

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5043308号
(P5043308)

(45) 発行日 平成24年10月10日(2012.10.10)

(24) 登録日 平成24年7月20日(2012.7.20)

(51) Int.Cl. F I
C O 7 D 498/18 (2006.01) C O 7 D 498/18 C S P
A 6 1 K 31/436 (2006.01) A 6 1 K 31/436
A 6 1 P 37/06 (2006.01) A 6 1 P 37/06

請求項の数 3 (全 8 頁)

(21) 出願番号	特願2005-106512 (P2005-106512)	(73) 特許権者	504389991
(22) 出願日	平成17年4月1日(2005.4.1)		ノバルティス アーゲー
(62) 分割の表示	特願2000-586368 (P2000-586368)		スイス国 バーゼル リヒトシュトラーセ 35
原出願日	平成11年12月6日(1999.12.6)	(74) 代理人	100081422
(65) 公開番号	特開2005-200429 (P2005-200429A)		弁理士 田中 光雄
(43) 公開日	平成17年7月28日(2005.7.28)	(74) 代理人	100101454
審査請求日	平成17年4月15日(2005.4.15)		弁理士 山田 卓二
審判番号	不服2009-25542 (P2009-25542/J1)	(74) 代理人	100067035
審判請求日	平成21年12月24日(2009.12.24)		弁理士 岩崎 光隆
(31) 優先権主張番号	9826882.4	(74) 代理人	100062144
(32) 優先日	平成10年12月7日(1998.12.7)		弁理士 青山 稜
(33) 優先権主張国	英国 (GB)	(74) 代理人	100144923
(31) 優先権主張番号	9904934.8		弁理士 中川 将之
(32) 優先日	平成11年3月4日(1999.3.4)		
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 マクロライドの安定化

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

結晶格子が $a = 14.37$ 、 $b = 11.24$ 、 $c = 18.31$ であり、体積が 2805^3 である、 $40-O-(2\text{-ヒドロキシエチル})$ -ラパマイシンの非溶媒和形の結晶。

【請求項2】

$40-O-(2\text{-ヒドロキシエチル})$ -ラパマイシンを脂肪族炭化水素 C_nH_{2n+2} ($n = 5, 6$ または 7) と酢酸エチルを含む溶媒系から結晶化させ、生成した結晶を回収することを特徴とする、請求項1記載の結晶を製造する方法。

【請求項3】

有効成分である請求項1記載の結晶と、1種またはそれ以上の医薬的に許容される希釈剤または担体を含有する、医薬的組成物。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、酸化に鋭敏な医薬的活性成分、例えばポリ-エンマクロライド、好ましくは免疫抑制性を有するポリ-エンマクロライド、好ましくはラパマイシンの安定化に関する。

【0002】

取り扱いおよび保存、特に、酸化に鋭敏な医薬的活成分のバルク型の取り扱いおよび保

存は、困難である。特別の取り扱いが必要であり、しばしば、酸化-鋭敏性成分は、保護ガスの下、気密性パッケージ中に保存される。実質量の安定剤が、その医薬的活性成分の製剤工程の間に添加される。

【 0 0 0 3 】

ポリ-エンマクロライドは、十分な安定性を有する。しかし、酸化に対する安定性は、単離ステップにおいて安定剤、例えば抗酸化剤の添加により実質的に改善され得ることが現在発見されている。

【 0 0 0 4 】

本発明により、

1 . 好ましくは単離ステップの開始において、抗酸化剤を精製マクロライドに添加することを含みポリ-エンマクロライド安定化方法が提供される。

10

【 0 0 0 5 】

この方法は、バルクでの安定化ポリ-エンマクロライドの生成に特に有用である。抗酸化剤の量は、通常、1%まで、より好ましくは、0.01から0.5%までとなり得る(マクロライドの重量を基準とする)。このような僅かな量を、触媒量として以下で言及する。

