

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 805 534**

51 Int. Cl.:

C07H 17/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.07.2008** E 16197385 (4)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.05.2020** EP 3170833

54 Título: **Polimorfos de 20,23-piperidinil-5-O-micaminosiltilonolida**

30 Prioridad:

26.07.2007 EP 07113244

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

12.02.2021

73 Titular/es:

**INTERVET INTERNATIONAL B.V. (50.0%)
Wim de Körverstraat 35
5831 AN Boxmeer, NL y
MICROBIAL CHEMISTRY RESEARCH
FOUNDATION (50.0%)**

72 Inventor/es:

**BLATTER, FRITZ;
BRENNER, MEINRAD;
HU, GUIXIAN;
RAGER, TIMO y
WARRASS, RALF**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 805 534 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

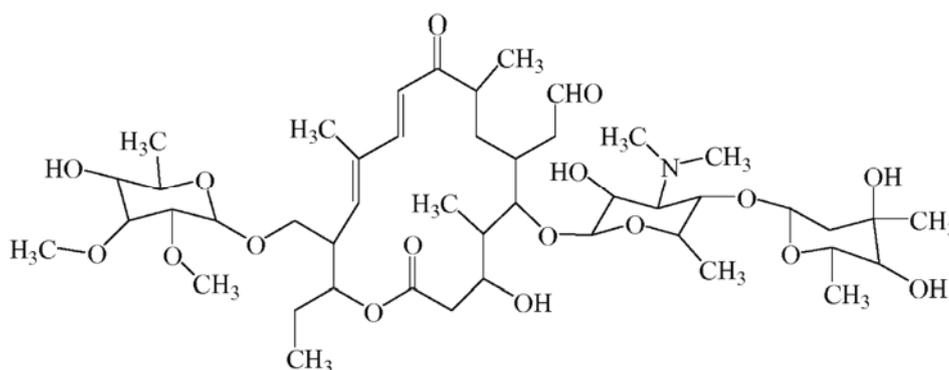
Polimorfos de 20,23-piperidinil-5-O-micaminosiltilonolida

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a formas cristalinas solvatadas y no solvatadas de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosiltilonolida, así como a métodos para preparar tales formas cristalinas, medicamentos que comprenden (u obtenidos a partir de) tales formas cristalinas, métodos para preparar medicamentos que comprenden (u obtenidos a partir de) tales formas cristalinas, métodos de tratamiento usando formas cristalinas y kits que comprenden tales formas cristalinas.

Antecedentes de la invención

15 Se sabe desde hace mucho que los macrólidos son eficaces para tratar enfermedades infecciosas en seres humanos, ganado, aves de corral y otros animales. Los primeros macrólidos incluían macrólidos de 16 miembros tales como, por ejemplo, tilosina A:

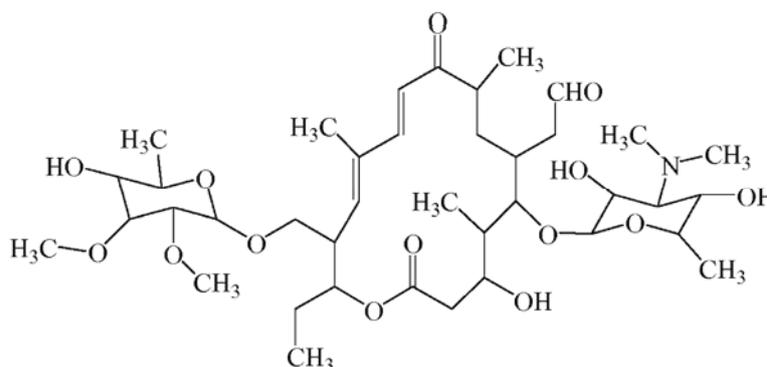


20

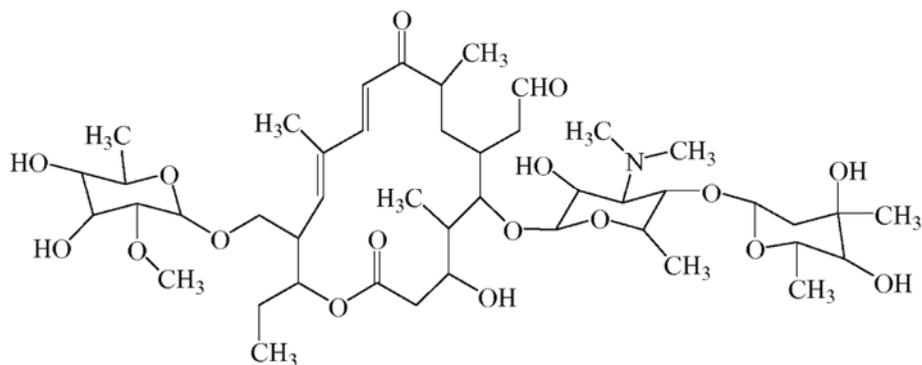
Véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N.º 6,514,946, la Patente de Estados Unidos N.º 4,920,103 (col. 5, líneas 12-38). Véase también, la Patente de Estados Unidos N.º 4,820,695 (col. 7, líneas 1-32) y el documento EP 0103465B1 (página 5, línea 3). A lo largo de los años, se han desarrollado diversos derivados de tilosina con el objetivo de potenciar la actividad antibacteriana y la selectividad.

25

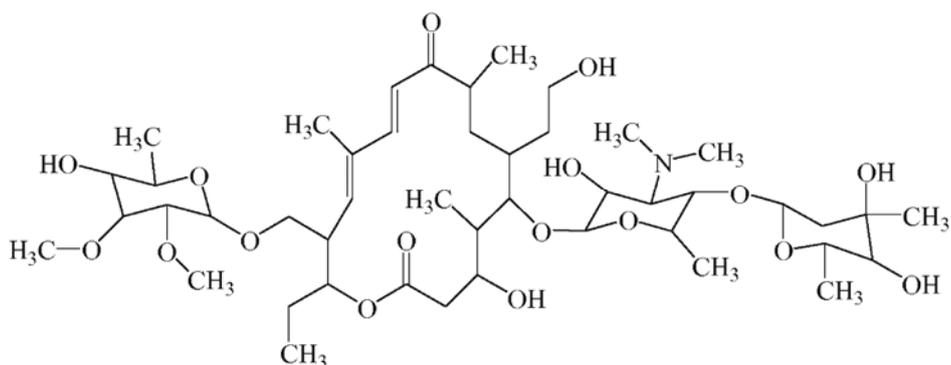
Los derivados de tilosina incluyen, por ejemplo:



tilosina B (también conocida como desmicocina)



tilosina C (también conocida como macrocina), y

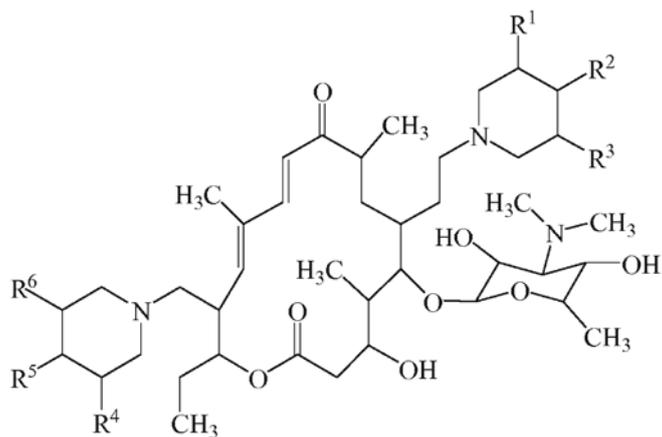


tilosina D (también conocida como relomicina).

5

Los derivados de tilosina también incluyen, por ejemplo, los compuestos desvelados en la Patente de Estados Unidos N.º 6,514,946 cuya estructura se corresponde con la Fórmula (I):

10



(I).

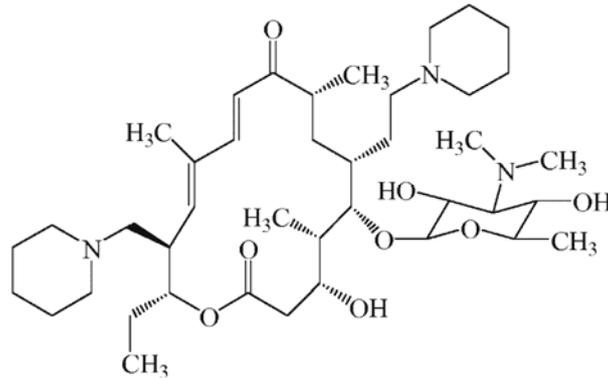
Aquí:

15

cada uno de R¹ y R³ es metilo, y R² es hidrógeno; cada uno de R¹ y R³ es hidrógeno, y R² es metilo; o cada uno de R¹, R² y R³ es hidrógeno; y cada uno de R⁴ y R⁶ es metilo, y R⁵ es hidrógeno; cada uno de R⁴ y R⁶ es hidrógeno, y R⁵ es metilo; o cada uno de R⁴, R⁵ y R⁶ es hidrógeno.

20

Tales compuestos incluyen, por ejemplo, 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, que tiene la siguiente estructura:



5 Se cree que estos compuestos, y particularmente 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, tienen atributos farmacocinéticos y farmacodinámicos para seguridad y tratamiento eficaz de, por ejemplo, pasteurelisis, enfermedad respiratoria bovina y enfermedad respiratoria porcina. Una discusión que se dirige al uso de estos compuestos para tratar enfermedades en el ganado y las aves de corral se incluye en la Patente de Estados Unidos N.º 6,514,946. Esa discusión se incorpora por referencia en esta patente. Los solicitantes no son conscientes de que se haya descrito alguna forma cristalina estable de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

10 A la vista de la importancia de los macrólidos en el tratamiento de una plétora de afecciones patológicas, sigue habiendo una necesidad de procesos rentables y con alto rendimiento para preparar macrólidos. También existe una necesidad de formas cristalinas de macrólido que, por ejemplo, muestren una estabilidad física, estabilidad química, propiedades de empaquetamiento, propiedades termodinámicas, propiedades cinéticas, propiedades superficiales, propiedades mecánicas, propiedades de filtración o pureza química ventajosas; o puedan usarse ventajosamente para
15 hacer que las formas en estados sólidos muestren tales propiedades. La siguiente divulgación está dirigida a estas necesidades.

Sumario de la invención

20 Esta invención se refiere a formas cristalinas de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

Brevemente, esta divulgación está dirigida, en parte, a una primera forma cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (identificada en esta patente como "polimorfo de Forma I"). El polimorfo de Forma I generalmente puede caracterizarse como que tiene, por ejemplo, al menos una (y normalmente más de una) de las siguientes
25 características:

- a. un espectro FT-Raman que comprende una banda de absorción a una o más frecuencias seleccionadas del grupo que consiste en aproximadamente 2935, aproximadamente 1633, aproximadamente 1596, aproximadamente 1712, aproximadamente 1683 y aproximadamente 781 cm^{-1} ;
- 30 b. un espectro de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos un pico seleccionado entre el grupo que consiste en $5,0 (\pm 0,2)$ y $5,6 (\pm 0,2)$ grados 2θ ;
- c. un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción a una o más frecuencias seleccionadas del grupo que consiste en aproximadamente 2932, aproximadamente 1711, aproximadamente 1682, aproximadamente 1635, aproximadamente 1599, aproximadamente 1442, aproximadamente 1404, aproximadamente 1182, aproximadamente 1079, aproximadamente 1053, aproximadamente 1008, aproximadamente 985, aproximadamente 842 y aproximadamente 783 cm^{-1} ;
- 35 d. un punto de fusión de aproximadamente 192 a aproximadamente 195 $^{\circ}\text{C}$; o
- e. una entalpía de fusión de aproximadamente 57 J/g.

40 Esta divulgación también se dirige, en parte, a una segunda forma cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (identificada en esta patente como el "polimorfo de Forma II"). El polimorfo de Forma II generalmente puede caracterizarse como que tiene, por ejemplo, al menos una (y normalmente más de una) de las siguientes características:

- 45 a. un espectro de TF-Raman que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 2929, aproximadamente 1625, aproximadamente 1595, aproximadamente 1685 y 783 cm^{-1} ;
- b. un espectro de difracción de rayos X en polvo que comprende un pico a $6,5 (\pm 0,2)$ grados 2θ ;
- c. un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 2935, aproximadamente 1736, aproximadamente 1668, aproximadamente 1587, aproximadamente 1451, aproximadamente 1165, aproximadamente 1080, aproximadamente 1057, aproximadamente 1042, aproximadamente 1005,
- 50

aproximadamente 981, aproximadamente 838 y aproximadamente 755 cm^{-1} ;
 d. un punto de fusión de aproximadamente 113 a aproximadamente 119 $^{\circ}\text{C}$; o
 e. una entalpía de fusión de aproximadamente 15 J/g.

- 5 Esta invención se dirige, en parte a una tercera forma cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (identificada en esta patente como el "polimorfo de Forma III"). El polimorfo de Forma III generalmente puede caracterizarse como que tiene, por ejemplo, al menos una (y normalmente more más de una) de las siguientes características:
- 10 a. un espectro de TF-Raman que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 2943, aproximadamente 2917, aproximadamente 1627, aproximadamente 1590, aproximadamente 1733, aproximadamente 1669, aproximadamente 1193, aproximadamente 1094 y aproximadamente 981 cm^{-1} ;
- 15 b. un espectro de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos un pico seleccionado entre el grupo que consiste en 5,6 ($\pm 0,2$) y 6,1 ($\pm 0,2$) grados 2θ ;
- c. un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 2931, aproximadamente 1732, aproximadamente 1667, aproximadamente 1590, aproximadamente 1453, aproximadamente 1165, aproximadamente 1081, aproximadamente 1057, aproximadamente 1046, aproximadamente 1005, aproximadamente 981, aproximadamente 834 y aproximadamente 756 cm^{-1} ;
- 20 d. un punto de fusión de aproximadamente 107 a aproximadamente 134 $^{\circ}\text{C}$; o
 e. una entalpía de fusión de aproximadamente 38 J/g.

25 Esta invención también se dirige, en parte a una cuarta forma cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (identificada en esta patente como el "polimorfo de Forma IV"). El polimorfo de Forma IV generalmente puede caracterizarse como que tiene, por ejemplo, al menos una (y normalmente ambas) de las siguientes características:

- 30 a. un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 3559, aproximadamente 2933, aproximadamente 1743, aproximadamente 1668, aproximadamente 1584, aproximadamente 1448, aproximadamente 1165, aproximadamente 1075, aproximadamente 1060, aproximadamente 1045, aproximadamente 1010, aproximadamente 985, aproximadamente 839 y aproximadamente 757 cm^{-1} ; o
 b. un punto de fusión de aproximadamente 149 a aproximadamente 155 $^{\circ}\text{C}$.

35 Esta invención/divulgación también se dirige, en parte, a formas cristalinas solvatadas de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida como se ha desvelado anteriormente en el presente documento.

40 En algunas realizaciones, la forma cristalina solvatada comprende una forma cristalina solvatada con un acetato de etilo (o "EtOAc"), etanol o dietil cetona de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida; así como cualquier otro solvato cristalino que sea isomórfico con la forma cristalina solvatada de acetato de etilo, etanol o dietil cetona. Estos solvatos cristalinos se identifican colectivamente en esta patente como "solvatos cristalinos S1".

45 En algunas realizaciones, la forma cristalina solvatada comprende una forma cristalina solvatada de *tert*-butil metil éter (o "tBME") de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, así como cualquier otro solvato cristalino que sea isomórfico con la forma cristalina solvatada de tBME. Estos solvatos cristalinos se identifican colectivamente en esta patente como "solvatos cristalinos S2".

50 En algunas realizaciones, la forma cristalina solvatada comprende una forma cristalina solvatada de tetrahidrofurano (o "THF") de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, así como cualquier otro solvato cristalino que sea isomórfico con la forma cristalina solvatada de THF. Estos solvatos cristalinos se identifican colectivamente en esta patente como "solvatos cristalinos S3".

55 En algunas realizaciones, la forma cristalina solvatada comprende una forma cristalina solvatada de acetato de metilo o formiato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, así como cualquier otro solvato cristalino que sea isomórfico con la forma cristalina solvatada de acetato de metilo o formiato de etilo. Estos solvatos cristalinos se identifican colectivamente en esta patente como "solvatos cristalinos S4".

60 Esta invención también se dirige, en parte, a composiciones que comprenden 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. En estas realizaciones, una cantidad (generalmente al menos una cantidad detectable) de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en las composiciones consiste en una de las formas cristalinas solvatadas o no solvatadas descritas anteriormente de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

65 Esta invención también se dirige, en parte a un método para el tratamiento de una enfermedad, tal como la pasteurelisis, la enfermedad respiratoria porcina o la enfermedad respiratoria bovina. El método comprende:

combinar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que contiene cristales discutida anteriormente,

con al menos un excipiente para formar una composición farmacéutica, y administrar la composición farmacéutica a un animal que necesite tal tratamiento.

5 En algunas de tales realizaciones, por ejemplo, la cantidad terapéuticamente eficaz de la composición que contiene cristales se disuelve en un excipiente líquido (o excipientes líquidos) para formar una solución que puede, a su vez, utilizarse para la administración parenteral u oral. En otra de tales realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz de la composición que contiene cristales se suspende en un excipiente líquido (o excipientes líquidos) para formar una suspensión que puede, a su vez, utilizarse para la administración parenteral u oral.

10 Esta invención también se dirige, en parte, a un uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que contiene cristales discutida anteriormente para preparar un medicamento para el tratamiento de una enfermedad (por ejemplo, la pasteurellosis, la enfermedad respiratoria porcina o la enfermedad respiratoria bovina) en un animal.

15 La invención también se dirige, en parte, a una composición farmacéutica preparada mediante un proceso que comprende combinar al menos un excipiente con una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que contiene cristales discutida anteriormente. En algunas de tales realizaciones, por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición que contiene cristales se disuelve en un excipiente líquido (o excipientes líquidos) para formar una solución que puede, a su vez, utilizarse para la administración parental u oral. En otra de tales realizaciones, por ejemplo, se suspende una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición que contiene cristales en un excipiente líquido (o excipientes líquidos) para formar una suspensión que puede, a su vez, utilizarse para la administración parenteral u oral.

Esta invención también se dirige, en parte a un kit. El kit comprende:

25 una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que contiene cristales discutida anteriormente, e instrucciones para combinar la composición que contiene cristales con al menos un excipiente.

30 El kit puede comprender adicionalmente (o de forma alternativa) componentes adicionales, tales como, por ejemplo, uno o más excipientes, uno o más materiales farmacéuticos o biológicos adicionales y/o una o más herramientas de diagnóstico.

A partir de la lectura de la presente memoria descriptiva serán obvios para un experto en la materia los aspectos y beneficios adicionales de la invención de los solicitantes.

35 Breve descripción de las figuras

La **Figura 1** muestra un espectro de difracción de rayos X en polvo ("PXRD") ilustrativo para el Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

40 La **Figura 2** muestra un espectro de Raman por transformada de Fourier ("TF-Raman") para el Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 3** muestra resultados de una termogravimetría acoplada a espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier ("TG-FTIR") ilustrativos para el Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

45 La **Figura 4** muestra resultados de calorimetría de exploración diferencial ("DSC") ilustrativos para el Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 5** muestra resultados de sorción de vapor dinámica ("DVS") ilustrativos para el Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 6** muestra un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada ("ATR-IR") (o "perfil de banda de absorción") ilustrativo para el Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

50 La **Figura 7** muestra un espectro IR ilustrativo para una suspensión de nujol que contiene el Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 8** muestra un espectro de PXRD ilustrativo para el polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

55 La **Figura 9** muestra un espectro de TF-Raman ilustrativo para el polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 10** muestra resultados de TG-FTIR ilustrativos para el polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

60 La **Figura 11** muestra resultados de DSC ilustrativos para el polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. La línea continua se corresponde con la primera exploración y la línea discontinua se corresponde con la segunda exploración.

La **Figura 12** muestra resultados de DVS ilustrativos para el polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 13** muestra un espectro de ATR-IR ilustrativo para el polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

65 La **Figura 14** muestra un espectro IR ilustrativo para una suspensión de nujol que contiene el polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 15** muestra un espectro de PXRD ilustrativo para el polimorfo de Forma III de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 16** muestra un espectro de TF-Raman ilustrativo para el polimorfo de Forma III de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

5 La **Figura 17** muestra resultados de TG ilustrativos para el polimorfo de Forma III de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 18** muestra resultados de DSC ilustrativos para el polimorfo de Forma III de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. La línea continua se corresponde con la primera exploración y la línea discontinua se corresponde con la segunda exploración.

10 La **Figura 19** muestra resultados de DVS ilustrativos para el polimorfo de Forma III de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 20** muestra un espectro de ATR-IR ilustrativo para el polimorfo de Forma III de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

15 La **Figura 21** muestra un espectro IR ilustrativo para una suspensión de nujol que contiene el polimorfo de Forma III de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 22** muestra un espectro de PXRD ilustrativo para el polimorfo de Forma IV de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 23** muestra resultados de DSC ilustrativos para el polimorfo de Forma IV de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

20 La **Figura 24** muestra un espectro de ATR-IR ilustrativo para el polimorfo de Forma IV de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 25** muestra un espectro IR ilustrativo para una suspensión de nujol que contiene el polimorfo de Forma IV de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 26** muestra un espectro de PXRD ilustrativo para una muestra de solvato cristalino S1 de acetato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

25 La **Figura 27** muestra un espectro de TF-Raman ilustrativo para una muestra de solvato cristalino S1 de acetato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 28** muestra resultados de TG-FTIR ilustrativos para una muestra solvato cristalino S1 de acetato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

30 La **Figura 29** muestra resultados de TG-FTIR ilustrativos para una muestra de solvato cristalino S1 de etanol de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 30** muestra resultados de TG-FTIR ilustrativos para una muestra de solvato cristalino S1 de dietil cetona de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

35 La **Figura 31** muestra un espectro de PXRD ilustrativo para una muestra de solvato cristalino S2 de tBME de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 32** muestra un espectro de TF-Raman ilustrativo para una muestra de solvato cristalino S2 de tBME de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 33** muestra resultados de TG-FTIR ilustrativos para una muestra de solvato cristalino S2 de tBME de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

40 La **Figura 34** muestra un espectro de PXRD ilustrativo para una muestra de solvato cristalino S3 de THF de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 35** muestra un espectro de TF-Raman ilustrativo para una muestra de solvato cristalino S3 de THF de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

45 La **Figura 36** muestra resultados de TG-FTIR ilustrativos para una muestra de solvato cristalino S3 de THF de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 37** muestra un espectro de PXRD ilustrativo para una muestra de solvato cristalino S4 de acetato de metilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 38** muestra un espectro de TF-Raman ilustrativo para una muestra de solvato cristalino S4 de acetato de metilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

50 La **Figura 39** muestra resultados de TG-FTIR ilustrativos para una muestra de solvato cristalino S4 de acetato de metilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La **Figura 40** muestra resultados de TG-FTIR ilustrativos para una muestra de solvato cristalino S4 de formiato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

55 Descripción detallada de realizaciones preferidas

Esta descripción detallada de realizaciones preferidas está destinada únicamente a familiarizar a otros expertos en la materia con la invención de los solicitantes, sus principios y su aplicación práctica para que otros expertos en la materia puedan adaptar y aplicar la invención en sus numerosas formas, de modo que puedan adecuarse de mejor manera a los requerimientos de un uso particular. Esta descripción detallada y sus ejemplos específicos, aunque indican realizaciones preferidas de esta invención, están destinados únicamente a propósitos de ilustración. Esta invención, por lo tanto, no se limita a las realizaciones preferidas descritas en esta solicitud, y puede modificarse de diversas maneras dentro del alcance de las presentes reivindicaciones.

65 A. Formas cristalinas de 20,23-Dipiperidinil-5-O-Micaminosil-Tilonolida

Las propiedades químicas y físicas de macrólidos, y particularmente 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, son habitualmente importantes para su desarrollo comercial. Estas propiedades incluyen, por ejemplo: (1) estabilidad física; (2) estabilidad química; (3) propiedades de empaquetamiento, tales como volumen molar, densidad e higroscopicidad; (4) propiedades termodinámicas, tales como temperatura de fusión, presión de vapor y solubilidad; (5) propiedades cinéticas, tales como tasa de disolución y estabilidad (incluyendo estabilidad en condiciones ambientales, especialmente en humedad y condiciones de almacenamiento); (6) propiedades superficiales, tales como área superficial, humectabilidad, tensión superficial y forma; (7) propiedades mecánicas, tales como dureza, tensión de rotura, compactabilidad, manejo, flujo y mezclado; (8) propiedades de filtración; y (9) pureza química. Estas propiedades pueden afectar, por ejemplo, al procesado y almacenamiento de composiciones farmacéuticas que comprenden 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Aunque los solicitantes creen que todas las formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida descritas en la presente patente son terapéuticamente eficaces, son generalmente deseables formas de estado sólido que proporcionan una mejora en una o más de las propiedades enumeradas anteriormente con respecto a otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, puesto que son formas de estado sólido que pueden usarse como intermedios en procesos para la fabricación de las formas de estado sólido deseadas.

De acuerdo con la presente invención, se han preparado varias formas cristalinas de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Estas formas cristalinas poseen generalmente una o más de las propiedades químicas y/o físicas ventajosas descritas anteriormente con respecto a otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida y/o son útiles como intermedios en la preparación de una o más de otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Las formas cristalinas específicas de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida que se han descubierto incluyen los siguientes:

- (1) Una primera forma cristalina anhidra y no solvatada de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida que posee propiedades únicas con respecto a otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (identificada en esta patente como el "Polimorfo de Forma I");
- (2) una segunda forma cristalina anhidra y no solvatada de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida que posee propiedades únicas con respecto a otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (identificada en esta patente como el "Polimorfo de Forma II");
- (3) una tercera forma cristalina anhidra y no solvatada de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida que posee propiedades únicas con respecto a otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (identificada en esta patente como el "Polimorfo de Forma III");
- (4) una cuarta forma cristalina anhidra y no solvatada de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida que posee propiedades únicas con respecto a otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (identificada en esta patente como el "Polimorfo de Forma IV");
- (5) formas cristalinas solvatadas isomórficas de acetato de etilo, etanol y dietil cetona de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (identificadas colectivamente en esta patente como "solvatos cristalinos S1");
- (6) una forma cristalina solvatada de *tert*-butil metil éter de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (identificada en esta patente como un "solvato cristalino S2");
- (7) una forma cristalina solvatada de tetrahidrofurano de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (identificada en esta patente como un "solvato cristalino S3"); y
- (8) formas cristalinas solvatadas isomórficas de acetato de metilo y formiato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (identificadas colectivamente en esta patente como "solvatos cristalinos S4").

La presente divulgación se refiere al Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Los métodos ilustrativos para fabricar el Polimorfo de Forma I incluyen, por ejemplo, los mostrados en los **Ejemplos 3 (Parte F) y 12-16**. Basado en las observaciones de los solicitantes, se cree que el Polimorfo de Forma I posee generalmente mayor estabilidad a temperatura ambiente que las otras formas enumeradas anteriormente de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, particularmente en ausencia de disolvente. En muchas realizaciones, es deseable usar una forma de estado sólido, tal como el Polimorfo de Forma I, que normalmente no requiere condiciones especiales de procesado o almacenamiento, y evita la necesidad de reemplazo frecuente de inventario. Por ejemplo, seleccionando una forma de estado sólido que sea físicamente estable durante un proceso de fabricación (tal como durante el molido para obtener un material con un tamaño de partícula reducido y área superficial aumentada) puede evitar la necesidad de condiciones de procesado especiales y los costes aumentados asociados generalmente con tales condiciones especiales de procesado. De forma análoga, la selección de una forma de estado sólido que sea físicamente estable a lo largo de una amplia gama de condiciones de almacenamiento (considerando especialmente las posibles condiciones diferentes de almacenamiento que pueden suceder durante la vida útil de un producto de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida) pueden ayudar a evitar cambios polimórficos u otros degradantes en la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida que pueden conducir a una pérdida de producto o deterioro de la eficacia del producto. Por lo tanto, la selección de una forma de estado sólido que tiene estabilidad física mayor proporciona un beneficio significativo sobre formas de estado sólido menos estables de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El Polimorfo de Forma I también tiende a mostrar menos captación de agua que otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, por ejemplo, en condiciones ambientales (por ejemplo, 25 °C). Además, se plantea la hipótesis de que el Polimorfo de Forma I muestra propiedades de empaquetamiento, propiedades termodinámicas, propiedades cinéticas, propiedades superficiales, propiedades mecánicas, propiedades de filtración o pureza química ventajosas con respecto a otras formas de estado sólido de

20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

El Polimorfo de Forma I puede identificarse usando diversas técnicas analíticas. En algunas realizaciones, el Polimorfo de Forma I se define como que tiene una (y normalmente dos, tres, cuatro o todas las cinco) de las siguientes características:

- 5 a. un espectro de TF-Raman que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 2935, aproximadamente 1633, aproximadamente 1596, aproximadamente 1712, aproximadamente 1683 y aproximadamente 781 cm^{-1} ;
- 10 b. un espectro de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos un pico seleccionado entre el grupo que consiste en 5,0 ($\pm 0,2$) y 5,6 ($\pm 0,2$) grados 2θ ;
- 15 c. un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 2932, aproximadamente 1711, aproximadamente 1682, aproximadamente 1635, aproximadamente 1599, aproximadamente 1442, aproximadamente 1404, aproximadamente 1182, aproximadamente 1079, aproximadamente 1053, aproximadamente 1008, aproximadamente 985, aproximadamente 842 y aproximadamente 783 cm^{-1} .
- d. un punto de fusión de aproximadamente 192 a aproximadamente 195 $^{\circ}\text{C}$; o
- e. una entalpía de fusión de aproximadamente 57 J/g.

20 El Polimorfo de Forma I se define como que tiene un espectro de TF-Raman que comprende una banda de absorción en 2935 cm^{-1} . El Polimorfo de Forma I se define como que tiene un espectro de TF-Raman que comprende una banda de absorción en aproximadamente 1633 cm^{-1} .

25 El Polimorfo de Forma I se define como que tiene un espectro de difracción de rayos X en polvo que comprende un pico a 5,0 ($\pm 0,2$) grados 2θ .

El Polimorfo de Forma I se define como que tiene un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 1711, aproximadamente 1682, aproximadamente 1635, aproximadamente 1599, aproximadamente 1404, aproximadamente 1182 y aproximadamente 783 cm^{-1} . En algunas de tales realizaciones, por ejemplo, el Polimorfo de Forma I se define como que tiene un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 1711 y aproximadamente 1682 cm^{-1} . En otras de tales realizaciones, el Polimorfo de Forma I se define como que tiene un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 1635, aproximadamente 1404 y aproximadamente 1182 cm^{-1} .

El Polimorfo de Forma I se define como que tiene una (y normalmente dos o las tres) de las siguientes características:

- 40 a. un espectro de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la **Figura 1**,
- b. un espectro de TF-Raman atenuado sustancialmente como se muestra en la **Figura 2**, o
- c. un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada sustancialmente como se muestra en la **Figura 6**.

45 La presente divulgación también se refiere a composiciones que comprenden 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, en las que al menos una cantidad detectable de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es el Polimorfo de Forma I, o, por ejemplo, al menos aproximadamente un 50 % (o al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 99 %, o al menos aproximadamente un 99,9 %) de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es el Polimorfo de Forma I, o, una cantidad terapéuticamente eficaz de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es la Forma I o la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es la Forma I cristalina sustancialmente en fase pura de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

55 La presente divulgación también se refiere al polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Los métodos para fabricar el polimorfo de Forma II incluyen, por ejemplo, el método mostrado en el **Ejemplo 4**. Como con el Polimorfo de Forma I, el polimorfo de Forma II tiende a mostrar menos captación de agua que otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, por ejemplo, en condiciones ambientales. Se plantea la hipótesis de que el polimorfo de Forma II muestra estabilidad física, estabilidad química, propiedades de empaquetamiento, propiedades termodinámicas, propiedades cinéticas, propiedades superficiales, propiedades mecánicas, propiedades de filtración o pureza química ventajosas con respecto a otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma II también es útil como un intermedio para la preparación de diversas otras formas de estado sólido. La **Tabla 1** resume ejemplos de tales métodos.

Tabla 1

Uso del Polimorfo de Forma II para Preparar Otras Formas cristalinas de 20,23-Dipiperidinil-5-O-Micamosil-Tilonolida		
Forma cristalina preparada a partir del polimorfo de Forma II	Ejemplo del método que puede usarse	Ilustraciones del método de Ejemplo
Polimorfo de Forma I	Disolver el polimorfo de Forma II en un disolvente de tBME/heptano y retirar el disolvente	Ejemplos 12, 13 y 16
Polimorfo de Forma III	Disolver el polimorfo de Forma II en disolvente de acetonitrilo, someter la mezcla resultante a repetidos ciclos de calentamiento y refrigeración retirar el disolvente	Ejemplo 11
Solvato cristalino S1 de acetato de etilo	Disolver el polimorfo de Forma II en disolvente de acetato de etilo y retirar el disolvente	Ejemplos 6, 8 y 9
Solvato cristalino S1 de etanol	Disolver el polimorfo de Forma II en disolvente de etanol y retirar el disolvente	Ejemplo 17
Solvato cristalino S1 de dietil cetona	Disolver el polimorfo de Forma II en disolvente de dietil cetona y retirar el disolvente	Ejemplo 18
Solvato cristalino S2 de tBME	Disolver el polimorfo de Forma II en disolvente de tBME y retirar el disolvente	Ejemplo 19
Solvato cristalino S3 de THF	Disolver el polimorfo de Forma II en disolvente de THF y retirar el disolvente	Ejemplo 20
Solvato cristalino S4 de acetato de metilo	Disolver el polimorfo de Forma II en disolvente de acetato de metilo y retirar el disolvente	Ejemplo 21
Solvato cristalino S4 de formiato de etilo	Disolver el polimorfo de Forma II en disolvente de formiato de etilo y retirar el disolvente	Ejemplo 22

El polimorfo de Forma II puede identificarse usando diversas técnicas analíticas. En algunas realizaciones, el polimorfo de Forma II se define como que tiene una (y normalmente dos, tres, cuatro o todas las cinco) de las siguientes características:

- 5 a. un espectro de TF-Raman que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 2929, aproximadamente 1625, aproximadamente 1595, aproximadamente 1685 y 783 cm^{-1} ;
- 10 b. un espectro de difracción de rayos X en polvo que comprende un pico a 6,5 ($\pm 0,2$) grados 2θ ;
- 15 c. un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 2935, aproximadamente 1736, aproximadamente 1668, aproximadamente 1587, aproximadamente 1451, aproximadamente 1165, aproximadamente 1080, aproximadamente 1057, aproximadamente 1042, aproximadamente 1005, aproximadamente 981, aproximadamente 838 y aproximadamente 755 cm^{-1} ;
- 20 d. un punto de fusión de aproximadamente 113 a aproximadamente 119 $^{\circ}\text{C}$; o
- e. una entalpía de fusión de aproximadamente 15 J/g.

El polimorfo de Forma II se define como que tiene un espectro de TF-Raman que comprende una banda de absorción en aproximadamente 2929 cm^{-1} . El polimorfo de Forma II se define como que tiene un espectro de TF-Raman que comprende una banda de absorción en aproximadamente 1685 cm^{-1} .

El polimorfo de Forma II se define como que tiene un espectro de difracción de rayos X en polvo que comprende un pico a 6,5 ($\pm 0,2$) grados 2θ .

El polimorfo de Forma II se define como que tiene una (y normalmente dos o todas las tres) de las siguientes características:

- a. un espectro de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la **Figura 8**,
- 35 b. un espectro de TF-Raman sustancialmente como se muestra en la **Figura 9**, o
- c. un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada sustancialmente como se muestra en la **Figura 13**.

La presente divulgación también se dirige a composiciones que comprenden 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tonolida en las que al menos una cantidad detectable de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tonolida en la

composición es el polimorfo de Forma II, o, por ejemplo, al menos aproximadamente un 50 % (o al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 99 % o al menos aproximadamente un 99,9 %) de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es el polimorfo de Forma II, o, una cantidad terapéuticamente eficaz de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es el polimorfo de Forma II, o, la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición la Forma II cristalina en sustancialmente en fase pura de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

En otras realizaciones, la invención se dirige al polimorfo de Forma III de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Los métodos ilustrativos para preparar el polimorfo de Forma III incluyen, por ejemplo, los mostrados en los **Ejemplos 7, 10 y 11**. Se cree que el polimorfo de Forma III muestra mayor estabilidad con respecto a otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. También se tienen la hipótesis de que el polimorfo de Forma III muestra propiedades de empaquetamiento, propiedades termodinámicas, propiedades cinéticas, propiedades superficiales, propiedades mecánicas, propiedades de filtración o pureza química ventajosas con respecto a otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma III también es, por ejemplo, útil para la preparación del Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Esto puede conseguirse, por ejemplo, disolviendo cristales de polimorfo de Forma III en un disolvente de tBME/heptano y retirando el disolvente. Véase, por ejemplo, el **Ejemplo 15**.

El polimorfo de Forma III puede identificarse usando diversas técnicas analíticas. En algunas realizaciones, el polimorfo de Forma III se define como que tiene una (y normalmente dos, tres, cuatro o todas las cinco) de las siguientes características:

- a. un espectro de TF-Raman que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 2943, aproximadamente 2917, aproximadamente 1627, aproximadamente 1590, aproximadamente 1733, aproximadamente 1669, aproximadamente 1193, aproximadamente 1094 y aproximadamente 981 cm^{-1} ;
- b. un espectro de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos un pico seleccionado entre el grupo que consiste en 5,6 ($\pm 0,2$) y 6,1 ($\pm 0,2$) grados 2θ ;
- c. un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 2931, aproximadamente 1732, aproximadamente 1667, aproximadamente 1590, aproximadamente 1453, aproximadamente 1165, aproximadamente 1081, aproximadamente 1057, aproximadamente 1046, aproximadamente 1005, aproximadamente 981, aproximadamente 834 y aproximadamente 756 cm^{-1} ;
- d. un punto de fusión de aproximadamente 107 a aproximadamente 134 $^{\circ}\text{C}$; o
- e. una entalpía de fusión de aproximadamente 38 J/g.

En algunas realizaciones, el polimorfo de Forma III se define como que tiene un espectro de TF-Raman que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 2943, aproximadamente 2917, aproximadamente 1590, aproximadamente 1733, aproximadamente 1669, aproximadamente 1193, aproximadamente 1094 y aproximadamente 981 cm^{-1} . En algunas de tales realizaciones, por ejemplo, el polimorfo de Forma III se define como que tiene un espectro de TF-Raman que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 2943, aproximadamente 2917, aproximadamente 1590, aproximadamente 1733, aproximadamente 1094 y aproximadamente 981 cm^{-1} .

En algunas realizaciones, el polimorfo de Forma III se define como que tiene un espectro de difracción de rayos X en polvo que comprende un pico a 6,1 ($\pm 0,2$) grados 2θ .

En algunas realizaciones, el polimorfo de Forma III se define como que tiene una (y normalmente dos o todas las tres) de las siguientes características:

- a. un espectro de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la Figura **15**,
- b. un espectro de TF-Raman sustancialmente como se muestra en la Figura **16**, o
- c. un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada sustancialmente como se muestra en la Figura **20**.

Algunas realizaciones de esta invención están dirigidas a composiciones que comprenden 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en las que al menos una cantidad detectable de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es el polimorfo de Forma III. En algunas de tales realizaciones, por ejemplo, al menos aproximadamente un 50 % (o al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 99 % o al menos aproximadamente un 99,9 %) de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es el polimorfo de Forma III. En otras de tales realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es el polimorfo de Forma III. En otras más de tales realizaciones, la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es la Forma III cristalina sustancialmente en fase pura de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

En otras realizaciones, la invención se dirige al polimorfo de Forma IV de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Los métodos para preparar el polimorfo de Forma IV incluyen, por ejemplo, el método mostrado en el Ejemplo 23. Se plantea la hipótesis de que el polimorfo de Forma IV muestre estabilidad física, estabilidad química, propiedades de empaquetamiento, propiedades termodinámicas, propiedades cinéticas, propiedades superficiales, propiedades mecánicas, propiedades de filtración o pureza química ventajosas con respecto a otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

El polimorfo de Forma IV puede identificarse usando diversas técnicas analíticas. En algunas realizaciones, el polimorfo de Forma IV se define como que tiene una (y normalmente ambas) de las siguientes características:

- a. un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción en una o más frecuencias seleccionadas entre el grupo que consiste en aproximadamente 3559, aproximadamente 2933, aproximadamente 1743, aproximadamente 1668, aproximadamente 1584, aproximadamente 1448, aproximadamente 1165, aproximadamente 1075, aproximadamente 1060, aproximadamente 1045, aproximadamente 1010, aproximadamente 985, aproximadamente 839 y aproximadamente 757 cm^{-1} ; o
- b. un punto de fusión de aproximadamente 149 a aproximadamente 155 $^{\circ}\text{C}$.

En algunas realizaciones, el polimorfo de Forma IV se define como que tiene un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada que tiene una banda de absorción en 1743 cm^{-1} . En otras realizaciones, el polimorfo de Forma IV se define como que tiene un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción en 3559 cm^{-1} .

En otras realizaciones, el polimorfo de Forma IV se define como que tiene una (y normalmente ambas) de las siguientes características:

- a. un espectro de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la Figura 22, o
- b. un espectro de infrarrojos de reflexión total atenuada sustancialmente como se muestra en la Figura 24.

Algunas realizaciones de esta invención están dirigidas a composiciones que comprenden 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en las que al menos una cantidad detectable de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es el polimorfo de Forma IV. En algunas de tales realizaciones, por ejemplo, al menos aproximadamente un 50 % (o al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 99 % o al menos aproximadamente un 99,9 %) de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es el polimorfo de Forma IV. En otras de tales realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es el polimorfo de Forma IV. En otras más de tales realizaciones, la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es la Forma IV cristalina sustancialmente en fase pura de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

En otras realizaciones, la forma cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida comprende una forma cristalina solvatada. En algunas realizaciones, las formas cristalinas solvatadas de particular interés son aquellas que pueden convertirse en una forma de estado sólido más deseable. En otras realizaciones, formas cristalinas solvatadas farmacéuticamente aceptables de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida se usan directamente en composiciones farmacéuticas. Se plantea la hipótesis, por ejemplo, de que algunos solvatos cristalinos tienden a mostrar estabilidad física, estabilidad química, propiedades de empaquetamiento, propiedades termodinámicas, propiedades cinéticas, propiedades superficiales, propiedades mecánicas, propiedades de filtración o pureza química ventajosas con respecto a otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. También se cree que las formas cristalinas solvatadas colectivamente pueden ofrecer diversas tasas de disolución diferentes en, por ejemplo, formas de dosificación sólidas. Cuando se usan directamente en composiciones farmacéuticas, las formas cristalinas solvatadas preferiblemente son sustancialmente exclusivas de disolventes que no son farmacéuticamente aceptables.

En algunas realizaciones, la forma cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida comprende el solvato cristalino S1 de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Los métodos ilustrativos para preparar el solvato cristalino S1 de acetato de etilo incluyen, por ejemplo, los mostrados en los Ejemplos 3 (Parte E), 6, 8 y 9. Los métodos para preparar el solvato cristalino S1 de etanol incluyen, por ejemplo, el método mostrado en el Ejemplo 17. y los métodos para preparar el solvato cristalino S1 de dietil cetona incluyen, por ejemplo, el método mostrado en el Ejemplo 18. El solvato cristalino S1 de acetato de etilo, por ejemplo, es útil como un intermedio para preparar otras formas de estado sólido. La **Tabla 2** resume los ejemplos de tales métodos.

Tabla 2

Uso de Solvato Cristalino de Acetato de Etilo para Preparar Otras Formas cristalinas de 20,23-Dipiperidinil-5-O-Micaminosil-Tilonolida		
Forma cristalina preparada a partir de solvato S1	Ejemplo del método que puede usarse	Ilustraciones del método de Ejemplo
Polimorfo de Forma I	Combinar cristales de solvato S1 de acetato de etilo con heptano, calentar la mezcla resultante y retirar el heptano	Ejemplo 3, Parte F
Polimorfo de Forma III	Secar cristales de solvato S1 de acetato de etilo al vacío	Ejemplos 7 y 10
Polimorfo de Forma IV	Combinar cristales de S1 acetato de etilo con heptano; calentar la mezcla resultante a al menos, por ejemplo, aproximadamente 80 °C durante un periodo de tiempo prolongado con agitación; y retirar el heptano	Ejemplo 23

5 En algunas realizaciones, la forma cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida el solvato cristalino S2 de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Los métodos para preparar el solvato cristalino S2 incluyen, por ejemplo, el método mostrado en el **Ejemplo 19**. Se contempla que el solvato cristalino S2 (es decir, la forma cristalina solvatada de tBME) puede ser particularmente adecuada para su uso directamente en composiciones farmacéuticas. Este solvato cristalino muestra estabilidad a, por ejemplo, 60 °C a 1 mbar (absoluto) durante 1 día.

10 En algunas realizaciones, la forma cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida el solvato cristalino S3 de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Los métodos para preparar el solvato cristalino S3 incluyen, por ejemplo, el método mostrado en el **Ejemplo 20**.

15 En algunas realizaciones, la forma cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida comprende el solvato cristalino S4 de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Los métodos para preparar el solvato cristalino S4 de acetato de metilo incluyen, por ejemplo, el método mostrado en el **Ejemplo 21**. y los métodos para preparar el solvato cristalino S4 de formiato de etilo incluyen, por ejemplo, el método mostrado en el **Ejemplo 22**.

20 Algunas realizaciones de esta invención están dirigidas a composiciones que comprenden 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en las que al menos una cantidad detectable de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es una de las formas cristalinas de solvato referenciadas anteriormente. En algunas realizaciones, por ejemplo, al menos aproximadamente un 50 % (o al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 99 % o al menos aproximadamente un 99,9 %) de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es la forma de solvato cristalino. En algunas de tales realizaciones, al menos aproximadamente un 50 % (o al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 99 % o al menos aproximadamente un 99,9 %) de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es el solvato cristalino S1 de acetato de etilo. En otras realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición está en una de las formas de solvato cristalino enumeradas anteriormente. En otras realizaciones más, la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición está sustancialmente en fase pura como para una de las formas de solvato cristalino descritas anteriormente. En algunas de tales realizaciones, por ejemplo, la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es solvato cristalino S1 de acetato de etilo en fase sustancialmente pura.

35 En otras realizaciones, la invención se dirige a una combinación de dos o más formas de estado sólido seleccionadas entre el grupo que consiste en el polimorfo de Forma I, el polimorfo de Forma II, el polimorfo de Forma III, el polimorfo de Forma IV y las formas cristalinas solvatadas de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Tales combinaciones pueden ser útiles, por ejemplo, en la preparación de composiciones farmacéuticas sólidas que tengan diversos perfiles de disolución, incluyendo composiciones de liberación controlada. En una realización, una combinación comprende el Polimorfo de Forma I en al menos una cantidad detectable, siendo el resto de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida una o más formas de estado sólido seleccionadas entre el grupo que consiste en el polimorfo de Forma II, polimorfo de Forma III, polimorfo de Forma IV y formas cristalinas solvatadas. En otra realización, la combinación comprende el polimorfo de Forma II en al menos una cantidad detectable, siendo el resto de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida una o más formas de estado sólido seleccionadas entre el grupo que consiste en el Polimorfo de Forma I, polimorfo de Forma III, polimorfo de Forma IV y formas cristalinas solvatadas. En otra realización, la combinación comprende el polimorfo de Forma III en al menos una cantidad detectable, siendo el resto de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida una o más formas de estado sólido seleccionadas entre el grupo que consiste en el Polimorfo de Forma I, polimorfo de Forma II, polimorfo de Forma IV y formas cristalinas solvatadas. En otra realización más, la combinación comprende el polimorfo de Forma IV en al menos una cantidad detectable, siendo el resto de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida una o más formas de estado sólido seleccionadas entre el grupo que consiste en el Polimorfo de Forma I, polimorfo de Forma II, polimorfo de Forma III y formas cristalinas solvatadas.

Dependiendo del uso pretendido de la forma de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, las consideraciones de procesamiento pueden favorecer la selección de una forma de estado sólido específica o una

combinación específica de tales formas de estado sólido. La facilidad de preparación de formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (o formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida que tienen una pureza de fase mínima) se diferencian generalmente de una forma de estado sólido a otra.

5 Caracterización de Formas de Estado Sólido

Técnicas

10 Las muestras de las formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida preparadas de acuerdo con esta invención se caracterizaron usando varias técnicas diferentes. Estas técnicas incluyen las siguientes.

15 Se obtuvieron espectros de difracción de rayos X en polvo ("PXRD") para todas las muestras salvo el polimorfo de Forma IV con un difractor de rayos X Bruker D8 Advance usando radiación de $\text{CuK}\alpha$ (longitudes de onda para el cálculo de valores d : $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$); polvo del tubo 35 kV/45 mA; un detector VANTEC1; y a un tamaño de etapa de $0,017^\circ 2\theta$, 105 ± 5 segundos por etapa y un intervalo de exploración de 2° - $50^\circ 2\theta$. Se usaron portamuestras de un solo cristal de silicio que tenían un diámetro interno de 12 mm y una profundidad de 0,1 mm. El espectro de PXRD para el polimorfo de Forma IV se obtuvo con un difractor de rayos X Siemens D5000 usando software Diffract Plus, un tamaño de etapa de $0,04^\circ 2\theta$, un tiempo de 2 segundos por etapa, un intervalo de exploración de $5,0^\circ$ - $80,0^\circ 2\theta$, la rendija de divergencia se ajustó a V20, la rendija anti dispersión se ajustó a V20, la rotación de detector de ranura de salida, tensión de generador 40 kV, corriente del generador 30 mA, un contador de centelleo de alta sensibilidad y un tubo de rayos X de Cu.

25 Se obtuvieron espectros de Raman por transformada de Fourier ("TF-Raman") con un espectrómetro Bruker RFS100 FT-Raman con un láser Nd:YAG usando longitud de onda de excitación de 1064 nm, una energía de láser de 100 mW, un detector de Ge, 64 exploraciones, un intervalo de 50 - 3500 cm^{-1} , una resolución de 2 cm^{-1} y un portamuestras de aluminio.

30 Se obtuvieron mediciones de termogravimetría acoplada a espectroscopía de infrarrojos por transformada de Fourier ("TG-FTIR") usando un Netzsch Thermo-Microbalance TG 209 con un espectrómetro Bruker Vector 22 FT-IR usando un crisol de aluminio (con micro-hueco o abertura), una atmósfera de N_2 , una velocidad de calentamiento de $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ y un intervalo de temperaturas de 25 - $250 \text{ }^\circ\text{C}$.

35 Se obtuvieron mediciones de termogravimetría ("TG") con un analizador termogravimétrico Perkin Elmer TGS 2 usando un crisol de aluminio (abierto), una atmósfera de N_2 , una velocidad de calentamiento de $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ y un intervalo de temperaturas de 25 - $500 \text{ }^\circ\text{C}$.

40 Se obtuvieron mediciones de calorimetría de exploración diferencial ("DSC") para los polimorfos de Formas I, II y III con un calorímetro de exploración diferencial Perkin Elmer DSC 7 usando crisoles de oro; a una velocidad de calentamiento de $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$. Estas mediciones se realizaron en bandejas de muestras selladas herméticamente cerradas en una atmósfera de gas inerte (es decir, en ausencia de oxígeno) después de la retirada de cualquier disolvente residual o humedad. Una exploración se realizó con el Polimorfo de Forma I. Dicha exploración se realizó desde $-50 \text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $210 \text{ }^\circ\text{C}$. Dos exploraciones se realizaron para los polimorfos de Formas II y III, realizándose la primera exploración desde $-50 \text{ }^\circ\text{C}$ a $150 \text{ }^\circ\text{C}$, y realizándose la segunda exploración desde $-50 \text{ }^\circ\text{C}$ a $200 \text{ }^\circ\text{C}$. Se obtuvieron mediciones de DSC para el polimorfo de Forma IV con un Mettler DSC-822e usando un crisol de aluminio, aire como gas de cobertura, una velocidad de calentamiento de $10 \text{ K}/\text{min}$, un intervalo de calentamiento de 30 a $200 \text{ }^\circ\text{C}$ y un tamaño de muestra de 5 mg. Los solicitantes creen que la DSC es particularmente propensa a variaciones y por tanto debe usarse con cautela.

50 Se obtuvieron mediciones de sorción de vapor dinámica ("DVS") con un analizador de sorción de vapor de agua Projekt Messtechnik SPS11-100n. Las muestras se pusieron en crisoles de aluminio en una microbalanza, y se dejaron equilibrar a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ y humedad relativa del 50 % antes de iniciar el siguiente programa de humedad predefinida a $25 \text{ }^\circ\text{C}$: humedad relativa de 50 - 95 - 0 - $50 \text{ } \%$, y exploración con un cambio del 5 % en la humedad relativa por hora y periodos de equilibrado iso-húmedo a valores extremos.

55 Se obtuvieron espectros de infrarrojos ("IR") usando un espectrómetro Excalibur FT-IR de Portmann Instruments AG (ahora Varian). Se usaron dos técnicas. La primera técnica fue espectroscopía de infrarrojos reflexión total atenuada ("ATR"). Para obtener un espectro usando ATR, se puso una punta de espátula de muestra en el área de muestra de la célula de ATR (torsión $120 \text{ n} \cdot \text{cm}$), y los espectros de infrarrojos deseados se registraron desde 3600 a 700 cm^{-1} . La segunda muestra usó una muestra molida en nujol (es decir, una suspensión en nujol). Para obtener un espectro usando dicha muestra, una punta de espátula de muestra se molió a conciencia en un mortero con dos o tres gotas de nujol hasta que se obtuvo una pasta homogénea. La pasta, a su vez, se extendió sobre una placa de NaCl y se presionó con una segunda placa de NaCl para formar una película homogénea delgada. Para estas muestras, los espectros de infrarrojos se registraron desde 3600 a 600 cm^{-1} .

65 Finalmente, los solicitantes hicieron diversas observaciones con respecto a las formas y tamaños de las formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, y han resumido dichas observaciones más adelante.

Los solicitantes indican, sin embargo, que esta información debe usarse con precaución puesto que pueden existir otras formas y/o tamaños de las formas cristalinas, dependiendo del procedimiento usado para preparar las formas de estado sólido.

5 Polimorfo de Forma I

La siguiente discusión proporciona diversas características observadas del Polimorfo de Forma I.

i. Apariencia del Polimorfo de Forma I

10 El Polimorfo de Forma I estaba generalmente en forma de partículas pequeñas.

ii. Espectro de difracción de rayos X en polvo para el Polimorfo de Forma I

15 El espectro de PXRD observado para el Polimorfo de Forma I se muestra en la Figura 1, y los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 3**:

Tabla 3

Datos de Difracción de rayos X para el Polimorfo de Forma I			
Ángulo (grados 2θ)	Valor d (Å)	Intensidad (cps)	Intensidad Rel. (%)
5,0	17,673	34	36,0
5,6	15,781	84	87,8
9,0	9,826	50	52,2
10,5	8,425	26	26,7
11,2	7,900	14	14,3
12,6	7,025	59	62,3
13,5	6,559	35	37,0
13,7	6,463	58	60,7
14,4	6,151	36	37,7
14,6	6,067	49	51,3
15,5	5,717	38	39,3
15,8	5,609	21	21,7
16,1	5,505	62	65,0
16,4	5,405	48	50,6
16,6	5,340	31	32,0
16,8	5,277	95	100,0
17,8	4,983	83	86,9
18,1	4,901	94	98,3
18,3	4,848	61	63,6
19,3	4,599	29	30,6
19,6	4,529	75	78,3
20,3	4,375	51	53,8
20,6	4,311	36	38,2
21,1	4,210	22	23,1
21,6	4,114	43	45,1
22,5	3,952	30	31,5
23,1	3,850	15	15,9
24,3	3,663	24	25,2
24,8	3,590	19	19,8
25,1	3,548	18	19,2
26,5	3,363	14	14,5
28,1	3,175	15	16,2
31,7	2,823	12	12,3

20 Las propiedades características del espectro incluyen los picos iniciales a $2\theta = 5,0^\circ$ y $5,6^\circ$.

Con algunas muestras, el espectro de PXRD mostró contaminación hasta cierto punto con 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida amorfa. Se cree, sin embargo, que no había esencialmente ninguno de tal material amorfo en la muestra correspondiente al espectro de PXRD descrito anteriormente.

25 *iii. Espectro de TF-Raman para el Polimorfo de Forma I*

El Espectro de TF-Raman observado para el Polimorfo de Forma I se muestra en la Figura 2, y los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 4**:

5

Tabla 4

Datos de TF-Raman para el Polimorfo de Forma I	
Posición (cm⁻¹)	Intensidad
2935	0,234
2894	0,122
2788	0,038
1712	0,013
1683	0,022
1633	0,182
1596	0,330
1452	0,058
1394	0,023
1318	0,042
1295	0,036
1249	0,034
1206	0,027
1156	0,020
1118	0,029
1041	0,035
975	0,026
887	0,023
864	0,023
844	0,022
781	0,036
512	0,023
464	0,018
440	0,020
410	0,022
86	0,080

Las propiedades características del espectro incluyen picos intensos a 2935 cm⁻¹, 1633 cm⁻¹ y 1596 cm⁻¹; y picos más pequeñas a 1712 cm⁻¹, 1683 cm⁻¹ y 781 cm⁻¹.

10 *iv. Termogravimetría para el Polimorfo de Forma I*

La **Figura 3** muestra los resultados de un análisis de TG-FTIR del Polimorfo de Forma I. Una pérdida de peso del 0,6 % se observó en el intervalo de temperaturas desde 60 a 180 °C. Los solicitantes creen que esto es atribuible a pérdida de agua. Debido a la pequeña cantidad, los solicitantes creen además que esta pérdida de agua fue resultado del agua absorbida en la superficie en lugar de ser atribuible a un hidrato.

