世界知的所有権機関
国 際 事 務 局

PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類 5 C07H 17/08	A1	(11) 国際公開番号	WO 94/05683
		(43) 国際公開日	1994年3月17日 (17.03.1994)

(21) 国際出願番号 PCT/JP93/01189
(22) 国際出願日 1993年8月25日(25. 08. 93)

(30) 優先権データ
特願平4/238083 1992年9月7日(07. 09. 92) JP

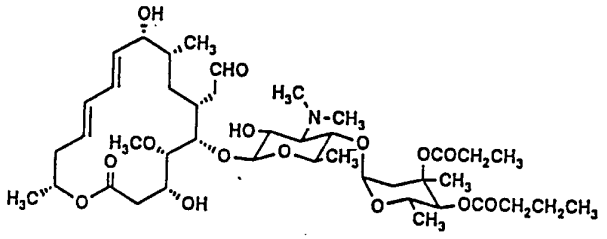
(71) 出願人(米国を除くすべての指定国について)
旭化成工業株式会社
(ASAHI KASEI KOGYO KABUSHIKI KAISHA)〔JP/JP〕
〒530 大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号 Osaka, (JP)
(72) 発明者;および
(75) 発明者/出願人(米国についてのみ)
木下健司(KINOSHITA, Kenji)〔JP/JP〕
〒410-23 静岡県田方郡大仁町宗光寺662-14 Shizuoka, (JP)
(74) 代理人
弁理士 小林和憲(KOBAYASHI, Kazunori)
〒170 東京都豊島区北大塚2丁目25番1号
太陽生命大塚ビル3階 Tokyo, (JP)

(81) 指定国
KR, US. 欧州特許(CH, DE, ES, FR, GB, IT, PT).

添付公開書類 国際調査報告書

(54) Title : ROKITAMYCIN MONOHYDRATE CRYSTAL AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

(54) 発明の名称 ロキタマイシン・1水和物結晶、及びその製造法



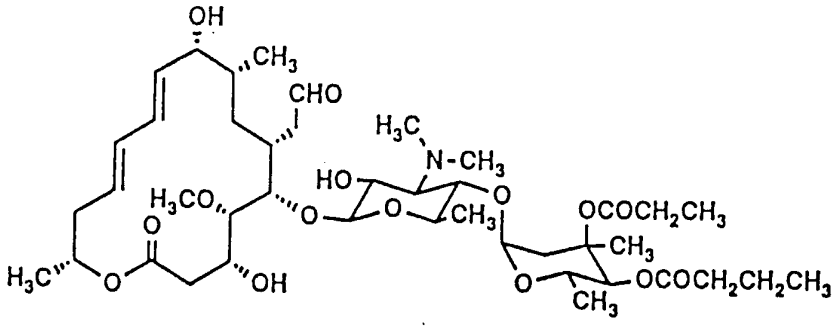
・H_2O (1)

(57) Abstract

A rokitamycin monohydrate crystal (hereinafter referred to as "RKM hydrate") represented by formula (1), and a process for producing RKM hydrate by crystallizing rokitamycin from the acidic aqueous solution thereof. The novel RKM hydrate is so extremely improved in bitterness over rokitamycin itself that it is unnecessary to hide the bitterness of the rokitamycin heretofore used and it is possible to prepare medicated syrups with the qualities superior to those of the conventional ones in a simpler process from RKM hydrate. Further, RKM hydrate is so excellent in wettability with water that it is possible to prepare tablets with the qualities equivalent to those of the conventional ones without the necessity for conducting the conventional surface treatment with a sucrose/fatty acid ester.

(57) 要約

下記式（１）



・H_2O　（１）

で表されるロキタマイシン・１水和物結晶及びロキタマイシンを酸性水溶液中で結晶化してなる式（１）で表されるロキタマイシン・１水和物結晶（以下ＲＫＭ水和物と略す）の製造法であって、ロキタマイシンより苦味が極めて改善された新規なＲＫＭ水和物を提供するものであり、新規なＲＫＭ水和物を使用することにより従来のロキタマイシンの苦味を隠蔽する必要が無く、簡便な工程で従来品以上の品質のシロップ剤の製剤化が可能であり、また、ＲＫＭ水和物は水濡れが優れており、従来のショ糖脂肪酸エステルによる表面処理の必要はなく、従来品と同等の品質の錠剤化を実施できる。

情報としての用途のみ
PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第1頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

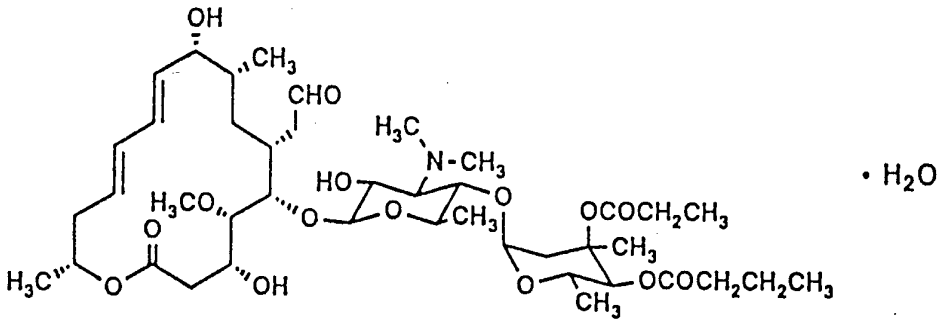
AT オーストリア
AU オーストラリア
BB バルバードス
BE ベルギー
BF ブルキナ・ファソ
BG ブルガリア
BJ ベナン
BR ブラジル
BY ベラルーシ
CA カナダ
CF 中央アフリカ共和国
CG コンゴー
CH スイス
CI コート・ジボアール
CM カメルーン
CN 中国
CS チェッコスロヴァキア
CZ チェッコ共和国
DE ドイツ
DK デンマーク
ES スペイン
FI フィンランド
FR フランス
GA ガボン
GB イギリス
GN ギニア
GR ギリシャ
HU ハンガリー
IE アイルランド
IT イタリー
JP 日本
KP 朝鮮民主主義人民共和国
KR 大韓民国
KZ カザフスタン
LI リヒテンシュタイン
LK スリランカ
LU ルクセンブルグ
LV ラトヴィア
MC モナコ
MG マダガスカル
ML マリ
MN モンゴル
MR モーリタニア
MW マラウイ
NE ニジェール
NL オランダ
NO ノルウェー
NZ ニュー・ジーランド
PL ポーランド
PT ポルトガル
RO ルーマニア
RU ロシア連邦
SD スーダン
SE スウェーデン
SI スロヴェニア
SK スロヴァキア共和国
SN セネガル
TD チャード
TG トーゴ
UA ウクライナ
US 米国
UZ ウズベキスタン共和国
VN ヴェトナム

明　細　書

ロキタマイシン・１水和物結晶、及びその製造法

技術分野

本発明は下記の式（１）

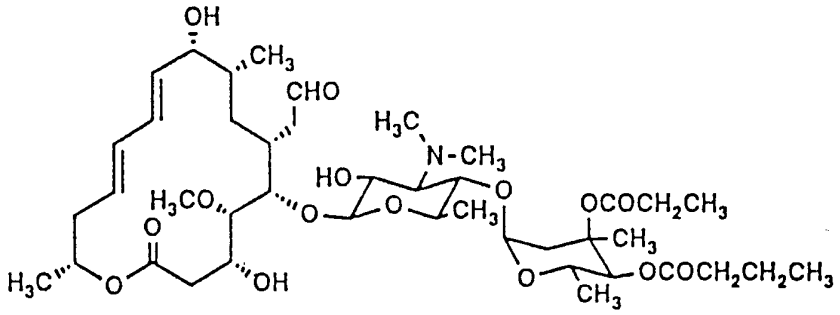


・H_2O　（１）

で表されるロキタマイシン・１水和物結晶、及びロキタマイシンを酸性水溶液中で結晶化することを特徴とする式（１）で表されるロキタマイシン・１水和物結晶、及びその製造法に関する。

従来の技術

ロキタマイシン（以下ＲＫＭと略す）は下記式（２）



（２）

で表される化合物であって、キタサマイシン生産菌ストレプトミセス・キタサトエンシス（Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ　ｋｉｔａｓａｔｏｅｎｓｉｓ）に属する

