschwindigkeit 0,5 ° oder 1 ° /min (2 Thetawert),
- 3) Als Referenzwert dient das entsprechende FT-IR Spektrum der amorphen Form von [Fig. 7](#). Die Charakterisierungsdaten für alle Formen der Verbindung sind wie folgt:
- Optische Drehung $[\alpha]_D^{20} = -48,0^\circ (\pm 0,2^\circ)$ (CDCl₃),
- TLC: R_f = 0,18 (Silicagel; Hexan/Ethylacetat 2:1)
- R_f = 0,62 (Silicagel; Hexan/Ethylacetat 1:1)
- ¹H-NMR (CDCl₃): Zwei Konformere (Z:E = 1:2). Charakteristische Signale des überwiegenden Konformers d [ppm]: 5,35 (d, J = 1,7 Hz, H-26), 5,12 (d, J = 9,0 Hz, H-29), 5,05 (d, J = 9,4 Hz, H-20), 4,60 (d, J = 5,0 Hz, H-2), 4,56 (m, w_{1/2} = 10 Hz, H-33), 4,43 (d, J = 13,8 Hz, H-6e), 3,66 (dd, J = 9,6 Hz, J = 1,0 Hz, H14), 3,92 (m, H-24), 2,80 (dd, 15,9 Hz, J = 2,7 Hz, H-23a),
- ¹³C-NMR (CDCl₃): Zwei Konformere (Z:E = 1:2). Signale des überwiegenden Konformers d [ppm]: 213,7 (C-22), 196,3 (C-9), 169,1 (C-1), 164,8 (C-8), 138,8 (C-19), 132,5 (C-28), 129,2 (C-29), 122,0 (C-20), 97,0 (C-10), 79,2 (C-32), 76,7 (C-26), 75,2 (C-15), 73,7 (C-14), 72,9 (C-13), 70,2 (C-24), 59,3 (C-33), 56,7 (C-2), 54,7 (C-21), 48,6 (C-18), 39,2 (C-6), 42,7 (C-23), 39,4 (C-25), 34,7 (C-30), 34,6 (C-11), 32,8 (C-12), 32,1 (C-35), 31,7 (C-34), 27,7 (C-3), 26,4 (C-17), 25,5 (C-31), 24,5 (C-5), 24,2 (C-36), 21,1 (C-4), 20,6 (17-Me), 16,2 (11-Me), 15,9 (19-Me), 14,2 (28-Me), 11,7 (C-37), 9,3 (25-Me).

[0031] Bei den obigen NMR Spektren ist die Nummerierung der Kohlenstoffatome so, wie sie in der folgenden Formel Ic angegeben ist



Abkürzungen:

DMSO:	Dimethylsulfoxid
DSC:	Differentialabtaastkalorimetrie
FT-IR:	Fourier-Transformation-Infrarot
Smp.:	Schmelzpunkt
RF:	Relative Feuchtigkeit
SEM:	Abtastelektronenmikroskop
T:	Transmission
TG:	Thermogravimetrie
THF:	Tetrahydrofuran
TLC:	Dünnschichtchromatographie

Erklärung der Figuren

[0032] [Fig. 1](#) DSC Kurve der Form A (Hydrat)

[0033] [Fig. 2](#) DSC Kurve der Form B (wasserfrei)

[0034] [Fig. 3](#) FT-IR Spektrum der Form A (Hydrat)
(% T = Prozentuale Transmission)

[0035] [Fig. 4](#) FT-IR Spektrum der Form B
(% T = Prozentuale Transmission)

[0036] [Fig. 5](#) Vergleich zwischen den FT-IR Spektren der Formen A (Hydrat) und B
(% T = Prozentuale Transmission)
Form A (Hydrat) = Beginn der Aufzeichnung bei 90 % T
Form B = Beginn der Aufzeichnung bei 82 % T

[0037] [Fig. 6](#) Röntgenbeugungsmuster der Formen A (Hydrat) und B
Mod. A = Form A (Hydrat)
Mod. B = Form B
Linke Ordinate: Intensität (cps = Zählungen pro Sekunde)
Rechte Ordinate: Relative Intensität (% = Prozent)
Obere Abszisse: Auflösung
Untere Abszisse: 2 Thetawinkel (Grad)

[0038] [Fig. 7](#) FT-IR Spektrum der amorphen Form (% = Prozentuale Transmission)

[0039] Die Verbindung der Formel I in amorpher Form ist als Pharmazeutikum bekannt, insbesondere zur Verwendung als antiinflammatorisches, immunsuppressives und antiproliferatives Mittel, sowohl systemisch oder topisch. Die Herstellung geeigneter galenischer Formen zur Anwendung als Pharmazeutika, wie Cremes, Emulsionen und Salben, ist jedoch schwierig. Die amorphe Form der Verbindung leidet daher an Problemen einer Instabilität, wie als Bulkware, und ist allgemein nicht gut geeignet für eine galenische Prozessierung im Vergleich zu einer exakt definierten kristallinen Form, beispielsweise im Hinblick auf den Abbau des Bulkmaterials, der Hygroskopizität, der Auflösungseigenschaften und der Gesamtreinheit des Materials.

[0040] Die Verfügbarkeit gut definierter kristalliner Formen der Verbindung der Formel I ist daher besonders angezeigt zur Verwendung bei der Herstellung galenischer Formen der Verbindung, um die obigen Nachteile zu überwinden, wie zur Herstellung topischer Formen, beispielsweise Cremes, Emulsionen und Salben, wo es erwünscht ist, die Verbindung normalerweise in gelöstem Zustand aber unter sorgfältig eingestellten Bedingungen einzuarbeiten. Bei der Herstellung einer Creme hat sich daher gezeigt, dass sich die Form A in der Ölphase innerhalb von etwa 10 min löst, während dies für die Verbindung B etwa 6 h dauert. Es ist daher sehr von Vorteil, ein kristallines Produkt mit wohl definierten Charakteristiken zu verwenden, wobei die Form A oder die Form B bevorzugt verwendet werden, und zwar in Abhängigkeit von der jeweiligen Anwendung, wobei beispielsweise die Form A dann angewandt wird, wenn ein niedrigerer Schmelzpunkt oder eine ausgeprägtere Solubilität erwünscht ist oder die Form B zur Anwendung gelangt, wenn man einen höheren Schmelzpunkt oder ein thermisch stabileres Produkt bei Raumtemperatur braucht.

[0041] Die mit der kristallinen Form erzielbaren günstigen Wirkungen sind beispielsweise

- ein geringer Lösemittelrückstand in der fertigen Arzneimittelsubstanz in irgendeiner Form, beispielsweise im gelösten Zustand,
- ein zusätzlicher Reinigungseffekt, der sich durch eine Kristallisation erreichen lässt,
- eine höhere Stabilität der Arzneisubstanz und
- eine leichtere Handhabung in der Produktionsanlage.

[0042] Die Verbindung der Formel I in kristalliner Form kann zur Verabreichung in irgendeiner bequemen Weise formuliert werden. Sie liegt vorzugsweise in einem gelösten Zustand in der schließlich gewünschten galenischen Form vor.

[0043] Zur Erfindung gehören auch pharmazeutische Zusammensetzungen, welche die Verbindung der Formel I oder eine tautomere oder solvatisierte Form hiervon in kristalliner Form, wie als Form A und B, enthalten, oder daraus hergestellt worden sind. Weiter gehört zur Erfindung die Verbindung der Formel I oder eine tautomere oder solvatisierte Form hiervon in kristalliner Form zu Verwendung als ein Pharmazeutikum oder zur Verwendung bei der Herstellung eines Arzneimittels mit antiinflammatorischer, immunsuppressiver und antiproliferativer Wirksamkeit.

[0044] Der folgende Stand der Technik ist in Verbindung mit der vorliegenden Erfindung zitiert worden:

- (1) EP 0 427 680 A, worin die Verbindung der Formel I in amorpher Form als Beispiel 66 a offenbart ist,
- (2) EP 0 480 623 A, worin die Verbindung der Formel I in amorpher Form als Beispiel 53 offenbart ist,
- (3) D Giron, Thermochemica Acta 248, 1995, 1 bis 59, worin Verfahren zur Charakterisierung von Polymorphen und Solvaten offenbart sind,
- (4) WO 91 13 889 A, worin verschiedene macrocyclische Derivate generisch unter Einschluss der Verbindung 1 offenbart sind,
- (5) WO 97 08 182 A, worin ein Imidazolylmethoxymakrolid als Immunsuppressivum beispielsweise als kristallines Tartratsalz offenbart ist,
- (6) EP 0 652 219 A, worin ein Verfahren zur Gewinnung von Makrolid-Antibiotika offenbart ist, wie Rapamycin, durch Abtrennung auf Basis einer selektiven Solubilität,
- (7) WO 95 22 390 A, worin Makrolid-Antibiotika als Trennmittel für insbesondere optische Isomere offenbart sind,
- (8) US 4127 647 A, worin amorphe Makrolid-Antibiotikazusammensetzungen offenbart sind, die insbesondere in Blut stabil sind, und
- (9) CA 114 (1990) 43482y (JP 02 196 796 A), worin die Herstellung von Naturprodukten beschrieben wird, welche Grundlagen für wässrige Lösungen sind, in denen sich diese Produkte lösen.

[0045] Die Erfindung wird im folgenden anhand von Beispielen weiter erläutert, welche aber nicht als beschränkend aufzufassen sind. Alle darin angegebenen Temperaturen verstehen sich in °C, sofern nichts anderes gesagt ist.

Beispiel 1: Kristallines 33-Epichlor-33-desoxyascomycin (Form A) (aus einer Lösung eines amorphen Produkts in Ethanol)

[0046] Eine Lösung von 27 g amorphem 33-Epichlor-33-desoxyascomycin (farbloses schaumiges Harz) in 180 ml Ethanol wird bei Raumtemperatur vorsichtig so lange mit Wasser versetzt, bis eine transiente Trübung erscheint (etwa 65 ml Wasser). Die Lösung wird sodann während 16 h bei 4° ohne Störung belassen. Hierbei werden farblose Kristalle gebildet. Sodann setzt man 10 ml Wasser zu und belässt das Gemisch weitere 4 h bei 4° ohne Störung. Das kristalline Material wird abgesaugt, mit einem eiskalten Gemisch aus Ethanol und Wasser 1:1 (Vol./Vol.) gewaschen und unter verringertem Druck (12 mm Hg) während 20 h bei Raumtemperatur getrocknet. Hierdurch gelangt man zur Titelverbindung (Ausbeute 18 g, Schmelzpunkt 135 bis 136°, chemische Reinheit 98 %, was einer Reinheit entspricht, welche bei oder unter den Grenzwerten liegen, welche durch HPLC analytisch detektierbar sind, Hydrat).

Beispiel 2 Solubilisation der Formen A und B in 1 %igen Cremes

a) Die Solubilität der Form A in einer Cremeformulierung liegt bei Raumtemperatur bei etwa 1 %. Zur Herstellung einer Creme wird die Wirksubstanz in der Ölphase vollständig bei 60 bis 75° gelöst. Zur Bestimmung, ob und nach welcher Aufbewahrungszeit ein Teil der gelösten Wirksubstanz aus einer 1 %igen Creme kristallisiert wird, eine Reihe an Ansätzen auf Kristalle hin geprüft. Die Untersuchung von 10 Ansätzen zeigt, dass sich nach der Herstellung und auch nach einer Aufbewahrung bei 5°, 25° und 40° keine Kristalle

beobachten lassen. Es lassen sich sogar in den Proben, welche einem Temperaturwechseltest während etwa 3 Monaten unterzogen worden sind, keine Kristalle detektieren. Nach einer Aufbewahrungsdauer von 1 Jahr bei 25° sind nur in einer Vorformulierung (1 %) der Wirksubstanz sehr wenig Kristalle vorhanden, was zeigt, dass die 1 %ige Creme an der Grenze einer Sättigung mit Wirksubstanz liegt.

Die Wirksubstanz, welche in den oben erwähnten Ansätzen und Vorformulierungen verwendet worden ist, enthält 100 % der Form A.

b) Zur Prüfung der Frage, ob die Wirksubstanz, welche die Form B enthält, bei der Herstellung einer Creme vollständig aufgelöst werden kann, und zur Beurteilung des Langzeitkristallisationsverhaltens werden mehrere Vorformulierungen (Creme 1 %), welche 0 %, 1 %, 5 % und 10 % der Form B im Verhältnis zum Gesamtgehalt der Verbindung der Formel I enthalten, hergestellt und bei unterschiedlichen Temperaturen Stabilitätstests unterzogen.

[0047] Während der Herstellung dieser Vorformulierungen ist zu beobachten, dass die Auflösungsgeschwindigkeit der Kristallform B in der Ölphase der Creme wesentlich langsamer ist als diejenige der Kristallform A. Unmittelbar nach der Herstellung werden die beiden Formen untersucht, wobei sich keine restlichen Kristalle mehr beobachten lassen.

[0048] Zur Gewinnung einer Information über das Langzeitkristallisationsverhalten dieser Formen wird die Stabilität der Proben weiter untersucht nach einer Aufbewahrungszeit von 6 Wochen, 3 Monaten, 6 Monaten und 9 Monaten. Die dabei erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass sich sogar nach diesen längeren Aufbewahrungszeiten keine Kristalle bilden.

Beispiel 3: Kristallform A von 33-Epichlor-33-desoxyascomycin (aus einer Lösung in Ethanol/Isopropanol/Wasser)

[0049] Man löst 10 g 33-Epichlor-33-desoxyascomycin Form B (oder alternativ rohe Form A oder amorphes Material) unter einem Verhältnis von 1:5 (Gew./Gew.) in 10 g eines Gemisches aus Ethanol/Isopropanol/Wasser 9:0,5:0,5 (Vol./Vol.) bei 70° und unterzieht das Gemisch einer Klarfiltration auf einem 0,5 µm Filter. Die erhaltene Lösung, welche frei von Kristallisationskeimen ist, wird auf 10° gekühlt und mit soviel Wasser versetzt (25% Gew./Gew., bezogen auf die Menge an Produkt), dass sich eine übersättigte Lösung ergibt. Sodann erfolgt eine Animpfung mit 0,06 g an Kristallen der Form A (nach Prüfung mit einem Thermomikroskop) und ein vorsichtiger Zusatz von Wasser (7,5facher Überschuss, bezogen auf die Menge an Produkt) während einer Zeitdauer von 4 h bei 10°, worauf die Lösung 2 h bei dieser Temperatur gerührt wird. Auf diese Weise erhält man die Titelverbindung (Hydrat; 9,3 g).

[0050] Wünschenswert ist eine Animpfung mit Kristallen der Form A, die so weit wie möglich kristallografisch rein sind. Eine Animpfung mit Kristallen der Form A, welche 2 % Kristalle der Form B als Verunreinigung enthalten, kann zur Gewinnung von Kristallen der Form A führen, in denen 20 % Kristalle der Form B als Verunreinigung vorhanden sind. Bei niedriger Temperatur ist die Bildung der thermodynamisch stabilen Form B jedoch eindeutig gehemmt. Eine Animpfung bei 0° mit einem 1:1 Gemisch aus den Formen A und B führt daher zu einem Produkt, das 75% der Form A enthält.

Beispiel 4: Kristallform B von 33-Epichlor-33-desoxyascomycin (aus einer Lösung in Ethanol/Isopropanol/Wasser)

[0051] Man löst 25 g 33-Epichlor-33-desoxyascomycin Form A (Hydrat) (oder alternativ rohe Form B oder amorphes Material) unter einem Verhältnis von 1:7 (Gew./Gew.) in 75 g eines Gemisches aus Ethanol/Isopropanol/Wasser 9:0,5:0,5 (Vol./Vol.) bei 70° und unterzieht das Gemisch einer Klarfiltration. Sodann lässt man die erhaltene Lösung auf 30° abkühlen und impft sie optional mit 0,1 g Kristallen der Form B an. Hierauf wird Wasser (3,5facher Überschuss, bezogen auf die Menge an Produkt) sorgfältig während einer Zeitdauer von 4 h zugesetzt, wodurch man die Titelverbindung erhält (24,6 g).