【 0 0 0 6 】

上記以外として、本発明はまた、

2 . ポリ-エンマクロライドおよび抗酸化剤、好ましくは触媒量のそれらを、好ましくは固形で含む混合物、例えばバルク混合物を提供する。

20

【 0 0 0 7 】

当該混合物は、特定の形となり得、例えば、結晶形または無定形となり得る。それは、滅菌または実質的に滅菌状態であり、例えば、医薬的使用に適する状態であり得る。

【 0 0 0 8 】

3 . 医薬組成物の製造における上記2 . に定義の混合物の使用。

【 0 0 0 9 】

ポリ-エンマクロライドの例は、例えば、二重結合、好ましくは共役二重結合を含む分子、例えば抗生性および/または免疫抑制性を有するようなもの、例えば、ラクタムまたはラクトン結合を含むマクロライドおよびその誘導体、例えば、天然マクロライドに性質上類似する生物学的活性を有する化合物、例えば、化学的に置換されたマクロライドである。適当な例は、例えば、ラパマイシンおよびアスコマイシンを含む。好ましいポリ-エンマクロライドは、少なくとも2つの共役二重結合、例えば3つの共役二重結合を含むマクロライドである。

30

【 0 0 1 0 】

ラパマイシンは、例えば、*Streptomyces hygroscopicus*により生成可能な既知ラクタムマクロライドである。ラパマイシンの構造は、Kessler, H. et al.; 1993; *Helv. Chim. Acta*, 76: 117により決定されている。ラパマイシンは、抗生性および免疫抑制性を有する。ラパマイシンの誘導体は知られており、例えば、W094/02136およびW096/41807に開示の16-O-置換ラパマイシン、例えばW094/09010、W092/05179、W095/14023、94/02136、W094/02385およびW096/13273に開示の40-O-置換ラパマイシンであり、それらはすべて引用によりこの文書に加える。好ましいラパマイシン誘導体は、例えば、W094/09010の1頁に解説の式Aの40位のヒドロキシを、-OR[式中、Rはヒドロキシアルキル、ヒドロキシアルコキシアルキル、アシルアミノアルキルまたはアミノアルキル、例えば、40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシン、40-O-(3-ヒドロキシ)プロピル-ラパマイシン、および40-O-[2-(2-ヒドロキシ)エトキシ]エチル-ラパマイシンである]で置換したラパマイシンである。

40

【 0 0 1 1 】

F K - 5 0 6 およびアスコマイシンが最も知られるアスコマイシン群は、他のクラスの

50

ラクタムマクロライドを形成し、その多くは、強力な免疫抑制および抗炎症活性を有する。FK506は、*Streptomyces tsukubaensis*により生成するラクタムマクロライドである。FK506の構造は、Merck Index, 11th ed.(1989)にアイテムA5として記載されている。アスコマイシンは、例えば、USP3,244,592中に記載されている。アスコマイシン、FK506、類似の生物学的活性を有する他の天然に生ずるマクロライド群およびそれらの誘導体、例えば、合成類似体および誘導体は、ひとまとめにして、“アスコマイシン群”と名付けられている。合成類似体または誘導体の例は、例えば、ハロゲン化アスコマイシン、例えば、EP-A-427,680に開示のような3,3-エピ-クロロ-3,3-デスオキシ-アスコマイシン、EP-A-626,385に開示のテトラヒドロピラン誘導体である。

【0012】

10

特に好ましいマクロライドは、ラパマイシンおよび4,0-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシンである。

【0013】

好ましい抗酸化剤は、例えば、2,6-ジ-tert-ブチル-4-メチルフェノール(以下、BHT)、ビタミンEまたはCであり、BHTが特に好ましい。

【0014】

本発明の特に好ましい混合物は、ラパマイシンまたは4,0-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシンおよび0.2%(マクロライドの重量を規準とする)抗酸化剤、好ましくはBHTの混合物である。

【0015】

20

当該抗酸化剤は、単離ステップの開始において、好ましくは最終単離ステップの開始において、より好ましくは最終沈殿ステップ直前にポリ-エンマクロライドに添加され得る。当該マクロライドは、好ましくは精製状態である。それは、不活性溶媒中に溶解され得、抗酸化剤が、生じた溶液に添加され、その後、例えば、無定形または結晶形の安定化マクロライドの沈殿ステップが行われる。好ましくは、本発明の混合物は、無定形である。

【0016】

生じる安定化マクロライドは、酸化剤に対して改善された安定性を驚くべきことに示し、例えばガレヌス製剤中に更に加工する前の、例えばバルク形での取り扱いおよび保存は、かなり容易となる。無定形のマクロライドが特に興味が惹かれる。