一変異株が生産するロイコマイシンA5 を原料とし3”位三級水酸基を選択的にプロピオニル化して得られる、半合成マクロライド系抗生物質である。その合成法及び物理化学的性質については、特許（特公昭５９－４６５２０号公報）及び文献（J. Antibiotics, 34, 1001（1981））において公知である。その抗菌力は既存の１６員環マクロライドのキタサマイシン、ジョサマイシン、ミデカマイシン及びミオカマイシンより強く、１４員環のエリスロマイシンに匹敵する（同文献）。さらに、ＲＫＭは、既存のマクロライド系抗生物質がまったく無効である耐性菌にも優れた抗菌作用をしめす薬剤であり、また例えばグリシン、クエン酸を配合した経口投与用錠剤（米国特許第４７１６１５３号明細書）やドライ・シロップ剤として安全性も高く、今日、広く使用されているものである。

これら１４員環及び１６員環マクロライド系抗生物質は強い苦味を有する欠点が知られていた。また、１４員環マクロライド系抗生物質であるエリスロマイシンやその誘導体の１水和物または２水和物結晶（Journal of Pharmaceutical Science, 67（8）pp1087（Aug. 1978）、米国特許第２８６４８１７号明細書、特開昭６４－３８０９６号公報）が知られているが、このエリスロマイシンまたはその誘導体の水和物結晶は、その溶解性を改善する目的でつくられたものである。しかしながら、これらの化合物は経口投与において他のマクロライド系抗生物質と同様に強い苦味を有するものであり、何ら苦味の改善はなされていなかった。

従来、工業的にはＲＫＭはロイコマイシンA5 を原料として合成され、得られた粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製し、得られた溶出液を濃縮し、濃縮液を水中に滴下し晶析した沈澱物を濾取し、これを乾燥して製品としていた。このようにして晶析した原末は非晶質で無水状態のＲＫＭ（以下、ＲＫＭ無水物と略す）となるものであり、このＲＫＭ無水物のＸ線回折スペクトルは第１図に示すとおりである。これは回折角（２θ）１２°及び１９°をピークとする

ブロードなスペクトルを示すことからも非晶質であることが明白であった。

発明が解決しようとする課題

また、この非晶質のＲＫＭ無水物は強い苦味を有しており、シロップ剤として製剤化する際、高分子フィルムなどをコーティング剤とするスプレードライ法によりＲＫＭを前処理して苦味の改善を計っていた。更に、ＲＫＭ無水物の物理化学的性質に関する研究から、ＲＫＭ無水物自体は、脂溶性が高く水に濡れにくい事から、錠剤にする際、安全性の高い通常経口製剤に用いられるショ糖脂肪酸エステル（以下ＤＫエステルと略す）を原末に対して４％使用し、表面処理を施すことにより、胃液中での分散性を良好にし、溶解を速やかにする製剤化を計っていた（特公平２－５９１２９号公報、薬剤学，４８，１４７（１９８８））。このように、ＲＫＭ無水物は、それ自体強い苦味及び水に濡れ難いという性状を有していた。また、ＲＫＭ原末製造において、上記のカラムクロマトグラフィー工程だけによる精製法ではさらなる品質向上は困難であった。

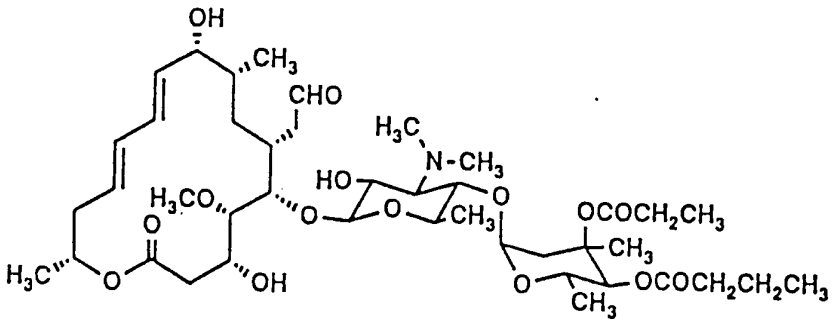
そこで、ＲＫＭの品質向上を目的に、その精製法を検討したところ、ＲＫＭ無水物はメタノールを用いて結晶化を行うことにより、新規なメタノール含有ＲＫＭ結晶を得ることが出来た。このメタノール含有ＲＫＭ結晶のＸ線回折スペクトルを第２図に示す。これは、７．８、８．３、１０．３、１０．７、１２．１、１２．６、１４．２、１５．８、１６．６、１８．２、２０．３、２１．７、２２．１、２３．２、２４．０及び２５．５°の回折角（２θ）にシャープな回折スペクトルを示すことから結晶性であることが明白であった。しかしながら、このものも同様に苦味を有するものであった。

課題を解決するための手段

そこで、本発明者は、上記の苦味の問題点を解決すべく鋭意研究の結果、従前では１６員環マクロライド系抗生物質については全く１水和物の報告はないと

ろ、ＲＫＭ無水物またはメタノール含有ＲＫＭ結晶を酢酸、プロピオン酸、酒石酸、クエン酸などの有機酸、またはリン酸、塩酸、硫酸などの無機酸の水溶液に溶解して結晶化せしめることにより、簡便かつ高収率で全く新規なＲＫＭ・１水和物結晶が得られることを見い出した。しかも全く意外なことに、このＲＫＭ・１水和物はＲＫＭ原末の苦味がほとんど感じられない結晶体として得られ、更に、高純度かつ熱安定性が高く、水濡れが改善された良好な性質を有することを見い出し、本発明を完成するに至った。

本発明は、上記の知見に基づいて完成されたもので、下記式（１）



$\cdot H_2O$ （１）

で表されるＲＫＭ・１水和物結晶であり、ＲＫＭを酸性水溶液中で結晶化することを特徴とする式（１）で表されるＲＫＭ・１水和物結晶の製造法である。

本発明で使用される原料としてのＲＫＭとは、例えば前記した合成手順によって得られた粗製ないし適宜に精製されたＲＫＭあるいはこれを含有するものであれば何ら限定されるものではない。それらは例えばＲＫＭ無水物またはメタノール含有結晶が簡便に利用でき、特にＲＫＭメタノール含有結晶を用いることにより高純度のＲＫＭ・１水和物結晶を得ることが出来る。

本発明のＲＫＭ・１水和物結晶を得るためには、先ず、酸性水溶液を調製する。例えば、酢酸、プロピオン酸、酒石酸、クエン酸などの有機酸、またはリン酸、塩酸、硫酸などの無機酸、もしくはこれらを混合した酸をｐＨ１～４の酸性水溶液に調製する。酸としては、好ましくは酢酸、プロピオン酸などの有機酸、またはリン酸の無機酸である。次いでこのようにして調製した酸性水溶液を０℃～１

0℃に冷却撹拌下、前記のＲＫＭ無水物及び／またはメタノール含有ＲＫＭ結晶を２０～３００ｍｇ／ｍｌの濃度で溶解する。完全に溶解した後、ＲＫＭ・１水和物を結晶化せしめるために、水酸化ナトリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸アンモニウム、アンモニウム水等を５～２０％濃度に希釈したアルカリ水で、上記ＲＫＭ溶解酸性水溶液を例えばｐＨ４～６．５付近、好ましくはｐＨ４．４～５．０付近に調整する。その後、ＲＫＭ溶解液を２０～３０℃の室温まで徐々に昇温し、約２～７２時間静置して結晶を形成せしめ、この成長した結晶を濾取し、水洗後、減圧乾燥することにより目的のＲＫＭ・１水和物結晶を得ることができる。

このようにして得られた本発明のＲＫＭ・１水和物結晶（以下ＲＫＭ水和物と略す）のＸ線回折スペクトルを第３図に示す。これは、５．２、６．８、８．３、１０．３、１１．２、１２．３、１３．３、１３．８、１４．７、１５．１、１５．８、１６．４、１７．１、１８．１、１９．１、１９．５、２０．４、２１．５、２２．０、２２．７、２３．８、２４．８、２５．１、２６．６及び２８．６°の回折角（２θ）にシャープなＸ線回折スペクトルを示すことから結晶性であることが明白である。

本発明のＲＫＭ水和物は、前記のＲＫＭ無水物及びメタノール含有結晶とはＸ線回折スペクトルの２θ値が明らかに異なる。更に、本発明のＲＫＭ水和物は、元素分析、水分測定（カールフィシャー法）及び熱重量分析等の機器分析結果からＲＫＭの１分子当たり水分子が１個水和していることが同定され、新規結晶体であることが判明した。