Beispiel 5: Kristallform A von 33-Epichlor-33-desoxyascomycin (aus einer Lösung von rohem Produkt in Aceton)

[0052] Eine Lösung von 94,5 g rohem 33-Epichlor-33-desoxyascomycin (wie sie beispielsweise nach einer Chromatographie erhalten wird) (die unterschiedliche Mengen der Form A und/oder der Form B und/oder an amorphem Produkt enthält) in 1500 ml Aceton wird bei 48 bis 52° (400 bis 50 mbar) eingedampft. Der dabei erhaltene amorphe Schaum wird in 500 ml Ethanol/Isopropanol 9,5:0,5 (Vol./Vol.) gelöst. Die Lösung wird bei 48 bis 52° (400 bis 50 mbar) eingedampft. Der entstandene Schaum wird in 400 ml Ethanol/Isopropanol 9,5:0,5

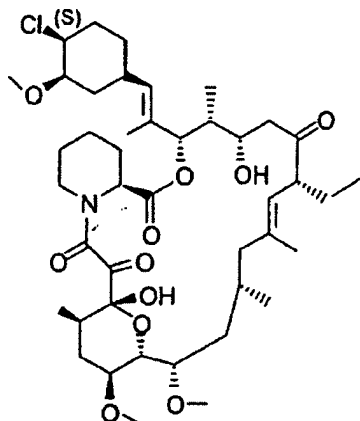
(Vol./Vol.) gelöst und die heiße Lösung (70 bis 75°) auf einem 0,45 µm Filter filtriert. Die Lösung wird während 30 min auf 20 bis 25° gekühlt und mit 200 ml Wasser versetzt, worauf das Gemisch mit Kristallen der Form A angeimpft wird. Sodann wird das Ganze während 1 h bei 20 bis 25° weiter gerührt. Die gebildete Suspension wird auf 0 bis 5° gekühlt und weitere 4 h gerührt. Die Kristalle werden abfiltriert und mit 300 ml vorgekühltem Ethanol/Wasser 1:3 (Vol./Vol.) gewaschen. Durch anschließende Trocknung bei 45 bis 50° (10 bis 20 mbar, 16 h) gelangt man zur Titelverbindung (Hydrat; farblose Kristalle).

Beispiel 6: Kristallform A von 33-Epichlor-33-desoxyascomycin (aus einer Lösung der Form B in Aceton)

[0053] Man löst 94,5 g 33-Epichlor-33-desoxyascomycin Form B in 1500 ml siedendem Aceton. Die Acetonlösung (welche nun frei ist an irgendwelchen Impfkristallen der Form B) wird dann wie im obigen Beispiel 5 beschrieben weiterbehandelt, wodurch man die Titelverbindung erhält (Hydrat, farblose Kristalle).

Patentansprüche

1. Verbindung der Formel I



I

oder eine tautomere oder solvatisierte Form hiervon, in kristalliner Form.

2. Verbindung nach Anspruch 1 in kristalliner Form A.

3. Verbindung nach Anspruch 1 in kristalliner Form B.

4. Verfahren zur Herstellung der kristallinen Verbindung nach Anspruch 1 durch geeignete Umwandlung einer amorphen Verbindung der Formel 1 aus einer Lösung hiervon unter Bedingungen, die eine Kristallisation einleiten.

5. Variante des Verfahrens nach Anspruch 4 zur Herstellung der kristallinen Verbindung nach Anspruch 2 durch geeignete Umwandlung einer Verbindung der Formel I in anderer Form als der Form A oder einer tautomeren oder solvatisierten Form hiervon aus einer Lösung hiervon unter Bedingungen, die präferentiell eine Kristallisation der Form A einleiten.

6. Variante des Verfahrens nach Anspruch 4 zur Herstellung der kristallinen Verbindung nach Anspruch 3 durch geeignete Umwandlung einer Verbindung der Formel I in anderer Form als der Form B oder einer tautomeren oder solvatisierten Form hiervon aus einer Lösung hiervon unter Bedingungen, die präferentiell eine Kristallisation der Form B einleiten.

7. Pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend eine oder hergestellt aus einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 3.

8. Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Verwendung als Pharmazeutikum oder zur Verwendung bei der Herstellung eines Arzneimittels.

9. Verwendung der kristallinen Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Verwendung als antiinflammatorisches, immunsuppressives oder antiproliferatives Mittel zur Behandlung von Krankheiten, die auf eine Therapie mit der Verbindung der Formel I oder einer tautomeren oder

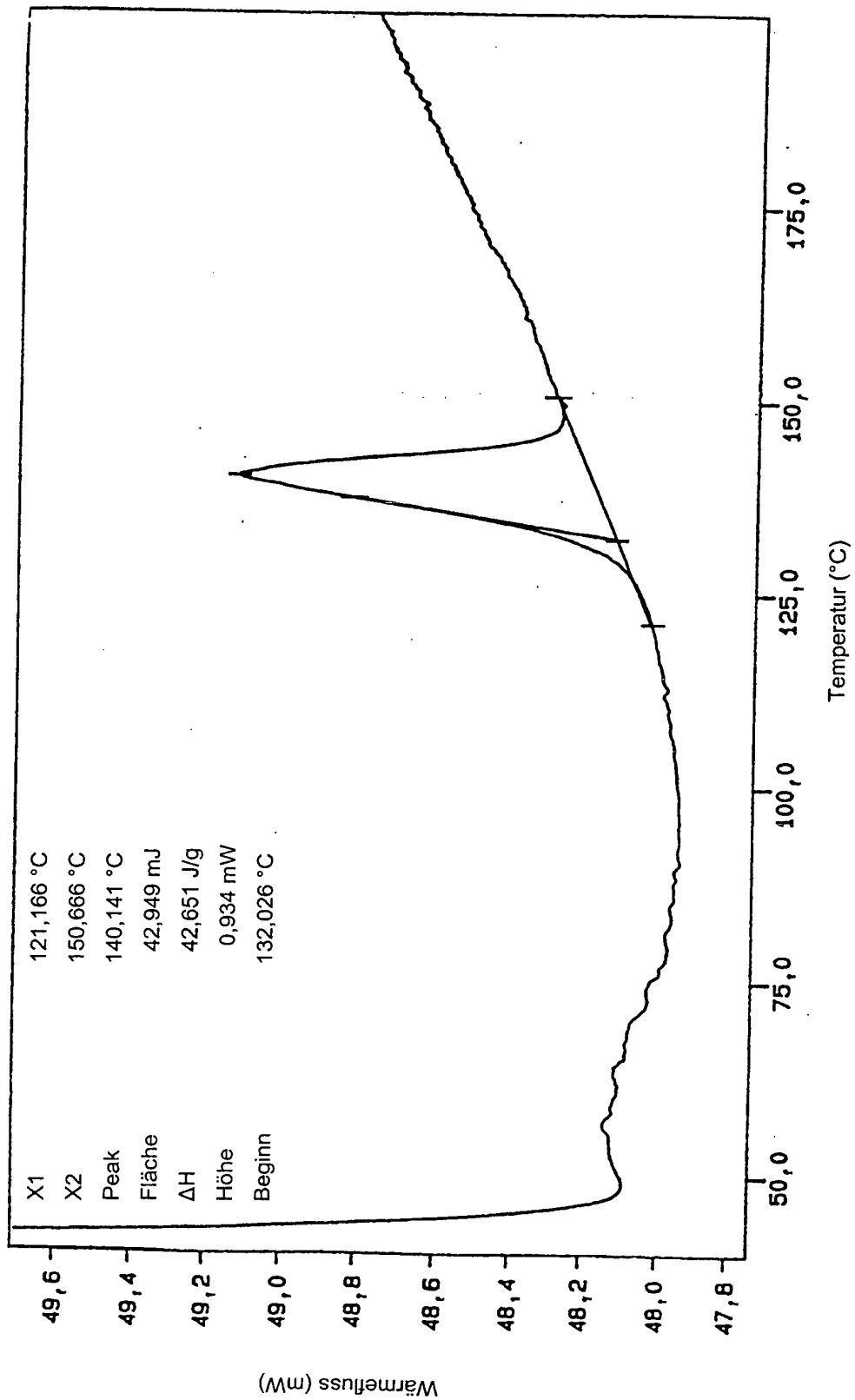
solvatisierten Form hiervon ansprechen.

Es folgen 7 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

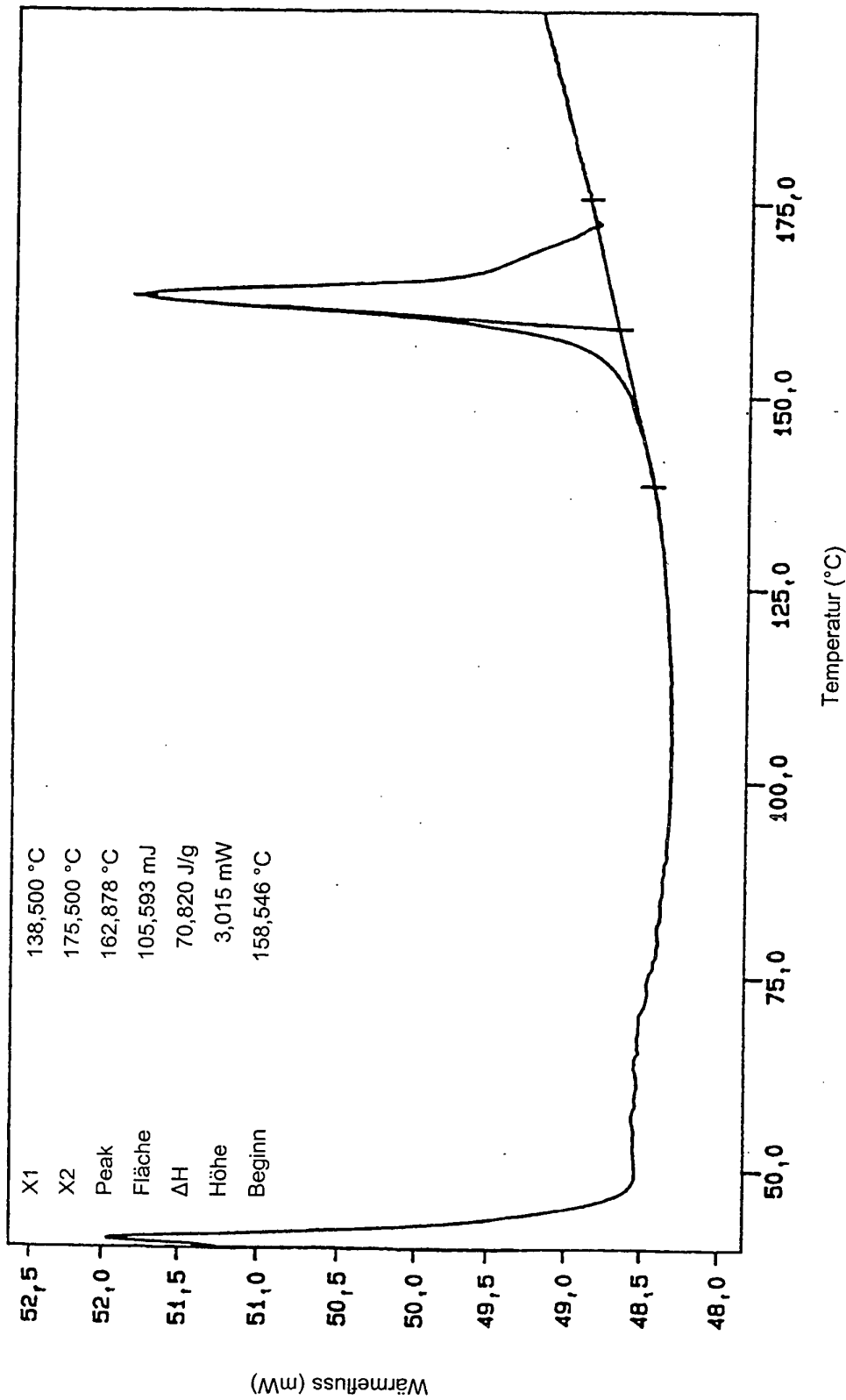
Figur 1

DSC Kurve der Form A (Hydrat)



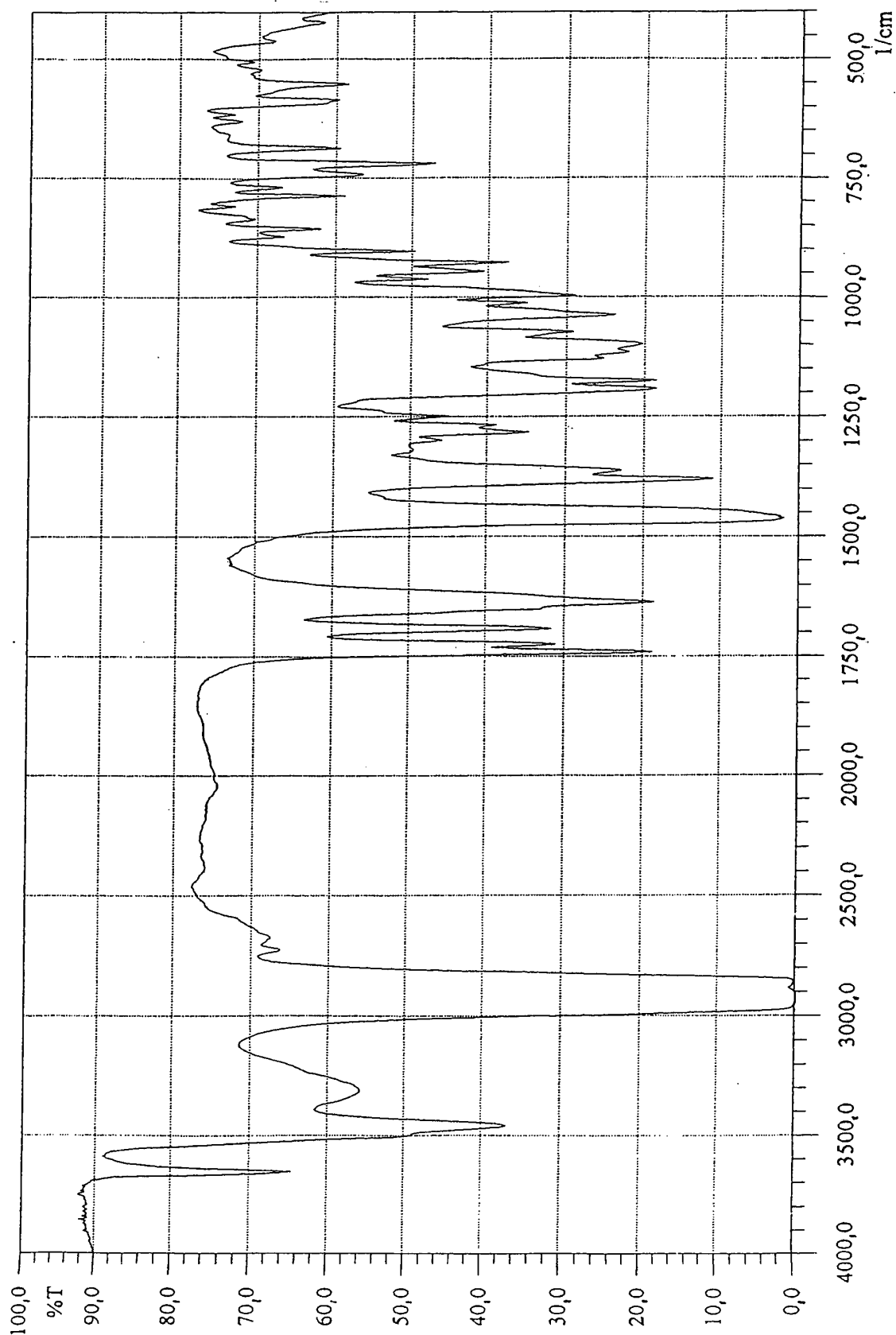
Figur 2

DSC Kurve der Form B



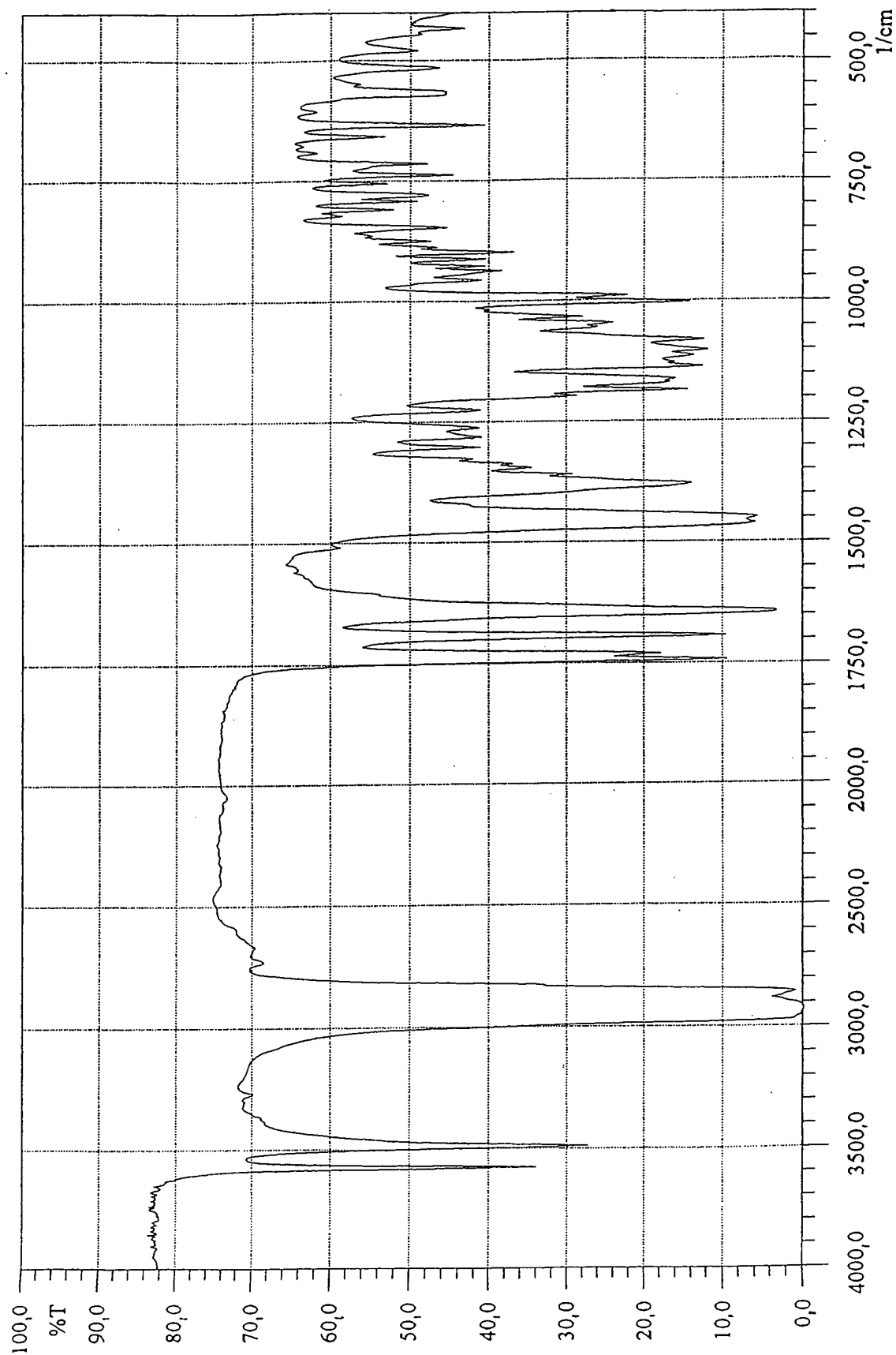
Figur 3

FT-IR Spektrum der Form A (Hydrat)



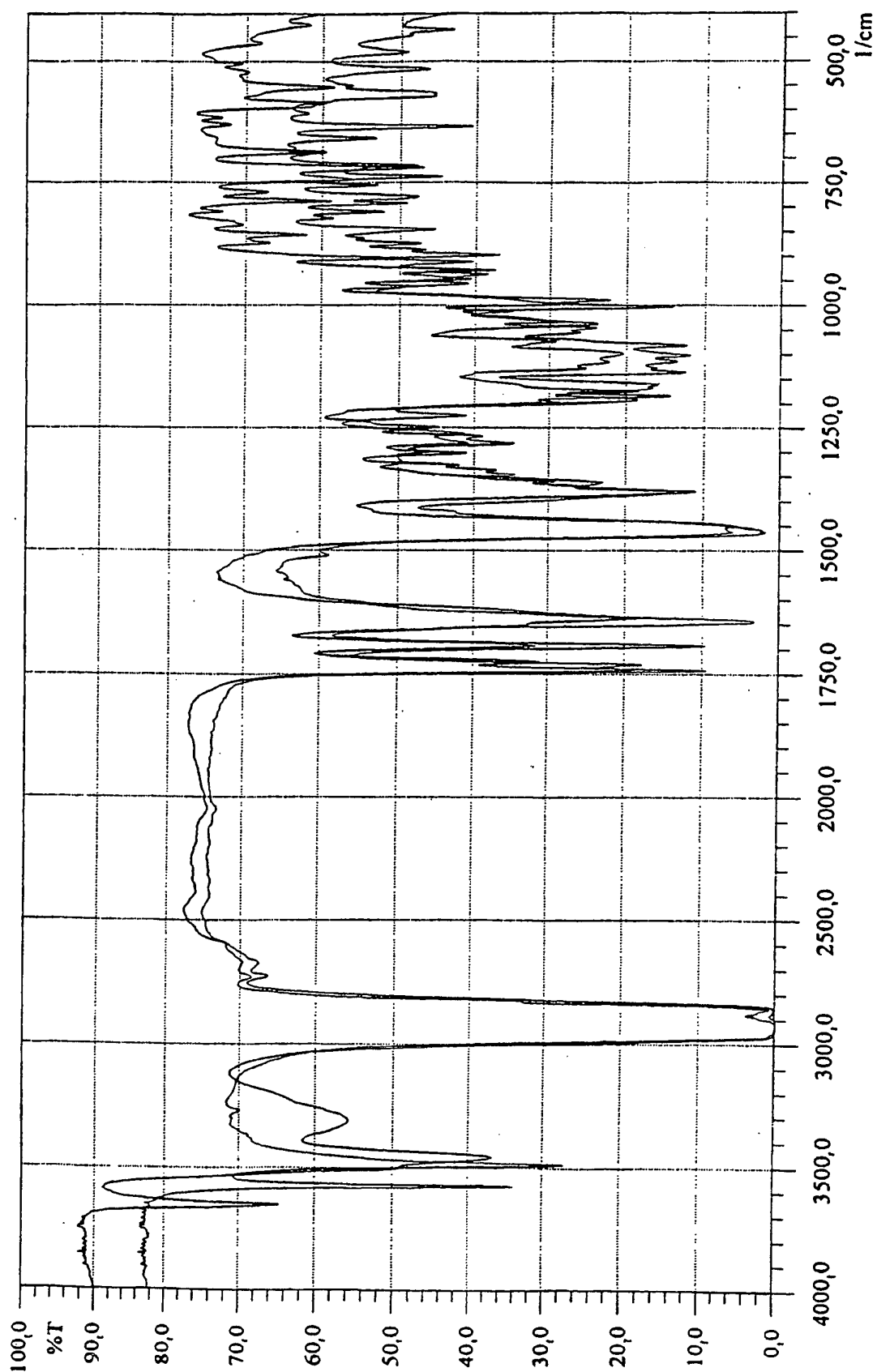
Figur 4

FT-IR Spektrum der Form B



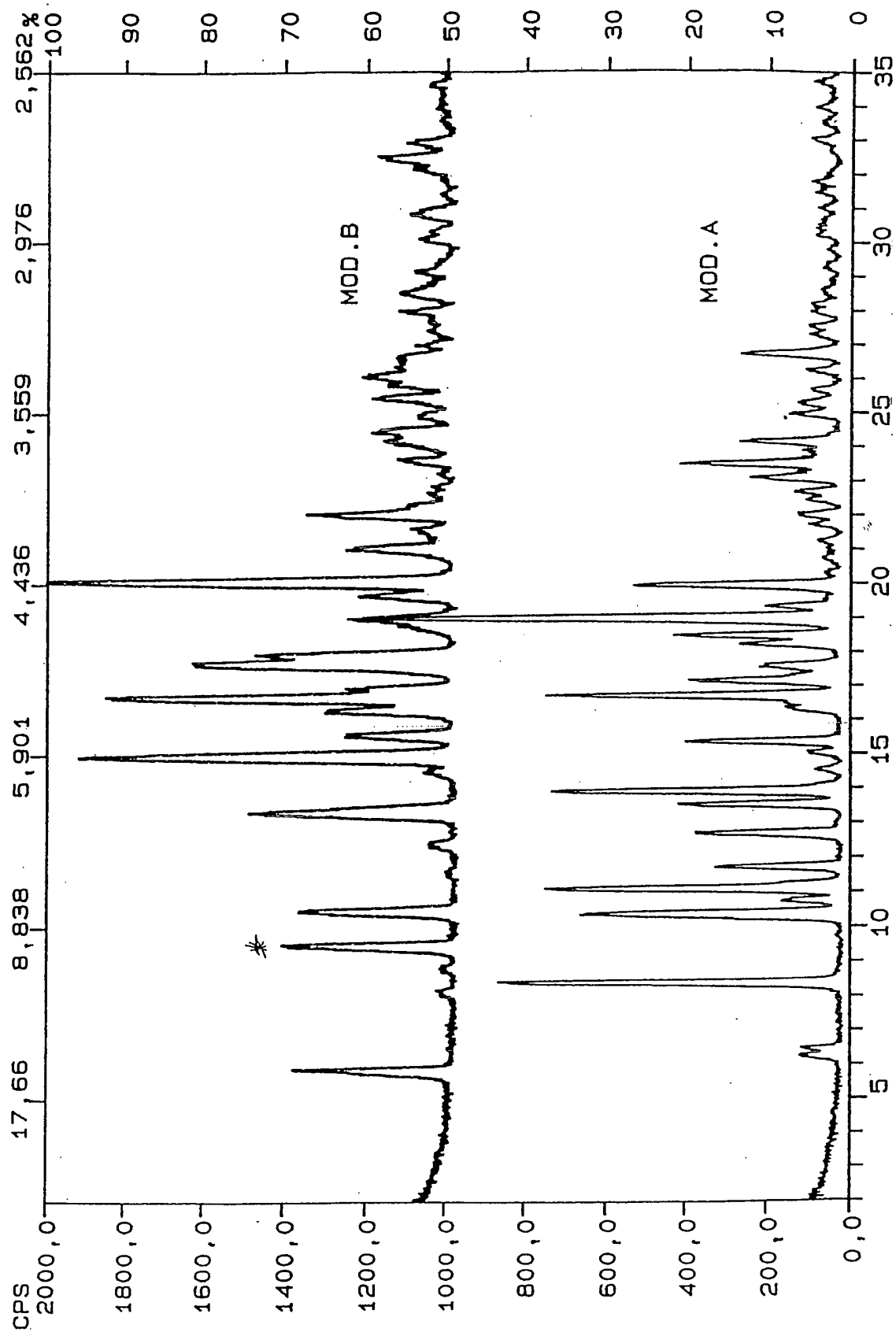
Figur 5

Vergleich zwischen den FT-IR Spektren der Formen A (Hydrat) und B



Figur 6

Pulver-Röntgenbeugungsspektren der Formen A (Hydrat) und B



Figur 7

FT-IR Spektrum der amorphen Form