【0017】

30

本発明による安定化マクロライドは、目的とするガレヌス製剤の製造用として有用となり得る。その製剤は、1つまたはそれ以上の医薬的に許容される希釈剤または担体の添加を含み、更に必要ならば安定剤の添加を含む、当分野に既知の方法により調製され得る。

【0018】

他に、更に、
4. 活性成分として、上記開示の安定化混合物を、1つまたはそれ以上の医薬的に許容される希釈剤または担体と共に含む、医薬組成物が提供される。

【0019】

40

本発明の当該組成物は、経口、非経口、局所的(例えば、皮膚)、口(ocular)、鼻腔または吸入(例えば、肺)の投与に適用し得る。好ましい組成物は、経口投与のためのものであり、活性成分がラクトンマクロライドのときは、好ましくは、水を含まない(water free)組成物である。

【0020】

本発明の医薬的組成物は、更に賦形剤、例えば、滑沢剤、崩壊剤、界面活性剤、担体、希釈剤、香料(flavor enhancer)などを含み得る。それは、液体形、例えば、溶液、懸濁液、もしくは例えばUSP5,536,729に開示のマイクロエマルジョンのようなエマルジョンであり得るか、または固形、例えば、W097/03654(その内容は引用によりこの文書に加える)に開示のようなカプセル、錠剤、糖衣錠、粉末(微粉化、その他に細分化した粒子を含む)、固体分散、顆粒などであり得るか、または軟膏、ゲル、クリームおよびペーストのよう

50

な半固形であり得る。それは、好ましくは経口投与に適当な形に適用される。好ましくは、それらは固形である。本発明の医薬的組成物は、本発明により安定化したマクロライドを添加成分と攪拌の下、混合することにより、既知の方法に従い調製され得る。当該成分は、粉碎または研磨し得、望ましいならば例えば錠剤に圧縮し得る。

【 0 0 2 1 】

本発明は、液体形または固形のラパマイシン組成物に特に興味を惹かれる。特に好ましい組成物は、例えば本発明による安定化ラパマイシンを含む固体分散、および担体媒体、例えばWO97/03654に開示のヒドロキシプロピルメチルセルロースのような水溶性ポリマーである。

【 0 0 2 2 】

本発明の組成物は、例えば既知用量を含むマクロライドに知られるような適応症に有用である。例えば、マクロライドが免疫抑制性、例えばラパマイシンまたはラパマイシン誘導体を有するとき、その組成物は、例えば、器官または組織の急性または慢性の同種-または異種-移植拒絶、自己免疫疾患または炎症、喘息、増殖異常、例えば腫瘍、または過増殖血管疾患(hyperproliferative vascular disorder)の処置または防止に、好ましくは、移植拒絶の防止または処置に有用となり得る。

【 0 0 2 3 】

投与されるマクロライドおよび組成物の量は、ファクターの数、例えば、使用する活性成分、処置する症状、処置時間などに依存する。例えば、ラパマイシンまたは40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシンの場合、経口投与に適当な一日あたりの用量形は、一度または数回に分けて投与される0.1から10mgを含む。

【 0 0 2 4 】

他の態様では、本発明はまた、結晶形の、特に実質的に精製(pure)形の40-O-(2-ヒドロキシ)-エチル-ラパマイシンを提供する。好ましくは結晶形は、任意の溶媒成分の非存在または実質的な非存在により特徴付けられ、それは、非溶媒和形である。

【 0 0 2 5 】

結晶形の40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシンは、単斜晶系に属する。生じた結晶は、146°-147°、特に146.5°の融点を有する。新規結晶形の同定を補助するため、X線回折分析データを提供する。これらデータが得られる条件は以下の通りである。

温度	293(2)K
波長	1.54178
空間群	P2 ₁
単位細胞の大きさ	
a	14.378.(2)
b	11.244(1)
c	18.310(2)
	108.58(1)°
体積	2805.8(6) ³
Z	2
密度(計算値)	1.134g/cm ³
吸収係数	0.659mm ⁻¹
F(000)	1040
結晶の大きさ	0.59×0.11×0.03mm
データ回収用 範囲	2.55から57.20°
回収反射	4182
独立反射	4037[R(int)=0.0341]
強度減衰	32%
改良方法	F ² におけるフルマトリクス最小二乗法
データ/抑制/パラメーター	3134/1/613

10

20

30

40

50

F²における適合度 1.055
 最終R指標[I > 2シグマ(I)] R₁ = 0.0574、wR₂ = 0.1456
 最も大きい回折ピークおよびホール 0.340および-0.184 e / ³
 【0026】

結晶形の40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシンは、溶媒、例えば酢酸エチル中の無定形化合物を溶解することにより、および脂肪族炭化水素C_nH_{2n+2}(n = 5、6または7)を添加することにより、調製され得る。炭化水素の添加後、生じた混合物は、温度25から50 に、例えば30-35 までに暖められ得る。生じた混合物の保存は、通常、低温度、例えば、25 未満、好ましくは0から25 で生じ得る。結晶は濾過され、乾燥される。ヘプタンが脂肪族炭化水素として好ましい。望ましいならば、核形成は、例えば超音波処理またはシーディングにより、開始され得る。

10

【0027】

本発明はまた、例えば上記開示の結晶生成媒体から、結晶化40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシンを含む40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシンを精製し、得られた結晶を回収する工程を提供する。当該結晶生成媒体は、上記引用のものに加えて1つまたはそれ以上の成分が含まれ得る。特に適当な結晶生成媒体は、約2部の酢酸エチルおよび約5部の脂肪族炭化水素、例えばヘプタンを含むものが発見されている。

【0028】

結晶形の40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシンは、無定形のものと比較して、インビトロおよびインビボで免疫抑制活性を有することが発見されている。局所化GvHDでは、リンパ節膨化の最大阻害(70-80%)が、結晶形40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシン3mgの用量で達成された。

20

【0029】

40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシンは、例えば、急性および慢性の同種-または異種-移植拒絶、自己免疫疾患または炎症、喘息、増殖異常、例えば腫瘍、またはW094/09010またはW097/35575(その内容は引用によりこの文書に加える)に開示の過増殖血管疾患を処置または防止するための、無定形化合物として知られるのと同じ適応症に有用となり得る。通常、十分な結果が、0.05から5または20mg/kg/dayのオーダーの用量、例えば、0.1から2または7.5mg/kg/dayまでのオーダーの用量で、一日あたり一度または2から4までの用量で投与される経口投与で得られる。そのため、患者に適当な一日あたりの用量は、10mgまでのオーダー、例えば0.1から10mgである。

30

【0030】

結晶形の40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシンは、任意の通常の経路、例えば、経口、例えば錠剤またはカプセル、または鼻腔または肺(吸入により)により投与され得る。それは、単一の活性成分として、または他の薬剤、例えば、W094/09010に開示のような免疫抑制および/または免疫調節剤および/または抗炎症剤と共に投与され得る。

【0031】

前述に従い、本発明はまた、
 5. 処置を必要とする対象において、急性または慢性の同種-または異種-移植拒絶、自己免疫疾患または炎症、喘息、増殖異常、または過増殖血管疾患を防止または処置する方法であって、当該対象に治療学的に有効量の結晶形40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシンを投与することを含む方法、
 6. 医薬として、例えば上記開示の方法に使用のための結晶形40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシン、
 7. 医薬的に許容される希釈剤または担体と共に結晶形40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシンを含む医薬的組成物、
 8. 上記開示のような医薬的組成物および免疫抑制または免疫調節剤または抗炎症剤を含む医薬的組成物を含む、免疫抑制および炎症に使用するためのキットまたはパッケージを提供する。

40

【0032】

50

下記実施例は、本発明を解説するものであり、限定するものではない。

【0033】

実施例1：結晶

0.5g無定形40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシンを40℃で酢酸エチル2.0mlに溶解する。ヘプタン5.0mlを添加し、溶液を“乳濁状”とする。30℃に温めた後、当該溶液は、再び透明となる。0℃への冷却により、およびスクラッチすると共に油状物が析出する。試験管を封じ、10℃で一夜保存する。次いで、生じた白い大量の固体を濾過し、酢酸エチル/ヘキサン(1:2.5)の混合物0.5mlで洗浄し、生じた結晶を40℃、5mbarで16時間乾燥させる。次いで、融点146.5℃の結晶形40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシンを得る。

10

【0034】

大規模の結晶化は以下の通り実施し得る：

無定形40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシン250gをアルゴン気流中、ゆっくり攪拌しながら酢酸エチル1.0lに溶解する。この溶液を30℃に加熱し、次いで45分間、1.5lヘプタンを滴下する。上記開示のように調製した種晶0.25gを同一条件下、分けて加える。当該混合物を2時間にわたり30℃で攪拌し、結晶化混合物を1時間にわたり25℃に冷却し、次いで、30分間10℃に冷却し、濾過する。当該結晶を酢酸エチル/ヘキサン(2:3)混合物100mlで洗浄する。その後の乾燥は、50℃で約5mbarで行う。融点146.5℃

KBr中のIR：3452、2931、1746、1717、1617、1453、1376、1241、1191、1163、1094、1072、1010、985、896 cm^{-1}

20

座標による単一X線構造を以下の図1から3に示す。

【0035】

実施例2：安定化40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシンの生成

40-O-(2-ヒドロキシ)エチル-ラパマイシン100gを無水エタノール600lに溶解する。BHT0.2gの添加後、生じた溶液を1時間以内に3.0lの水に攪拌しながら滴下する。生じた懸濁液を更に30分間攪拌する。その後の洗浄(5:1のv/v比の水/エタノール3×200ml)を伴う濾過により、含水性の白色生成物が生じ、更に、30℃、真空(1mbar)中で48時間更に乾燥する。当該生じた乾燥生成物は0.2%(w/w)BHTを含む。

30

【0036】

生じた生成物は、保存において改善された安定性を示す。1週間の保存後の副産物および崩壊物の%の合計は以下の通りである。

化合物	オープンフラスコにおいて50
実施例2(0.2%BHT)	1.49
BHTなし	>10

【0037】

上記実施例の手順は、活性成分としてラパマイシンを使用する以外に繰返し得る。

【図面の簡単な説明】

40

【0038】

【図1】図1は、座標による単一X線構造を示す。

【図2】図2は、座標による単一X線構造を示す。

【図3】図3は、座標による単一X線構造を示す。

【 図 1 - 1 】

原子座標および等価方位性置換パラメーター (Å²)

(U(eq)は、直交性U項テンソルのトレースの1/3として定義される。)

Table with 4 columns: x/a, y/b, z/c, U(eq). Rows include C(1) through O(28) with numerical values in parentheses.

【 図 1 - 2 】

原子座標および等価方位性置換パラメーター (Å²)

(続き)

Table with 4 columns: x/a, y/b, z/c, U(eq). Rows include C(29) through O(45) with numerical values in parentheses.

【 図 2 】

結合長 (Å)

Table with 4 columns listing bond lengths between atoms (e.g., C(1)-O(1), C(1)-O(34)) and their values in Å.

【 図 3 】

結合角 (°)

Table with 4 columns listing bond angles between atoms (e.g., O(1)-C(1)-O(34)) and their values in degrees.

フロントページの続き

(74)代理人 100156144

弁理士 落合 康

(72)発明者 フランソワ・ナバロ

フランス、エフ - 6 8 4 4 0 ブリュバッシュ、リュ・プリンシパル5 3 番

(72)発明者 サミュエル・プチ

フランス、エフ - 7 6 1 3 0 モン - サン - エニャン、パルク・ドゥ・ラ・リスル1 1 番

(72)発明者 ガイ・ストーン

スイス、ツェーハー - 4 1 0 7 エッティンゲン、マルフバッハシュトラーセ9 番

合議体

審判長 内藤 伸一

審判官 前田 佳与子

審判官 中村 浩

(56)参考文献 特表平8 - 5 0 2 2 6 6 (J P , A)

米国特許第3 9 2 9 9 9 2 (U S , A)

特開平4 - 2 3 0 3 8 9 (J P , A)

特開平5 - 1 1 7 2 7 9 (J P , A)

特開平6 - 2 1 1 8 7 0 (J P , A)

国際公開第9 6 / 4 1 8 0 7 パンフレット (W O , A 1)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C07D498/18

A61K31/436

A61P37/06