本発明の新規なＲＫＭ水和物の抗菌活性は、従来のＲＫＭ無水物の抗菌活性と同一であった。更に、本発明のＲＫＭ水和物はマウス（１群５匹）に対する腹腔内投与による急性毒性は２０００ｍｇ／ｋｇにおいて死亡例は全く見られなかった。

このようにして得られた新規なＲＫＭ水和物は、苦味もなく、水濡れも良好で

あり、従って、強い苦味を有し、製剤上不都合な性質である水濡れの悪さを呈する公知のＲＫＭ無水物と比較して経口投与用製剤、特にドライ・シロップ剤や錠剤において優位に使用できるものであった。さらに、製剤学上の利点として、本発明のＲＫＭ水和物を用いたトローチ剤、顆粒剤、眼軟膏剤、軟膏剤など従来困難とされていた新剤型の製剤の開発が可能となり、製剤学的見地において、非常に優れた特異性を有するものである。

また、本発明のＲＫＭ水和物は従来公知のＲＫＭ無水物と比べ、比容積が約３０％小さく、結晶であることから硬度が高く、錠剤のサイズダウン及び高硬度化が可能である他、粉砕時における静電気の帯電が少ないなどの、極めて優れた特異性を有するものである。このように、本発明のＲＫＭ水和物は、製剤化するに極めて好ましい上述したような種々の優れた性質を有する結晶であり、製剤上、常用される処方にて容易に適宜な製剤となし得る。一般的に云って、ＲＫＭ水和物製剤は、ヒトについて、従前のＲＫＭ製剤と同様１日１～３回、１００～６００ｍｇを投与すればよい。

図面の簡単な説明

第１図はＲＫＭ無水物のＸ線回折スペクトルを示す；

第２図はメタノール含有ＲＫＭ結晶のＸ線回折スペクトルを示す；

第３図は本発明により得た（実施例１）ＲＫＭ水和物のＸ線回折スペクトルを示す；

第４図は本発明により得た（実施例１）ＲＫＭ水和物及びＲＫＭ無水物の８０℃における熱安定性曲線を示す。

第５図は処方５における無酸胃液モデルでの溶出曲線を示す；

第６図は処方６における無酸胃液モデルでの溶出曲線を示す；

第７図は処方７における無酸胃液モデルでの溶出曲線を示すものである。

実施例

次いで、以下に参考例及び実施例を挙げて本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらにより何ら限定されるものではない。

参考例1　ＲＫＭ合成法

ＲＫＭの合成法は特許（特公昭５９－４６５２０号公報、特公昭６３－５０３７号公報）または文献（Ｊ．Ａｎｔｉｂｉｏｔｉｃｓ，３４，１００１（１９８１））に基づいたものである。即ち、ロイコマイシンA_5を出発原料として、次の工程に従って合成し、ＲＫＭ無水物として単離精製した。

（１）2’位水酸基の保護反応

培養液から単離されたロイコマイシンA_5原末５０ｇを無水１，２－ジクロルエタン２５０ｍｌに溶解し、室温撹拌下、無水酢酸２１ｍｌを滴下し、１．５時間反応させた。次に、氷冷水１Ｌを加え、７％アンモニア水でｐＨ１０に調整後、約１時間撹拌し、１，２－ジクロルエタン相を分液した。次いで得られた１，２－ジクロルエタン相を無水硫酸マグネシウム１０ｇで乾燥後、減圧下濃縮乾固し、2’－Ｏ－アセチルロイコマイシン$A_5$５０ｇを得た。

（２）３、９位水酸基の保護反応

上記2’－Ｏ－アセチルロイコマイシン$A_5$５０ｇを無水１，２－ジクロルエタン２５０ｍｌに溶解させ、次いでトリベンジルアミン５０ｇを加えた。撹拌冷却下トリメチルクロルシラン３３ｍｌを滴下し、１５時間反応させた。次に、別の容器に予め準備した水１Ｌ中に反応液を滴下し、７％アンモニア水でｐＨ９．５に調整後、１，２－ジクロルエタン相を分液した。次いで、得られた１，２－ジクロルエタン相を無水硫酸マグネシウム１０ｇで乾燥後、減圧下濃縮乾固し、2’－Ｏ－アセチル－３，９－ジ－Ｏ－トリメチルシリルロイコマイシン$A_5$６３ｇを得た。

（３）3”位三級水酸基のプロピオニル化反応

上記、2’－Ｏ－アセチル－３，９－ジ－Ｏ－トリメチルシリルロイコマイシ

ンA$_5$ ６３ｇを無水１，２－ジクロルエタン２５０ｍｌに溶解させ、次いでトリベンジルアミン１５０ｇを加えて後、氷冷下、プロピオニルクロライド５０ｍｌを滴下し、次いで７５℃にて約２０時間還流した。反応終了後、室温になるまで冷却してから、別の容器に予め準備した１，２－ジクロルエタン２５０ｍｌ、水１Ｌの混合液中に滴下し、７％アンモニア水でｐＨ９．５に調整後、１，２－ジクロルエタン相を分液した。次いで得られた１，２－ジクロルエタン相を無水硫酸マグネシウム１０ｇで乾燥後、減圧下濃縮乾固し、2’－Ｏ－アセチル－１７，１８－エノール－１８、3”－ジ－Ｏ－プロピオニル－３，９－ジ－Ｏ－トリメチルシリルロイコマイシンA$_5$及び2’－Ｏ－アセチル－3”－Ｏ－プロピオニル－３，９－ジ－Ｏ－トリメチルシリルロイコマイシンA$_5$の混合物６８ｇを得た。

（４）保護基の脱離反応

上記混合物６８ｇをメタノール２．５Ｌと８％炭酸カルシウム２７５ｍｌの混合溶媒に溶解させ、室温で１時間反応させた。この反応液を酢酸でｐＨ７．５に調整し、次いで、６３℃で２０時間加熱還流した後、５℃以下に冷却し、反応液中に生じたトリベンジルアミンの結晶を濾別した。このトリベンジルアミンの結晶は５℃以下に冷却した９０％メタノール２２０ｍｌで洗浄し、濾液と洗浄液を合併し、減圧下でメタノールを完全に留去した。次いで残留物をベンゼン３００ｍｌに溶解させ、分配し、残りの水相を分離除去した。ベンゼン相は、水３００ｍｌで洗浄後、減圧下で約１００ｍｌまで濃縮した。

（５）単離精製

ベンゼンにて充填したシリカゲル系カラム（３０ｍｍφ×６００ｍｍＬ）に上記ベンゼン濃縮液約１００ｍｌを吸着させ、次いでベンゼン：酢酸エチル：メタノール（３６：４：１、ｖ／ｖ）にて展開した。溶出液は経時的にサンプリングし、高速液体クロマトグラフィー（以下ＨＰＬＣと略す）にて分析し、ＲＫＭ含量が９０％以上の分画約６５０ｍｌを集め、減圧下濃縮乾固した。この濃縮残渣

をエタノール６０ｍｌに溶解させ、このエタノール溶解液を水８００ｍｌ中に滴下するとＲＫＭが白色沈澱として析出した。この沈澱を濾取し、水洗後、減圧乾燥することによりＲＫＭ３５ｇを得た。

このようにして得られたＲＫＭの物理化学的性質は、特許（特公昭５９－４６５２０号公報）及び文献（Ｊ．Ａｎｔｉｂｉｏｔｉｃｓ，３４，１００１（１９８１））において公知の結果と一致した。また、Ｘ線回折スペクトルは第１図に示したものと同一のＸ線回折パターンを示すことからも非晶質であることが明白であり、さらに、元素分析、水分測定（カールフィシャー法）及び熱重量分析の結果からこのＲＫＭは無水物であることが同定された。

参考例２　ＲＫＭのメタノール含有結晶の製造法

上記参考例１で得られたＲＫＭ無水物３５ｇをメタノール１２０ｍｌで４０℃撹拌下、溶解した（ＲＫＭ濃度約３００ｍｇ／ｍｌ）。この溶解液は撹拌下、４０℃で白濁するまで蒸留水を加えた後、１０℃以下に冷却し、更に２０時間撹拌して結晶を生じさせ、この結晶を濾取後、水洗し、ＲＫＭのメタノール含有結晶（第２図参照）２５ｇ（湿潤重量）を得た。

実施例１　ＲＫＭ水和物の製造法

参考例２で得られたＲＫＭメタノール含有結晶２５ｇ（湿潤重量）を、１０℃に冷却した３％酢酸水１００ｍｌに溶解した。その後１０％水酸化ナトリウム水でｐＨ５に調整し、室温（約２６℃）で２４時間静置後、生じた結晶を濾取し、水洗後、減圧乾燥することによりＲＫＭ水和物８ｇを得た。

この結晶をＸ線回折法（理学電気社製Ｘ線回折計）により分析したところ第３図のパターンを示した。これは、従来、工業生産されるＲＫＭ無水物（第１図参照）とは明らかに異なった。元素分析値（実験式；$C_{42}H_{69}NO_{15}\cdot H_2O$として）は、第１表に示す通りである。

第1表

	C%	H%	N%
実測値	59．34	8．52	1．68
理論値	59．63	8．46	1．66

水分（京都電子工業㈱製カールフィシャー水分計）；約2．1%（1水和物としての理論値；2．13%）。

融点；112℃付近。

熱重量分析（マックサイエンス社製熱分析計）；融点付近で約2%の重量変化を示した。

示差走査熱量測定（マックサイエンス社製熱分析計）；融点付近で約20cal/gの吸熱ピークが観察された。

以上のこれらの機器分析値からも、また、さらに乾燥しても減量がみられない点からして、この結晶はRKM1分子に対し水1分子を含有していることが同定された。また、質量分析（MASS）スペクトル、^{1}H－及び^{13}C－核磁気共鳴（NMR）スペクトル、赤外線吸収（IR）スペクトル、紫外線吸収（UV）スペクトル、旋光度（$[\alpha]_D$）等の機器分析結果より得られる物理化学的性質は特許（特公昭59－46520号公報）及び文献（J．Antibiotics，34，1001（1981））に記載されている公知の結果と一致した。

さらに、クロロホルム：メタノール：氷酢酸：水（80：7：7：1）の展開溶媒を用いたRKM水和物の薄層クロマトグラフィーの結果は、Rf値0．36（硫酸発色、紫外線吸収等）に単一のスポットを示し、これはRKMのRf値と一致した。かつ、その生物活性は、S．aureus ATCC6538P、S．pyogenes N．Y．5，M．luteus ATCC9341などの検

定菌に対し従来のＲＫＭ無水物と同一の抗菌活性を示した。

実施例２　ＲＫＭ水和物の製造法

上記参考例２と同様にして得られたＲＫＭメタノール含有結晶５００ｇ（湿潤重量）を１０℃に冷却した３％酢酸水２Ｌに溶解した。その後、１０％水酸化ナトリウム水でｐＨ５に調整後、実施例１で得られたＲＫＭ水和物５ｇ添加し、室温（約２６℃）で２４時間静置後、生じた結晶を濾取し、水洗後、減圧乾燥することによりＲＫＭ水和物（第３図に示す同一のＸ線回折パターンを示し、実施例１の結晶と同一物であった）約２５０ｇを得た。

実施例３　ＲＫＭ水和物の製造法

まず、水１００ml にプロピオン酸６ml を溶解し、１０℃に冷却した酸性水に上記参考例２と同様にして得られたＲＫＭメタノール含有結晶３５ｇ（湿潤重量）を溶解後、１０％水酸化ナトリウム水でｐＨ５に調整し、次いで実施例１で得られたＲＫＭ水和物結晶１ｇを添加し、室温（約２６℃）で２４時間静置後、生じた結晶を濾取し、水洗後、減圧乾燥することによりＲＫＭ水和物（第３図に示すＸ線回折図と同一のＸ線回折パターンを示し、実施例１の結晶と同一物であった）１２ｇを得た。

実施例４　ＲＫＭ水和物の製造法

上記参考例２と同様にして得られたＲＫＭメタノール含有結晶３５ｇ（湿潤重量）を１０℃に冷却した３％リン酸水１００ml に溶解後、１０％水酸化ナトリウム水でｐＨ５に調整し、次いで実施例１で得られたＲＫＭ水和物結晶１ｇを添加し、室温（約２６℃）で２４時間静置後、生じた結晶を濾取し、水洗後、減圧乾燥することによりＲＫＭ水和物（第３図に示すＸ線回折図と同一のＸ線回折パターンを示し、実施例１の結晶と同一物であった）１０ｇを得た。

実施例5　ＲＫＭ水和物の製造法

上記参考例1で得られたＲＫＭ無水物３５ｇを１０℃に冷却した３％酢酸水１５０ml に溶解した。その後、１０％水酸化ナトリウム水でｐＨ５に調整後、実施例1で得られたＲＫＭ水和物１ｇを添加し、室温（約２６℃）で２４時間静置後、生じた結晶を濾取し、水洗後、減圧乾燥することによりＲＫＭ水和物（第３図に示すＸ線回折図と同一のＸ線回折パターンを示し、実施例１の結晶と同一物であった）１６ｇを得た。

実験例

次に、本発明のＲＫＭ水和物と従来の工業的生産による非晶質のＲＫＭ無水物との対比実験について述べる。

実験例1　安定性試験

実施例1と同様にして得られたＲＫＭ水和物及びＲＫＭ無水物を各々８０℃、４週間の苛酷条件下に保存し、経日的にサンプリングし、水分測定（カールフィシャー法）及びＨＰＬＣ分析により、ＲＫＭの絶対含量を求めた。ＨＰＬＣ測定用サンプルはＲＫＭ各原末を約５ｍｇ秤量後、５ml のアセトニトリル：０．１％酢酸水（１：１）溶液に溶解し、調製した。その結果を第４図（図中、－○－がＲＫＭ水和物、－□－がＲＫＭ無水物）に示す。ＲＫＭ水和物は無水物に比べ熱安定性が良好なものであった。

分析条件；

カラム：ステンレス、４ｍｍφ×１５０ｍｍ、Unisil Q, Ｃ１８，５μｍ

移動相：０．２Ｍ酢酸アンモニウム溶液：メタノール：アセトニトリル＝

（３１．５：６２．０：６．５）

検出器：分光光度計（測定波長：２３２ｎｍ）

カラム温度：４０℃

流量　：０．８ｍｌ／ｍｉｎ．

実験例2　官能試験

ＲＫＭ水和物及び無水物について、つぎの処方条件によりシロップ剤を作成した。これらのシロップ剤について、選ばれた１０人（成人）のパネラーにより官能試験（調製約６０分後）を実施した。その結果を第２表に示す（表中、Ａ：苦味を感じない、Ｂ：どちらとも言えない、Ｃ：苦い）。

処方１：ＲＫＭ水和物２ｇ、グリシン0．８ｇ、白糖１２ｇを乳鉢で混合し、蒸留水８０ｍｌに懸濁した。

処方２：ＲＫＭ無水物２ｇ、グリシン0．８ｇ、白糖１２ｇを乳鉢で混合し、蒸留水８０ｍｌに懸濁した。

処方３：ＲＫＭ無水物４００ｍｇ、グリシン0．８ｇ、白糖１２ｇを乳鉢で混合し、蒸留水８０ｍｌに懸濁した。

処方４：ＲＫＭ無水物２０ｍｇ、グリシン0．８ｇ、白糖１２ｇを乳鉢で混合し、蒸留水８０ｍｌに懸濁した。

第２表

	味覚			ＲＫＭ
	Ａ	Ｂ	Ｃ	
1	１０	0	0	ＲＫＭ水和物
2	0	0	１０	ＲＫＭ無水物
3	0	0	１０	
4	0	4	6	

ＲＫＭ水和物の場合、ほとんど苦味が感じられなかった。一方、ＲＫＭ無水物を苦味の隠ぺいを行うための手段である高分子フィルムなどと共にスプレードライ法によりマイクロカプセル化するような処理操作を行わずに、そのまま用いた場合、上記の官能試験から明らかなようにＲＫＭ無水物はＲＫＭ水和物の１／１００量においても苦味が感じられたのに対し、ＲＫＭ水和物を用いた処方では極めて苦味が改善されたものであった。