15

v. Calorimetría de exploración diferencial para el Polimorfo de Forma I

La **Figura 4** muestra los resultados de un análisis de DSC para el Polimorfo de Forma I. Existe un pico de fusión agudo a 195 °C con una entalpía de fusión de ΔH_{fus} de 57 J/g. Como se mostrará más adelante, estas son ambas mayores que los puntos de fusión y entalpías de fusión para el polimorfo de Forma II y el polimorfo de Forma III. En la **Figura 4**, la etapa Tg es apenas distinguible. Se cree que esto confirma que la muestra es más del 90 % cristalina.

20

Las muestras del Polimorfo de Forma I se analizaron independientemente para determinar el un punto de fusión. Las muestras que tenían una pureza de aproximadamente 98 % (p/p) mostraron un punto de fusión de 192 a 195 °C.

25

vi. Sorción de Vapor Dinámica para el Polimorfo de Forma I

La **Figura 5** muestra los resultados para un análisis DVS del Polimorfo de Forma I. Este análisis se realizó a 25 °C. Se observó una captación de agua máxima de menos del 1 % (en peso) a humedad relativa del 95 %.

30

vii. Espectro IR para el Polimorfo de Forma I

La **Figura 6** muestra un espectro de ATR-IR para el Polimorfo de Forma I y la **Figura 7** proporciona el espectro IR para el Polimorfo de Forma I en una suspensión de nujol. Los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 5**:

5

Tabla 5

Datos de IR para el Polimorfo de Forma I	
Frecuencias de bandas de absorción de IR intensas observadas con técnica ATR (cm⁻¹)	Frecuencias de bandas de absorción de IR intensas observadas con técnica de Nujol (cm⁻¹)
	3544
2932	se solapa con banda de vibración de nujol
1711	1712
1682	1683
1635	1635
1599	1599
1442	se solapa con banda de vibración de nujol
1404	1406
1373	se solapa con banda de vibración de nujol
1350	1351
1307	1309
1262	1263
1182	1187
	1123
1107	1108
1079	1082
1053	1054
1008	1009
985	986
958	960
	928
909	900
	877
	861
842	843
818	816
783	782
	722

Las propiedades características de los espectros, particularmente del espectro de ATR, incluyen bandas de absorción intensa a 2932 cm⁻¹, 1711 cm⁻¹, 1682 cm⁻¹, 1599 cm⁻¹, 1442 cm⁻¹, 1182 cm⁻¹, 1079 cm⁻¹, 1053 cm⁻¹, 1008 cm⁻¹, 985 cm⁻¹, 842 cm⁻¹ y 783 cm⁻¹, las bandas de absorción a 1711 cm⁻¹ y 1682 cm⁻¹ parecen ser particularmente únicas para este polimorfo. Las bandas de absorción a 1635 cm⁻¹, 1404 cm⁻¹ y 1182 cm⁻¹ también parecen ser particularmente únicas para este polimorfo.

10

Polimorfo de Forma II

15 La siguiente discusión proporciona diversas características observadas del polimorfo de Forma II.

i. Apariencia del Polimorfo de Forma II

20 El polimorfo de Forma II estaba generalmente en forma de cristales prismáticos con un tamaño de hasta varios cientos de micrómetros.

ii. Espectro de difracción de rayos X en polvo para el Polimorfo de Forma II

25 El espectro de PXRD observado para el polimorfo de Forma II se muestra en la Figura 8 y los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 6**:

Tabla 6

Datos de Difracción de rayos X para el Polimorfo de Forma II			
Ángulo (grados 2 θ)	Valor d (Å)	Intensidad (cps)	Intensidad Rel. (%)
6,5	13,598	250,71	100,0
8,7	10,164	86,09	34,3
9,7	9,118	29,90	11,9
9,9	8,934	35,38	14,1
12,4	7,138	34,12	13,6
13,0	6,810	43,56	17,4
15,0	5,906	55,07	22,0
15,8	5,609	44,94	17,9
16,1	5,505	19,86	7,9
16,3	5,438	22,40	8,9
17,0	5,216	85,44	34,1
17,9	4,955	30,02	12,0
18,1	4,901	56,47	22,5
19,7	4,506	50,08	20,0
20,0	4,439	125,24	50,0
21,3	4,171	43,10	17,2
24,9	3,576	14,93	6,0
26,3	3,389	12,77	5,1
27,4	3,255	15,40	6,1

Las propiedades características del espectro incluyen que el pico inicial y más intenso esté a $2\theta = 6,5^\circ$.

5 *iii. Espectro de TF-Raman para el Polimorfo de Forma II*

El Espectro de TF-Raman observado para el polimorfo de Forma II se muestra en la Figura 9, y los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 7**:

10

Tabla 7

Datos de TF-Raman para el Polimorfo de Forma II	
Posición (cm ⁻¹)	Intensidad
2929	0,435
1685	0,044
1625	0,550
1595	1,118
1451	0,114
1361	0,062
1311	0,100
1270	0,085
1248	0,100
1195	0,074
1117	0,060
1095	0,075
1023	0,073
984	0,047
925	0,051
873	0,058
783	0,084
513	0,063
379	0,066
87	0,198

Propiedades características del espectro incluyen picos intensos a 2929 cm⁻¹, 1625 cm⁻¹ y 1595 cm⁻¹, y picos más pequeños, pero agudos, a 1685 cm⁻¹ y 783 cm⁻¹.

15 *iv. Termogravimetría para el Polimorfo de Forma II*

La **Figura 10** muestra los resultados de un análisis de TG-FTIR del polimorfo de Forma II. Se observó una pérdida de peso del 0,7 %, principalmente en el intervalo de temperaturas de 50 a 100 °C. Los solicitantes creen que esto es atribuible a pérdida de agua. La descomposición comenzó a una temperatura de más de 220 °C.

5 *v. Calorimetría de exploración diferencial para el Polimorfo de Forma II*

La **Figura 11** muestra los resultados de un análisis de DSC del polimorfo de Forma II. La primera exploración (la línea continua) muestra un pico de fusión a 113 °C con una entalpía de fusión de $\Delta H_{fus} = 15$ J/g. La segunda exploración (la línea discontinua) muestra una temperatura de transición vítrea ("Tg") de 96,1 °C. No se observó recristalización.

Las muestras del polimorfo de Forma II se analizaron independientemente para determinar el punto de fusión. Las muestras que tenían una pureza de aproximadamente 96 % (p/p) mostraron un punto de fusión de 113 a 119 °C.

15 *vi. Sorción de Vapor Dinámica para el Polimorfo de Forma II*

La **Figura 12** muestra los resultados de un análisis DVS del polimorfo de Forma II. Este análisis se realizó a 25 °C. Se observó una captación máxima de agua de aproximadamente 2 % (en peso) a una humedad relativa del 95 %.

20 *vii. Espectro IR para el Polimorfo de Forma II*

La **Figura 13** muestra Espectro de ATR-IR para el polimorfo de Forma II, y la **Figura 14** proporciona el espectro IR para el polimorfo de Forma II en una suspensión de nujol. Los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 8**:

25

Tabla 8

Datos de IR para el Polimorfo de Forma II	
Frecuencias de bandas de absorción de IR intensas observadas con técnica ATR (cm⁻¹)	Frecuencias de bandas de absorción de IR intensas observadas con técnica de Nujol (cm⁻¹)
	3540
2935	se solapa con banda de vibración de nujol
1736	1741
1668	1669
	1626
1587	1591
1451	se solapa con banda de vibración de nujol
1372	se solapa con banda de vibración de nujol
1352	1349
1310	1313
	1302
1277	1277
1242	1245
	1217
	1187
1165	1166
	1116
1080	1087
1057	1058
1042	1044
1005	1005
981	980
966	966
934	933
910	908
	882
859	858
838	837
	811
781	780
755	755
	722

Las propiedades características de los espectros, particularmente del espectro de ATR, incluyen bandas de absorción intensa a 2935 cm⁻¹, 1736 cm⁻¹, 1668 cm⁻¹, 1587 cm⁻¹, 1451 cm⁻¹, 1165 cm⁻¹, 1080 cm⁻¹, 1057 cm⁻¹, 1042 cm⁻¹,

1005 cm⁻¹, 981 cm⁻¹, 838 cm⁻¹ y 755 cm⁻¹,

Polimorfo de Forma III

5 La siguiente discusión proporciona diversas características observadas del polimorfo de Forma III.

i. Apariencia del Polimorfo de Forma III

El polimorfo de Forma III estaba generalmente en forma de agujas finas.

10

ii. Espectro de difracción de rayos X en polvo para el Polimorfo de Forma III

El espectro de PXRD observado para el polimorfo de Forma III se muestra en la Figura 15, y los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 9**:

15

Tabla 9

Datos de Difracción de rayos X para el Polimorfo de Forma III			
Ángulo (grados 2θ)	Valor d (Å)	Intensidad (cps)	Intensidad Rel. (%)
5,6	15,781	36	17,3
6,1	14,489	209	100,0
8,3	10,653	54	25,8
11,0	8,043	44	21,2
12,2	7,255	40	19,2
13,2	6,707	45	21,4
13,7	6,463	21	9,8
14,2	6,237	26	12,4
15,2	5,829	16	7,9
15,7	5,644	53	25,2
16,1	5,505	19	9,2
16,8	5,277	105	50,1
17,9	4,955	28	13,3
18,2	4,874	22	10,6
18,9	4,695	37	17,8
19,6	4,529	17	8,1
20,5	4,332	86	41,1
21,6	4,114	44	21,2
22,5	3,952	20	9,4
24,3	3,663	14	6,6
26,0	3,427	15	7,1

Las propiedades características del espectro incluyen el pico más intenso estando a $2\theta = 6,1^\circ$, que está acompañado de un pico más pequeño a $2\theta = 5,6^\circ$. Se ha observado que la intensidad relativa de estos dos picos varía de lote en lote, como lo hacen las intensidades relativas de otros picos en el espectro. Tales variaciones no son poco comunes para PXRD. Con frecuencia, estas se originan desde efectos de orientación, particularmente en el contexto de cristales anisotrópicos (es decir, tipo aguja y placa). Estas variaciones, sin embargo, generalmente no incluyen la identificación de la forma polimórfica debido a que esta depende normalmente de las posiciones de pico en lugar de las intensidades.

20

iii. Espectro de TF-Raman para el Polimorfo de Forma III

El Espectro de TF-Raman observado para el polimorfo de Forma III se muestra en la Figura 16, y los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 10**:

30

Tabla 10

Datos de TF-Raman para el Polimorfo de Forma III	
Posición (cm ⁻¹)	Intensidad
2943	0,214
2917	0,199
2785	0,049
1733	0,014

(continuación)

Datos de TF-Raman para el Polimorfo de Forma III	
Posición (cm ⁻¹)	Intensidad
1669	0,038
1627	0,256
1590	0,447
1443	0,064
1314	0,040
1269	0,051
1257	0,037
1217	0,021
1193	0,037
1116	0,035
1094	0,043
1041	0,029
981	0,034
908	0,026
881	0,031
863	0,025
833	0,022
810	0,018
781	0,027
505	0,030
444	0,021
399	0,025
216	0,042
173	0,033
108	0,070
84	0,068

Las propiedades características del espectro incluyen picos intensos a 2943 cm⁻¹, 2917 cm⁻¹, 1627 cm⁻¹ y 1590 cm⁻¹, y picos más pequeños a 1733 cm⁻¹, 1669 cm⁻¹, 1193 cm⁻¹, 1094 cm⁻¹ y 981 cm⁻¹.

5

iv. Termogravimetría para el Polimorfo de Forma III

El análisis de TG-FTIR de una muestra mostró una pérdida de peso del 1,7 % hasta 220 °C, sucediendo la mayoría de la pérdida entre 50 y 120 °C. Se plantea la hipótesis de que esta pérdida de peso sea debida a agua o acetonitrilo en la muestra (la sensibilidad del detector IR para acetonitrilo es baja).

10

La Figura 17 muestra los resultados de un análisis TG del polimorfo de Forma III. Una pérdida de peso de menos del 0,05 % se observó hasta 200 °C. La descomposición comenzó a una temperatura de más de 270 °C.

v. Calorimetría de exploración diferencial para el Polimorfo de Forma III

La **Figura 18** muestra los resultados de un análisis de DSC del polimorfo de Forma III. La primera exploración (la línea continua) muestra un pico de fusión a 134 °C con una entalpía de fusión de $\Delta H_{fus} = 38$ J/g. Después de la refrigeración, el material se solidificó en el estado amorfo. La segunda exploración (la línea discontinua) muestra un Tg de 96 °C, recristalización y fusión de nuevo a 195 °C

20

Las muestras del polimorfo de Forma III se analizaron independientemente para determinar el punto de fusión. Las muestras que tenían una pureza de aproximadamente 99 % mostraron un punto de fusión de 122 a 126 °C.

vi. Sorción de Vapor Dinámica para el Polimorfo de Forma III

La **Figura 19** muestra los resultados de un análisis DVS del polimorfo de Forma III. Este análisis se realizó a 25 °C. Se observó una captación de agua de aproximadamente 6 % a humedad relativa entre el 70 y el 85 %.

vii. Espectro IR para el Polimorfo de Forma III

30

La **Figura 20** muestra Espectro de ATR-IR para el polimorfo de Forma III y la **Figura 21** proporciona el espectro IR para el polimorfo de Forma III en una suspensión de nujol. Los datos correspondientes se muestran en la siguiente Tabla 11:

Tabla 11

Datos de IR para el Polimorfo de Forma III	
Frecuencias de bandas de absorción de IR intensas observadas con técnica ATR (cm ⁻¹)	Frecuencias de bandas de absorción de IR intensas observadas con técnica de Nujol (cm ⁻¹)
	3541
2931	se solapa con banda de vibración de nujol
1732	1734
1667	1669
	1626
1590	1591
1453	se solapa con banda de vibración de nujol
1376	se solapa con banda de vibración de nujol
1350	1350
1304	1312
1277	1277
1256	1256
1217	1217
	1189
1165	1165
1081	1087
1057	1060
1046	
1005	1004
981	980
965	966
934	935
908	908
	881
859	
834	836
812	811
780	
756	757
722	

Las propiedades características de los espectros, particularmente del espectro de ATR, incluyen bandas de absorción intensa a 2931 cm⁻¹, 1732 cm⁻¹, 1667 cm⁻¹, 1590 cm⁻¹, 1453 cm⁻¹, 1165 cm⁻¹, 1081 cm⁻¹, 1057 cm⁻¹, 1046 cm⁻¹, 1005 cm⁻¹, 981 cm⁻¹, 834 cm⁻¹ y 756 cm⁻¹.

Polimorfo de Forma IV

La siguiente discusión proporciona diversas características observadas del polimorfo de Forma IV.

i. Espectro de difracción de rayos X en polvo para el Polimorfo de Forma IV

El espectro de PXRD observado para el polimorfo de Forma IV se muestra en la Figura 22 y los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 12**:

Tabla 12

Datos de Difracción de rayos X para el Polimorfo de Forma IV			
Ángulo (grados 2θ)	Valor d (Å)	Intensidad (cps)	Intensidad Rel. (%)
6,232	14,171	135	6,4
6,848	12,898	367	17,5
8,653	10,211	709	33,8
10,16	8,7007	1650	78,7
10,64	8,3119	887	42,3
11,18	7,9106	706	33,7

(continuación)

Datos de Difracción de rayos X para el Polimorfo de Forma IV			
Ángulo (grados 2 θ)	Valor d (Å)	Intensidad (cps)	Intensidad Rel. (%)
11,95	7,4034	314	15,0
12,29	7,1957	253	12,1
13,84	6,3955	328	15,6
15,06	5,8779	804	38,3
15,49	5,7158	831	39,6
16,06	5,5147	1600	76,3
17,50	5,0638	2097	100
18,75	4,7291	1144	54,6
19,93	4,4510	1435	68,4
20,49	4,3321	1815	86,6
21,40	4,1473	1189	56,7
22,59	3,9328	838	40,0
23,50	3,7830	517	24,7
23,96	3,7118	745	35,5
25,06	3,5507	493	23,5
25,32	3,5147	522	24,9
25,74	3,4588	574	27,4
26,92	3,3091	464	22,1
27,83	3,2036	691	33,0
28,24	3,1576	470	22,4
29,02	3,0748	389	18,6
29,36	3,0396	335	16,0
30,92	2,8902	454	21,6
31,30	2,8554	506	24,1
32,42	2,7594	650	31,0
33,60	2,6649	361	17,2
35,38	2,5347	436	20,8
35,85	2,5027	390	18,6
36,66	2,4492	345	16,5
37,66	2,3869	426	20,3
38,63	2,3287	426	20,3

ii. Calorimetría de exploración diferencial para el Polimorfo de Forma IV

5 La **Figura 23** muestra los resultados de un análisis de DSC del polimorfo de Forma IV. La curva muestra un pico a 155 °C, que se cree que se corresponde con el polimorfo de Forma IV. La curva también muestra un pico a 191 °C, que se cree que se corresponde con el Polimorfo de Forma I. Se cree que la muestra contenía los polimorfos tanto de la Forma I como de la Forma IV, o que el polimorfo de Forma IV se convierte en el Polimorfo de Forma I durante el calentamiento.

10 Las muestras del polimorfo de Forma IV se analizaron independientemente para determinar el punto de fusión. Las muestras que eran aproximadamente una 90,0 % (p/p) puras mostraron un punto de fusión desde 149 a 152 °C.

iv. Espectro IR para el Polimorfo de Forma IV

15 La **Figura 24** muestra el espectro de ATR-IR para el polimorfo de Forma IV, y la **Figura 25** proporciona el espectro IR para el polimorfo de Forma IV en una suspensión de nujol. Los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 13**:

20

Tabla 13

Datos de IR para el Polimorfo de Forma IV	
Frecuencias de bandas de absorción de IR intensas observadas con técnica ATR (cm ⁻¹)	Frecuencias de bandas de absorción de IR intensas observadas con técnica de Nujol (cm ⁻¹)
3559	3568
2933	se solapa con banda de vibración de nujol

(continuación)

Datos de IR para el Polimorfo de Forma IV	
Frecuencias de bandas de absorción de IR intensas observadas con técnica ATR (cm ⁻¹)	Frecuencias de bandas de absorción de IR intensas observadas con técnica de Nujol (cm ⁻¹)
1743	1745
1668	1670
	1620
1584	1588
1448	se solapa con banda de vibración de nujol
	1441
	1394
1370	se solapa con banda de vibración de nujol
	1351
	1314
1307	
1272	1271
1259	1259
	1215
1195	1195
1165	1166
	1140
1118	1116
1075	1075
1060	
1045	1046
1010	1010
985	992
954	953
	936
	910
	872
	860
839	839
	810
785	784
757	756
	722

Las propiedades características de los espectros, particularmente del espectro de ATR, incluyen bandas de absorción intensa a 2933 cm⁻¹, 1743 cm⁻¹, 1668 cm⁻¹, 1584 cm⁻¹, 1448 cm⁻¹, 1165 cm⁻¹, 1075 cm⁻¹, 1060 cm⁻¹, 1045 cm⁻¹, 1010 cm⁻¹, 985 cm⁻¹, 839 cm⁻¹ y 757 cm⁻¹. La banda de absorción a 3559 cm⁻¹ parece ser particularmente única para este polimorfo.

Solvato Cristalino S1

10 La siguiente discusión proporciona diversas características observadas del solvato cristalino S1. Aunque los datos de PXRD y TF-Raman posteriores se corresponden con el solvato cristalino S1 de acetato de etilo, estos datos son generalmente aplicables a la caracterización de los solvatos cristalinos de dietil cetona y etanol, también porque son isomórficos con el solvato cristalino de acetato de etilo.

15 *i. Apariencia del S1 Solvato Cristalino de Acetato de Etilo*

El acetato de etilo solvato cristalino S1 estaba generalmente en forma de agujas finas, o cristales más grandes con una tendencia a rotura en fibras.

20 *ii. Espectro de difracción de rayos X en polvo para el Solvato Cristalino S1 de Acetato de Etilo*

El espectro de PXRD observado para el solvato cristalino S1 de acetato de etilo se muestra en la Figura 26 y los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 14**:

Tabla 14

Datos de Difracción de rayos X para Solvato Cristalino S1 de Acetato de Etilo			
Ángulo (grados 2 θ)	Valor d (Å)	Intensidad (cps)	Intensidad Rel. (%)
5,6	15,781	199	100,0
6,1	14,489	62	31,3
7,1	12,450	32	15,9
8,3	10,653	30	15,2
11,0	8,043	32	15,9
11,2	7,900	62	31,3
11,5	7,695	37	18,7
12,0	7,375	22	10,9
12,2	7,255	17	8,5
12,8	6,916	17	8,5
13,3	6,657	24	12,2
13,5	6,559	47	23,6
13,8	6,417	31	15,6
14,4	6,151	26	13,3
14,9	5,946	68	34,3
15,7	5,644	18	8,9
16,8	5,277	71	36,0
17,2	5,155	27	13,6
17,8	4,983	89	44,8
19,0	4,671	41	20,8
19,4	4,575	23	11,5
20,3	4,375	29	14,8
20,5	4,332	29	14,7
21,6	4,114	22	11,0
22,1	4,022	19	9,7
22,6	3,934	21	10,7
23,9	3,723	17	8,6
25,2	3,534	13	6,5

Las propiedades características del espectro incluyen picos iniciales a $2\theta = 5,6^\circ$ y $6,1^\circ$.

5

iii. Espectro de TF-Raman para el Solvato Cristalino S1 de Acetato de Etilo

El espectro observado de TF-Raman para el solvato cristalino S1 de acetato de etilo se muestra en la Figura 27 y los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 15**:

10

Tabla 15

Datos de TF-Raman para el Solvato Cristalino S1 de Acetato de Etilo	
Posición (cm ⁻¹)	Intensidad
2936	0,212
2877	0,098
2857	0,078
2775	0,040
1745	0,012
1669	0,029
1625	0,198
1586	0,363
1451	0,058
1392	0,022
1300	0,033
1271	0,039
1244	0,030
1215	0,021

(continuación)

Datos de TF-Raman para el Solvato Cristalino S1 de Acetato de Etilo	
Posición (cm ⁻¹)	Intensidad
1193	0,029
1118	0,028
1097	0,037
1040	0,034
1008	0,024
978	0,038
911	0,018
882	0,024
833	0,018
812	0,017
781	0,023
554	0,012
504	0,029
445	0,019
398	0,021
84	0,076

Las propiedades características del espectro incluyen picos intensos a 2936 cm⁻¹, 1625-1627 cm⁻¹ y 1586 cm⁻¹ y picos más pequeños, pero agudos, a 1745 cm⁻¹, 1669 cm⁻¹ y 978 cm⁻¹,

5

iv. Termogravimetría para Solvato Cristalinos S1

Las Figuras 28, 29 y 30 muestran los resultados de TG-FTIR para los solvatos cristalinos S1 de acetato de etilo, etanol y dietil cetona, respectivamente. Estos resultados confirman la existencia de solvatos cristalinos con aproximadamente una molécula de disolvente por molécula de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, asumiendo 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida esencialmente pura. El solvato cristalino S1 de acetato de etilo mostró una pérdida de peso de aproximadamente el 4,1 % resultante de la liberación de acetato de etilo. Esto se corresponde con una proporción molar de acetato de etilo con respecto a 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida de 0,36. El solvato cristalino S1 de etanol mostró una pérdida de peso de aproximadamente el 6,6 % hasta 200 °C resultante de la liberación de etanol (el solvato cristalino S1 también puede contener una pequeña cantidad de agua, que también puede haberse liberado). Esto se corresponde con una proporción molar de etanol con respecto a 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida de 1,1. Y el solvato cristalino S1 de dietil cetona mostró una pérdida de peso del 10 % resultante de la liberación de dietil cetona. Esto se corresponde con una proporción molar de dietil cetona con respecto a 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida de 1,0. Estos resultados se resumen en la Tabla 16:

10

15

20

Tabla 16

Resultados de TG-FTIR para Solvato Cristalinos S1		
Solvato Cristalino	Disolventes detectados	Moléculas de disolvente por molécula de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida
acetato de etilo	acetato de etilo agua	~0,4 acetato de etilo + 0,6 agua
etanol	etanol	1,1 etanol
dietil cetona	dietil cetona	1,0 dietil cetona

Para cada uno de los solvatos cristalinos, la pérdida de peso comienza a de 40 a 50 °C. Esto indica una estabilidad relativamente baja y es coherente con la observación de que el solvato cristalino de acetato de etilo puede, por ejemplo, convertirse fácilmente en el polimorfo de Forma III por secado al vacío a temperatura ambiente. Véase, por ejemplo, el Ejemplo 7. Los resultados para el solvato cristalino de acetato de etilo indican que la molécula de disolvente puede estar sustituida con agua, y es coherente con los resultados de DVS para el polimorfo de Forma III.

25

Solvato Cristalino S2

30

La siguiente discusión proporciona diversas características observadas del solvato cristalino S2.

i. Apariencia del S2 Solvato Cristalino de tBME

35

El solvato cristalino S2 de tBME estaba generalmente en forma de cristales pobremente definidos y no muestran una tendencia a rotura en fibras, en comparación con los cristales de solvato cristalino S1 de acetato de etilo.

ii. Solubilidad del Solvato Cristalino S2 de tBME en tBME

La solubilidad del solvato cristalino S2 de tBME en tBME es de entre 40 y 50 mg/ml. Por consiguiente, la solubilidad es al menos un orden de magnitudes inferior a la solubilidad del polimorfo de Forma II en tBME.

5 *iii. Espectro de difracción de rayos X en polvo para el Solvato Cristalino S2 de tBME*

El espectro de PXRD observado para el solvato cristalino S2 de tBME se muestra en la Figura 31 y los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 17**:

10

Tabla 17

Datos de Difracción de rayos X para el Solvato Cristalino S2 de tBME			
Angulo (grados 2θ)	Valor d (Å)	Intensidad (cps)	Intensidad Rel. (%)
6,1	14,489	54	73,5
8,6	10,282	20	26,8
9,5	9,309	13	17,3
10,0	8,845	52	71,7
10,3	8,588	56	77,4
10,9	8,117	16	21,5
12,3	7,196	18	24,0
13,5	6,559	39	53,7
13,8	6,417	20	27,1
14,4	6,151	24	33,4
14,7	6,026	23	32,0
15,6	5,680	23	31,4
15,9	5,574	34	46,5
16,4	5,405	38	52,1
17,0	5,216	70	95,4
17,2	5,155	28	38,1
18,0	4,928	33	45,9
18,6	4,770	73	100,0
18,8	4,720	35	48,3
19,3	4,599	35	48,0
20,1	4,418	58	79,9
21,3	4,171	16	21,3
21,5	4,133	16	21,4
22,3	3,986	15	20,3
22,6	3,934	13	18,1
23,0	3,867	13	18,1
23,3	3,818	13	17,4
24,1	3,693	18	24,8
25,8	3,453	14	19,7
26,4	3,376	12	17,0
28,1	3,175	11	15,7

Las propiedades características del espectro incluyen varios picos con intensidad similar a $2\theta = 6,1^\circ, 10,0^\circ, 10,3^\circ, 17,0^\circ, 18,6^\circ$ y $20,1^\circ$.

15 *iv. Espectro de TF-Raman para el Solvato Cristalino S2 de tBME*

El espectro observado de TF-Raman para el solvato cristalino S2 de tBME se muestra en la Figura 32 y los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 18**:

20

Tabla 18

Datos de TF-Raman para el Solvato Cristalino S2 de tBME	
Posición (cm⁻¹)	Intensidad
2928	0,369
2883	0,184
1674	0,049

(continuación)

Datos de TF-Raman para el Solvato Cristalino S2 de tBME	
Posición (cm ⁻¹)	Intensidad
1623	0,353
1587	0,701
1445	0,108
1393	0,039
1318	0,067
1296	0,056
1276	0,066
1244	0,089
1190	0,073
1154	0,034
1126	0,053
1069	0,051
1038	0,058
1007	0,040
979	0,044
890	0,040
838	0,033
780	0,056
728	0,063
503	0,045
439	0,035
418	0,035
85	0,128

Las propiedades características del espectro incluyen picos intensos a 2928 cm⁻¹, 1623 cm⁻¹ y 1587 cm⁻¹ y picos más pequeños, pero agudos, a 1674 cm⁻¹, 1244 cm⁻¹, 1190 cm⁻¹, 780 cm⁻¹ y 728 cm⁻¹.

5

v. Termogravimetría para el Solvato Cristalino S2 de tBME

La **Figura 33** muestra los resultados de TG-FTIR para una muestra del solvato cristalino S2 de tBME. Una pérdida de peso del de aproximadamente 8,7-10 % sucedió debida a liberación de tBME. Esta pérdida de peso se corresponde con 0,8-0,9 moléculas de tBME por molécula de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, asumiendo 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida pura. La mayoría de la pérdida de peso sucede por encima de 90 °C, con una etapa aguda cuando la temperatura aumenta a más de 100 °C. Por lo tanto, la mayoría de la pérdida de peso sucede a temperaturas superiores al punto de ebullición de tBME. El solvato cristalino tBME parece ser más estable que el solvato cristalino S1 de acetato de etilo. La estabilidad se confirmó por un experimento de desolvatación en el que no se observó ninguna pérdida de disolvente tras secado al vacío tanto a temperatura ambiente como a 70 °C.

10

15

Solvato Cristalino S3

La siguiente discusión proporciona diversas características observadas del solvato cristalino S3.

20

i. Apariencia del Solvato Cristalino S3 de THF

El solvato cristalino S3 de THF estaba generalmente en forma de trozos irregulares y no muestran una tendencia a romper las fibras, en comparación de los cristales de solvato S1.

25

ii. Espectro de difracción de rayos X en polvo para el solvato cristalino S3 de THF

El espectro de PXRD observado para el solvato cristalino S3 de THF se muestra en la **Figura 34** y los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 19**:

30

Tabla 19

Datos de Difracción de rayos X para el Solvato Cristalino S3 de THF			
Ángulo (grados 2θ)	Valor d (Å)	Intensidad (cps)	Intensidad Rel. (%)
6,2	14,255	35	52,4
8,6	10,282	21	30,6

(continuación)

Datos de Difracción de rayos X para el Solvato Cristalino S3 de THF			
Ángulo (grados 2θ)	Valor d (Å)	Intensidad (cps)	Intensidad Rel. (%)
9,5	9,309	17	25,3
10,1	8,758	47	69,7
10,5	8,425	64	94,7
12,5	7,081	13	20,0
13,6	6,511	56	82,8
14,0	6,326	22	32,5
14,6	6,067	28	41,3
14,8	5,985	25	36,5
15,8	5,609	22	32,1
16,0	5,539	28	41,7
16,7	5,309	46	67,7
17,2	5,155	59	88,1
17,4	5,096	35	52,6
17,7	5,011	20	29,6
18,2	4,874	33	48,3
18,8	4,720	64	94,7
19,0	4,671	49	73,4
19,6	4,529	35	51,3
20,5	4,332	67	100,0
21,6	4,114	17	25,4
22,8	3,900	16	23,1
23,6	3,770	13	19,6
24,5	3,633	14	20,6
26,2	3,401	12	17,8
27,4	3,255	10	15,4

Las propiedades características del espectro incluyen varios picos con intensidad similar a $2\theta = 6,2^\circ, 10,1^\circ, 10,5^\circ, 13,6^\circ, 16,7^\circ, 17,2^\circ, 18,8^\circ$ y $20,5^\circ$.

5

iii. Espectro de TF-Raman para el Solvato Cristalino S3 de THF

El Espectro de TF-Raman observado para el solvato cristalino S3 de THF se muestra en la Figura 35 y los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 20**

10

Tabla 20

Datos de TF-Raman para el Solvato Cristalino S3 de THF	
Posición (cm⁻¹)	Intensidad
2928	0,340
2883	0,192
1673	0,051
1622	0,405
1586	0,828
1451	0,111
1394	0,039
1318	0,074
1296	0,066
1269	0,073
1244	0,092
1191	0,080
1127	0,057
1067	0,052
1040	0,066
980	0,051
910	0,052
890	0,045
839	0,036

(continuación)

Datos de TF-Raman para el Solvato Cristalino S3 de THF	
Posición (cm ⁻¹)	Intensidad
782	0,057
503	0,041
438	0,037
419	0,036
100	0,138

Las propiedades características del espectro incluyen picos intensos a 2928 cm⁻¹, 1622 cm⁻¹ y 1586 cm⁻¹ y picos más pequeños, pero agudos, a 1673 cm⁻¹, 1244 cm⁻¹, 1191 cm⁻¹ y 782 cm⁻¹

5

iv. Termogravimetría para el Solvato Cristalino S3 de THF

La **Figura 36** muestra los resultados de TG-FTIR para el solvato cristalino S3 de THF. La mayoría de la pérdida de peso sucedió a temperaturas que eran mayores que el punto de ebullición de THF. Específicamente, menos del 10 % de la pérdida de peso sucedió desde 60 a 100 °C, mientras que aproximadamente el 80 % de la pérdida sucedió desde 110 a 180 °C. Los resultados muestran una pérdida de peso de aproximadamente 8,1 % sucediendo a temperaturas mayores a 100 °C debido a la liberación de THF. Esto se corresponde a aproximadamente 0,8 moléculas de THF por molécula de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, asumiendo 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida esencialmente pura.

10

15

Solvato Cristalino S4

La siguiente discusión proporciona diversas características observadas del solvato cristalino S4. Aunque los datos de PXRD y TF-Raman posteriores se corresponden con el solvato cristalino S4 de acetato de metilo, estos datos son generalmente aplicables a la caracterización del solvato cristalino de formiato de etilo así como debido a su isomorfismo con el solvato cristalino de acetato de metilo.

20

i. Apariencia del Solvato Cristalino S4 de Acetato de Metilo

El acetato de solvato cristalino S4 de metilo contenía algunos cristales prismáticos bien desarrollados. Los cristales no mostraron ninguna tendencia a la rotura en las fibras, en comparación con los cristales de solvato S1.

25

ii. Espectro de difracción de rayos X en polvo para el Solvato Cristalino S4 de Acetato de Metilo

El espectro de PXRD observado para el solvato cristalino S4 de acetato de metilo se muestra en la **Figura 37** y los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 21**:

30

Tabla 21

Datos de Difracción de rayos X para el Solvato Cristalino S4 de Acetato de Metilo			
Ángulo (grados 2θ)	Valor d (Å)	Intensidad (cps)	Intensidad Rel. (%)
6,3	14,029	144	66,5
8,7	10,164	44	20,3
9,5	9,309	25	11,7
10,1	8,758	88	40,6
10,5	8,425	90	41,3
11,0	8,043	44	20,2
11,7	7,563	24	11,2
12,6	7,025	44	20,3
13,1	6,758	26	11,9
13,6	6,511	54	25,1
13,9	6,371	40	18,5
14,1	6,281	49	22,4
14,8	5,985	120	55,3
15,8	5,609	50	23,2
16,8	5,277	109	50,1
17,4	5,096	161	74,0
18,0	4,928	71	32,7

(continuación)

Ángulo (grados 2 θ)	Valor d (Å)	Intensidad (cps)	Intensidad Rel. (%)
18,9	4,695	217	100,0
19,8	4,484	73	33,4
20,5	4,332	49	22,6
20,9	4,250	145	66,6
21,8	4,077	36	16,6
22,5	3,952	26	12,0
23,5	3,786	58	26,8
24,2	3,678	23	10,4
25,0	3,562	41	18,8
26,6	3,351	34	15,7
27,8	3,209	23	10,4
28,5	3,132	29	13,4
29,7	3,008	25	11,7
32,7	2,739	17	7,7

Las propiedades características del espectro incluyen varios picos con intensidad similar a $2\theta = 6,3^\circ, 10,1^\circ, 10,5^\circ, 14,8^\circ, 16,8^\circ, 17,4^\circ, 18,9^\circ$ y $20,9^\circ$.

5

iii. Espectro de TF-Raman para el Solvato Cristalino S4 de Acetato de Metilo

El Espectro de TF-Raman observado para el solvato cristalino S4 de acetato de metilo se muestra en la Figura 38 y los datos correspondientes se muestran en la siguiente **Tabla 22**:

10

Tabla 22

Posición (cm ⁻¹)	Intensidad
2949	0,205
2934	0,223
1740	0,019
1671	0,034
1619	0,242
1581	0,468
1452	0,075
1394	0,027
1318	0,047
1296	0,045
1269	0,048
1243	0,058
1191	0,054
1155	0,024
1128	0,038
1091	0,037
1040	0,048
1008	0,031
981	0,041
889	0,028
864	0,023
841	0,039
815	0,017
782	0,039
641	0,021
502	0,026
436	0,027
419	0,024
92	0,100

Las propiedades características del espectro incluyen picos intensos a 2949 cm⁻¹, 2934 cm⁻¹, 1619-1621 cm⁻¹ y 1581-1584 cm⁻¹ y picos más pequeños, pero agudos, a 1671 cm⁻¹, 1243 cm⁻¹, 1191 cm⁻¹, 981 cm⁻¹ y 782 cm⁻¹.

iv. Termogravimetría para Solvato Cristalinos S4

5 Las **Figuras 39 y 40** muestran los resultados de TG-FTIR para los solvatos cristalinos S4 de acetato de metilo y formiato de etilo, respectivamente. Estos resultados confirman la existencia de los solvatos cristalinos. Para el solvato cristalino de acetato de metilo, hubo una pérdida de peso de aproximadamente 8,4 % debido a la liberación de acetato de metilo. Y para el solvato cristalino de formiato de etilo, hubo una pérdida de peso de aproximadamente 7,7 %.

10 Basado en los resultados obtenidos, se estimó que el solvato cristalino de acetato de metilo tiene aproximadamente 0,9 moléculas de acetato de metilo por molécula de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, u el solvato cristalino de formiato de etilo tiene de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 0,8 moléculas de formiato de etilo por molécula de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Ambas de estas estimaciones se asume que son 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida esencialmente pura. Menos del 10 % de la pérdida de peso sucedió de 70 a 110 °C para el solvato cristalino de acetato de metilo y de 60 a 90 °C para el solvato cristalino de formiato de etilo. Para ambos solvatos cristalinos, la desolvatación sucedió rápidamente. La desolvatación estaba casi completa a 160 °C para el solvato cristalino de acetato de metilo y 130 °C para el solvato cristalino de formiato de etilo.

B. Preparación de los medicamentos y métodos para el tratamiento utilizando macrólidos

20 Se pueden utilizar diversas formas cristalinas de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida descritas anteriormente, por ejemplo para tratar la pasteurelosis en animales, en particular en animales de producción y aves de corral. En algunas realizaciones, la forma (o formas) cristalina de macrólido se utiliza para tratar animales bovinos que tienen enfermedad respiratoria bovina (ERB) asociada con *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* e *Histophilus somni*. En otras realizaciones, la forma (o formas) cristalina de macrólido se utiliza para tratar animales porcinos que tienen enfermedad respiratoria porcina asociada con *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* y *Bordetella bronchiseptica*.

30 En general, se administra al animal destinatario una cantidad terapéuticamente eficaz del macrólido. Como se utiliza en la presente patente, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" constituye una cantidad que es suficiente para prevenir, reducir el riesgo de, retrasar el inicio de, mejorar, suprimir o erradicar una infección por un patógeno (o patógenos) que es el objetivo. En general, la cantidad terapéuticamente eficaz se define como la cantidad necesaria para conseguir una concentración eficaz para controlar al patógeno (o patógenos) que es el objetivo en el sitio de infección (o, cuando se utiliza para prevenir, reducir el riesgo de, o retrasar el inicio de, infección en el sitio susceptible de infección). La concentración en el sitio de infección (o en el sitio susceptible de infección) preferentemente es al menos equivalente al nivel de la CIM₉₀ (concentración inhibitoria mínima, es decir, la concentración que inhibe el crecimiento del 90 % del patógeno que es el objetivo) del macrólido para el patógeno que es el objetivo. Tal cantidad puede administrarse al animal destinatario en dos o más dosis separadas, aunque preferentemente se administra en una dosis única. En la medida en que el macrólido se administre junto con otro principio activo (o principios activos), la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se dirige a las cantidades totales de macrólido y de otro principio activo (o principios activos) que juntas sean suficiente para prevenir, reducir el riesgo de, retrasar el inicio de, mejorar, suprimir o erradicar, una infección por un patógeno (o patógenos) que es el objetivo.

45 Los factores que afectan el régimen de dosificación preferente incluyen el tipo (por ejemplo, la especie y raza), la edad, el peso, el sexo, la dieta, la actividad y el estado del animal destinatario; la gravedad de la patología; el aparato utilizado para administrar la composición; así como el tipo de administración utilizado; las consideraciones farmacológicas tales como la actividad, la eficacia, la farmacocinética y los perfiles de toxicología de la composición particular administrada; la existencia de un principio activo (o principios activos) adicional en la composición y de si la composición se administra como parte de una combinación de fármacos y/o una vacuna combinada. Por lo tanto, la dosificación realmente empleada puede variar para los pacientes animales específicos y, por lo tanto, puede desviarse de las dosificaciones típicas expuestas anteriormente. En general, la determinación de tales ajustes de la dosificación utilizando medios convencionales está dentro de las habilidades de los técnicos en la materia.

55 En general, el macrólido puede administrarse una vez a un animal, aunque se contempla que en cambio pueda administrarse múltiples veces.

60 Para el ganado vacuno la cantidad total de macrólido administrado normalmente es desde aproximadamente 0,1 a aproximadamente 40 mg por kg de peso corporal, y más normalmente desde aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la cantidad administrada al ganado vacuno es de aproximadamente 4 mg por kg de peso corporal. Aunque el macrólido puede proporcionarse al ganado a cualquier edad, en algunas realizaciones el macrólido se administra al ganado vacuno que tiene desde aproximadamente 1 mes hasta aproximadamente 1,5 años de edad, o desde aproximadamente 6 meses hasta aproximadamente 1 año. En algunas realizaciones, el macrólido se administra a terneros destetados que están entrando en los corrales de engorde (a menudo aproximadamente a los 6 meses de edad). En aún otras realizaciones, el ganado vacuno son terneros desde aproximadamente 2 hasta aproximadamente 12 semanas de edad, y el macrólido se administra para la profilaxis a una dosificación desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal o para el

tratamiento de una infección existente a una dosificación desde aproximadamente 2 hasta aproximadamente 20 mg por kg de peso corporal.

5 Para cerdos, la cantidad total de macrólido administrado normalmente es desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 50 mg por kg de peso corporal y más normalmente desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la cantidad administrada a los cerdos es de aproximadamente 4 mg por kg de peso corporal. En otras realizaciones, la cantidad administrada a los cerdos es de aproximadamente 5 mg por kg de peso corporal. Aunque el macrólido puede proporcionarse a los cerdos a cualquier edad, en algunas realizaciones el macrólido se administra a cerdos de crecimiento-acabado.

10 El método de administración puede variarse dependiendo de los animales, pero en el caso de mamíferos grandes tales como el ganado bovino, los cerdos y los caballos, se administra preferentemente por vía oral o parenteral. "Administración parenteral" incluye, por ejemplo, inyecciones subcutáneas, inyecciones intravenosas, inyecciones intramusculares, inyecciones intraesternales, inyecciones submucosales e infusión. En algunas realizaciones, por ejemplo, el animal destinatario es un animal bovino, y la composición de macrólidos se administra por vía subcutánea, tal como en el cuello. En otras realizaciones, por ejemplo, el animal destinatario es un animal porcino, y la composición de macrólido se administra por vía intramuscular.

15 La forma (o formas) de macrólido cristalina puede utilizarse para formar una composición farmacéutica (o "medicamento"). Se contempla que tal composición pueda comprender en su totalidad una o más de tales formas de macrólido cristalinas. Normalmente, sin embargo, la composición comprende también otros ingredientes.

20 Otros ingredientes en la composición pueden comprender, por ejemplo, otros principios activos. Como alternativa (o además), tales otros ingredientes pueden comprender uno o más transportadores, vehículos y/o adyuvantes farmacéuticamente aceptables (denominados de forma colectiva como "excipientes"). La selección de tales excipientes dependerá de diversos factores, tales como el modo de administración; el aparato utilizado para administrar la composición; las consideraciones farmacológicas, tal como la actividad, eficacia, farmacocinética y los perfiles de toxicología de la composición particular; la existencia de un principio activo (o principios activos) adicional en la composición y si la composición se administra como parte de una combinación de fármacos y/o una vacuna combinada.

25 Las composiciones de macrólido sólidas puede comprender, por ejemplo, sacáridos tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata; derivados de celulosa, tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; etc.

30 Las composiciones de macrólido líquidas pueden comprender y pueden estar presentes, por ejemplo, agua, solución salina fisiológica isotónica, solución de Ringer, alcohol etílico y/o solución tamponadora fosfato. Tales composiciones también pueden comprender aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja, y/o alcoholes polihídricos tales como el glicerol, el propilenglicol, el sorbitol, el manitol, el polietilenglicol y el poli(etilenglicol-2-propilenglicol-2-poli(etilenglicol)). También, por ejemplo, en algunos casos puede ser conveniente para la composición comprender uno o más conservantes. La presencia de un conservante puede, por ejemplo, proporcionar el beneficio a las composiciones o disolventes de poder almacenarse durante periodos prolongados de tiempo, por ejemplo, durante días, semanas, meses o años. Cuando se selecciona un conservante adecuado, los factores a considerar incluyen, por ejemplo, su actividad antimicrobiana; el intervalo de pH al que tiene la actividad antimicrobiana deseada; la concentración mínima a la que tiene la actividad antimicrobiana deseada; su solubilidad acuosa y otras características físicas (por ejemplo, el potencial para provocar espumado); su idoneidad para el uso parenteral; sus posibles interacciones con el principio activo (o principios activos) (por ejemplo, su efecto sobre la solubilidad de un principio activo); sus interacciones posibles con principios no activos (por ejemplo, su efecto sobre la estabilidad del disolvente) y cualquiera de las regulaciones oficiales que puedan ser aplicables en el lugar donde la composición o disolvente se fabrica, comercializa o utiliza. Los conservantes contemplados incluyen, por ejemplo, parabenos, propilenglicol, cloruro de benzalconio, feniletanol, clorocresol, metacresol, etanol, fenoxietanol y alcohol bencílico.

35 Se puede encontrar una discusión adicional con respecto a los excipientes farmacéuticamente aceptables que puedan ser adecuados para la composición de macrólido en, por ejemplo, "Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy" (20ª Edición, 2000) (incorporada como referencia en la presente patente). Como ejemplificación, otros excipientes adecuados puede incluir, por ejemplo, agentes colorantes; agentes saborizantes y agentes espesantes, tales como povidona, carboximetilcelulosa y/o hidroxipropilmetilcelulosa.

40 Normalmente, el macrólido ocupa al menos aproximadamente el 0,5 % en peso de la composición farmacéutica. Por ejemplo, en algunas realizaciones para su uso en cerdos, las concentraciones adecuadas de macrólido para la administración parenteral pueden ser, por ejemplo, desde aproximadamente 5 a aproximadamente 500 mg/ml, desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 100 mg/ml o desde aproximadamente 20 hasta aproximadamente 60 mg/ml (por ejemplo, aproximadamente 40 mg/ml). Como ejemplificación adicional, en algunas realizaciones para el uso en bovinos, las concentraciones de macrólido adecuadas para la administración parenteral pueden ser, por ejemplo, desde aproximadamente 5 mg/ml hasta aproximadamente 2,0 g/ml, desde aproximadamente 10 mg/ml hasta

aproximadamente 1,0 g/ml, 50 hasta aproximadamente 500 mg/ml o desde aproximadamente 100 hasta aproximadamente 300 mg/ml (por ejemplo, 180 mg/ml).

Debe reconocerse que la concentración de macrólido puede variarse dependiendo de la forma de dosificación. Cuando, por ejemplo, el macrólido se administra por vía parenteral, la concentración de macrólido preferentemente es suficiente para proporcionar la cantidad terapéuticamente eficaz deseada del macrólido en un volumen que sea aceptable para la administración parenteral. El volumen máximo aceptable puede variar, dependiendo de, por ejemplo, el aparato utilizado para la administración, el tipo de administración parenteral, el tamaño del animal destinatario y el deseo subjetivo del usuario.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende una composición líquida formada mediante un proceso que comprende disolver la forma (o formas) cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en el excipiente (o excipientes). En otras realizaciones, la composición comprende una suspensión formada mediante un proceso que comprende suspender la forma (o formas) cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en el excipiente (o excipientes).

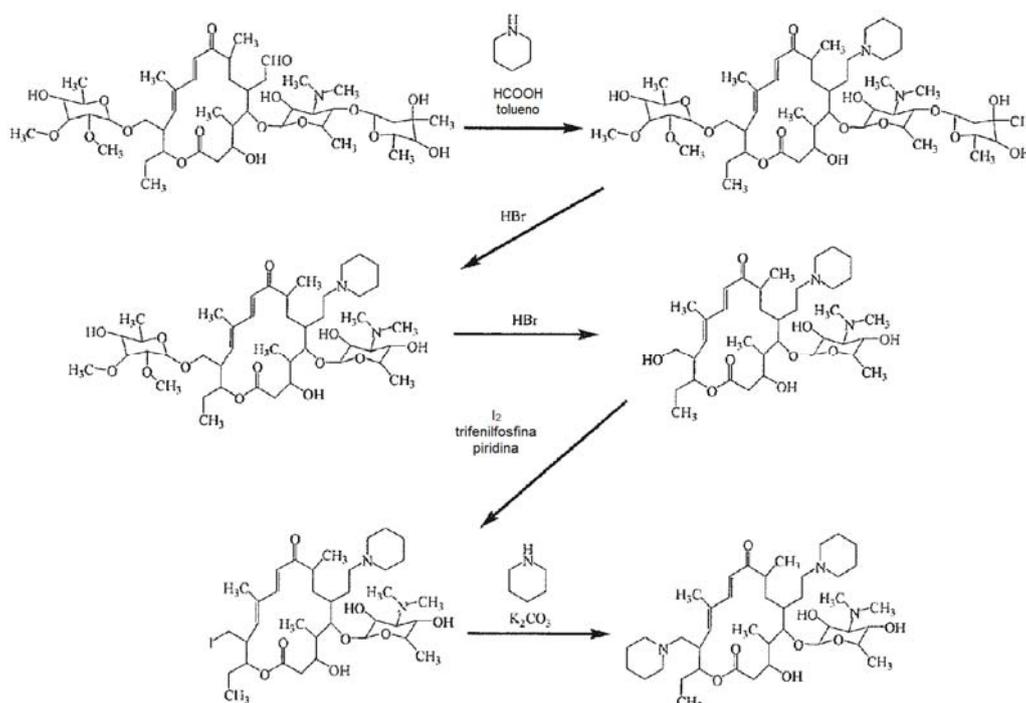
Se puede encontrar una discusión adicional con respecto al uso de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida y de derivados de la misma para tratar enfermedades de animales de producción y de aves de corral en, por ejemplo, la patente de Estados Unidos N.º 6.514.946. Como se indica anteriormente, la discusión se incorpora como referencia la presente patente.

Esta invención también se dirige a kits que son, por ejemplo, adecuados para uso en la realización de los métodos de tratamiento descritos anteriormente. En algunas realizaciones, el kit comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos una de las formas cristalinas descritas anteriormente de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz del polimorfo de Forma I), e instrucciones para la combinación de la forma cristalina con al menos un excipiente, tal como, por ejemplo, instrucciones para disolución o suspensión de la forma cristalina en un excipiente líquido. El kit puede comprender adicionalmente (o como alternativa) componentes adicionales, tales como, por ejemplo, uno o más aparatos (por ejemplo, una jeringa) para la administración de una composición que comprende (o se obtiene de) la forma (o formas) cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, uno o más materiales farmacéuticos o biológicos adicionales, uno o más excipientes y/o una o más herramientas de diagnóstico.

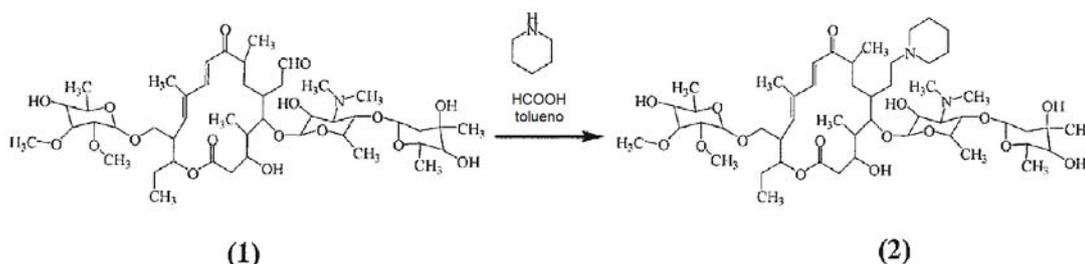
Ejemplos

Los siguientes ejemplos son meramente ilustrativos de realizaciones de la invención, y no limitan el resto de esta divulgación de ninguna manera.

Ejemplo 1. Preparación de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida a partir de tilosina A.

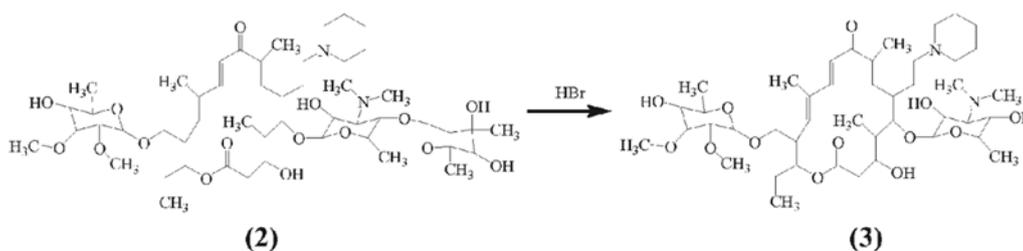


Parte A. Aminación reductora. Preparación de 23-O-Micinosil-20-Piperidinil-5-O-Micaminosil-Tilonolida, Compuesto (2).



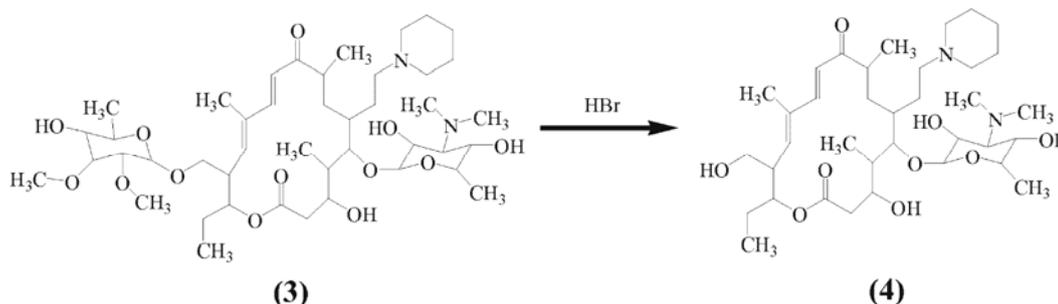
5 Se cargaron tolueno (19,2 kg), tilosina A (1) (3,68 kg; $\geq 80\%$ tilosina A; $\geq 95\%$ tilosina A, B, C y D), piperidina (0,40 kg) y ácido fórmico (0,55 kg) en un reactor. La mezcla se calentó a 70-80 °C, mientras se agitaba. Después, se continuó agitando a esa temperatura durante 1-2 horas más. La formación del compuesto (2) de 20-piperidinil-tilosina se controló por HPLC. Después de que se completara la reacción ($\leq 2\%$ tilosina A (1)), la mezcla de producto se enfrió a temperatura ambiente.

Parte B. Hidrólisis ácida de sustituyente de micarosiloxi. Preparación de 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, Compuesto (3).



15 Se añadió HBr (48 % de HBr diluido al 24 %) a la mezcla de producto de **Parte A** mientras se agitaba y se mantenía la mezcla a menos de 40 °C. Después de esto, las fases en la mezcla de producto se separaron usando un periodo de separación de fases de 20 minutos. La mezcla del producto estuvo a 20-25 °C durante esta separación de fases. La HPLC de la fase inferior se usó para confirmar la finalización de la reacción ($\leq 2\%$ de 20-piperidinil-tilosina, compuesto (2)).

Parte C. Hidrólisis ácida de sustituyente de micinosiloxi. Preparación de 23-Hidroxil-20-Piperidinil-5-O-Micamosil-Tilonolida (4).

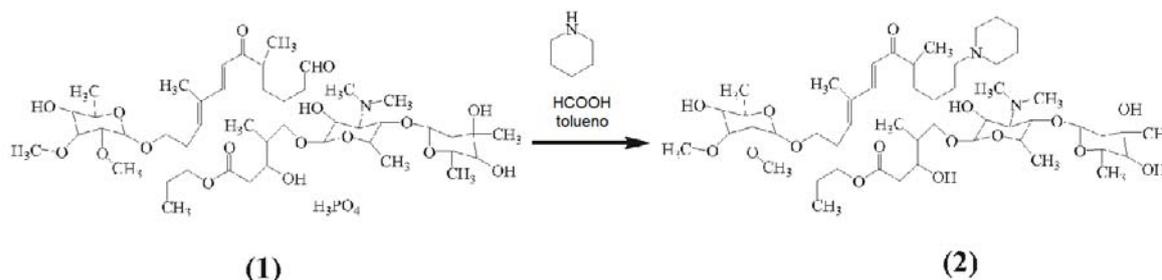


25
30 Se añadió un veinticuatro por ciento de HBr (18,4 l) a temperatura ambiente a la fase acuosa obtenida de la Parte B, seguido de calentamiento a 54 ± 3 °C en aproximadamente 1 hora mientras se agitaba. La agitación se continuó a esta temperatura durante 2-4 horas más, mientras la reacción se supervisaba usando HPLC. Después de la finalización de la reacción ($\leq 2\%$ de 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, compuesto (3)), la mezcla se enfrió a temperatura ambiente usando una camisa de refrigeración a -10 °C. Después de un periodo de refrigeración, la mezcla se extrajo tres veces con diclorometano (9,8 kg cada vez). El producto acuoso se enfrió a 4-8 °C, y después se añadió lentamente NaOH 6 N (33,6 kg) para ajustar el pH a ≥ 10 . La mezcla resultante se extrajo con diclorometano tres veces (con 32,6 kg, 29,3 kg y 24,5 kg) a temperatura ambiente. Las fases orgánicas combinadas se cargaron en un reactor separado. Se añadió sulfato sódico (2,9 kg; Na_2SO_4) y se retiró por filtración. Después, se añadió diclorometano (4,9 kg) y se retiró mediante destilación. El producto en bruto resultante se disolvió y se recristalizó dos

preparado de acuerdo con el procedimiento de la **Parte D**. Después, la mezcla resultante se calentó a 95-105 °C durante 15 horas. El tratamiento incluyó disolver el K₂CO₃ en agua; retirar el exceso de piperidina; extraer en HCl diluido; extraer en *terc*-butil metil éter a un pH de 11; realizar un cambio de disolvente a etanol; y precipitar, aislar y secar el producto en bruto. Después el producto se recrystalizó en acetato de metilo o acetato de etilo. La composición del producto se confirmó usando HPLC.

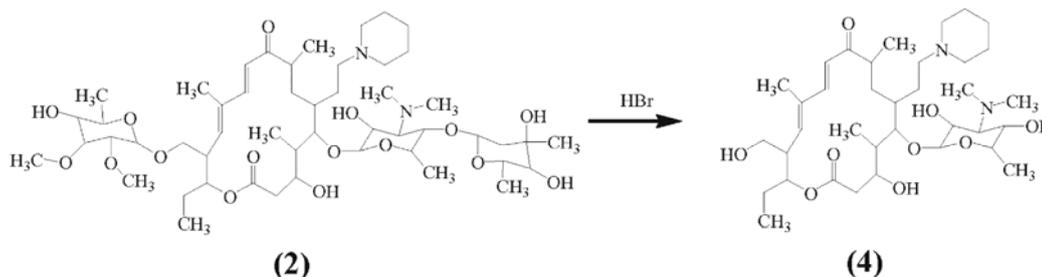
Ejemplo 3. Preparación del Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

Parte A. Aminación reductora. Preparación de 23-O-micinosil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, compuesto (2).



Se cargaron fosfato de tilosina (**1**) y diclorometano (1,3 l por kg de fosfato de tilosina) en un reactor. La mezcla resultante se agitó para producir una solución transparente. Después, se cargaron secuencialmente en el reactor piperidina (1,2 equiv., basado en el fosfato de tilosina), ácido fórmico (4,5 equiv., basado en el fosfato de tilosina) y tolueno (6,7 l por kg de fosfato de tilosina). La mezcla resultante se calentó a 76 °C mientras se agitaba. Después, se continuó agitando a esa temperatura durante 2,5 horas. Después, se cargó más cantidad de piperidina (0,1 equiv., basado en el fosfato de tilosina) y la mezcla resultante se agitó a 76 °C durante una hora más. La mezcla del producto se enfrió a 50 °C.

Parte B. Hidrólisis ácida de sustituyente de micarosiloxi. Preparación de 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (4).

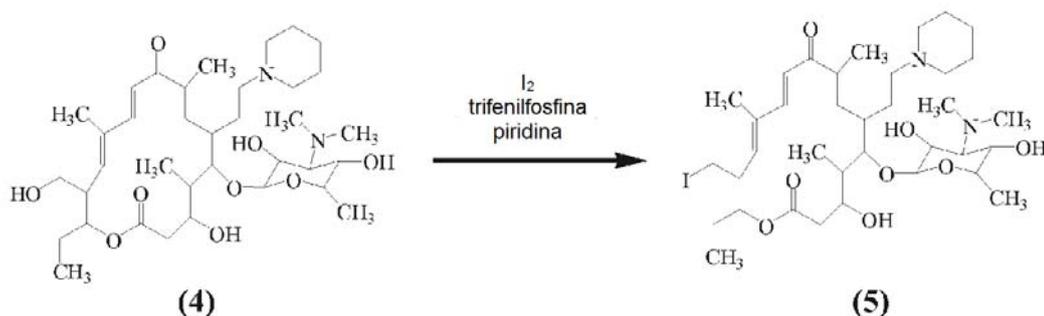


Se añadió HBr acuoso (23,3 equiv., basado en el fosfato de tilosina usado en la **Parte A**) a la mezcla de producto de la **Parte A** a 50 °C. La mezcla resultante se agitó a 56 °C durante 5 horas. Se usó HPLC para supervisar la reacción.

Una vez se obtuvo la conversión deseada, la mezcla de producto se enfrió. La fase acuosa se extrajo dos veces con diclorometano a 25-30 °C. Después, la fase acuosa se enfrió a 0 °C y el pH se ajustó a 10-10,5 con NaOH a ≤5 °C. Después, la fase acuosa se extrajo dos veces con diclorometano a 20 °C. Las fases orgánicas combinadas resultantes se extrajeron dos veces con NaHCO₃ acuoso. Después, el diclorometano se retiró de las fases orgánicas combinadas mediante destilación y se reemplazó por alcohol isopropílico. Después, se añadió heptano a 45 °C para iniciar la precipitación. Después, la mezcla se agitó a 0 °C. Después, el producto cristalino se aisló por filtración. Los cristales aislados se lavaron con heptano y alcohol isopropílico, se secaron y se analizaron usando HPLC.

El procedimiento anterior produjo 0,23 kg de producto por kilogramo de fosfato tilosina usado en la **Parte A**. Este producto puede contener alcohol isopropílico. Para retirar el alcohol isopropílico, el producto puede disolverse en tolueno y diclorometano, seguido de destilación.

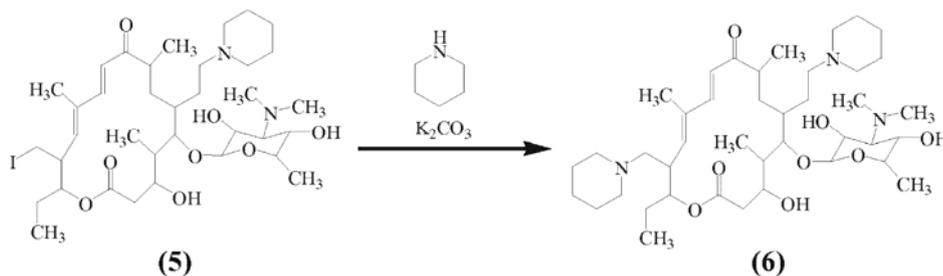
Parte C. Yodación. Preparación del compuesto activado (5).



Se disolvió trifenílfosfina (0,41 kg por kg de producto de la **Parte B**) en diclorometano (12 l por kg de trifenílfosfina, ≤ 100 ppm de H_2O) a 25 °C. Después, se añadió piridina (0,3 kg por kg de trifenílfosfina). Después, se añadió yodo (0,9 kg por kg de trifenílfosfina) en 5 porciones a 25 °C. La mezcla resultante se agitó durante 40 minutos a 25 °C y después se enfrió a -6 °C. Después, la mezcla se añadió al producto de la Parte **B** durante 50 minutos mientras se agitaba a -6 °C. Después, se continuó agitando durante 7 horas mientras se mantenía la mezcla a -5 °C. La reacción se controló por HPLC (si no se alcanza suficiente conversión, la mezcla puede agitarse a -5 °C durante un periodo de tiempo adicional, por ejemplo, 1,5 horas).

Cuando se alcanzó la conversión deseada, la mezcla de producto se lavó con una solución acuosa de Na_2SO_3 a -5 °C. Después, el diclorometano se retiró de la fase orgánica por destilación y se reemplazó por tetrahidrofurano.

Parte D. Aminación. Preparación de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (6).



Se añadió piperidina (0,55 kg por kg de producto de la Parte **B**) al producto de la Parte **C**, seguido de carbonato potásico (0,94 kg por kg de producto de la Parte **B**). La mezcla resultante se calentó a 55 °C y después se mantuvo a esa temperatura durante 3 horas mientras se agitaba. Después, la mezcla se calentó a 72 °C durante 1 hora y después se agitó a esa temperatura durante 6 horas. La composición del producto se analizó usando HPLC.

Una vez se obtuvo la conversión deseada, la mezcla de producto se enfrió a 20 °C y se añadió tolueno. La mezcla resultante se lavó dos veces con agua y la fase orgánica se extrajo dos veces con HCl acuoso, dando como resultado una fase acuosa que tenía un pH de ≤ 3 . Esta mezcla se enfrió a 0-5 °C.

Parte E. Preparación de solvato cristalino S1 de acetato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. La solución de producto ácida preparada de acuerdo con la **Parte D** se combinó con acetato de etilo (6,7 l por kg de producto de la Parte **B**) a 3 °C. El pH de la emulsión resultante se ajustó a 10,5-11,0 a 3 °C con sosa caustica. Las fases se separaron a 3 °C. La fase orgánica se lavó una vez con agua. Después de la separación de fases, la fase orgánica se concentró por destilación, dando como resultado una solución de acetato de etilo. Tras la siembra, comenzó la cristalización. El producto resultante se retiró por filtración para obtener una torta de filtro del solvato cristalino de acetato de etilo. La torta de filtro se lavó con heptano a 0 °C. Esto produjo aproximadamente 0,78 kg de solvato cristalino húmedo en bruto por kg de producto de la Parte **B** usado.

Parte F. Preparación del Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Una torta de filtro de solvato cristalino lavada, formada de acuerdo con la **Parte E** se combinó con heptano (6,1 l por kg de torta húmeda). La suspensión resultante se calentó a 72 °C y se sembró. Después, la suspensión se agitó a 72 °C y después a 20 °C. Después, la suspensión se filtró, y los sólidos resultantes se lavaron con heptano y se secaron. Esto produjo aproximadamente 0,53 kg de cristales de la Forma I por kg de producto de la Parte **B** usado (o 0,68 kg de cristales de la Forma I por kg de producto de solvato cristalino húmedo en bruto de la Parte **E** usado).

Ejemplo 4. Preparación del polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

Parte A. Preparación de compuesto activado. Se preparó 23-Hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (50 g) de acuerdo con los procesos descritos en el Ejemplo 1, **Partes A-C**, excepto porque el ácido usado en las reacciones de hidrólisis ácida (es decir, **Partes B y C**) fue HCl en lugar de HBr. La 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida a 13 °C se cargó en un reactor de agitación que contenía diclorometano (250 ml a 13 °C). La mezcla resultante se agitó durante aproximadamente 5 minutos a 13 °C. En paralelo, se cargó diclorometano (250 ml a temperatura ambiente) en un reactor separado y se inició la agitación. Después, se cargó trifetilfosfina (24,6 g a temperatura ambiente) en el reactor, seguido de piridina (7,8 ml a temperatura ambiente) y después yodo (22,83 g a temperatura ambiente). Después, la mezcla se agitó durante 2 minutos a temperatura ambiente y después se combinó con la mezcla de diclorometano que contenía 23-hidroxil-20-piperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida a 13 °C usando un embudo de goteo. La mezcla resultante se agitó durante 130 minutos a 13 °C para formar un producto activado.

Parte B. Preparación del polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

Se añadieron carbonato potásico (51,81 g), después acetonitrilo (600 ml) y finalmente piperidina (37,1 ml) se añadieron al producto activado de la **Parte A** a 13 °C. Después, la mezcla resultante se calentó a 78 °C durante 90 minutos y después se agitó a esa temperatura (reflujo) durante 130 minutos más. Después, la mezcla se enfrió a 15-25 °C durante 60 minutos y se interrumpió la agitación. Después, el carbonato potásico residual se retiró por filtración, la torta de filtro se lavó con acetonitrilo (100 ml) y el disolvente se retiró por destilación al vacío a 50 °C durante 60 minutos. El residuo resultante se disolvió en acetato de etilo (500 ml) y se mezcló con HCl 0,5 N (1000 ml). Después de agitar durante 5 minutos, se detuvo la agitación y las fases se separaron. La fase acuosa inferior se extrajo tres veces con acetato de etilo (se usaron 500 ml cada vez). Se inició la agitación de la fase acuosa resultante y la temperatura se redujo a 5-8 °C. Después, el pH se ajustó a un pH de 11 mediante la adición de NaOH 6 N (150 ml). Después, la mezcla con el pH ajustado se extrajo tres veces con diclorometano (400 ml cada vez) a temperatura ambiente. Las fases orgánicas inferiores combinadas se cargaron de nuevo en el reactor con sulfato sódico (150 g) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 15 minutos y después se filtró para formar una torta, que, a su vez, se lavó con diclorometano (100 ml). El disolvente se retiró por destilación y el producto resultante se secó al vacío a 50 °C durante 60 minutos. Esto produjo 57,5 g de producto de macróido en bruto.

El producto en bruto se cristalizó en acetonitrilo (90 ml) a 50 °C. Para evitar la formación de aceite, se añadieron cristales de siembra de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida a temperatura ambiente (los cristales de siembra se obtuvieron anteriormente disolviendo 3 g de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en bruto en 12 ml de acetonitrilo y recogiendo por filtración los cristales que se formaron después de 24 horas a temperatura ambiente). El producto precipitó en forma de un sólido de color blanquecino durante 5 h a temperatura ambiente y durante una noche (15 h) a 5 °C. El sólido se separó por filtración y se lavó dos veces con acetonitrilo frío (2 x 25 ml). El sólido restante se secó a presión reducida (8 mbar) a 40 °C durante una noche, dando como resultado 18,2 g de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (contenido: 90 % (p/p) según se determinó por HPLC). El producto (15 g) se purificó adicionalmente por recrystalización en acetonitrilo. Esto dio como resultado 10,7 g de producto (pureza de HPLC a 254 nm: 100 %; contenido: 94 % (p/p) según se determinó por HPLC).

Ejemplo 5. Recrystalización del polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en acetonitrilo.

El polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (80 mg) preparado de acuerdo con el **Ejemplo 4** se disolvió en acetonitrilo (2 ml). La solución resultante se filtró y se dejó que el acetonitrilo se evaporara a temperatura ambiente para formar cristales. El espectro de TF-Raman de los cristales de producto fue aproximadamente idéntico al espectro de los cristales de producto en el **Ejemplo 4**.

Ejemplo 6. Preparación de solvato cristalino S1 de acetato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (312 mg) preparado de acuerdo con **Ejemplo 4** se disolvió en acetato de etilo (0,5 ml). Unos pocos minutos después de la disolución completa, se formaron nuevos cristales y, después de unos pocos minutos más, llenaron la solución. Se añadió más cantidad de acetato de etilo (1 ml) y los cristales se retiraron por filtración y se secaron a temperatura ambiente y presión atmosférica.

Ejemplo 7. Preparación del polimorfo de Forma III de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma III de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida se preparó secando, al vacío a temperatura ambiente durante 20 horas, el solvato cristalino S1 de acetato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (50 mg) preparado de acuerdo con el **Ejemplo 6**.

Ejemplo 8. Preparación del solvato cristalino S1 de acetato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (146,1 mg) preparado de acuerdo con el **Ejemplo 4** se disolvió en acetato de etilo (0,5 ml) con agitación. Después de que comenzara la cristalización, se añadió heptano (5 ml) mientras se continuaba agitando. El sólido resultante se retiró por filtración después de 3 días. Todas estas etapas se realizaron a temperatura ambiente. Los cristales resultantes estaban en forma agujas muy finas. El espectro de TF-Raman de los cristales coincidió con el espectro de TF-Raman de los cristales del

Ejemplo 6.

Ejemplo 9. Preparación del solvato cristalino S1 de acetato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (99,6 mg) preparado de acuerdo con el **Ejemplo 4** se disolvió en acetato de etilo (2 ml). La solución resultante se filtró y se dejó que se evaporara el disolvente. Después de la evaporación de casi todo el disolvente, quedaba un residuo amorfo. Se añadió de nuevo acetato de etilo y se dejó evaporar. Se añadieron unos pocos cristales de siembra preparados en el **Ejemplo 6** en diferentes etapas de evaporación. Esto produjo cristales en forma de agujas. El espectro de TF-Raman de estos cristales coincidió con el TF-Raman de los cristales del **Ejemplo 6**.

Ejemplo 10. Preparación del polimorfo de Forma III de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma III de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida se preparó secando, al vacío de aproximadamente 40 a aproximadamente 70 °C durante 3 días, el solvato cristalino S1 de acetato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida preparado de acuerdo con el **Ejemplo 9**. El espectro de TF-Raman para estos cristales coincidió con el espectro de TF-Raman de los cristales del **Ejemplo 7**.

Ejemplo 11. Preparación del polimorfo de Forma III de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (150,5 mg) preparado de acuerdo con el **Ejemplo 4** y acetonitrilo (1 ml) se combinaron y se sometieron a un ciclo de temperaturas entre 20 y 40 °C con intervalos de tiempo de 1 hora para cada etapa de calentamiento/refrigeración y mantenimiento de temperatura. Este ciclo se detuvo después de 5 días. Los cristales resultantes (una forma de agujas finas) se retiraron por filtración y se dejaron secar a temperatura ambiente. El espectro de PXRD para estos cristales coincidió con el espectro de PXRD de los cristales en el **Ejemplo 7**.

Ejemplo 12. Preparación del Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (170,5 mg) preparado de acuerdo con el **Ejemplo 4** se agitó a temperatura ambiente durante 4 días con un disolvente (1 ml) que consistía en heptano y *tert*-butil metil éter ("tBME") a una proporción de heptano/tBME de 95:5 (vol/vol). Después, los cristales resultantes se retiraron por filtración, se lavaron con más cantidad de disolvente de heptano/tBME (95:5 vol/vol) y se secaron al vacío.

Ejemplo 13. Preparación del Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (147,4 mg) preparado de acuerdo con el **Ejemplo 4** se disolvió en tBME (0,5 ml) con agitación para formar una solución transparente. Después, se añadió heptano, conduciendo a una ligera precipitación. Después, los cristales se aislaron después de 3 días. Todas estas etapas se realizaron a temperatura ambiente. El espectro de TF-Raman de los cristales resultantes coincidió con el espectro de TF-Raman de los cristales en el **Ejemplo 12**.

Ejemplo 14. Preparación del Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (164,5 mg) preparado de acuerdo con el **Ejemplo 4** se agitó con heptano (1 ml) a temperatura ambiente durante 4 días. El sólido resultante se retiró por filtración, se lavó con heptano y se secó al vacío. El producto lavado y seco (90 mg) y en los cristales de polimorfo de Forma III de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (98 mg) se suspendieron en heptano y se agitaron. La temperatura se mantuvo a 25 °C durante 10 días, excepto por un breve aumento de temperatura accidental a 60 °C durante la quinta noche. El espectro de TF-Raman de los cristales resultantes coincidió con el espectro de TF-Raman de los cristales del **Ejemplo 12**.

Ejemplo 15. Preparación del Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Los cristales de polimorfo de Forma III de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (171,8 mg) se suspendieron en un disolvente (1 ml) de heptano y tBME a una proporción de heptano/tBME de 95:5 (vol/vol). La solución resultante se agitó a durante 9 días. El sólido se retiró por filtración y se lavó con heptano (1 ml). Todas estas etapas se realizaron a temperatura ambiente. El espectro de TF-Raman de los cristales resultante coincidió con el espectro de TF-Raman de los cristales del **Ejemplo 12**.

Ejemplo 16. Preparación del Polimorfo de Forma I de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Los cristales de polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (173,4 mg) se suspendieron en un disolvente (1 ml) de heptano y tBME a una proporción de heptano/tBME de 95:5 (vol/vol). La solución resultante se agitó durante 9 días. El sólido se retiró por filtración y se lavó con heptano (1 ml). Todas estas etapas se realizaron a temperatura ambiente. Los espectros de TF-Raman de los cristales a los 5 días y al final de los 9 días coincidieron con el espectro de TF-Raman de los cristales del **Ejemplo 12**.

Ejemplo 17. Preparación del solvato cristalino S1 de etanol de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (150 mg) preparado de acuerdo con el **Ejemplo 4** se disolvió en etanol (1 ml). Después de filtrar, se dejó que se evaporara el etanol a temperatura ambiente. Se formó un sólido, que se disolvió una vez de nuevo en etanol (1 ml). Después de filtrar, se dejó que se evaporara el etanol a temperatura ambiente. Los espectros de PXRD y TF-Raman para los cristales resultantes coincidieron con los espectros correspondientes para el producto cristalino del **Ejemplo 6**.

Ejemplo 18. Preparación del solvato cristalino S1 de dietil cetona de 20,23- dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (206,6 mg) preparado de acuerdo con el **Ejemplo 4** se disolvió en dietil cetona (0,5 ml) y después se dejó reposar durante una noche. A la mañana siguiente, los cristales se obtuvieron usando filtración. El espectro de PXRD para los cristales resultantes coincidió con el espectro de PXRD para el producto cristalino del **Ejemplo 6**.

Ejemplo 19. Preparación del solvato cristalino S2 de tBME de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

El polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (304 mg) preparado de acuerdo con el **Ejemplo 4** se disolvió en *tert*-butil metil éter (0,5 ml). Durante una noche, se formó un gran cristal en el fondo del recipiente. Después de rasparlo, todo el volumen de solución se cargó con cristales en 15 minutos. Se añadió más cantidad de *tert*-butil metil éter (1 ml). Después, los cristales se retiraron por filtración y se secaron a temperatura ambiente.

Aunque este procedimiento se repitió con éxito para formar cristales de solvato S2, se formaron lotes adicionales de cristales de solvato S2 disolviendo una cantidad adicional del polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en *tert*-butil metil éter, sembrando cristales de S2 del primer lote y retirando el *tert*-butil metil éter. En un experimento, el solvato cristalino S2 se preparó disolviendo el polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (245,7 mg) en *tert*-butil metil éter (0,5 ml) y evaporando lentamente una porción del disolvente a temperatura ambiente. Después de que no se formara ningún cristal, se añadió más cantidad de *tert*-butil metil éter, seguido de siembra de cristales de solvato S2 del primer lote. Después, se dejó que el disolvente se evaporara por completo. El espectro de TF-Raman para estos cristales fue aproximadamente idéntico al espectro de TF-Raman para los cristales del primer lote. En ensayos adicionales, los cristales se secaron al vacío a temperatura ambiente durante 20 horas y después se secaron de nuevo al vacío durante 24 horas a aproximadamente 70 °C. Los espectros de TF-Raman de los cristales después de cada etapa de secado coincidieron con el espectro de TF-Raman del primer lote.

Ejemplo 20. Preparación del solvato cristalino S3 de tetrahidrofurano de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (150 mg) preparado de acuerdo con el **Ejemplo 4** se disolvió en tetrahidrofurano (1,0 ml). La mezcla resultante se filtró y después el disolvente se dejó evaporar a temperatura ambiente. La cristalización sucedió después de que se evaporara una proporción relativamente grande del disolvente.

Ejemplo 21. Preparación del solvato cristalino S4 de acetato de metilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (204,0 mg) preparado de acuerdo con el **Ejemplo 4** se disolvió en acetato de metilo (0,5 ml). La recristalización se inició durante la disolución. Después de 15 minutos, todo el volumen estaba cargado con agujas. El sólido se retiró por filtración. Los cristales finales tenían una forma prismática.

Ejemplo 22. Preparación del solvato cristalino S4 de formiato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. El polimorfo de Forma II de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (208,3 mg) preparado de acuerdo con el **Ejemplo 4** se disolvió en formiato de etilo (0,5 ml). El matraz se dejó abierto durante unos minutos, después de lo cual se cristalizó lentamente para formar agujas grandes. El sólido se retiró por filtración. Los cristales finales tenían forma prismática. El espectro de PXRD para los cristales resultantes coincidió con el espectro de PXRD para el producto cristalino del **Ejemplo 21**.

Ejemplo 23. Preparación del polimorfo de Forma IV de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida. Se mezcló disolvente húmedo de solvato cristalino S1 de acetato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida (3,4 g, correspondiente a 2,0 g de producto seco) con 27,7 g de heptano (que se corresponde con una proporción de 14 g de disolvente con respecto a 1 g de producto). La mezcla se destiló a 73-95 °C para retirar 8,4 g de disolvente (acetato de etilo y heptano combinados), que también dio como resultado una disolución de producto. La solución se enfrió a 45 °C en 2 horas, lo que condujo a la precipitación de un poco de sólido pegajoso a 45 °C. La solución se calentó a 60 °C y se añadieron cristales de siembra (estos cristales de siembra se prepararon anteriormente mezclando 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en bruto (0,9 g) con heptano (4,5 g), agitando la mezcla a 80 °C durante 8 horas, agitando la mezcla a 23 °C durante 21 horas y retirando por filtración los cristales resultantes). La solución se enfrió a 45 °C, después de lo cual se formó un poco de sólido. La mezcla se calentó a 80 °C y después se mantuvo a esa temperatura mientras se agitaba durante 8 horas. Después, la mezcla se enfrió a 22 °C, provocando que se formara producto en la pared del matraz de reacción. Este producto se separó.

Las palabras "comprenden", "comprende" y "que comprende" en esta patente (incluyendo las reivindicaciones) deben interpretarse inclusivamente en lugar de exclusivamente. Esta interpretación está destinada a ser igual que la interpretación que se da a estas palabras en la ley de patentes de Estados Unidos.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se usa adjetivamente en esta patente para decir que el nombre modificado es adecuado para su uso en un producto farmacéutico. Cuando se usa, por ejemplo, para describir un

excipiente o una sal, esta caracteriza al excipiente o sal como poseedores de uno o más beneficios que están por encima de cualquier efecto o efectos dañinos que el excipiente o sal puedan tener para el animal receptor pretendido.

5 A menos que se caracterice de otro modo por la presente patente, la expresión "temperatura ambiente" significa una temperatura de aproximadamente 20 a aproximadamente 25 °C.

10 El término "amorfo" según se aplica a 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en esta patente se dirige a un estado de sólido en el que las moléculas de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida están presentes en una disposición desordenada y no forman ninguna red cristalina o celdilla unidad distinguible. Cuando se somete a difracción de rayos X en polvo, la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida amorfa no produce ninguno de los picos cristalinos característicos.

15 La expresión "forma cristalina" según se aplica a 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en esta patente se dirige a una forma de estado sólido en la que las moléculas de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida están dispuestas para formar una red cristalina distinguible que: (i) comprende celdillas unidad distinguibles, y (ii) produce picos de difracción cuando se somete a radiación de rayos X de polvo.

20 El término "cristalización" puede referirse a cristalización y/o recristalización, dependiendo de las circunstancias aplicables relativas a la preparación del material de partida de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

La expresión "cristalización directa" se dirige a cristalización de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida directamente a partir de un disolvente adecuado sin formación ni desolvatación de una forma de estado sólido cristalina solvatada intermedia de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

25 La expresión "tamaño de partícula" se dirige un tamaño de partícula, según se mide por técnicas de medición de tamaño de partícula convencionales bien conocidas en la técnica, tales como dispersión de luz de láser, fraccionamiento de flujo de campo de sedimentación, espectroscopía de correlación de fotones o centrifugación de disco. Un ejemplo no limitante de una técnica que puede usarse para medir el tamaño de partícula es una técnica de dispersión líquida que emplea un analizador de tamaño de partículas Sympatec.

30 El término "HPLC" significa cromatografía líquida de alta presión.

35 A menos que se caracterice de otro modo por la presente patente, el término "pureza" significa la pureza química de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida de acuerdo con un ensayo de HPLC convencional.

40 La expresión "pureza de fase" como se usa en esta patente significa la pureza de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida con respecto a una forma cristalina o amorfa particular de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida según se determina por métodos analíticos de difracción de polvo de rayos X en esta patente. La expresión "fase pura" se dirige a pureza con respecto a otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, y no implica necesariamente un alto grado de pureza química con respecto a otros compuestos. La expresión "en fase sustancialmente pura" se dirige a al menos aproximadamente un 90 % de pureza (por ejemplo, al menos aproximadamente un 95 % de pureza) con respecto a otras formas de estado sólido de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

45 La presente invención está especialmente dirigida a los siguientes aspectos y formas de realización:

La presente invención se dirige en un primer aspecto a una forma cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida que tiene al menos una de las siguientes características:

- 50 un espectro FT-Raman que comprende una banda de absorción a una o más frecuencias seleccionadas del grupo que consiste en aproximadamente 2935, aproximadamente 1633, aproximadamente 1596, aproximadamente 1712, aproximadamente 1683 y aproximadamente 781 cm^{-1} ;
- un espectro de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos un pico seleccionado del grupo que consiste en 5,0 ($\pm 0,2$) y 5,6 ($\pm 0,2$) grados 2θ ;
- 55 un espectro infrarrojo de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción a una o más frecuencias seleccionadas del grupo que consiste en aproximadamente 2932, aproximadamente 1711, aproximadamente 1682, aproximadamente 1635, aproximadamente 1599, aproximadamente 1442, aproximadamente 1404, aproximadamente 1182, aproximadamente 1079, aproximadamente 1053, aproximadamente 1008, aproximadamente 985, aproximadamente 842 y aproximadamente 783 cm^{-1} ; o
- 60 un punto de fusión de aproximadamente 192 a aproximadamente 195 °C.

La presente invención se dirige en un segundo aspecto a una forma cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida que tiene al menos una de las siguientes características:

- 65 un espectro FT-Raman que comprende una banda de absorción a una o más frecuencias seleccionadas del grupo que consiste en aproximadamente 2929, aproximadamente 1625, aproximadamente 1595, aproximadamente 1685

y 783 cm⁻¹;

un espectro de difracción de rayos X en polvo que comprende un pico a 6,5 (± 0,2) grados 2θ; o

un espectro infrarrojo de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción a una o más frecuencias seleccionadas del grupo que consiste en aproximadamente 2935, aproximadamente 1736, aproximadamente 1668, aproximadamente 1587, aproximadamente 1451, aproximadamente 1165, aproximadamente 1080, aproximadamente 1057, aproximadamente 1042, aproximadamente 1005, aproximadamente 981, aproximadamente 838 y aproximadamente 755 cm⁻¹.

La presente invención se dirige en un tercer aspecto a una forma cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida que tiene al menos una de las siguientes características:

un espectro FT-Raman que comprende una banda de absorción a una o más frecuencias seleccionadas del grupo que consiste en aproximadamente 2943, aproximadamente 2917, aproximadamente 1627, aproximadamente 1590, aproximadamente 1733, aproximadamente 1669, aproximadamente 1193, aproximadamente 1094 y aproximadamente 981 cm⁻¹;

un espectro de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos un pico seleccionado del grupo que consiste en 5.6 (± 0.2) y 6.1 (± 0.2) grados 2θ; o

Un espectro infrarrojo de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción a una o más frecuencias seleccionadas del grupo que consiste en aproximadamente 2931, aproximadamente 1732, aproximadamente 1667, aproximadamente 1590, aproximadamente 1453, aproximadamente 1165, aproximadamente 1081, aproximadamente 1057, aproximadamente 1046, aproximadamente 1005, aproximadamente 981, aproximadamente 834 y aproximadamente 756 cm⁻¹.

La presente invención se dirige en un cuarto aspecto a una forma cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida que tiene al menos una de las siguientes características:

un espectro infrarrojo de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción a una o más frecuencias seleccionadas del grupo que consiste en aproximadamente 3559, aproximadamente 2933, aproximadamente 1743, aproximadamente 1668, aproximadamente 1584, aproximadamente 1448, aproximadamente 1165, aproximadamente 1075, aproximadamente 1060, aproximadamente 1045, aproximadamente 1010, aproximadamente 985, aproximadamente 839 y aproximadamente 757 cm⁻¹; o
un punto de fusión de aproximadamente 149 a aproximadamente 155 °C.

La presente invención se dirige en un quinto aspecto a una forma cristalina solvatada de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

Una realización de la presente invención está dirigida a una forma cristalina solvatada según el quinto aspecto de la invención, en la que la forma cristalina solvatada comprende al menos uno de los siguientes:

una forma cristalina solvatada con acetato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida;
una forma cristalina solvatada con etanol de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida;
una forma cristalina solvatada con dietil cetona de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida;
una forma cristalina solvatada con *tert*-butil metil éter de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida;
una forma cristalina solvatada con tetrahidrofurano de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida;
una forma cristalina solvatada con acetato de metilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida; o
una forma cristalina solvatada con formiato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

Una realización de la presente invención se dirige a una composición que comprende 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, en la que al menos una cantidad detectable de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición consiste en una forma cristalina mencionada en cualquiera de los aspectos primero, segundo, tercero, cuarto o quinto de la invención y/o realizaciones de la misma.

Una realización de la presente invención se dirige a una composición que comprende 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, en la que al menos el 50 % de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición consiste de una forma cristalina mencionada en cualquiera de los aspectos primero, segundo, tercero, cuarto o quinto de la invención y/o realizaciones de la misma.

Una realización de la presente invención se dirige a una composición que comprende 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, en la que la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es sustancialmente de fase pura como una forma cristalina mencionada en cualquiera de los aspectos primero, segundo, tercero, cuarto o quinto de la invención y/o realizaciones de la misma.

La presente invención se dirige en un sexto aspecto al uso de una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición mencionada en cualquiera de los aspectos primero, segundo, tercero, cuarto o quinto de la invención y/o realizaciones de la misma para preparar un medicamento para tratar una enfermedad en un animal.

Una realización de la invención está dirigida a un uso de acuerdo con el sexto aspecto de la invención, en el que la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en pasteurelisis, enfermedad respiratoria bovina y enfermedad respiratoria porcina.

5 Una realización de la invención está dirigida a un uso de acuerdo con el sexto aspecto de la invención y/o realizaciones de la misma, en la que:

la enfermedad respiratoria bovina está asociada a al menos uno de *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* e *Histophilus somni*; y

10 la enfermedad respiratoria porcina está asociada a al menos uno de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* y *Bordetella bronchiseptica*.

La presente invención se dirige en un séptimo aspecto a una composición farmacéutica, en la que la composición farmacéutica se prepara mediante un proceso que comprende combinar al menos un excipiente con una composición mencionada en cualquiera de los aspectos primero, segundo, tercero, cuarto o quinto de la invención y/o realizaciones de la misma.

La presente invención se dirige en un octavo aspecto a una composición farmacéutica, en la que la composición farmacéutica comprende una solución formada por un proceso que comprende disolver una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición mencionada en uno de los aspectos primero, segundo, tercero, cuarto o quinto de la invención y/o realizaciones de la misma en al menos un excipiente.

La presente invención se dirige en un noveno aspecto a una composición farmacéutica, en la que la composición farmacéutica comprende una suspensión formada por un proceso que comprende suspender una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición mencionada en uno de los aspectos primero, segundo, tercero, cuarto o quinto aspecto de la invención y/o realizaciones de la misma en al menos un excipiente.

Todas las referencias citadas en esta patente se incorporan por referencia en esta patente.

30 La descripción detallada anterior de las realizaciones preferidas está destinada únicamente a familiarizar a otros expertos en la materia con la invención, sus principios y su aplicación práctica para que otros expertos en la materia puedan adaptar y aplicar la invención en sus numerosas formas, ya que pueden adaptarse mejor a los requisitos de un uso particular. Esta invención, por lo tanto, no está limitada a las realizaciones anteriores, y puede modificarse de diversas maneras dentro del alcance reivindicado.

35

REIVINDICACIONES

1. Una forma cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida que tiene al menos una de las siguientes características:

5 un espectro FT-Raman que comprende una banda de absorción a una o más frecuencias seleccionadas del grupo que consiste en aproximadamente 2943, aproximadamente 2917, aproximadamente 1627, aproximadamente 1590, aproximadamente 1733, aproximadamente 1669, aproximadamente 1193, aproximadamente 1094 y aproximadamente 981 cm^{-1} ;

10 un espectro de difracción de rayos X en polvo que comprende al menos un pico seleccionado del grupo que consiste en 5,6 ($\pm 0,2$) y 6,1 ($\pm 0,2$) grados 2θ ; o

15 un espectro infrarrojo de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción a una o más frecuencias seleccionadas del grupo que consiste en aproximadamente 2931, aproximadamente 1732, aproximadamente 1667, aproximadamente 1590, aproximadamente 1453, aproximadamente 1165, aproximadamente 1081, aproximadamente 1057, aproximadamente 1046, aproximadamente 1005, aproximadamente 981, aproximadamente 834 y aproximadamente 756 cm^{-1} .

2. Una forma cristalina de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida que tiene al menos una de las siguientes características:

20 un espectro infrarrojo de reflexión total atenuada que comprende una banda de absorción a una o más frecuencias seleccionadas del grupo que consiste en aproximadamente 3559, aproximadamente 2933, aproximadamente 1743, aproximadamente 1668, aproximadamente 1584, aproximadamente 1448, aproximadamente 1165, aproximadamente 1075, aproximadamente 1060, aproximadamente 1045, aproximadamente 1010, aproximadamente 985, aproximadamente 839 y aproximadamente 757 cm^{-1} ; o un punto de fusión de aproximadamente 149 a aproximadamente 155 $^{\circ}\text{C}$.

3. Una forma cristalina solvatada de la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida cristalina de la reivindicación 1 o la reivindicación 2.

30 4. Una forma cristalina solvatada de acuerdo con la reivindicación 3, en la que la forma cristalina solvatada comprende al menos uno de los siguientes:

35 una forma cristalina solvatada con acetato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida;
 una forma cristalina solvatada con etanol de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida;
 una forma cristalina solvatada con dietil cetona de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida;
 una forma cristalina solvatada con *tert*-butil metil éter de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida;
 una forma cristalina solvatada con tetrahidrofurano de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida;
 una forma cristalina solvatada con acetato de metilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida; o
 40 una forma cristalina solvatada con formiato de etilo de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida.

5. Una composición que comprende 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, en la que al menos una cantidad detectable de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición consiste en una forma cristalina descrita en cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 y 4.

45 6. Una composición que comprende 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, en la que al menos el 50 % de 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición consiste en una forma cristalina descrita en una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 y 4.

50 7. Una composición que comprende 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida, en la que la 20,23-dipiperidinil-5-O-micaminosil-tilonolida en la composición es sustancialmente de fase pura como una forma cristalina descrita en cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 y 4.

55 8. Una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición mencionada en cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7 para su uso como medicamento para tratar una enfermedad en un animal.

9. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en pasteurelosis, enfermedad respiratoria bovina y enfermedad respiratoria porcina.

60 10. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde:

la enfermedad respiratoria bovina está asociada a al menos uno de *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* e *Histophilus somni*; y

65 la enfermedad respiratoria porcina está asociada a al menos uno de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* y *Bordetella bronchiseptica*.

11. Proceso para la preparación de una composición farmacéutica que comprende combinar al menos un excipiente con una composición mencionada en una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7.

5 12. Una composición farmacéutica, en donde la composición farmacéutica comprende una suspensión formada por un proceso que comprende suspender una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición descrita en una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7 en al menos un excipiente.