



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 04 758 730 T1** 2005.06.23

(12)

Veröffentlichung der Patentansprüche

der europäischen Patentanmeldung mit der
(97) Veröffentlichungsnummer: **1 513 847**
in deutscher Übersetzung (Art. II § 2 Abs. 1 IntPatÜG)
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US2004/010033**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **04 758 730.8**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2004/089958**
(86) PCT-Anmeldetag: **31.03.2004**
(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **21.10.2004**
(97) Veröffentlichungstag
der europäischen Anmeldung: **16.03.2005**
(46) Veröffentlichungstag der Patentansprüche
in deutscher Übersetzung: **23.06.2005**

(51) Int Cl.7: **C07D 498/18**
C12P 17/18

(30) Unionspriorität:

459591 P	31.03.2003	US
461707 P	09.04.2003	US
512887 P	20.10.2003	US

(74) Vertreter:

**Dr. Weber, Dipl.-Phys. Seiffert, Dr. Lieke, 65183
Wiesbaden**

(71) Anmelder:

Biogal Gyogyszergyar RT., Debrecen, HU

(72) Erfinder:

**KERI, Vilmos, H-4028 Debrecen, HU; CSORVASI,
Andrea, H-4027 Debrecen, HU**

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: **Kristallisierung und Reinigung von Makroliden**

(57) Hauptanspruch: Verfahren zur Kristallisierung eines Makrolides aus einem Makrolid Ausgangsmaterial mit den folgenden Stufen:

- a) Kombinieren eines Makrolid Ausgangsmaterials, eines polaren Lösungsmittels, eines Kohlenwasserstofflösungsmittels und Wasser, wobei wenigstens zwei Phasen ausgebildet werden, von denen wenigstens eine eine wasserreiche Phase ist und wobei der pH-Wert der wasserreichen Phase wenigstens etwa 7 beträgt,
- b) Halten der Kombination für wenigstens eine Stunde, wobei eine makrolidreiche Phase ausgebildet wird, aus welcher das Makrolid kristallisiert.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Kristallisierung eines Makrolides aus einem Makrolidausgangsmaterial mit den folgenden Stufen:

a) Kombinieren eines Makrolidausgangsmaterials, eines polaren Lösungsmittels, eines Kohlenwasserstofflösungsmittels und Wasser, wobei wenigstens zwei Phasen ausgebildet werden, von denen wenigstens eine eine wasserreiche Phase ist und wobei der pH-Wert der wasserreichen Phase wenigstens etwa 7 beträgt,

b) Halten der Kombination für wenigstens eine Stunde, wobei eine makrolidreiche Phase ausgebildet wird, aus welcher das Makrolid kristallisiert.

2. Verfahren nach Anspruch 1, welches weiterhin die Stufe umfaßt, bei der man das Makrolid, welches kristallisiert, isoliert.

3. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Kombination von Stufe b bei einer Temperatur von etwa -15°C bis etwa 50°C gehalten wird.

4. Verfahren nach Anspruch 3, wobei die Kombination von Stufe b bei einer Temperatur von etwa -5°C bis etwa 40°C gehalten wird.

5. Verfahren nach Anspruch 4, wobei die Kombination von Stufe b bei einer Temperatur von etwa -2°C bis etwa 35°C gehalten wird.

6. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Kombination von Stufe b zwischen 48 und 100 Stunden gehalten wird.

7. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das polare Lösungsmittel aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus Alkoholen, Estern, Nitrilen und Ethern.

8. Verfahren nach Anspruch 7, wobei das polare Lösungsmittel aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus Ethylacetat, Acetonitril, Methanol, Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, n-Butanol, iso-Butanol, Aceton, Diisopropylether, Dimethylformamid und Dimethylacetamid.

9. Verfahren nach Anspruch 8, wobei das polare Lösungsmittel Ethylacetat ist.

10. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Kohlenwasserstofflösungsmittel aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus n-Hexan, n-Heptan, Oktan, iso-Oktan, Cyclohexan, Methylcyclohexan, Benzol, Toluol und Xylen.

11. Verfahren nach Anspruch 10, wobei das Kohlenwasserstofflösungsmittel n-Hexan ist.

12. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der

pH-Wert der wasserreichen Phase etwa 8 oder höher ist.

13. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Wasser eine Base umfaßt, die unter NaOH, KOH, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, NH_3 , Et_3N , Diethylamin und Pyridin ausgewählt ist.

14. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Makrolid aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus Tacrolimus, Sirolimus, Pimecrolimus und Everolimus.

15. Verfahren zur Kristallisierung eines Makrolides aus einem Makrolidausgangsmaterial mit den folgenden Stufen:

a) Kombinieren eines konzentrierten Rückstandes von einer Abtrennung aus einer Fermentationslösung von Makrolid enthaltendem biologischem Material in einem polaren Lösungsmittel mit einem Kohlenwasserstofflösungsmittel und Wasser, wobei wenigstens zwei Phasen ausgebildet werden, von denen wenigstens eine eine wasserreiche Phase ist und wobei der pH-Wert der wasserreichen Phase wenigstens etwa 7 beträgt,

b) Halten der Kombination für wenigstens 1 Stunde, wobei eine makrolidreiche Phase ausgebildet wird, aus welcher das Makrolid kristallisiert.

16. Verfahren nach Anspruch 15, welches weiterhin die Stufe umfaßt, bei der man das Makrolid, welches kristallisiert, isoliert.

17. Verfahren nach Anspruch 15, wobei die Kombination von Stufe b bei einer Temperatur von etwa -15°C bis etwa 50°C gehalten wird.