参考例３

次に、ＲＫＭ水和物結晶のドライシロップの製剤例について説明する。

ＲＫＭ水和物１００ｇ力価と日局精製白糖（三井精糖、商品名；白ザラＡＡ）５４３．９ｇと日局結晶セルロース（旭化成工業、商品名；アビセルＲＣ－５９１）３０ｇを混合し、結合剤として日局ヒドロキシプロピルセルロース（信越化学、商品名；ＨＰＣ－（Ｌ））１０ｇを蒸留水２００ｍｌに溶解した液を用い流動層造粒機（富士産業（株）、ＳＰＲＡＹ－ＧＲＡＮＵＬＡＴＯＲ　ＭＯＤＥＬ　ＳＴＲＥＡ－１）を用いて通常の方法にて造粒した。得られた顆粒を整粒し、３０～８３メッシュの粒度である顆粒Ａ５５０ｇを得た。また、８３メッシュを通過したものは上記の流動層造粒機により同様にして顆粒となして３０～８３メッシュ区分を回収し、先に得た顆粒Ａと合わせて合計６８０ｇの顆粒Ｂを得た。

別に、日局アミノ酢酸（昭和電工、商品名；グリシン「微粉」）４０ｇと日局Ｄ－マンニトール（東和化成、商品名；マンニットＰ）２６３ｇを混合し、結合剤として日局ヒドロキシプロピルセルロース５ｇを蒸留水１００ｍｌに溶解した液を用いて、顆粒Ａと同様に造粒し、３０～８３メッシュの粒度である顆粒Ｃ３００ｇを得た。顆粒Ｂ３４３．５ｇと顆粒Ｃ１５６．５ｇを混合し、ＲＫＭ水和物を含有するドライシロップ製剤５００ｇ（１ｇ中１００ｍｇ力価）を得た。このドライシロップは通常１～２ｇ（ＲＫＭとして１００～２００ｍｇ力価）を１回とし１日３回小児に投与される。

参考例4

ＲＫＭ水和物１００ｇ力価と日局精製白糖５４３．９ｇと日局結晶セルロース３０ｇを混合し、結合剤として日局ヒドロキシプロピルセルロース１０ｇを蒸留水２００ml に溶解した液を用いて流動層造粒機を用いて通常の方法にて造粒した。得られた顆粒を整粒し、３０～８３メッシュの粒度である顆粒Ａ５５０ｇを得た。また、この８３メッシュを通過したものは上記の流動層造粒機により同様にして顆粒となして３０～８３メッシュ区分を回収し、先に得た顆粒と合わせて合計６８０ｇの顆粒Ｂを得た。

別に、日局アミノ酢酸４０ｇと日局Ｄ－マンニトール２６０ｇを混合し、結合剤として日局ヒドロキシプロピルセルロース５ｇを蒸留水１００ml に溶解した液に日局沈降炭酸カルシウム（白石カルシウム、商品名；コロカルソＷＢ）３ｇを懸濁した液を用いて、顆粒Ａと同様に造粒し、３０～８３メッシュの粒度である顆粒Ｃ３００ｇを得た。顆粒Ｂ３４３．５ｇと顆粒Ｃ１５６．５ｇを混合し、ＲＫＭ水和物を含有するドライシロップ製剤５００ｇ（１ｇ中１００ｍｇ力価）を得た。

実験例3　溶出（水濡れ）試験

ＲＫＭ水和物及び無水物を錠剤の基本組成による処方組成に従い乳鉢で混合した粉末を用い溶出試験を行った。ＲＫＭ水和物の処方については下記に処方５、ＲＫＭ無水物の処方については下記に処方６として示したものとをそれぞれ以下の試験に用いた。溶出試験の条件は、無酸胃液モデル１６０ml （生理食塩水４０ml ＋蒸留水１２０ml ）を２００ml ビーカー内で３７℃に保ち、スターラーで撹拌（約２００ｒｐｍ）下、薬剤の１回臨床用量相当（ＲＫＭ２００ｍｇ含有）を添加し経時的に溶出液を採取し、濾過後、薬物濃度をＨＰＬＣにて上記と同一の条件にて測定した。対照として、ＲＫＭ無水物をＤＫエステルで表面処理した粉末（処方７）を用いた溶出試験を行った。

その結果を第5図（処方5の場合）、第6図（処方6の場合）、第7図（処方7の場合）に示す。製剤の生物学的利用能（以下B．A．と略す）を推定する上で、溶出試験が一般に行われているが、この溶出試験法は文献公知の方法（特公平2－59129号公報、薬剤学．48，No．2，147，1988）により行った。

処方5：RKM水和物　200mg
　　グリシン　340mg
　　クエン酸　70mg
処方6：RKM無水物　200mg
　　グリシン　340mg
　　クエン酸　70mg
処方7：DKエステル表面処理RKM無水物（RKM無水物10部を乳鉢に取り、ショ糖脂肪酸エステルF－160の0．4重量部を水10重量部に懸濁した懸濁液で、混合しながら充分に湿潤せしめた後、減圧乾燥したもの。）
　　210mg
　　グリシン　340mg
　　クエン酸　70mg

第5図、第6図及び第7図から明らかな通り、処方5のRKM水和物は、処方7のようにDKエステル表面処理による前処理をしなくても、対照として挙げた処方7の製剤と同様の優れた溶出曲線を示した。しかしながら、処方6のRKM無水物の場合は、水に濡れ難いために溶出速度の遅れが観察された。この結果から、RKM水和物は水濡れが非常に良く溶出試験液中に速やかに分散する優れた性質を有する結晶であることが示された。

実験例4　かさ密度（比容積）試験

目盛付試験管（10ml）に、それぞれRKM水和物及びRKM無水物の各原

末2ｇを充填し、４～５ｃｍ高さからタッピングを行い、タッピング回数に対する容積を計量した。その結果を第３表に示した。ＲＫＭ水和物は無水物に比べ約３０％比容積が小さく、錠剤などのサイズダウンが可能となり、飲用し易い製剤化が可能となる。

第３表

回数 / 試料	容　積（ｍｌ）				
	１０回	５０回	１００回	２００回	４００回
ＲＫＭ無水物	6．0	5．8	5．4	5．4	5．3
ＲＫＭ水和物	4．0	4．0	3．9	3．8	3．6

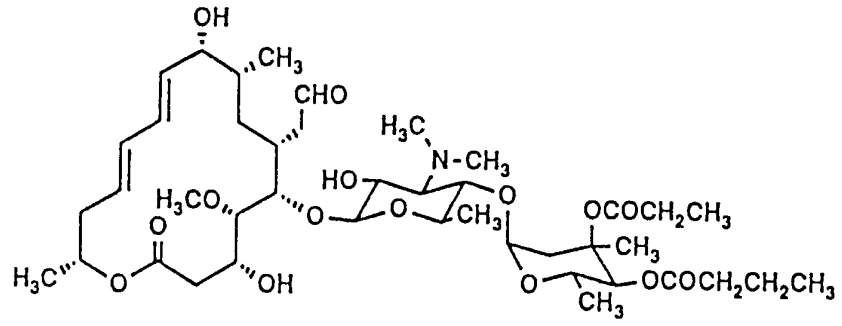
発明の効果

以上の結果より、本発明はＲＫＭより苦味の極めて改善された新規なＲＫＭ水和物を提供するものであり、これを使用すればＲＫＭをシロップ剤として製剤化する際、従来の高分子フィルムなどをコーティング剤とするスプレードライ法によりＲＫＭをマイクロカプセル化して苦味を隠ぺいする必要が無く、原末を加工せずに、従来品と同等或はそれ以上の品質のシロップ剤の製剤化が可能であること、又、ＲＫＭ水和物は水濡れが非常に優れているため、錠剤として製剤化する際、従来のＤＫエステルによる表面処理の必要はなく、溶出試験結果から、Ｂ．Ａ．（生物学的利用能）においても従来品と同等の品質の錠剤の製剤化を実施できる。

以上、本発明により得られたＲＫＭ水和物は製剤化においても、上記の極めて優れた性質を有する結晶である。更に、前述の製造法により得られた本発明のＲＫＭ水和物は高純度、高収率かつ熱安定性が高く、工業的規模における目的に合致した有効成分の単品もしくは一定の成分比の製品を製造できる分離精製法をも提供できるものである。

請 求 の 範 囲

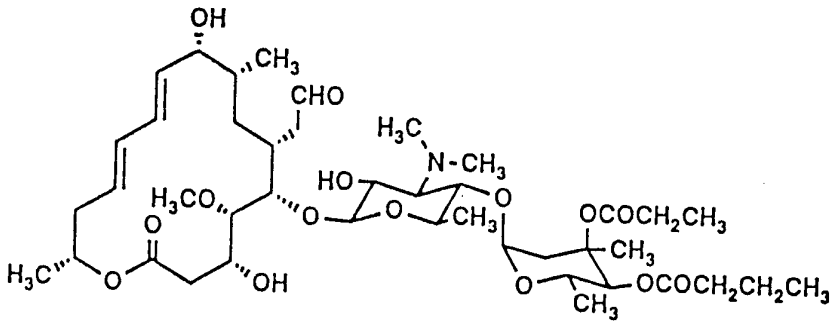
1．下記式（1）



・H_2O （1）

で表されるロキタマイシン・1水和物結晶。

2．ロキタマイシンを酸性水溶液中で結晶化することを特徴とする式（1）



・H_2O （1）

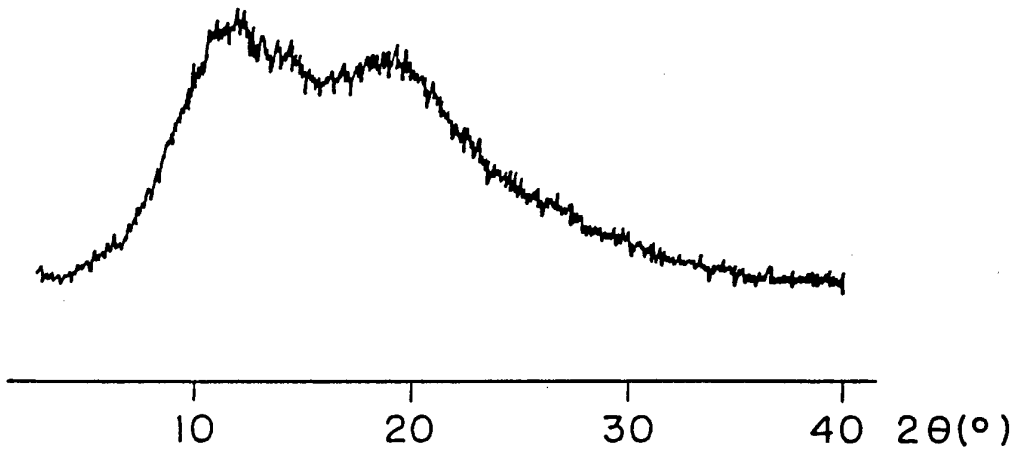
で表されるロキタマイシン・1水和物結晶の製造法

3．酸性水溶液が、有機酸または無機酸のｐＨ1～4の水溶液である請求の範囲第2項記載の製造法。

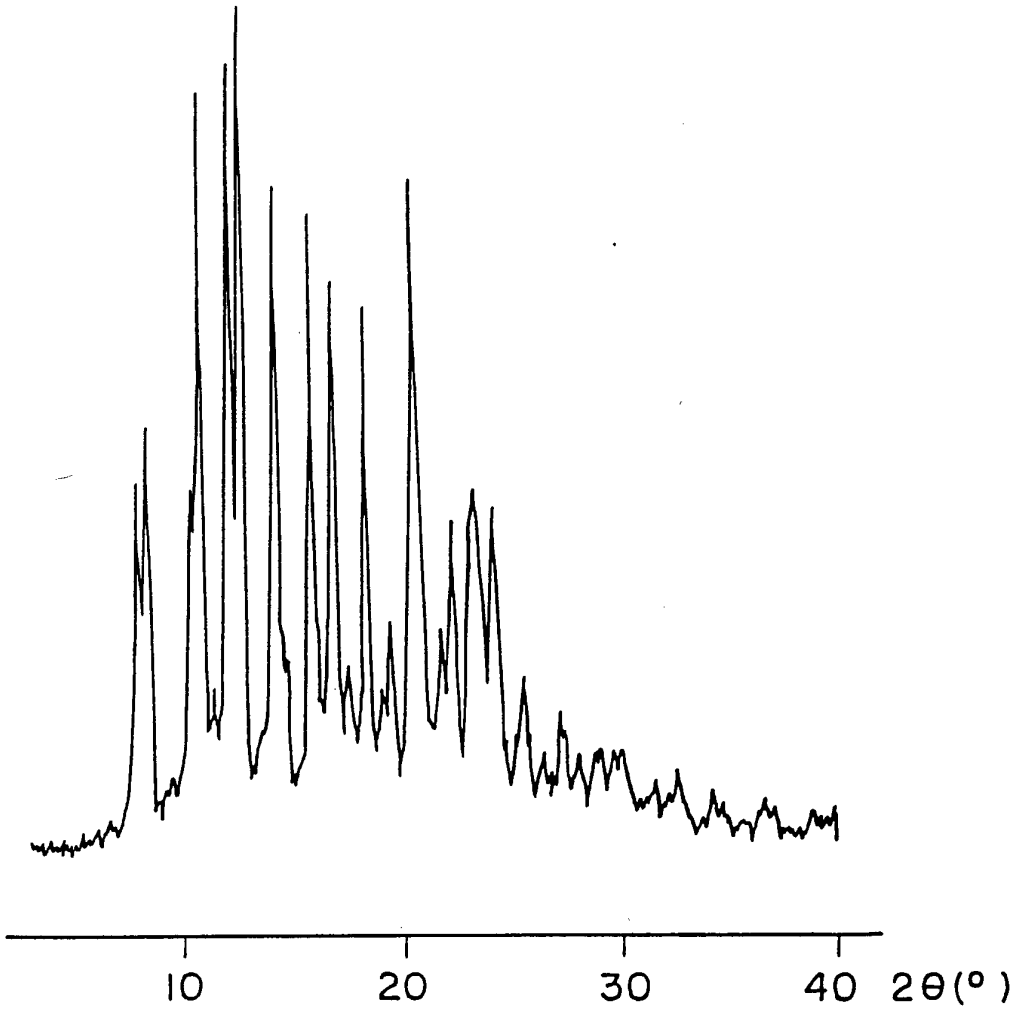
4．有機酸が、酢酸、プロピオン酸である請求の範囲第3項記載の製造法。

5．無機酸が、リン酸である請求の範囲第3項記載の製造法。

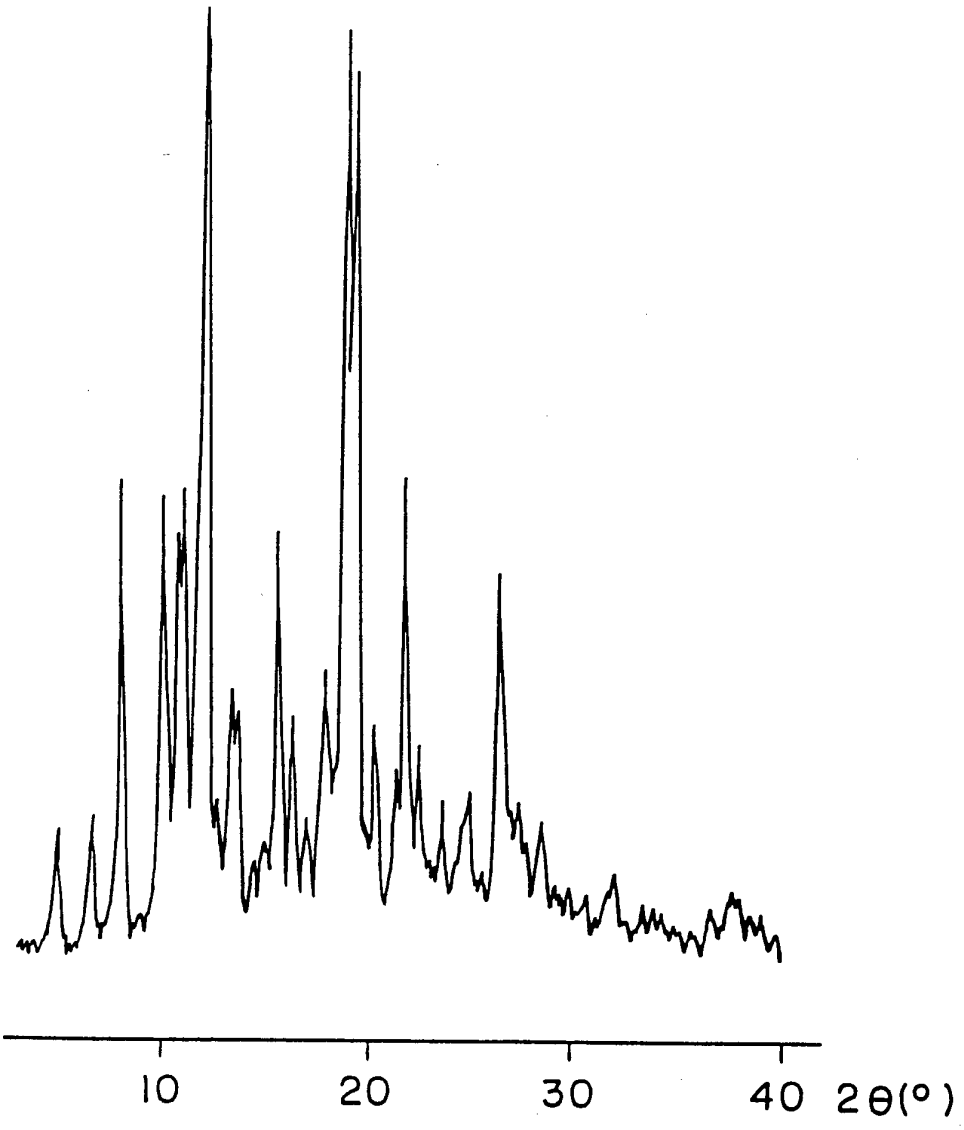
第 1 図



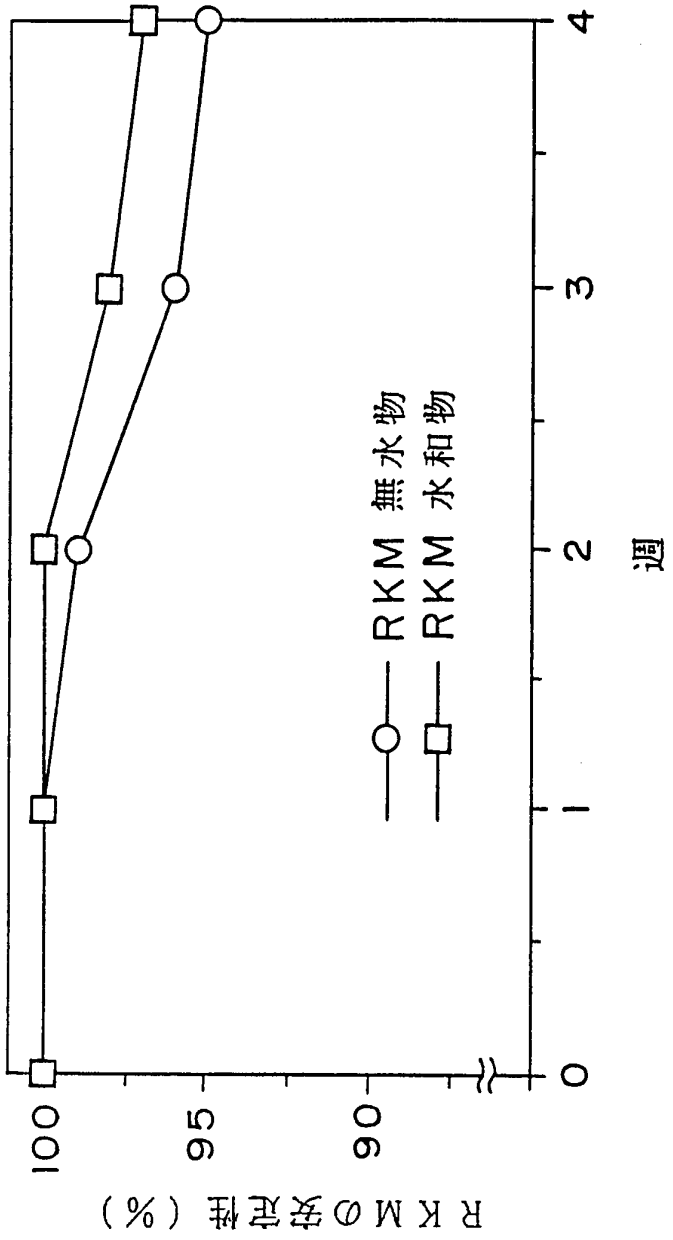
第 2 図



第 3 図

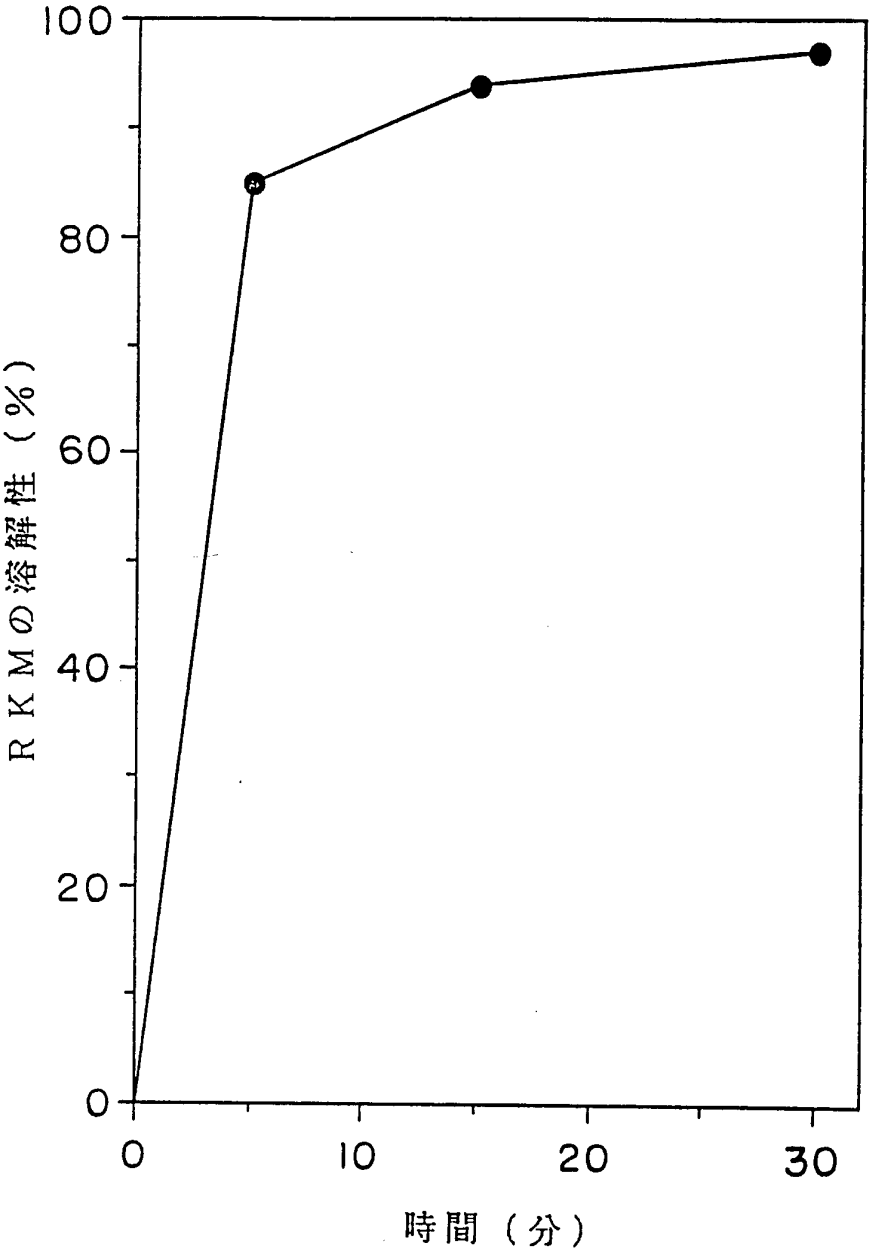


第４図



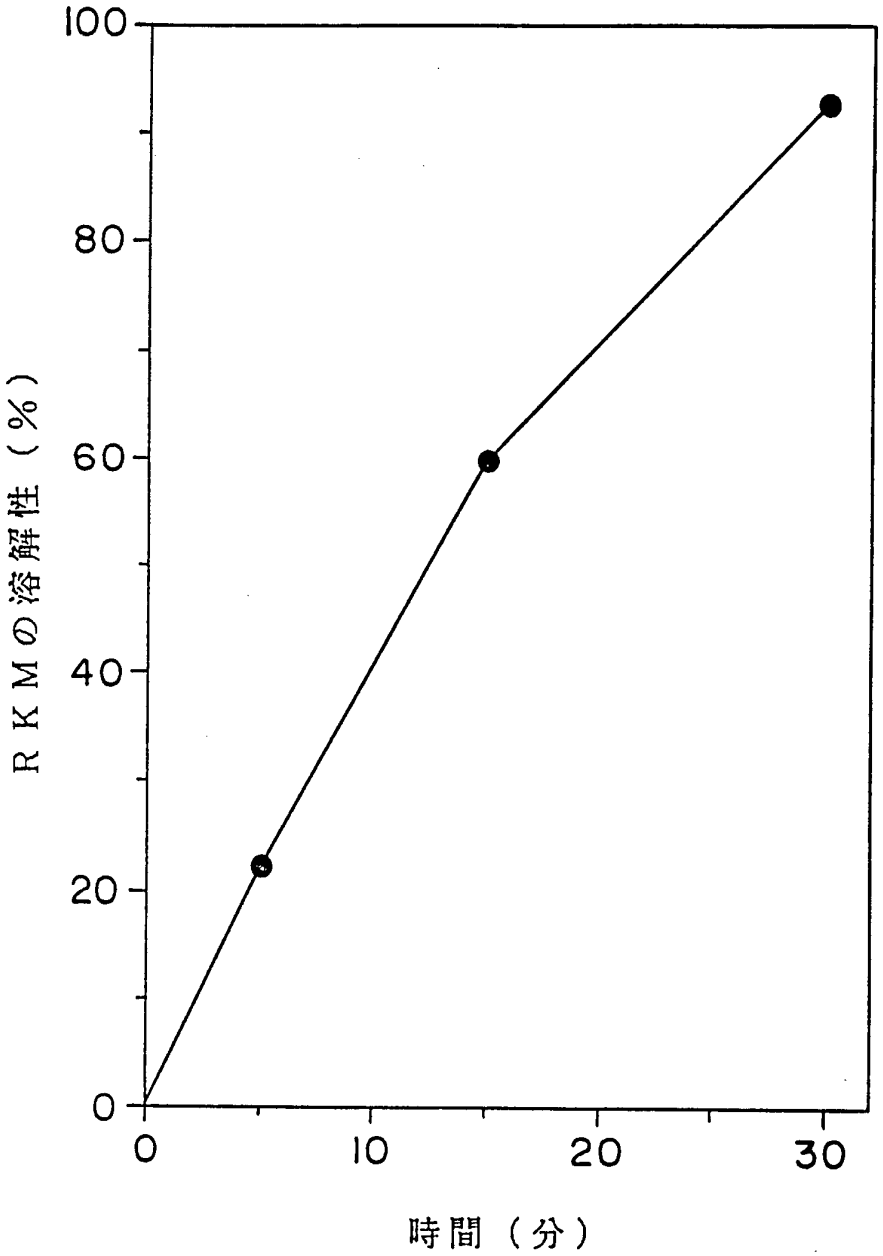
第 5 図

処方 5



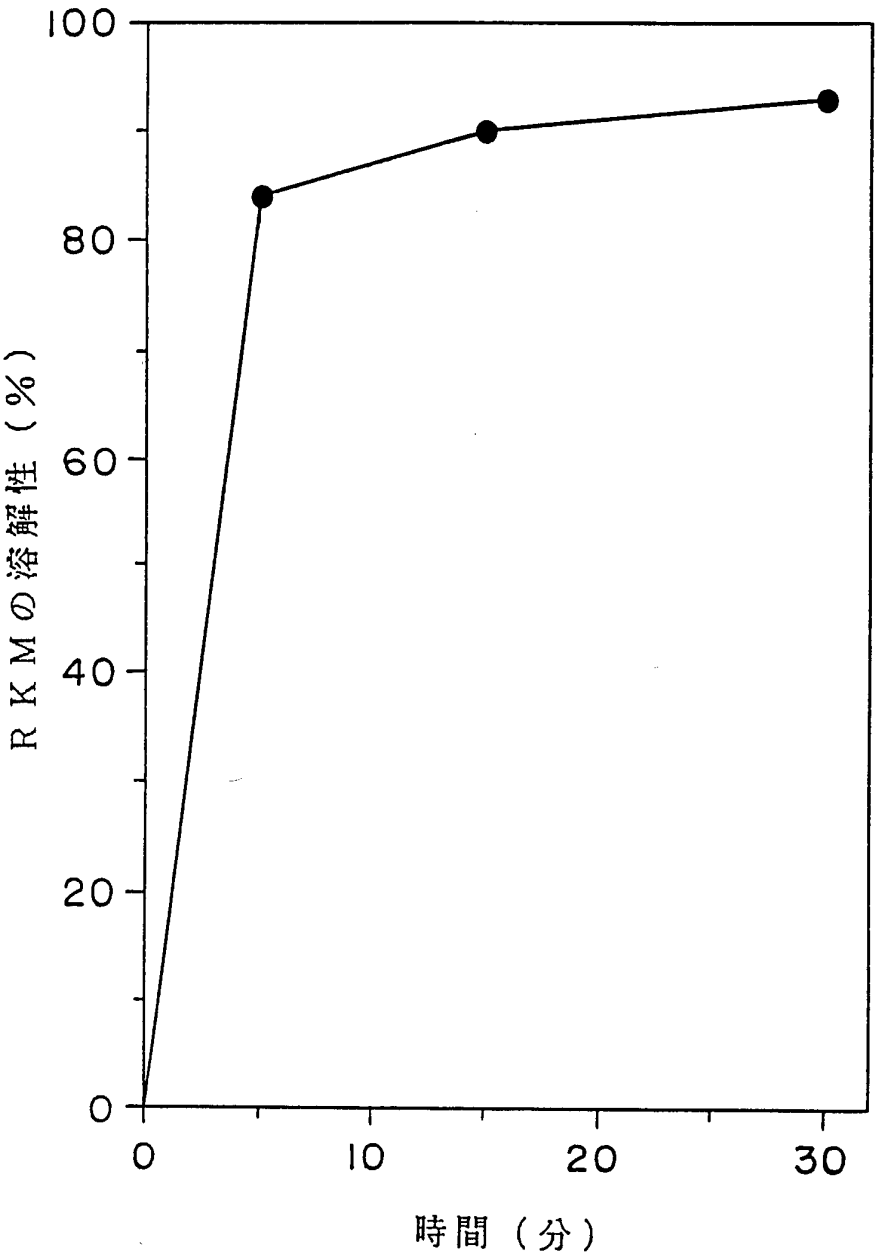
第 6 図

処方 6



第 7 図

処方 7



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP93/01189

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl^5 C07H17/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl^5 C07H17/08

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAS ONLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Joarnal of Antibiotics, Vol. 34, No. 8, P. 1001-1010, August 25, 1981 (25. 08. 81), H. Sakakibara et al., "Acyl derivatives of 16-Membered Macrolides"	1-5
A	JP, A, 54-148793 (Toyo Jozo Co., Ltd.), November 21, 1979 (21. 11. 79), & DE, A, 2918954 & NL, A, 79/3704 & DK, A, 79/1907 & SE, A, 79/3794 & GB, A, 2023596 & FR, A, 2425450 & US, A, 4242504	1-5
A	JP, A, 52-51013 (Yamanouchi Pharmaceutical Co., Ltd.), April 23, 1977 (23. 04. 77), (Family: none)	1-5

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [ ] See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
November 15, 1993 (15. 11. 93)	December 7, 1993 (07. 12. 93)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

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

国 際 調 査 報 告

国際出願番号 PCT/JP 93/01189

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int. Cℓ[5] C07H17/08

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

Int. Cℓ[5] C07H17/08

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

CAS ONLINE

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求の範囲の番号
A	Joarnal of Antibiotics, vol. 34, No. 8, P. 1001—1010, 25. 8月. 1981（25. 08. 81） H. Sakakibara et. al. "Acyl derivatives of 16—Membered Macrolides"	1—5
A	JP, A, 54—148793（東洋醸造株式会社）, 21. 11月. 1979（21. 11. 79）, &DE, A, 2918954&NL, A, 79/3704	1—5

☑ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
15. 11. 93	07.12.93

名称及びあて先
日本国特許庁（ISA/JP）
郵便番号100
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員） 4C 7822
横尾俊一

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

様式PCT/ISA/210（第2ページ）（1992年7月）

C（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求の範囲の番号
	&DK, A, 79/1907&SE, A, 79/3794 &GB, A, 2023596&FR, A, 2425450 &US, A, 4242504	
A	JP, A, 52-51013（山之内製薬株式会社）， 23. 4月. 1977（23. 04. 77）（ファミリーなし）	1－5