18. Verfahren nach Anspruch 17, wobei die Kombination von Stufe b bei einer Temperatur von etwa -5°C bis etwa 40°C gehalten wird.

19. Verfahren nach Anspruch 18, wobei die Kombination von Stufe b bei einer Temperatur von etwa -2°C bis etwa 35°C gehalten wird.

20. Verfahren nach Anspruch 15, wobei die Kombination von Stufe b zwischen 48 und 100 Stunden gehalten wird.

21. Verfahren nach Anspruch 15, wobei das polare Lösungsmittel aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus Alkoholen, Estern, Nitrilen und Ethern.

22. Verfahren nach Anspruch 21, wobei das polare Lösungsmittel aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus Ethylacetat, Acetonitril, Methanol, Ethanol, n-Propanol, iso-Propanol, n-Butanol, iso-Butanol, Aceton, Diisopropylether, Dimethylformamid und Dimethylacetamid.

23. Verfahren nach Anspruch 22, wobei das pola-

re Lösungsmittel Ethylacetat ist.

24. Verfahren nach Anspruch 15, wobei das Kohlenwasserstofflösungsmittel aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus n-Hexan, n-Heptan, Oktan, iso-Oktan, Cyclohexan, Methylcyclohexan, Benzol, Toluol und Xylen.

25. Verfahren nach Anspruch 24, wobei das Kohlenwasserstofflösungsmittel n-Hexan ist.

26. Verfahren nach Anspruch 15, wobei der pH-Wert der wasserreichen Phase etwa 8 oder höher ist.

27. Verfahren nach Anspruch 15, wobei das Wasser eine Base umfaßt, die unter NaOH, KOH, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, NH_3 , Et_3N , Diethylamin und Pyridin ausgewählt ist.

28. Verfahren nach Anspruch 15, wobei das Makrolid aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus Tacrolimus, Sirolimus, Pimecrolimus und Everolimus.

29. Verfahren zur Kristallisierung eines Makrolides aus einem Makrolidausgangsmaterial mit den folgenden Stufen:

- a) Kombinieren von Makrolidausgangsmaterial, Ethylacetat, n-Hexan und einer Wasserlösung einer Base, die unter NaOH, KOH, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, NH_3 , $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$, Diethylamin und Pyridin ausgewählt ist, bei einer Temperatur von etwa 20° bis etwa 25°C, wobei wenigstens zwei Phasen ausgebildet werden, von denen eine wasserreiche Phase ist und wobei der pH-Wert der wasserreichen Phase größer als etwa 7 ist,
- b) Halten der Kombination bei einer Temperatur von etwa 20°C bis etwa 25°C für wenigstens eine Stunde, wobei eine makrolidreiche Phase ausgebildet wird, aus welcher Makrolid kristallisiert,
- c) Halten der Kombination bei einer Temperatur von etwa 0°C bis etwa 20°C für wenigstens eine Stunde und
- d) Gewinnen des Makrolides, welches kristallisiert.

30. Verfahren nach Anspruch 29, wobei das Makrolid aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus Tacrolimus, Sirolimus, Pimecrolimus und Everolimus.

31. Verfahren nach Anspruch 29, wobei der pH-Wert der wasserreichen Phase etwa 8 oder höher ist.

32. Verfahren zur Kristallisierung eines Makrolides aus einem Makrolidausgangsmaterial mit den folgenden Stufen:

- a) Kombinieren eines konzentrierten Rückstandes von einer Abtrennung aus einer Fermentationslösung von Makrolid enthaltendem biologischem Material in Ethylacetat, n-Hexan und einer Wasserlösung einer

Base, die unter NaOH, KOH, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, NH_3 , $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$, Diethylamin und Pyridin ausgewählt ist, bei einer Temperatur von etwa 20° bis etwa 25°C, wobei wenigstens zwei Phasen ausgebildet werden, von denen eine wasserreiche Phase ist und wobei der pH-Wert der wasserreichen Phase größer als etwa 7 ist,

b) Halten der Kombination bei einer Temperatur von etwa 20°C bis etwa 25°C für wenigstens eine Stunde, wobei eine makrolidreiche Phase ausgebildet wird, aus welcher Makrolid kristallisiert,

c) Halten der Kombination bei einer Temperatur von etwa 0°C bis etwa 20°C für wenigstens eine Stunde und

d) Gewinnen des Makrolides, welches kristallisiert.

33. Verfahren nach Anspruch 32, wobei das Makrolid aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus Tacrolimus, Sirolimus, Pimecrolimus und Everolimus.

34. Verfahren nach Anspruch 32, wobei der pH-Wert der wasserreichen Phase etwa 8 oder höher ist.

35. Verfahren zur Kristallisierung eines Makrolides aus einem Makrolidausgangsmaterial mit der Stufe, bei der man das Makrolidausgangsmaterial, ein polares Lösungsmittel, ein Kohlenwasserstofflösungsmittel und Wasser vereinigt, wobei wenigstens zwei Phasen ausgebildet werden, von denen wenigstens eine wasserreich ist und wobei der pH-Wert der wasserreichen Phase wenigstens etwa 7 beträgt.

36. Verfahren zur Kristallisierung eines Makrolides aus einem konzentrierten Rückstand von einer Abtrennung aus einer Fermentationslösung von Makrolid enthaltendem biologischem Material in einem polaren Lösungsmittel mit der Stufe, bei der man das Makrolidkonzentrat in dem polaren Lösungsmittel, einem Kohlenwasserstofflösungsmittel und Wasser vereinigt, wobei wenigstens zwei Phasen ausgebildet werden, von denen wenigstens eine wasserreich ist und wobei der pH-Wert der wasserreichen Phase wenigstens etwa 7 beträgt.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen