



(21)申請案號：102131754

(22)申請日：中華民國 102 (2013) 年 09 月 04 日

(51)Int. Cl. : C07D487/10 (2006.01)

A61K31/4439 (2006.01)

(30)優先權：2012/09/06 日本

2012-195761

(71)申請人：第一三共股份有限公司 (日本) DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED (JP)
日本

(72)發明人：吉田祥子 YOSHIDA, SHOKO (JP)；杉本雄一 SUGIMOTO, YUUICHI (JP)

(74)代理人：丁國隆

(56)參考文獻：

WO 2006/091646A2

審查人員：吳祖漢

申請專利範圍項數：17 項 圖式數：24 共 58 頁

(54)名稱

二螺吡咯啉衍生物之結晶

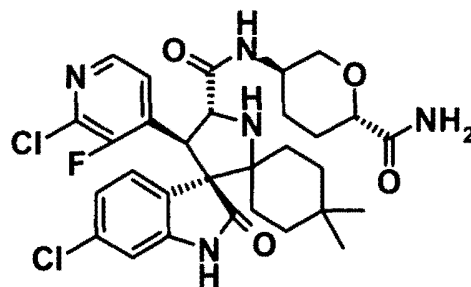
CRYSTALS OF DISPIROPYRROLIDINE DERIVATIVE

(57)摘要

本發明係提供抑制 Mdm2 作用的二螺吡咯啉化合物或其鹽之結晶。

本發明係提供抑制 Mdm2 而具有抗腫瘤活性之(3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-嘓喃-3-基]-6''-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2''-側氧-1'',2''-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啉-3',3''-吡啶]-5'-甲醯胺或其鹽之結晶及含彼等之醫藥。

特徵化學式：



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

二螺吡咯啉衍生物之結晶

CRYSTALS OF DISPIROPYRROLIDINE DERIVATIVE

【技術領域】

【0001】本發明係關於經抑制 Mdm2(murine double minute 2)而具有抗腫瘤活性的二螺吡咯啉化合物或其鹽之結晶。

【先前技術】

【0002】p53作為抑制細胞癌化的重要因子之1者為已知。p53為對各式各樣壓力反應而誘導參與細胞週期或細胞之細胞凋亡的基因表現的轉錄因子。一般認為p53係藉由其轉錄調節機能而抑制細胞癌化，實際上，約半數人類的癌症已觀察到p53基因之缺損或變異。

另一方面，作為儘管p53為正常但仍癌化的細胞之癌化要因之1者而言，已知E3泛素連接酶(ubiquitin ligase)之1種的Mdm2(鼠雙微粒體2，murine double minute 2)之過度表現。Mdm2係經由p53而被誘導表現的蛋白質。Mdm2與p53之轉錄活性功能域(domain)結合而使p53之轉錄活性降低的同時，會將p53排出至核外，再者，藉由作為對p53的泛素化連接酶之作用來媒介p53之分解，而負向控制p53。因此，於Mdm2過度表現的細胞，一般認為p53機能之不活化及分解會被促進而癌化會被引發(非專利文獻1)。

著眼於此種 Mdm2 之機能，將抑制由 Mdm2 而抑制 p53 機能的物質作為抗腫瘤劑之候補途徑已有多數進行。就將 Mdm2 與 p53 之結合部位作為標的之 Mdm2 抑制劑而言，已報告螺羧吲哚 (spiro-oxindole) 衍生物 (專利文獻 1～15、非專利文獻 1～3)、吲哚衍生物 (專利文獻 16)、吡咯啉-2-甲醯胺衍生物 (專利文獻 17)、吡咯啉酮衍生物 (專利文獻 18)、異吲哚啉酮衍生物等 (專利文獻 19、非專利文獻 4)。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0003】

[專利文獻 1] 國際公開第 2006/091646 號小冊

[專利文獻 2] 國際公開第 2006/136606 號小冊

[專利文獻 3] 國際公開第 2007/104664 號小冊

[專利文獻 4] 國際公開第 2007/104714 號小冊

[專利文獻 5] 國際公開第 2008/034736 號小冊

[專利文獻 6] 國際公開第 2008/036168 號小冊

[專利文獻 7] 國際公開第 2008/055812 號小冊

[專利文獻 8] 國際公開第 2008/141917 號小冊

[專利文獻 9] 國際公開第 2008/141975 號小冊

[專利文獻 10] 國際公開第 2009/077357 號小冊

[專利文獻 11] 國際公開第 2009/080488 號小冊

[專利文獻 12] 國際公開第 2010/084097 號小冊

[專利文獻 13] 國際公開第 2010/091979 號小冊

[專利文獻 14] 國際公開第 2010/094622 號小冊

[專利文獻15]國際公開第2010/121995號小冊

[專利文獻16]國際公開第2008/119741號小冊

[專利文獻17]國際公開第2010/031713號小冊

[專利文獻18]國際公開第2010/028862號小冊

[專利文獻19]國際公開第2006/024837號小冊

[非專利文獻]

[非專利文獻1]J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 10130-10131

[非專利文獻2]J. Med. Chem., 2006, 49, 3432-3435

[非專利文獻3]J. Med. Chem., 2009, 52, 7970-7973

[非專利文獻4]J. Med. Chem., 2006, 49, 6209-6221

【發明內容】

[發明欲解決之課題]

【0004】二螺吡咯啉衍生物顯示優異的Mdm2抑制活性，而被期待作為醫藥，尤其是作為抗癌劑之利用。又發現此等衍生物之結晶於工業上為有意義的。

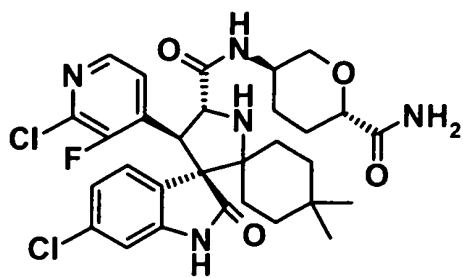
[解決課題之手段]

【0005】為了提高顯示Mdm2抑制活性而具有抗腫瘤活性的二螺吡咯啉衍生物之醫療上的有用性，而應使固體物性提升，本發明者們專心檢討的結果，發現下述式(1)所示的二螺吡咯啉衍生物或其鹽之結晶。

【0006】即，本發明係關於下述[1]至[14]。

[1]一種下述式(1)所表示之(3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-嘓喃-3-基]-6"-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2"-側氧-1",2"-二氫二螺[環己烷

-1,2'-吡咯啉-3',3''-吡啶]-5'-甲酰胺或其鹽之結晶，



[2]如[1]記載之化合物之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，具有第1圖所示之X射線繞射圖案。

[3]如[1]記載之化合物之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，具有第2圖所示之X射線繞射圖案。

[4]如[1]記載之化合物之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，具有第3圖所示之X射線繞射圖案。

[5]如[1]記載之化合物之鹽酸鹽之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，具有第4圖所示之X射線繞射圖案。

[6]如[1]記載之化合物之甲磺酸鹽之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，具有第6圖所示之X射線繞射圖案。

[7]如[1]記載之化合物之乙磺酸鹽之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，具有第7圖所示之X射線繞射圖案。

[8]如[1]記載之化合物之苯磺酸鹽之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖

，具有第8圖所示之X射線繞射圖案。

[9]如[1]記載之化合物之甲苯磺酸鹽之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，具有第9圖所示之X射線繞射圖案。

[10]如[2]記載之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=7.78$ 、 9.14 、 10.06 、 10.78 、 12.18 、 13.42 、 14.34 、 15.50 、 16.62 、 17.06 、 17.66 、 18.18 、 18.74 、 20.18 、 22.46 、 24.90 、 25.54 、 26.94 、 27.58 、 28.90 顯示特徵的波峰。

[11]如[3]記載之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=7.62$ 、 13.06 、 15.10 、 17.22 、 21.98 顯示特徵的波峰。

[12]如[4]記載之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=9.18$ 、 12.18 、 15.58 、 16.22 、 17.22 、 18.42 、 18.82 、 19.86 顯示特徵的波峰。

[13]如[5]記載之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=6.46$ 、 7.86 、 9.12 、 13.00 、 14.42 、 19.32 、 20.34 、 20.42 、 21.98 顯示特徵的波峰。

[14]如[6]記載之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=7.56$ 、 8.26 、 14.00 、 16.26 、 16.78 、 17.72 、 18.42 、 18.62 、 20.28 、 23.06 顯示特徵的波峰。

[15]如[7]記載之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃

)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=6.28$ 、 7.72 、 12.62 、 14.06 、 15.50 、 16.62 、 16.96 、 19.68 、 21.18 、 25.82 顯示特徵的波峰。

[16]如[8]記載之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=6.22$ 、 7.34 、 7.90 、 12.46 、 13.60 、 14.22 、 15.56 、 18.86 、 19.04 、 19.52 、 19.72 、 20.54 顯示特徵的波峰。

[17]如[9]記載之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=6.16$ 、 7.18 、 7.88 、 12.38 、 13.50 、 13.88 、 15.46 、 18.46 、 19.10 、 19.28 、 19.66 、 20.28 、 21.88 、 24.68 顯示特徵的波峰。

[18]一種醫藥，其含有[1]至[17]中任一項記載之結晶。

[發明之效果]

【0007】依據本發明，提供具有Mdm2抑制活性之(3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-嘧啶-3-基]-6"-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2"-側氧-1",2"-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3"-吡啶]-5'-甲醯胺或其鹽之結晶。本發明之結晶係固體物性優異，有用於作為抗腫瘤劑。

【圖式簡單說明】

【0008】

第1圖係實施例1-1所獲得的結晶(游離體)之粉末X射線繞射圖。圖之縱軸係以計數/秒(cps)單位表示的繞射強度，橫軸表示繞射角度 2θ 之值。

第2圖係實施例1-2所獲得的結晶(游離體)之粉末X射線繞射圖。圖之縱軸係以計數/秒(cps)單位表示的繞射強度，橫軸表示繞射角度 2θ 之值。

第3圖係實施例1-3所獲得的結晶(游離體)之粉末X射線繞射圖。圖之縱軸係以計數/秒(cps)單位表示的繞射強度，橫軸表示繞射角度 2θ 之值。

第4圖係實施例2所獲得的結晶(鹽酸鹽)之粉末X射線繞射圖。圖之縱軸係以計數/秒(cps)單位表示的繞射強度，橫軸表示繞射角度 2θ 之值。

第5圖係實施例3所獲得的結晶(硫酸鹽)之粉末X射線繞射圖。圖之縱軸係以計數/秒(cps)單位表示的繞射強度，橫軸表示繞射角度 2θ 之值。

第6圖係實施例4所獲得的結晶(甲磺酸鹽)之粉末X射線繞射圖。圖之縱軸係以計數/秒(cps)單位表示的繞射強度，橫軸表示繞射角度 2θ 之值。

第7圖係實施例5所獲得的結晶(乙磺酸鹽)之粉末X射線繞射圖。圖之縱軸係以計數/秒(cps)單位表示的繞射強度，橫軸表示繞射角度 2θ 之值。

第8圖係實施例6所獲得的結晶(苯磺酸鹽)之粉末X射線繞射圖。圖之縱軸係以計數/秒(cps)單位表示的繞射強度，橫軸表示繞射角度 2θ 之值。

第9圖係實施例7所獲得的結晶(甲苯磺酸鹽)之粉末X射線繞射圖。圖之縱軸係以計數/秒(cps)單位表示的繞射強度，橫軸表示繞射角度 2θ 之值。

第10圖係實施例1-1所獲得的結晶(游離體)之等溫吸

濕脫濕曲線圖。圖之縱軸表示化合物之重量變化(%), 橫軸表示濕度(%RH)。

第 11 圖係實施例 1-2 所獲得的結晶(游離體)之等溫吸濕脫濕曲線圖。圖之縱軸表示化合物之重量變化(%), 橫軸表示濕度(%RH)。

第 12 圖係實施例 2 所獲得的結晶(鹽酸鹽)之等溫吸濕脫濕曲線圖。圖之縱軸表示化合物之重量變化(%), 橫軸表示濕度(%RH)。

第 13 圖係實施例 4 所獲得的結晶(甲磺酸鹽)之等溫吸濕脫濕曲線圖。圖之縱軸表示化合物之重量變化(%), 橫軸表示濕度(%RH)。

第 14 圖係實施例 5 所獲得的結晶(乙磺酸鹽)之等溫吸濕脫濕曲線圖。圖之縱軸表示化合物之重量變化(%), 橫軸表示濕度(%RH)。

第 15 圖係實施例 6 所獲得的結晶(苯磺酸鹽)之等溫吸濕脫濕曲線圖。圖之縱軸表示化合物之重量變化(%), 橫軸表示濕度(%RH)。

第 16 圖係實施例 7 所獲得的結晶(甲苯磺酸鹽)之等溫吸濕脫濕曲線圖。圖之縱軸表示化合物之重量變化(%), 橫軸表示濕度(%RH)。

第 17 圖係表示實施例 1-1 所獲得的結晶(游離體)之熱分析資料的圖。圖之縱軸表示溫度差(DTA)及重量變化(TG), 橫軸表示溫度(°C)。實線表示 DTA 曲線, 虛線表示 TG 曲線。

第 18 圖係實施例 1-2 所獲得的結晶(游離體)之熱分析

資料的圖。圖之縱軸表示溫度差(DTA)及重量變化(TG)，橫軸表示溫度(°C)。實線表示DTA曲線，虛線表示TG曲線。

第19圖係實施例1-3所獲得的結晶(游離體)之熱分析資料的圖。圖之縱軸表示溫度差(DTA)及重量變化(TG)，橫軸表示溫度(°C)。實線表示DTA曲線，虛線表示TG曲線。

第20圖係實施例2所獲得的結晶(鹽酸鹽)之熱分析資料的圖。圖之縱軸表示溫度差(DTA)及重量變化(TG)，橫軸表示溫度(°C)。實線表示DTA曲線，虛線表示TG曲線。

第21圖係實施例4所獲得的結晶(甲磺酸鹽)之熱分析資料的圖。圖之縱軸表示溫度差(DTA)及重量變化(TG)，橫軸表示溫度(°C)。實線表示DTA曲線，虛線表示TG曲線。

第22圖係實施例5所獲得的結晶(乙磺酸鹽)之熱分析資料的圖。圖之縱軸表示溫度差(DTA)及重量變化(TG)，橫軸表示溫度(°C)。實線表示DTA曲線，虛線表示TG曲線。

第23圖係實施例6所獲得的結晶(苯磺酸鹽)之熱分析資料的圖。圖之縱軸表示溫度差(DTA)及重量變化(TG)，橫軸表示溫度(°C)。實線表示DTA曲線，虛線表示TG曲線。

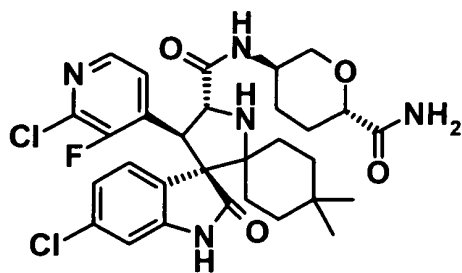
第24圖係實施例7所獲得的結晶(甲苯磺酸鹽)之熱分析資料的圖。圖之縱軸表示溫度差(DTA)及重量變化

(TG)，橫軸表示溫度(°C)。實線表示DTA曲線，虛線表示TG曲線。

【實施方式】

[實施發明之形態]

【0009】本發明係關於下述式(1)所表示之(3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-嘓喃-3-基]-6''-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2''-側氧-1'',2''-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啉-3',3''-吡啶]-5'-甲醯胺(以下，於本說明書，有記載為化合物(1)的情形)或其鹽之結晶。



其中，結晶係指其內部構造為三次元構成原子(或其集團)之有規則的可重複固體，可與不具有此種有規則的內部構造的無定形固體區別。

【0010】再者，就化合物(1)之鹽而言，可舉例實施例之任一者，化合物(1)或其鹽亦有呈游離體或溶媒合物存在。藉由吸收空氣中之水分等亦有呈水合物存在的情形。就溶媒合物而言，只要為醫藥上可容許者即可，並未特別限定，具體而言，可舉例水合物、乙醇合物、2-丙醇合物等。

【0011】即使為相同化合物之結晶，依結晶化的條件，會有具複數相異的內部構造及物理化學的性質的結晶(

結晶多形)生成，但本發明之結晶係可為此等結晶多形之任一者，亦可為2種以上之結晶多形之混合物。

【0012】本發明之結晶，於藉由放置於大氣中而吸收水分，附有附著水的情形，或於通常大氣條件下經由加熱至25至150℃等，有形成水合物的情形。再者，本發明之結晶亦有於附著殘留溶媒或溶媒合物中含結晶化時之溶媒的情形。

【0013】於本說明書，本發明之結晶有基於粉末X射線繞射之資料來表示，但粉末X射線繞射係藉由通常該領域使用的手法來測定，解析為宜，例如，可藉由實施例記載之方法來進行。又，一般而言，水合物或脫水物藉由結晶水之吸收與脫離，其晶格常數會變化，對於粉末X射線繞射中的繞射角(2θ)有賦予變化的情形。又，波峰強度亦有因結晶之成長面等的不同(晶癖)等而變化的情形。因此，於本發明之結晶基於粉末X射線繞射之資料來表示的情形，粉末X射線繞射中的波峰之繞射角及粉末X射線繞射圖案為一致的結晶、或由彼等獲得的水合物及脫水物皆被包含於本發明之範圍。

【0014】本發明之結晶之1個較佳形態係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，具有第1圖所示之粉末X射線繞射圖案的結晶(游離體)。又，本結晶係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=7.78、9.14、10.06、10.78、12.18、13.42、14.34、15.50、16.62、17.06、17.66、18.18、18.74、20.18、22.46、24.90、25.54、26.94、27.58$

、28.90顯示特徵波峰的結晶。

【0015】本發明之結晶之另1個較佳形態係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，具有第2圖所示之粉末X射線繞射圖案的結晶(游離體)。又，本結晶係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=7.62$ 、 13.06 、 15.10 、 17.22 、 21.98 顯示特徵波峰的結晶。

【0016】本發明之結晶之另1個較佳形態係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，具有第3圖所示之粉末X射線繞射圖案的結晶(游離體)。又，本結晶係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=9.18$ 、 12.18 、 15.58 、 16.22 、 17.22 、 18.42 、 18.82 、 19.86 顯示特徵波峰的結晶。

【0017】本發明之結晶之另1個較佳形態係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，具有第4圖所示之粉末X射線繞射圖案的結晶(鹽酸鹽)。又，本結晶係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=6.46$ 、 7.86 、 9.12 、 13.00 、 14.42 、 19.32 、 20.34 、 20.42 、 21.98 顯示特徵波峰的結晶。

【0018】本發明之結晶之另1個較佳形態係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，具有第6圖所示之粉末X射線繞射圖案的結晶(甲磺酸鹽)。又，本結晶係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得

的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=7.56$ 、 8.26 、 14.00 、 16.26 、 16.78 、 17.72 、 18.42 、 18.62 、 20.28 、 23.06 顯示特徵波峰的結晶。

【0019】本發明之結晶之另1個較佳形態係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，具有第7圖所示之粉末X射線繞射圖案的結晶(乙磺酸鹽)。又，本結晶亦係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=6.28$ 、 7.72 、 12.62 、 14.06 、 15.50 、 16.62 、 16.96 、 19.68 、 21.18 、 25.82 顯示特徵波峰的結晶。

【0020】本發明之結晶之另1個較佳形態係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，具有第8圖所示之粉末X射線繞射圖案的結晶(苯磺酸鹽)。又，本結晶係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=6.22$ 、 7.34 、 7.90 、 12.46 、 13.60 、 14.22 、 15.56 、 18.86 、 19.04 、 19.52 、 19.72 、 20.54 顯示特徵波峰的結晶。

【0021】本發明之結晶之另1個較佳形態係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，具有第9圖所示之粉末X射線繞射圖案的結晶(甲苯磺酸鹽)。又，本結晶係於銅之 $K\alpha$ 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末X射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=6.16$ 、 7.18 、 7.88 、 12.38 、 13.50 、 13.88 、 15.46 、 18.46 、 19.10 、 19.28 、 19.66 、 20.28 、 21.88 、 24.68 顯示特徵波峰的結晶。

【0022】本發明之其他態樣係關於含有本發明之結晶

作為有效成分之醫藥。

【0023】含有本案發明之結晶作為有效成分之醫藥，較佳為以含有本發明之結晶與1種或2種以上之藥學上可容許的載體的醫藥組成物之形態被提供。本發明之醫藥之投予形態並未特別限制，可經口或非經口投予，但較佳為經口投予。

【0024】本發明之醫藥組成物係至少一部分含有作為化合物(I)之本發明之結晶。於該醫藥組成物，亦可存有作為化合物(I)之本案發明之結晶以外之結晶形。該醫藥組成物所含的本案發明之結晶之比率，相對於該醫藥組成物中之化合物(I)全體，可包含0.01重量%～99.9重量%之範圍，例如，0.01重量%以上、0.05重量%以上、0.1重量%以上、0.5重量%以上、1重量%以上、2重量%以上、3重量%以上、4重量%以上、5重量%以上、10重量%以上、20重量%以上、30重量%以上、40重量%以上、50重量%以上、60重量%以上、70重量%以上、80重量%以上、90重量%以上、95重量%以上、96重量%以上、97重量%以上、98重量%以上、99重量%以上、99.5重量%以上、99.6重量%以上、99.7重量%以上、99.8重量%以上或99.9重量%以上。本案發明之結晶是否包含於醫藥組成物，可藉由本說明書記載之機器分析方法(例如，粉末X射線繞射、熱分析、紅外線吸收光譜等)來確認。

【0025】本發明之結晶可作為Mdm2抑制劑來使用，含有本發明之結晶的醫藥，特佳可作為抗癌劑使用。

【0026】於本發明之1個實施形態，化合物(1)因抑制

p53與Mdm2之結合，而抑制由Mdm2之p53之泛素化的緣故，本發明之結晶可使用作為p53與Mdm2之結合抑制劑及/或Mdm2泛素連接酶抑制劑。

【0027】p53與Mdm2之結合狀態可使用用以調查蛋白質間之結合狀態之本項技術領域者通常使用的方法(例如，免疫學的手法或表面電漿共振技術等)來檢測。就使用免疫學的手法來調查Mdm2與p53之結合狀態的方法而言，例如，可舉例免疫沉降法或ELISA(酵素連結免疫吸附試驗，Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay)。此種免疫學的手法所使用的抗體可為可直接檢測Mdm2及/或p53的抗Mdm2抗體及/或抗p53抗體，將Mdm2及/或p53以標示物(例如，GST標示或組胺酸標示)等標識的情形，可使用適合標識的抗體(例如抗GST抗體或抗組胺酸抗體)。使用免疫學的手法來調查p53與Mdm2之結合狀態的方法，例如，國際公開第2003/51359號小冊、國際公開第2003/51360號小冊、美國專利申請公開第2004/259867號說明書或美國專利申請公開第2004/259884號說明書或國際公開第2005/110996號小冊記載者。關於使用表面電漿共振技術而調查p53與Mdm2之結合狀態的方法，例如，記載於Science、第303卷、844-848頁、2004年。

【0028】對p53的Mdm2之泛素連接酶活性，可使用本項技術領域者通常使用的泛素連接酶分析來調查。泛素連接酶活性係例如，將經由泛素活性化酵素(E1)、泛素結合酵素(E2)及泛素連接酶(E3)(Mdm2)之p53的泛素化，可藉由比較試驗化合物之存在下與非存在下來檢測(

例如，國際公開第2001/75145號小冊或國際公開第2003/76608號小冊)。

【0029】於其他實施形態，化合物(1)因經由抑制Mdm2對p53轉錄活性化功能域的結合，使經由Mdm2而被抑制的p53之轉錄因子的機能回復的緣故，本發明之結晶可使用作為p53轉錄活性抑制之抑制劑。例如，於試驗化合物之存在下或非存在下，將藉由p53控制轉錄的蛋白質(例如，p21^{Waf1/Cip1})之mRNA量或蛋白質量，使用本項技術領域者通常使用的mRNA測定法(例如，北方墨點轉漬法)或蛋白質測定法(例如，西方墨點轉漬法)來測定，試驗化合物之存在下的該mRNA量或蛋白質量與試驗化合物之非存在下的情形相比較為增加的情形，藉由選擇將該試驗化合物作為p53轉錄活性抑制之抑制劑而可獲得p53轉錄活性抑制之抑制劑。又，亦可藉由含p53反應序列的報導子基因的報導子活性作為指標的報導子試驗，鑑定p53轉錄活性抑制之抑制劑。

【0030】於其他實施形態，化合物(1)因抑制由於Mdm2的p53之泛素化，而防止p53之蛋白酶體(proteasome)的分解的緣故，本發明之結晶可作為p53分解之抑制劑來使用。例如，於試驗化合物之存在下或非存在下，將p53之蛋白質量，使用本項技術領域者通常使用的蛋白質測定法(例如，西方墨點轉漬法)來測定，試驗化合物之存在下的該蛋白質量與試驗化合物之非存在下的情形比較為增加的情形，可藉由選擇該試驗化合物作為p53分解之抑制劑而獲得p53分解之抑制劑。

【0031】於其他實施形態，化合物(1)因藉由Mdm2與p53之結合抑制及/或由於Mdm2的p53泛素化之抑制，使p53之癌抑制基因的機能正常化的緣故，本發明之結晶可使用作為抗腫瘤劑。

【0032】細胞之增殖抑制活性可使用本項技術領域者通常使用的增殖抑制試驗法來調查。細胞之增殖抑制活性，例如，可藉由如下述之試驗例2記載，比較試驗化合物之存在下或非存在下的細胞(例如，腫瘤細胞)的增殖程度來實施。增殖程度，例如，可使用測定活細胞的試驗系統來調查。就活細胞之測定方法而言，例如，可舉例 [³H]-胸苷之攝入試驗、BrdU法或MTT試驗等。

【0033】又，活體內的抗腫瘤活性可使用本項技術領域者通常使用的抗腫瘤試驗法來調查。例如，於小鼠、大鼠等移植各種腫瘤細胞，移植細胞的生存附著被確認之後，將本發明之化合物經口投予、靜脈內投予等，於數日～數週後，藉由比較藥劑無投予組的腫瘤增殖與化合物投予組的腫瘤增殖，可確認本發明之活體內之抗腫瘤活性。

【0034】本發明之結晶可使用於腫瘤或癌，例如，肺癌、消化器癌、卵巢癌、子宮癌、乳癌、前列腺癌、肝癌、頭頸部癌、血液癌、腎癌、皮膚癌(惡性黑色素瘤等)、視網膜母細胞瘤、睪丸腫瘤、肉瘤等，較佳為肺癌、乳癌、前列腺癌、大腸癌、急性骨髓性白血病、惡性淋巴瘤、惡性黑色素瘤、視網膜母細胞瘤、神經母細胞瘤或肉瘤之治療，但並未限定於此等癌。

【0035】本發明之醫藥係含有本發明之結晶與藥學上可容許的載體，作成靜脈內注射、肌肉內注射、皮下注射等之各種注射劑，或者可藉由經口投予或經皮投予等之各種方法來投予。藥學上可容許的載體係指與將含本發明之結晶的組成物由某器官或臟器輸送至其他器官或臟器有關的藥學上可容許的材料(例如，賦形劑、稀釋劑、添加劑、溶媒等)。

【0036】就製劑之調製方法而言，因應投予法而選擇適當的製劑(例如，經口劑或注射劑)，可以通常使用的各種製劑之調製法來調製。就經口劑而言，例如，可例示錠劑、散劑、顆粒劑、膠囊劑、丸劑、片劑(troche)、溶液劑、糖漿劑、酏劑、乳劑、或油性或水性之懸浮液等。經口投予的情形，可為游離體本身，亦可為鹽的型式。水性製劑係與藥學上可容許的酸形成酸加成物，或可作成鈉等之鹼金屬鹽而調製。注射劑之情形，製劑中亦可使用安定劑、防腐劑或溶解輔助劑等。亦可為將含此等輔助劑等的溶液收納於容器後，藉由冷凍乾燥等而作成固形製劑成為用時調製的製劑。又，可將一次投予量收納於一個容器，又亦可將複數次投予量收納於一個容器。

【0037】就固形製劑而言，例如，可舉例錠劑、散劑、顆粒劑、膠囊劑、丸劑、或片劑。此等之固形製劑於含有本發明之結晶的同時亦可含有藥學上可容許的添加物。就添加物而言，例如，可舉例填充劑類、增量劑類、結合劑類、崩壞劑類、溶解促進劑類、濕潤劑類或潤

滑劑類，可因應必要選擇此等而混合、製劑化。

【0038】就液體製劑而言，例如，可舉例溶液劑、糖漿劑、酏劑、乳劑、或懸浮劑。此等之液體製劑可含本發明之結晶同時含有藥學上可容許的添加物。就添加物而言，例如，可舉例懸浮劑或乳化劑，可因應必要選擇此等而混合、製劑化。

【0039】本發明之結晶可使用於哺乳類之癌治療，尤其是人類。投予量及投予間隔可依疾病的部位、患者的身高、體重、性別或病歷，根據醫師之判斷而適宜選擇。將本發明之化合物投予人類的情形，投予量之範圍，係每1日約0.01mg/kg體重～約500mg/kg體重，較佳為約0.1mg/kg體重～約100mg/kg體重。投予人類的情形，較佳為每1日1次，或者分成2至4次投予，以適當間隔重覆投予為較佳。又，依據醫師之判斷，因應必要，每1日量亦可超過上述量。

【0040】本發明之結晶亦可與其他抗腫瘤劑併用。例如，抗腫瘤抗生素、抗腫瘤性植物成分、BRM(生物學反應性調節物質)、荷爾蒙、維生素、抗腫瘤性抗體、分子標的藥、其他之抗腫瘤劑等。

【0041】更具體而言，作為烷基化劑，例如，可列舉氮芥類(nitrogen mustard)、氮芥類N-氧化物或氮芥苯丁酸(chlorambucil)等之烷基化劑；卡波醌(carboquone)或塞替派(thiotepa)等之氮丙啶系烷基化劑；二溴甘露醇(dibromomannitol)或二溴半乳糖醇(dibromodulcitol)等之環氧化物系烷基化劑；卡氮芥(carmustine)、洛莫司丁

(lomustinum)、司莫司汀(semustine)、尼莫司汀鹽酸鹽(nimustine hydrochloride)、鏈脲黴素(streptozocin)、氯脲黴素(chlorozotocin)或雷莫司汀(ranimustine)等之亞硝基脲系統烷基化劑；白消安(busulfanum)、英丙舒凡甲苯磺酸鹽(improsulfan tosilate)或達卡巴嗪(dacarbazine)等。

【0042】作為各種代謝拮抗劑，例如，可列舉6-巯基嘌呤、6-硫鳥糞嘌呤或硫肌苷(thioinosine)等之嘌呤代謝拮抗劑；氟尿嘧啶、替加氟(tegafur)、替加氟·尿嘧啶、卡莫氟(carmofur)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、溴尿苷(broxuridine)、阿糖胞苷(cytarabine)或依諾他濱(enocitabine)等之嘧啶代謝拮抗劑；甲氨蝶呤(methotrexate)或三甲曲沙(trimetrexate)等之葉酸代謝拮抗劑等。

【0043】作為抗腫瘤性抗生素，例如，可列舉絲裂黴素C(mitomycin C)、博來黴素(bleomycin)、培洛黴素(peplomycin)、柔紅黴素(daunorubicin)、阿克拉黴素(aclarubicin)、阿黴素(doxorubicin)、吡柔比星(pirarubicin)、THP-阿德力黴素(adriamycin)、4'-表阿黴素(epidoxorubicin)或泛艾黴素(epirubicin)等之蒽環類(anthracycline)抗生素抗腫瘤劑；色黴素(chromomycin)A3或放線菌素(Actinomycin)D等。

【0044】作為抗腫瘤性植物成分，例如，可列舉长春地辛(vindesine)、长春新鹼(vincristine)或长春鹼(vinblastine)等之长春花生物鹼類(vinca alkaloid)；太平

洋紫杉醇 (paclitaxel)、多烯紫杉醇 (docetaxel) 等之紫杉烷類 (taxane)；或依托泊甙 (etoposide) 或替尼泊甙 (teniposide) 等之表鬼臼毒素 (epipodophyllotoxin) 類。

【0045】作為 BRM，例如，可列舉腫瘤壞死因子或吲哚美辛 (indomethacin)。

【0046】作為荷爾蒙，例如，可列舉氫化可的松 (hydrocortisone)、地塞米松 (dexamethasone)、甲基氫化潑尼松 (methylprednisolone)、氫化潑尼松、普拉酮 (prasteronum)、貝他美沙松 (betamethasone)、安西諾隆 (triamcinolone)、羥甲甾丸素 (oxymetholone)、諾隆 (nandrolone)、美替諾隆 (metenolone)、磷雌酚 (fosfestrol)、乙炔雌二醇 (ethinylestradiol)、氯地孕酮 (chlormadinone) 或甲羥孕酮 (medroxyprogesterone) 等。

【0047】作為維生素，例如，可列舉維生素 C 或維生素 A 等。

【0048】作為抗腫瘤性抗體、分子標的藥，可列舉曲妥珠單抗 (trastuzumab)、利妥昔單抗 (rituximab)、西妥昔單抗 (cetuximab)、尼妥珠單抗 (nimotuzumab)、地諾單抗 (denosmab)、貝伐單抗 (bevacizumab)、英夫利昔單抗 (infliximab)、甲磺酸伊馬替尼 (imatinib mesilate)、吉非替尼 (gefitinib)、厄洛替尼 (erlotinib)、舒尼替尼 (sunitinib)、拉帕替尼 (lapatinib)、索拉非尼 (sorafenib) 等。

【0049】作為其他之抗腫瘤劑，例如，可列舉順鉑 (cisplatin)、卡鉑 (carboplatin)、奧沙利鉑 (oxaliplatin)、

它莫西芬(tamoxifen)、喜樹鹼(camptothecin)、異環磷醯胺(ifosfamide)、環磷醯胺(cyclophosphamide)、美法侖(melphalan)、L-天冬醯胺酶(L-asparaginase)、醋葡醛內酯(aceglatone)、西佐喃(sizofiran)、必醫你舒(picibanil)、丙卡巴肼(procarbazine)、哌泊溴烷(pipobromide)、新制癌菌素(neocarzinostatin)、羥基脲、烏苯美司(ubenimex)或雲芝多糖(krestin)等。

【0050】本發明亦包含癌之預防方法及/或治療方法，其特徵為投予本發明之結晶。

【0051】成為本發明之結晶之原料的(3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-哌喃-3-基]-6"-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2"-側氧-1",2"-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3"-吡啶]-5'-甲醯胺或其鹽，例如，可依據以下所述實施例來製造。

【0052】又，粉末X射線繞射之測定，於實施例1，藉由Bruker Axs股份有限公司 D8 Discover with GADDS CST，於波長：CuK α 、 $\lambda=1.54$ 埃，藉由透過法來測定(管電壓：40kV、管電流：40mA、掃描範圍：2~40、掃描速度：20°/分鐘)。於其他實施例，藉由Rigaku股份有限公司製之反射型粉末X射線繞射裝置(RINT-TTRIII)，波長：CuK α 、 $\lambda=1.54$ 埃，檢體使用無反射樣品保持器來測定(管電壓50kV、管電流300mA、掃描範圍2~40°、掃描速度20°/分鐘、採樣幅度0.02°、回轉速度120rpm)。

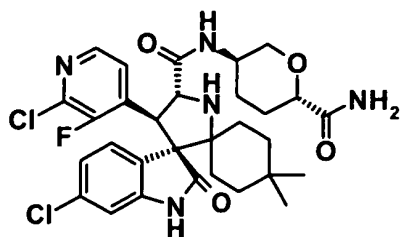
【0053】吸濕脫濕測定裝置係使用TA instruments SGA-CX(實施例2、6、7)、TA instruments VTI-SA(實施

1、4、5)(溫度：25℃、濕度：40、60、70、80、90、80、70、60、40、20、10、20、40、60、70%RH)。

【0054】熱分析 (TG/DTA) 分析係使用 SII Nanotechnology(股)製之 TG/DTA6200(升溫速度：10℃/分鐘、環境氣體：氮、氮氣流量：200mL/分鐘)。

[實施例]

【0055】實施例 1



(3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-吡喃-3-基]-6''-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2''-側氧-1'',2''-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3''-吲哚]-5'-甲醯胺

於參考例 1 之步驟 3 所獲得的化合物 (100mg, 0.20mmol) 之 N,N-二甲基甲醯胺 (4ml) 溶液中，添加參考例 2 之步驟 3 所獲得的化合物 (35mg, 0.24mmol)、三乙基胺 (0.04ml, 0.30mmol)、1-羥基苯并三唑 (27mg, 0.20mmol) 及 1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基) 碳化二亞胺鹽酸鹽 (46mg, 0.24mmol)，於 50℃ 攪拌 1 小時。放置冷卻後，反應液以乙酸乙酯稀釋，依序以水、飽和碳酸氫鈉水溶液、飽和食鹽水洗淨後，以無水硫酸鈉乾燥。減壓餾除溶媒後，殘渣以 NH-矽膠管柱層析 [氯仿：甲醇 = 50：1 (v/v)] 純化，將獲得的純化物溶解於甲醇 (10ml)，於 60℃ 攪拌

24 小時。減壓餾除溶媒，獲得呈固體之標題化合物 94mg(76%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.68(3H, s), 0.95(3H, s), 1.11-1.27(2H, m), 1.35-1.81(8H, m), 2.10-2.17(1H, m), 2.25-2.32(1H, m), 3.15(1H, t, $J=10.5\text{Hz}$), 3.27(1H, br s), 3.80(1H, dd, $J=11.0, 2.3\text{Hz}$), 3.85-3.95(1H, m), 4.13(1H, ddd, $J=10.8, 4.5, 1.3\text{Hz}$), 4.44 (1H, d, $J=9.2\text{Hz}$), 4.64(1H, d, $J=9.2\text{Hz}$), 5.46(1H, d, $J=3.7\text{Hz}$), 6.49(1H, d, $J=3.7\text{Hz}$), 6.74(1H, d, $J=1.8\text{Hz}$), 7.07(1H, dd, $J=8.2, 1.8\text{Hz}$), 7.31(1H, dd, $J=8.2, 2.3\text{Hz}$), 7.48-7.52(2H, m), 7.62(1H, s), 8.05(1H, d, $J=5.5\text{Hz}$).

$\text{MS}(\text{ESI})m/z: 618(\text{M}+\text{H})^+$.

【0056】實施例 1-1

於實施例 1 所獲得的化合物(302mg, 0.49mmol)中，添加三氯乙烯/乙醇混合液(95/5)(4.75ml)後，加溫至約 50℃ 溶解。於室溫靜置使結晶析出。濾取析出的結晶並於室溫乾燥而獲得本結晶。於本結晶，測定粉末 X 射線繞射、示差熱・熱重量同時測定(TG/DTA)及吸脫濕反應。

除此之外，本結晶亦可由甲酸乙酯、乙腈而獲得。

粉末 X 射線繞射圖示於第 1 圖，等溫吸濕脫濕曲線圖示於第 10 圖，熱分析資料(TG/DTA)示於第 17 圖。

【0057】[表 1]

粉末X射線繞射圖案之波峰(相對強度22以上)

波峰 編號	2 θ	d值	相對強度	波峰 編號	2 θ	d值	相對強度
1	7.78	11.35	28	11	17.66	5.02	28
2	9.14	9.66	72	12	18.18	4.87	77
3	10.06	8.78	22	13	18.74	4.73	100
4	10.78	8.20	39	14	20.18	4.40	72
5	12.18	7.26	67	15	22.46	3.95	30
6	13.42	6.59	26	16	24.90	3.57	34
7	14.34	6.17	23	17	25.54	3.48	33
8	15.50	5.71	43	18	26.94	3.31	25
9	16.62	5.33	24	19	27.58	3.23	27
10	17.06	5.19	32	20	28.90	3.09	27

【0058】實施例 1-2

於實施例 1 所獲得的化合物(301mg, 0.49mmol)中, 添加甲醇(3.6ml)後, 加溫至約 50℃ 而溶解。於室溫靜置使結晶析出。濾取析出的結晶並於室溫乾燥而獲得本結晶。於本結晶, 測定粉末 X 射線繞射、TG/DTA 及吸脫濕反應。

除此之外, 本結晶亦可由 2-丁酮獲得。

粉末 X 射線繞射圖示於第 2 圖, 等溫吸濕脫濕曲線圖示於第 11 圖, 熱分析資料(TG/DTA)示於第 18 圖。

【0059】[表 2]

粉末X射線繞射圖案之波峰(相對強度14以上)

波峰 編號	2 θ	d值	相對強度	波峰 編號	2 θ	d值	相對強度
1	7.62	11.59	100	4	17.22	5.14	27
2	13.06	6.77	14	5	21.98	4.04	19
3	15.10	5.86	47				

【0060】實施例 1-3

於實施例 1 所獲得的化合物(100mg, 0.16mmol)中, 添加三氯乙烯(1.5ml)後, 加溫至約 50℃ 而溶解。於室溫靜置使結晶析出。濾取析出的結晶並於室溫乾燥獲得本

結晶。於本結晶，測定粉末X射線繞射及TG/DTA。

粉末X射線繞射圖示於第3圖，熱分析資料(TG/DTA)示於第19圖。

【0061】[表 3]

粉末X射線繞射圖案之波峰(相對強度44以上)

波峰 編號	2θ	d值	相對強度	波峰 編號	2θ	d值	相對強度
1	9.18	9.62	100	5	17.22	5.14	54
2	12.18	7.26	58	6	18.42	4.81	73
3	15.58	5.68	44	7	18.82	4.71	66
4	16.22	5.46	48	8	19.86	4.47	49

【0062】實施例 2

(3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-哌喃-3-基]-6"-氮-4'-(2-氮-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2"-側氧-1",2"-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3"-吡啶]-5'-甲醯胺鹽酸鹽水及2-丙醇(IPA)合物結晶

於實施例1所獲得的化合物(192mg, 0.31mmol)之2-丙醇(2.0ml)溶液中，添加濃鹽酸(0.026ml, 0.31mmol)後，於室溫攪拌18小時。濾取析出物，獲得標題結晶173mg(85%)。

¹H-NMR(500MHz, DMSO-d₆)δ: 0.62(3H, s), 0.92(3H, s), 1.09-1.58(6H, m), 1.65-2.07(5H, m), 2.53-2.94(1H, m), 3.29-3.73(5H, m), 4.56-4.76(1H, m), 4.85-5.23(1H, m), 6.80(1H, s), 7.01-7.13(2H, m), 7.14-7.20(1H, m), 7.49-7.74(2H, m), 8.19-8.42(1H, m), 8.61-9.08(1H, m), 10.41(1H, br s), 11.25(1H, br s). 分析計算值 C₃₀H₃₄Cl₂FN₅O₄ · HCl · 0.75H₂O · IPA: C, 54.48; H, 6.03; N, 9.63. 實測值: C, 54.47; H, 6.14; N, 9.65.

標題結晶之粉末X射線繞射圖示於第4圖，等溫吸濕脫濕曲線圖示於第12圖，熱分析資料(TG/DTA)示於第20圖。

【0063】[表 4]

粉末X射線繞射圖案之波峰(相對強度15以上)

波峰 編號	2 θ	d值	相對強度	波峰 編號	2 θ	d值	相對強度
1	6.46	13.67	35	6	19.32	4.59	17
2	7.86	11.24	100	7	20.34	4.36	29
3	9.12	9.69	17	8	20.42	4.35	28
4	13.00	6.80	15	9	21.98	4.04	16
5	14.42	6.14	29				

【0064】實施例 3

(3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-嘓喃-3-基]-6''-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2''-側氧-1'',2''-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3''-吡啶]-5'-甲醯胺 硫酸鹽 水及2-丙醇(IPA)合物

於實施例1所獲得的化合物(52mg, 0.08mmol)之2-丙醇(0.5ml)溶液中，添加濃硫酸(0.005ml, 0.08mmol)後，於室溫攪拌2日。濾取析出物，獲得呈固體之標題化合物20mg(34%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO- d_6) δ : 0.62(3H, s), 0.92(3H, s), 1.13-1.61(6H, m), 1.67-2.09(5H, m), 2.45-2.88(1H, m), 3.47-4.01(5H, m), 4.58-4.77(1H, m), 4.83-5.11(1H, m), 6.79(1H, s), 6.98-7.25(3H, m), 7.51-7.73(2H, m), 8.20-8.41(1H, m), 8.51-8.73(1H, m), 8.79-9.05(1H, m), 10.35(1H, br s), 11.18(1H, br s). 分析計算值 $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{Cl}_2\text{FN}_5\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 0.25\text{H}_2\text{O} \cdot \text{IPA}$: C, 49.94; H, 5.71; N, 8.82. 實測值: C, 49.74; H, 5.71; N, 8.85.

標題化合物之粉末X射線繞射圖示於第5圖。

【0065】實施例 4

(3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-哌喃-3-基]-6"-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2"-側氧-1",2"-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3"-吡啶]-5'-甲醯胺 甲磺酸鹽 水合物 結晶

於實施例 1 所獲得的化合物 (221mg, 0.36mmol) 之 2-丙醇 (3ml) 溶液中添加甲磺酸 (0.026ml, 0.39mmol) 後，於室溫攪拌 16 小時。濾取析出物，獲得標題結晶 48mg (19%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 0.62 (3H, s), 0.92 (3H, s), 1.03-2.01 (11H, m), 2.30 (3H, s), 2.47-2.56 (1H, m), 3.72-3.65 (4H, m), 4.62-4.75 (1H, m), 5.95-5.09 (1H, m), 6.73-6.85 (1H, m), 7.04-7.20 (3H, m), 7.54-7.73 (2H, m), 8.23-8.36 (1H, m), 8.60-8.75 (1H, m), 8.83-8.98 (1H, m), 10.83 (1H, br s), 11.22 (1H, br s).

分析計算值 $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{Cl}_2\text{FN}_5\text{O}_4 \cdot \text{CH}_3\text{SO}_3\text{H} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: C, 49.60; H, 5.64; N, 9.33. 實測值: C, 49.63; H, 5.45; N, 9.30.

標題結晶之粉末 X 射線繞射圖示於第 6 圖，等溫吸濕脫濕曲線圖示於第 13 圖，熱分析資料 (TG/DTA) 示於第 21 圖。

【0066】[表 5]

粉末 X 射線繞射圖案之波峰 (相對強度 31 以上)

波峰編號	2 θ	d 值	相對強度	波峰編號	2 θ	d 值	相對強度
1	7.56	11.68	48	6	17.72	5.00	65
2	8.26	10.70	31	7	18.42	4.81	42
3	14.00	6.32	100	8	18.62	4.76	42
4	16.26	5.45	47	9	20.28	4.38	94
5	16.78	5.28	67	10	23.06	3.85	37

【0067】實施例 5

(3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-嘓喃-3-基]-6"-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2"-側氧-1",2"-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3"-吡啶]-5'-甲醯胺 乙磺酸鹽 水合物 結晶

於實施例 1 所獲得的化合物 (221 mg, 0.36 mmol) 之 2-丙醇 (3 ml) 溶液中，添加乙磺酸 (0.032 ml, 0.39 mmol) 後，於室溫攪拌 23 小時。濾取析出物，獲得標題結晶 128 mg (49%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 0.62 (3H, s), 0.92 (3H, s), 1.05 (3H, t, $J=7.4$ Hz), 1.09-1.59 (6H, m), 1.62-2.06 (5H, m), 2.38 (2H, q, $J=7.4$ Hz), 2.59-3.07 (1H, m), 3.27-3.79 (5H, m), 4.53-4.76 (1H, m), 4.78-5.16 (1H, m), 6.79 (1H, s), 7.00-7.23 (3H, m), 7.51-7.75 (2H, m), 8.21-8.41 (1H, m), 8.48-9.07 (1H, m), 10.35 (1H, br s), 11.19 (1H, br s).

分析計算值 $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{Cl}_2\text{FN}_5\text{O}_4 \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{SO}_3\text{H} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: C, 48.00; H, 6.04; N, 8.75. 實測值: C, 47.97; H, 5.93; N, 8.56.

標題結晶之粉末 X 射線繞射圖示於第 7 圖，等溫吸濕脫濕曲線圖示於第 14 圖，熱分析資料 (TG/DTA) 示於第 22 圖。

【0068】[表 6]

粉末 X 射線繞射圖案之波峰 (相對強度 23 以上)

波峰編號	2 θ	d 值	相對強度	波峰編號	2 θ	d 值	相對強度
1	6.28	14.06	100	6	16.62	5.33	28
2	7.72	11.44	39	7	16.96	5.22	32
3	12.62	7.01	39	8	19.68	4.51	36
4	14.06	6.29	36	9	21.18	4.19	38
5	15.50	5.71	23	10	25.82	3.45	24

【0069】實施例 6

(3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-哌喃-3-基]-6"-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2"-側氧-1",2"-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啉-3',3"-吡啶]-5'-甲醯胺 苯磺酸鹽 水合物 結晶

於實施例 1 所獲得的化合物 (104mg, 0.17mmol) 之 2-丙醇 (1ml) 溶液中添加苯磺酸一水合物 (30mg, 0.17mmol) 後, 於室溫攪拌 24 小時。濾取析出物, 獲得標題結晶 116mg (89%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.69 (3H, s), 0.88 (3H, s), 1.09-1.85 (7H, m), 1.88-2.19 (4H, m), 2.53-2.77 (1H, m), 2.95-3.10 (1H, m), 3.53-3.69 (1H, m), 3.71-3.89 (2H, m), 4.68-4.85 (1H, m), 5.47-5.80 (2H, m), 6.52 (1H, s), 6.77-6.90 (1H, m), 7.03-7.11 (1H, m), 7.24-7.44 (5H, m), 7.63-7.98 (4H, m), 8.09-8.43 (1H, m), 10.16 (1H, br s), 10.96 (1H, br s).

分析計算值 $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{Cl}_2\text{FN}_5\text{O}_4 \cdot \text{C}_6\text{H}_5\text{SO}_3\text{H} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$: C, 53.80; H, 5.39; N, 8.71. 實測值: C, 53.89; H, 5.40; N, 8.80.

標題結晶之粉末 X 射線繞射圖示於第 8 圖, 等溫吸濕脫濕曲線圖示於第 15 圖, 熱分析資料 (TG/DTA) 示於第 23 圖。

【0070】[表 7]

粉末 X 射線繞射圖案之波峰 (相對強度 16 以上)

波峰編號	2 θ	d 值	相對強度	波峰編號	2 θ	d 值	相對強度
1	6.22	14.20	25	7	15.56	5.69	22
2	7.34	12.03	100	8	18.86	4.70	16
3	7.90	11.18	50	9	19.04	4.66	16
4	12.46	7.10	18	10	19.52	4.54	19
5	13.60	6.51	16	11	19.72	4.50	23
6	14.22	6.22	16	12	20.54	4.32	20

【0071】實施例 7

(3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-嘓喃-3-基]-6"-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2"-側氧-1",2"-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3"-吡啶]-5'-甲醯胺 p-甲苯磺酸鹽 水合物 結晶

於實施例 1 所獲得的化合物 (300mg, 0.50mmol) 之乙腈 (4ml) 懸浮液中，添加 p-甲苯磺酸一水合物 (85mg, 0.45mmol) 之乙腈 (4ml) 溶液後，於約 50℃ 加熱而溶解。於室溫攪拌 1 日。濾取析出物，獲得標題結晶 255mg (66%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ : 0.63 (3H, s), 0.92 (3H, s), 1.09-1.59 (6H, m), 1.66-2.03 (5H, m), 2.29 (3H, s), 2.70-2.91 (1H, m), 3.34-3.74 (5H, m), 4.67 (1H, d, $J=10.1\text{Hz}$), 4.80-5.11 (1H, m), 6.80 (1H, s), 7.02-7.22 (5H, m), 7.43-7.52 (2H, m), 7.55-7.70 (2H, m), 8.23-8.39 (1H, m), 8.45-8.74 (1H, m), 10.33 (1H, br s), 11.14 (1H, br s).

分析計算值 $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{Cl}_2\text{FN}_5\text{O}_4 \cdot \text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$: C, 54.34; H, 5.55; N, 8.56. 實測值: C, 54.06; H, 5.45; N, 8.50.

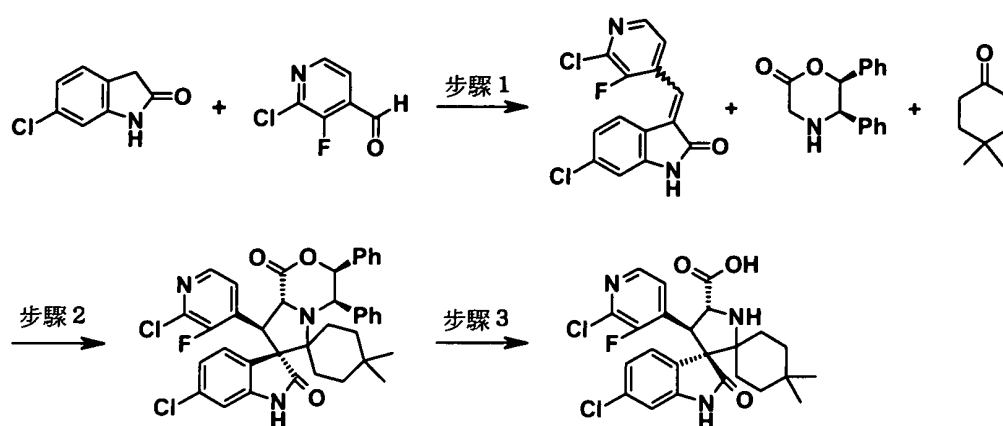
標題結晶之粉末 X 射線繞射圖示於第 9 圖，等溫吸濕脫濕曲線圖示於第 16 圖，熱分析資料 (TG/DTA) 示於第 24 圖。

【0072】[表 8]

粉末X射線繞射圖案之波峰(相對強度17以上)

波峰 編號	2 θ	d值	相對強度	波峰 編號	2 θ	d值	相對強度
1	6.16	14.34	23	8	18.46	4.80	21
2	7.18	12.30	100	9	19.10	4.64	27
3	7.88	11.21	48	10	19.28	4.60	19
4	12.38	7.14	18	11	19.66	4.51	22
5	13.50	6.55	22	12	20.28	4.38	32
6	13.88	6.37	23	13	21.88	4.06	17
7	15.46	5.73	25	14	24.68	3.60	19

【0073】參考例 1



【0074】[步驟 1](3E/Z)-6-氯-3-[(2-氯-3-氟吡啶-4-基)亞甲基]-1,3-二氫-2H-吲哚-2-酮

於 6-氯-1,3-二氫-2H-吲哚-2-酮 (2.20g, 13.11mmol) 及 2-氯-3-氟異煙酸醛 (2.20g, 13.8mmol) 之甲醇 (130ml) 溶液中，添加 N,N-二異丙基乙基胺 (0.46ml, 2.63mmol) 並加熱回流 16 小時。放置冷卻後，濾取析出物，藉由以冷甲醇洗淨而使乾燥，獲得呈固體之標題化合物 3.37g (83%)。

MS(APCI)m/z: 309(M+H)⁺.

【0075】[步驟 2](3'S,4'R,7'S,8'S,8a'R)-6''-氯-8'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-3',4'-二苯基-3',4',8',8a'-四氫-1'H-二螺[環己烷-1,6'-吡咯并

[2,1-c][1,4]嘮咁-7',3''-吡啶]-1',2''(1''H)-二酮

氮氣環境下，於步驟1所獲得的化合物(1.86g，6.00mmol)、(5R,6S)-5,6-二苯基咪啉-2-酮(1.67g，6.60mmol)、4,4-二甲基環己酮(0.83g，6.60mmol)之四氫呋喃(30ml)溶液中，添加三氟化硼二乙基醚錯合物(0.15ml，1.20mmol)、分子篩4A(粉末)(3g)，並於70℃加熱攪拌7日。放置冷卻後，以矽藻土濾除不溶物，濾液以飽和食鹽水洗淨後，以無水硫酸鈉乾燥。減壓餾除溶媒，以矽膠管柱層析[n-己烷：乙酸乙酯=4：1→1：1(v/v)]純化，獲得呈固體之標題化合物3.39g(84%)。

¹H-NMR(400MHz,CDCl₃)δ:0.21(3H,s),0.53(3H,s),0.89-1.08(3H,m),1.28-1.43(3H,m),1.73-1.81(1H,m),2.23-2.33(1H,m),4.58(1H,d,J=11.0Hz),4.86(1H,d,J=3.2Hz),5.31(1H,d,J=11.0Hz),6.25(1H,d,J=8.3Hz),6.67(1H,dd,J=8.3,1.8Hz),6.72-6.77(2H,m),6.93(1H,d,J=1.8Hz),7.04-7.17(6H,m),7.18-7.25(3H,m),7.79(1H,t,J=4.6Hz),7.99(1H,s),8.29(1H,d,J=5.0Hz).

MS(APCI)m/z:670(M+H)⁺.

【0076】[步驟3](4'S,5'R)-6''-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2''-側氧-1'',2''-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3''-吡啶]-5'-甲酸

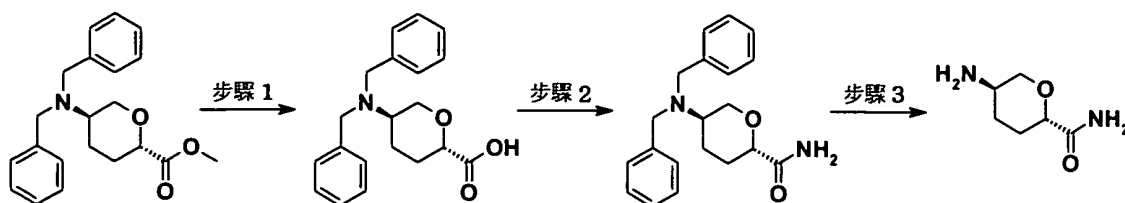
將步驟2所獲得的化合物(630mg，0.94mmol)溶解於乙腈(10ml)與水(4ml)中，添加碳酸鉀(130mg，0.94mmol)，並於85℃加熱回流16小時。放置冷卻後，添加無水硫酸鎂(113mg，0.94mmol)，並於室溫攪拌15分鐘。以乙酸

乙酯萃取，有機層以飽和食鹽水洗淨，以無水硫酸鎂乾燥。減壓餾除溶媒，獲得呈固體之(4'S,5'R)-6''-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-1'-[(1R,2S)-2-羥基-1,2-二苯基乙基]-4,4-二甲基-2''-側氧-1'',2''-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3''-吡啶]-5'-甲酸(650mg, 100%)[MS(ESI)m/z: 688(M+H)⁺]。將獲得的甲酸(650mg, 0.94mmol)溶解於甲醇(30ml)與水(8ml)中，冰冷下，添加硝酸二鉍銻(IV)(1.55g, 2.82mmol)，並於同溫攪拌30分鐘。冰冷下，添加碳酸鉀(780mg, 5.64mmol)，於同溫攪拌1小時。不溶物以矽藻土濾去後，減壓濃縮濾液，於獲得的殘渣中添加水，以乙酸乙酯萃取。有機層以飽和食鹽水洗淨，以無水硫酸鈉乾燥。減壓餾除溶媒，獲得的殘渣以矽膠管柱層析[氯仿：甲醇=20：1→4：1(v/v)]純化，獲得呈固體之標題化合物152mg(33%)。

¹H-NMR(500MHz, CD₃OD)δ: 0.74(3H, s), 0.9(3H, s), 1.29-1.44(2H, m), 1.48-1.58(2H, m), 1.64-1.76(1H, m), 1.94-2.02(1H, m), 2.11(1H, ddd, J=14.0, 14.0, 4.0Hz), 2.43-2.53(1H, m), 5.07(1H, d, J=10.3Hz), 5.32(1H, d, J=10.3Hz), 6.84(1H, d, J=1.7Hz), 7.16(1H, dd, J=8.3, 2.0Hz), 7.63(1H, dd, J=8.0, 2.3Hz), 7.75(1H, t, J=5.2Hz), 8.15(1H, d, J=5.2Hz).

MS(ESI)m/z: 492(M+H)⁺.

【0077】參考例 2



【0078】[步驟1]2,6-無水-3,4,5-三去氧-5-(二苄基胺基)-L-赤-己糖酸

將2,6-無水-3,4,5-三去氧-5-(二苄基胺基)-L-赤-己糖酸甲酯(1.60g, 4.70mmol)溶解於甲醇(30ml)，冰冷下緩緩添加1N氫氧化鈉水溶液(10ml)，之後於室溫攪拌3小時。於反應液中添加Dowex50W-X8並調製pH為5~6，濾除不溶物後，減壓濃縮濾液，獲得呈固體之標題化合物1.7g(100%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ :1.18-1.26(1H, m), 1.36-1.48(1H, m), 1.79-1.97(2H, m), 2.62(1H, t, $J=11.0\text{Hz}$), 3.18(1H, t, $J=10.4\text{Hz}$), 3.40(1H, d, $J=11.5\text{Hz}$), 3.51-3.61(4H, m), 3.90-3.99(1H, m), 7.12-7.38(10H, m).

MS(ESI) m/z :326($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

【0079】[步驟2](2S,5R)-5-(二苄基胺基)四氫-2H-嘓喃-2-甲醯胺

將上述步驟1所獲得的化合物(870mg, 2.67mmol)溶解於N,N-二甲基甲醯胺(30ml)，添加1-羥基苯并三唑(361mg, 2.67mmol)、1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳化二亞胺鹽酸鹽(614mg, 3.20mmol)，並於室溫攪拌15分鐘。添加氯化銨(285mg, 5.44mmol)、N,N-二異丙基乙基胺(1.86ml, 10.7mmol)，於室溫攪拌8小時。以乙酸乙酯稀釋，有機層依序以飽和碳酸氫鈉水溶液、飽和食鹽水洗淨，以無水硫酸鈉乾燥。減壓餾除溶媒，獲得呈固體之標題化合物495mg(57%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ :1.35-1.45(1H, m), 1.60-1.70(1

H,m),2.10-2.18(1H,m),2.21-2.28(1H,m),2.76(1H,tt,J=11.4,4.0Hz),3.44(1H,t,J=10.9Hz),3.67(4H,q,J=14.2Hz),3.71-3.73(1H,m),4.04(1H,dq,J=11.0,2.1Hz),5.35(1H,s),6.40(1H,s),7.21-7.36(10H,m).

MS(ESI)m/z:325(M+H)⁺.

【0080】[步驟3](2S,5R)-5-胺基四氫-2H-哌喃-2-甲醯胺

將上述步驟2所獲得的化合物(490mg, 1.51mmol)溶解於乙醇(10ml), 添加20%氫氧化鈣(100mg), 氫氣環境下, 於室溫攪拌16小時。觸媒以矽藻土濾去後, 減壓餾除濾液, 乾燥, 獲得呈固體之標題化合物215mg(99%)。

¹H-NMR(400MHz,DMSO-d₆)δ:1.11-1.22(1H,m),1.25-1.35(1H,m),1.83-1.91(2H,m),2.51-2.60(1H,m),2.90(1H,t,J=10.5Hz),3.52(1H,d,J=11.9Hz),3.78-3.84(1H,m),6.99(1H,br s),7.09(1H,br s).

MS(ESI)m/z:145(M+H)⁺.

【0081】(試驗例1 Mdm2/p53結合試驗)

使用蛋白質緩衝液(20mM HEPES pH7.4, 150mM NaCl, 0.1% BSA), 將His-p53(包含p53之第1~132號之胺基酸而成的p53部分蛋白質與組胺酸蛋白質之融合蛋白質)及GST-Mdm2(Mdm2之第25~108號之胺基酸, 將第33號之白胺酸殘基變換為麩胺酸的Mdm2部分蛋白質與穀胱甘肽轉化酶(glutathione transferase)之融合蛋白質)之蛋白質各自作成含6.25nM的蛋白質稀釋溶液。將此蛋白質稀釋溶液各8μL添加於384孔盤(384-well low volume

NBC, Corning、目錄編號3676)之各孔。

其次，使用DMSO而稀釋試驗化合物，製作含此稀釋液10%的蛋白質緩衝液，各添加4 μ L於各孔。

接著，使用抗體稀釋緩衝液(20mM HEPES pH7.4, 150mM NaCl, 0.1% BSA, 0.5M KF)，製作各自含有2.5 μ g/mL及0.325 μ g/mL濃度之XL665標識抗His抗體(經XL665標示之HTRF單株 anti-6HIS 抗體(目錄編號61HISXLB)，Schering/Cisbio Bioassays)及鎔(Eu)標識抗GST抗體(經鎔穴狀化合物標示之HTRF單株 anti-GST 抗體，Schering/Cisbio Bioassays，目錄編號61GSTKLB)，於各孔各添加8 μ L(反應液總量：20 μ L/孔)。之後，將平盤於25 $^{\circ}$ C放置1小時。

激發波長320nm中的620nm及665nm之時間分解螢光使用盤讀數機(ARVOsx、PerkinElmer、或PHERAstar，BMGLABTECH)來測定。使用計測值(RFU 620nm與RFU 665nm)，以下列式算出比例(Ratio, R)。

$$R = (\text{RFU } 665\text{nm} - \text{BI} - C \times \text{RFU } 620\text{nm}) / \text{RFU } 620\text{nm}$$

BI：未添加各蛋白質、化合物、及抗體的反應液(僅各緩衝液)之665nm之計測值

$$C(\text{補正係數}) = (A - \text{BI}) / D$$

A及D係僅添加Eu標識抗GST抗體溶液的反應液之665nm及620nm的各計測值

由添加His-p53、GST-Mdm2、試驗化合物及各抗體的孔算出的R值作為R(樣品)，由添加His-p53、GST-Mdm2及各抗體但未添加試驗化合物的孔算出的R值作為R(對

照)，由添加 GST-Mdm2、試驗化合物及各抗體但未添加 His-p53 的孔算出的 R 值作為 R(背景)，由下述之式算出 T/C，進行 Sigmoid fitting，算出對 Mdm2/p53 結合的 IC₅₀ 值。結果示於表 1。

$$T/C = (R(\text{樣品}) - R(\text{背景})) / (R(\text{對照}) - R(\text{背景}))$$

化合物(1)呈現 0.1 μM 以下之 IC₅₀ 值。

【0082】(試驗例 2 抗細胞試驗)

使用具有野性型 p53 的來自人類肺癌的細胞株 NCI-H460 來實施抗細胞試驗。

將 NCI-H460 細胞懸浮於培養基(含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培養基)，各自以 500 個細胞/150 μL/孔接種於 96 孔之多孔盤。將試驗化合物溶解於 DMSO，其以培養基稀釋作成檢體溶液(DMSO 濃度 1% 以下)。接種次日，於各孔添加各 50 μL 之未添加試驗化合物的培養基或檢體溶液。於細胞接種翌日各添加 50 μL 培養基後立即添加檢體溶液或培養基於細胞，於 37℃、5% CO₂ 培養 3 日後，實施 MTT 試驗。MTT 試驗如以下方式實施。

【0083】使用磷酸緩衝液(Dulbecco 氏磷酸鹽緩衝食鹽水)，製作 5 mg/mL 之 MTT(溴化 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑鎘，Sigma，M-2128)溶液，將此 MTT 溶液各添加 20 μL 於各孔。之後，平盤於 37℃、5% CO₂ 下培養 4 小時。將此平盤於 1200 rpm 離心處理 5 分鐘後，培養上清液以分配器(dispenser)吸引去除。於各孔各添加 150 μL 之 DMSO，將生成的甲臍(Formazan)溶解。使用平盤混合器，藉由將平盤攪拌，將各孔呈色作成均一。各

孔之吸光度於OD 540nm、參考660nm之條件下，使用平盤讀數機(SpectraMaxPLUS384，Molecular Devices，CA USA)來測量。

將檢體溶液添加當日所測量的OD值作為S，檢體溶液添加3日後所測量的OD值作為T，DMSO稀釋液添加3日後所測量的OD值作為C，經由下述計算式求得各濃度中的T/C(%)而描繪用量反應曲線，算出50%增殖抑制濃度(GI₅₀值)。

$$T/C(\%) = (T - S) / (C - S) \times 100$$

化合物(1)呈現GI₅₀(μM) < 0.1之抗細胞效果。

【0084】(製劑例1) < 膠囊劑 >

將實施例獲得的結晶5g、乳糖115g、玉米澱粉58g及硬脂酸鎂2g使用V型混合機加以混合後，各填充180mg於3號膠囊即可獲得膠囊劑。

【0085】(製劑例2) < 錠劑 >

將實施例獲得的結晶5g、乳糖90g、玉米澱粉34g、結晶纖維素20g及硬脂酸鎂1g使用V型混合機加以混合後，以每1錠150mg之質量，以錠劑機加以打錠即可獲得錠劑。

【0086】(製劑例3) < 懸浮劑 >

調製使甲基纖維素分散、溶解於純水的分散媒，於乳鉢中量取實施例獲得的結晶，一邊少量地添加前述分散媒一邊充分混練，添加純水而調製懸浮液100g。

【符號說明】

無。

發明摘要

※ 申請案號：102131754

※ 申請日：102.9.04

※IPC 分類：C07D487/10 (2006.01)
A61K31/4439 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

二螺吡咯啉衍生物之結晶

CRYSTALS OF DISPIROPYRROLIDINE DERIVATIVE

【中文】

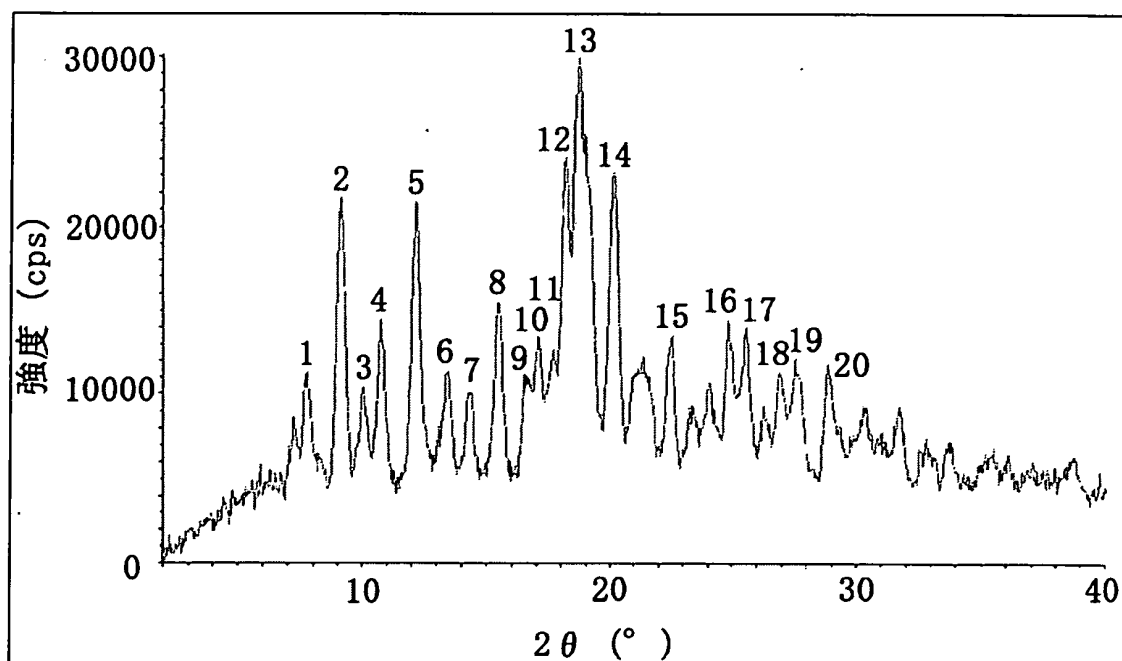
本發明係提供抑制 Mdm2 作用的二螺吡咯啉化合物或其鹽之結晶。

本發明係提供抑制 Mdm2 而具有抗腫瘤活性之 (3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-哌喃-3-基]-6"-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2"-側氧-1",2"-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啉-3',3"-吡啶]-5'-甲醯胺或其鹽之結晶及含彼等之醫藥。

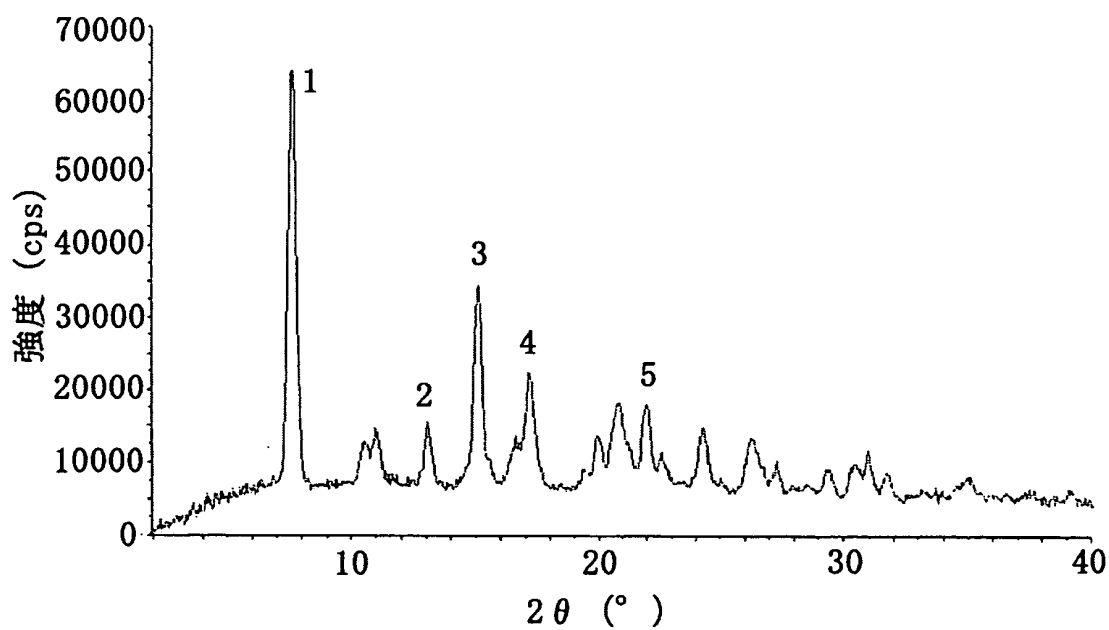
【英文】

無。

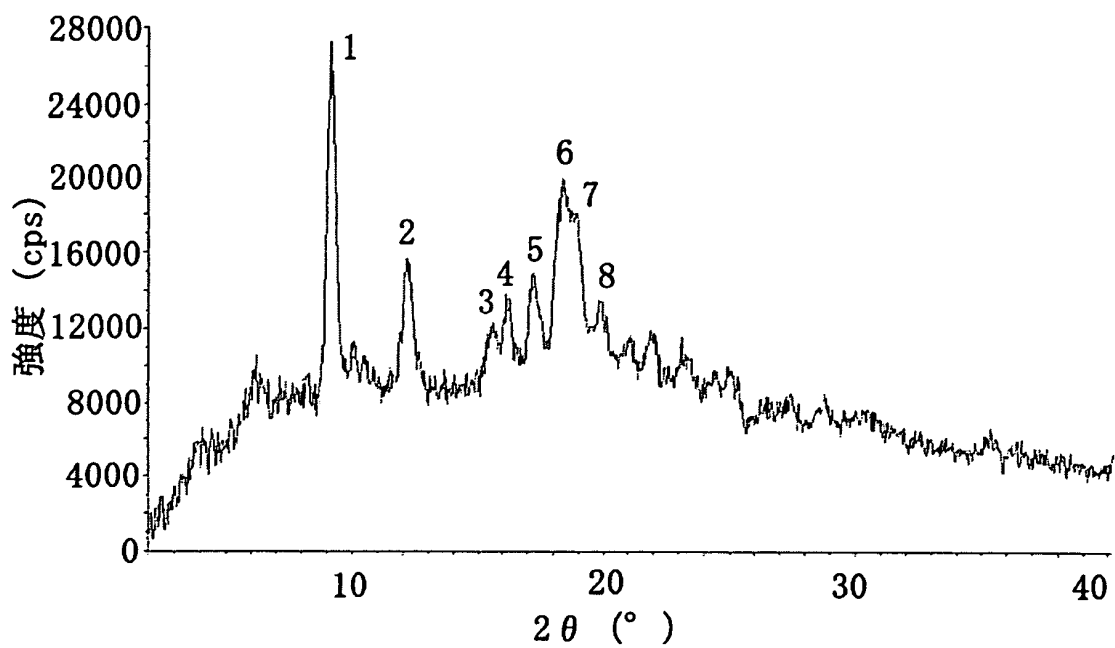
圖式



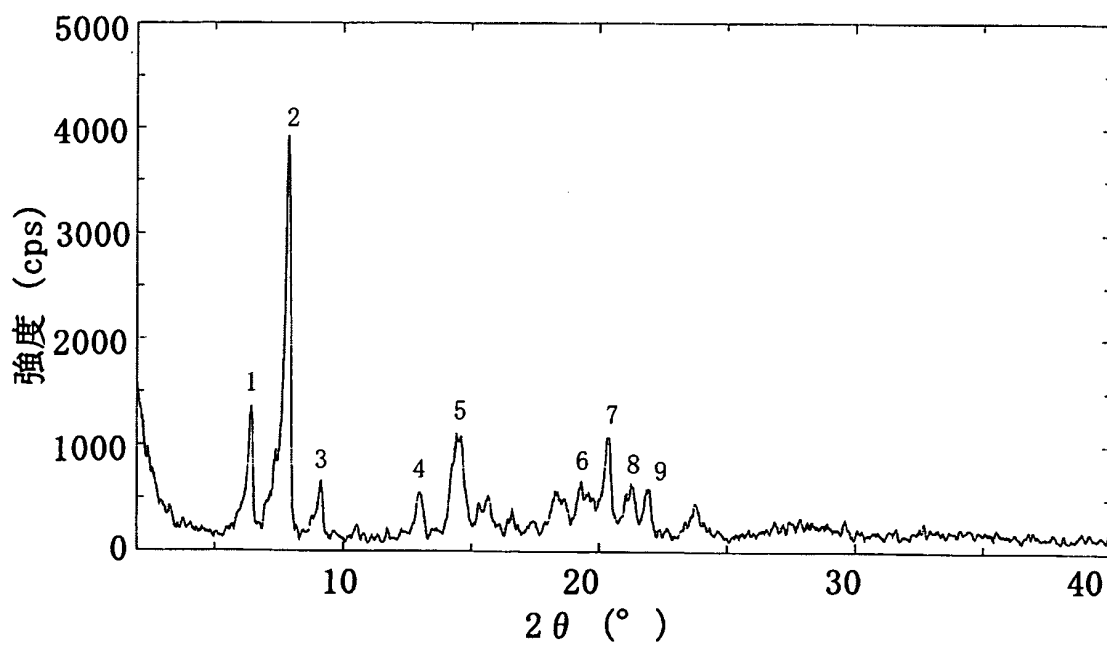
第1圖



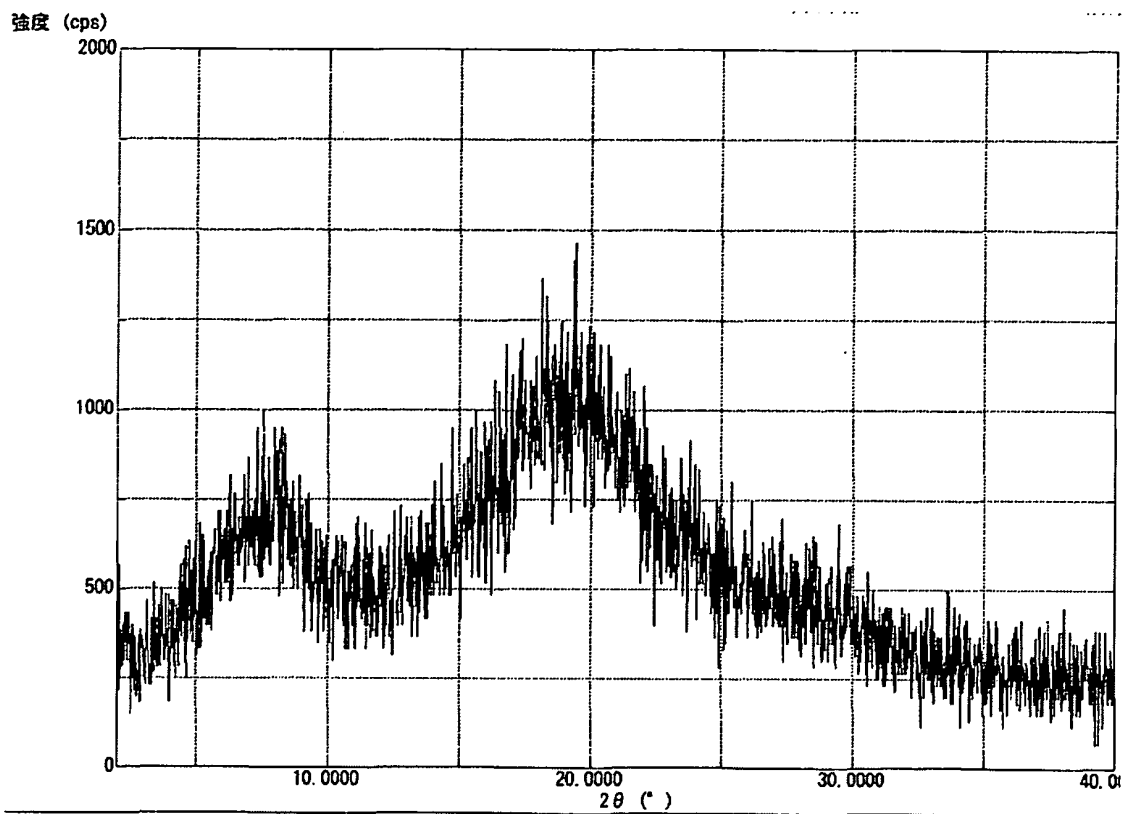
第2圖



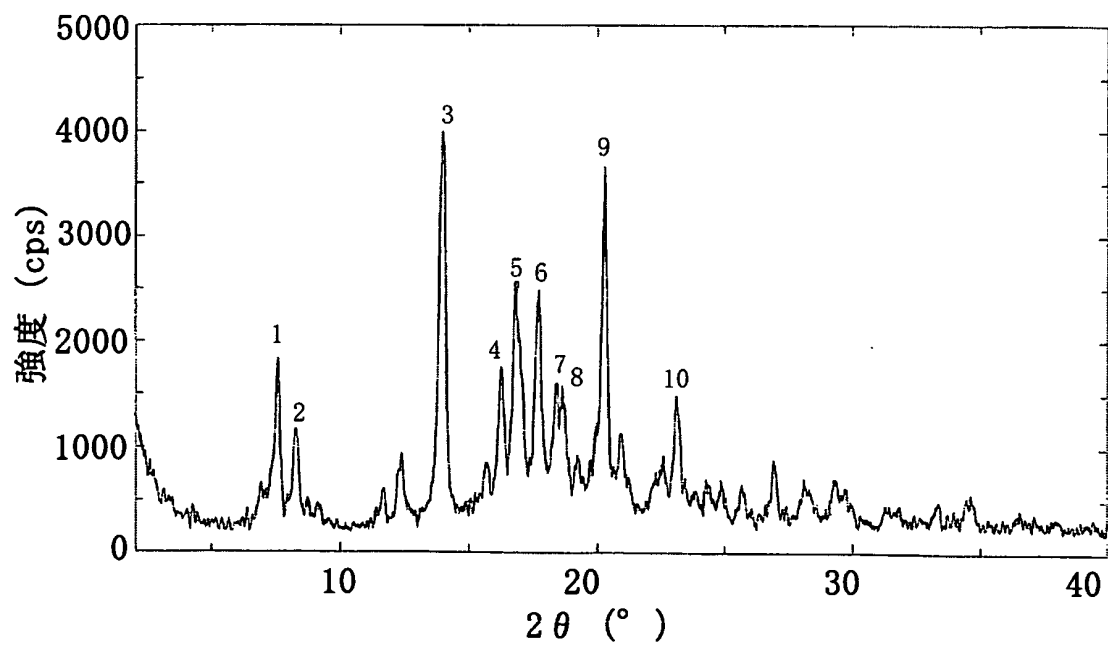
第3圖



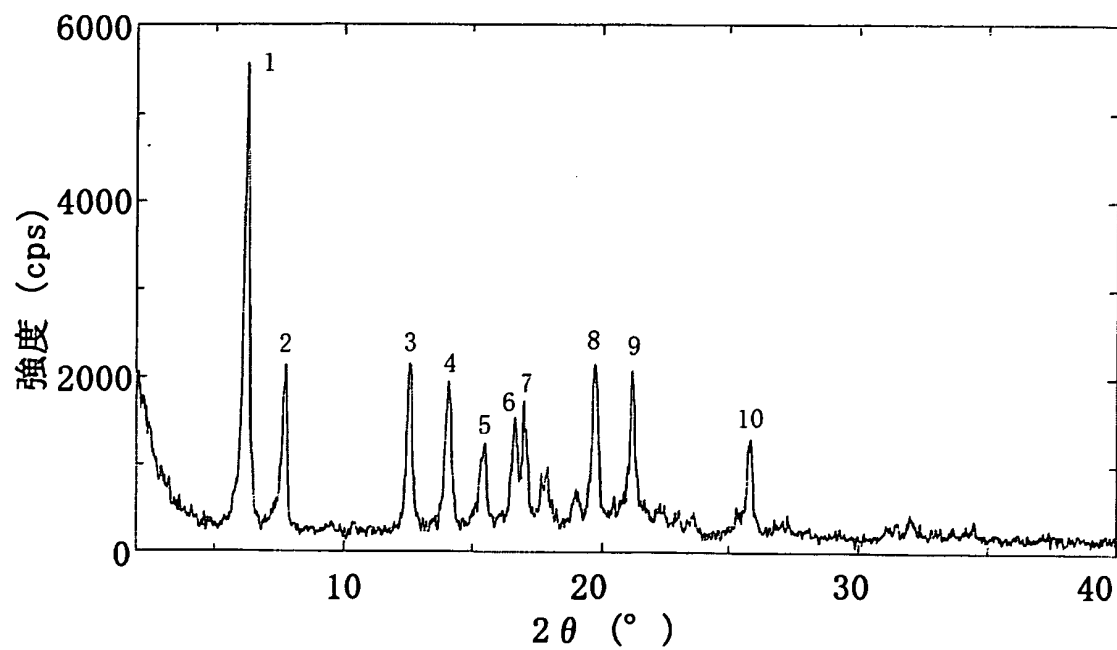
第4圖



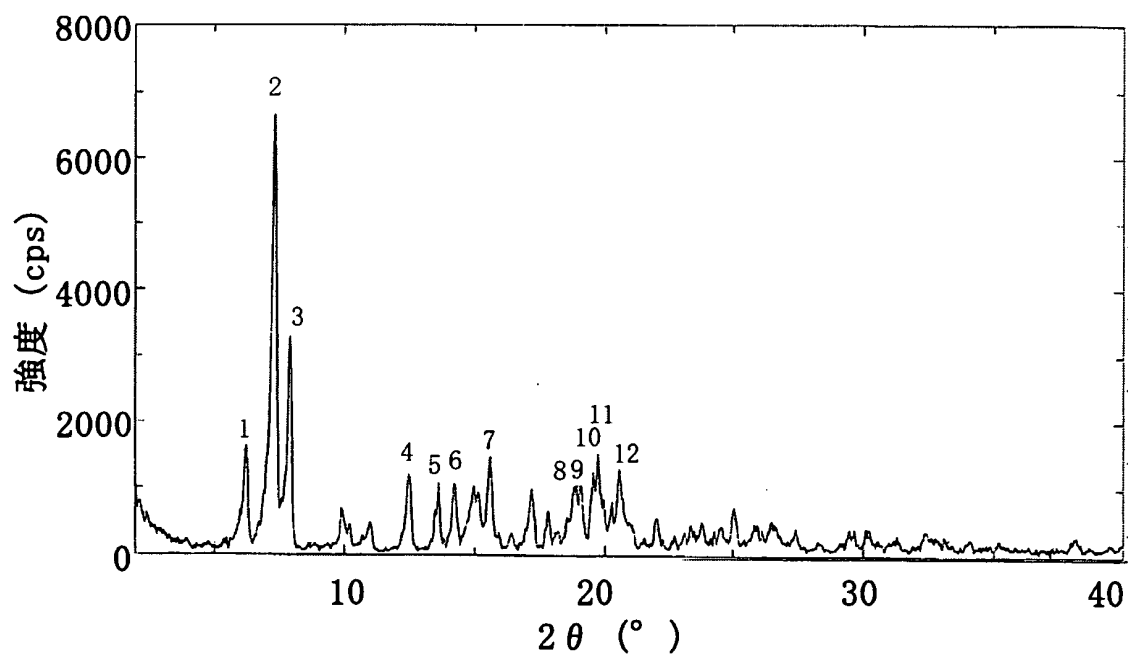
第5圖



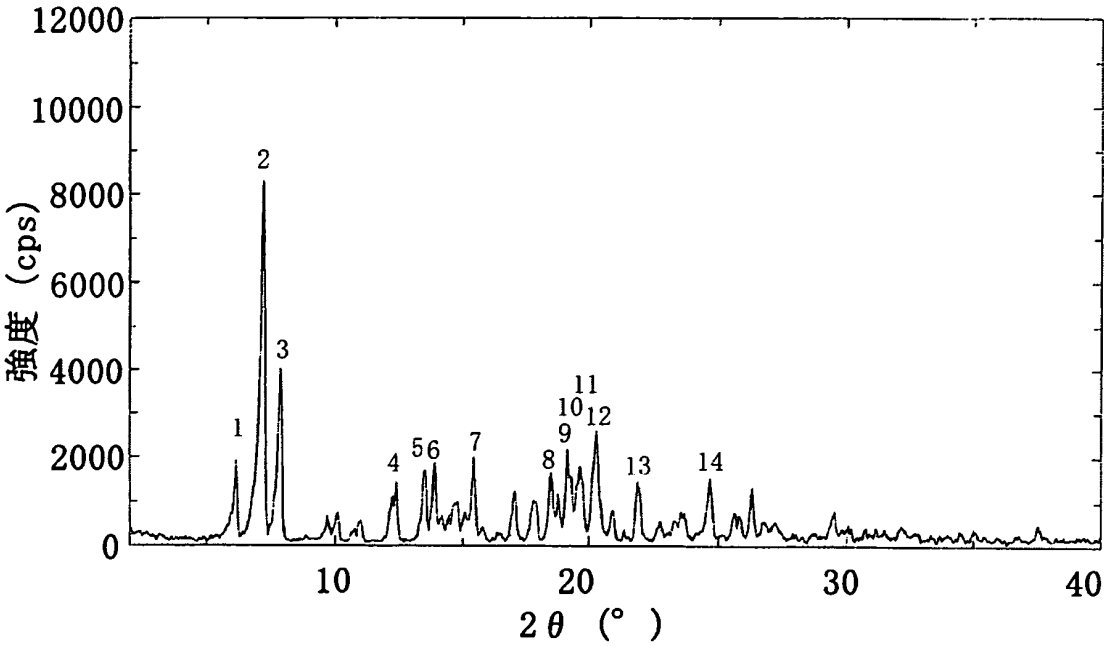
第6圖



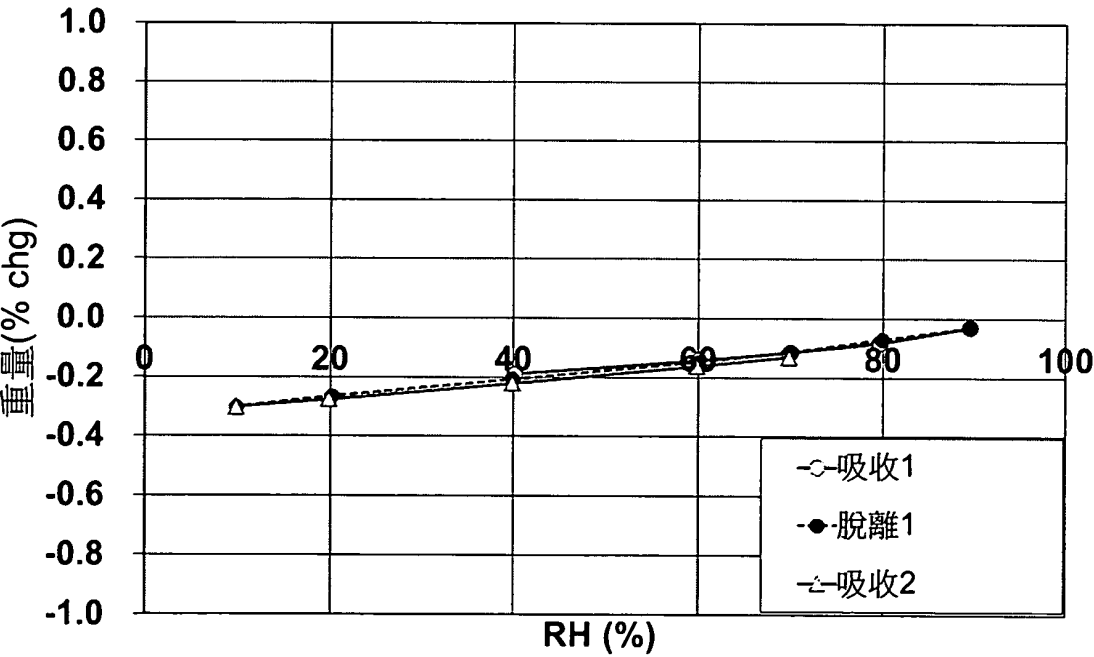
第7圖



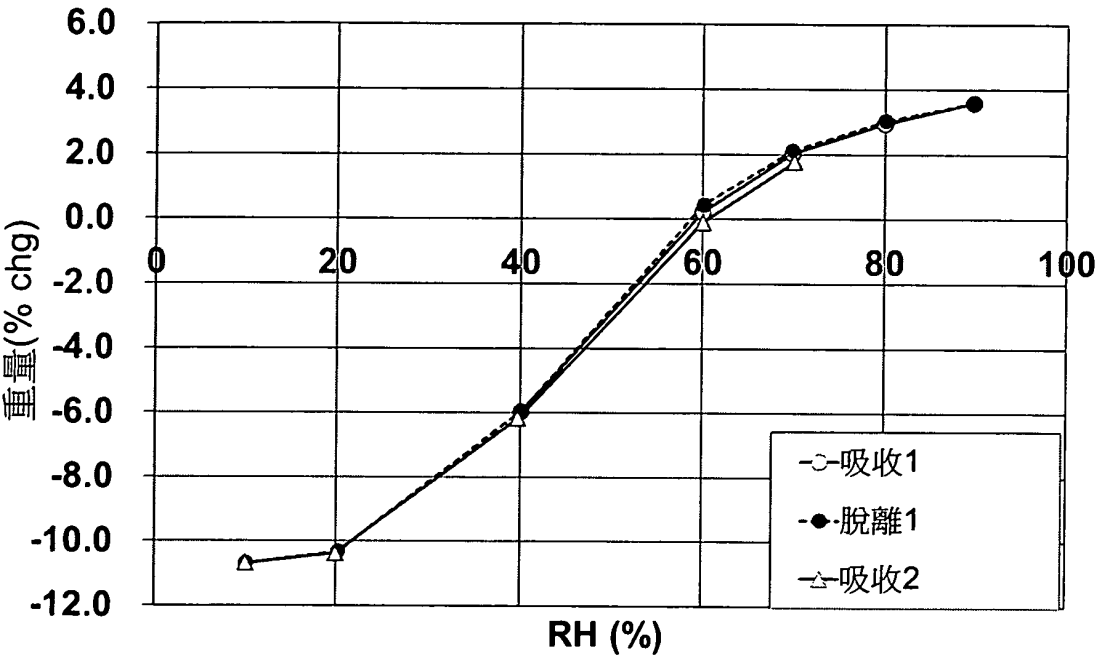
第8圖



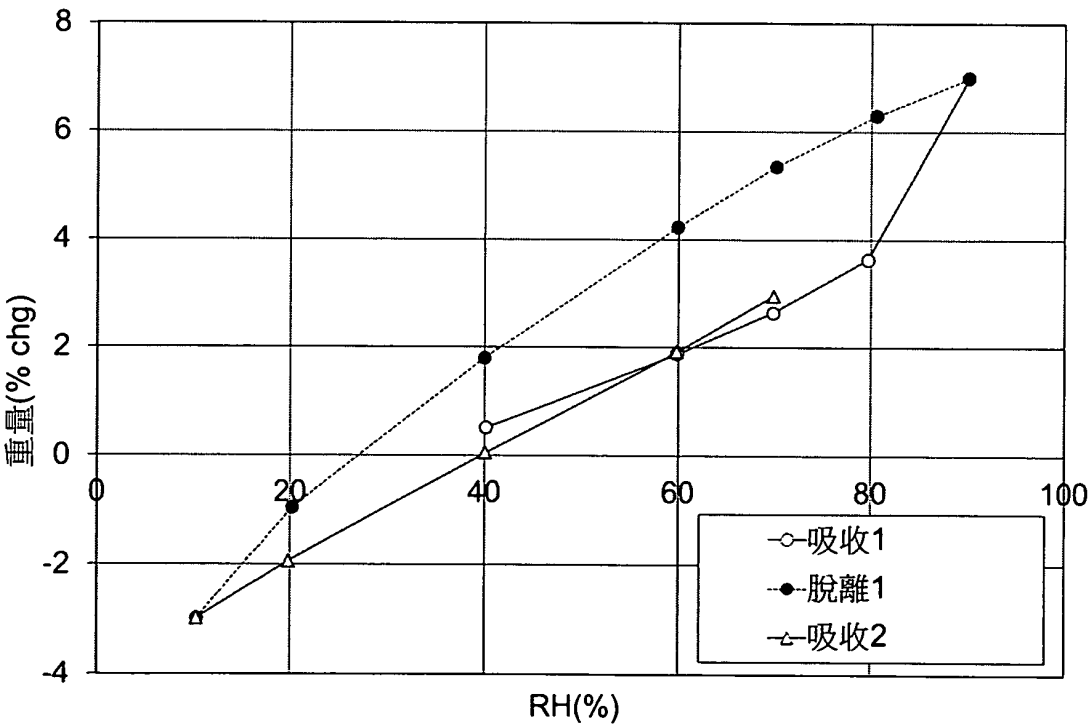
第9圖



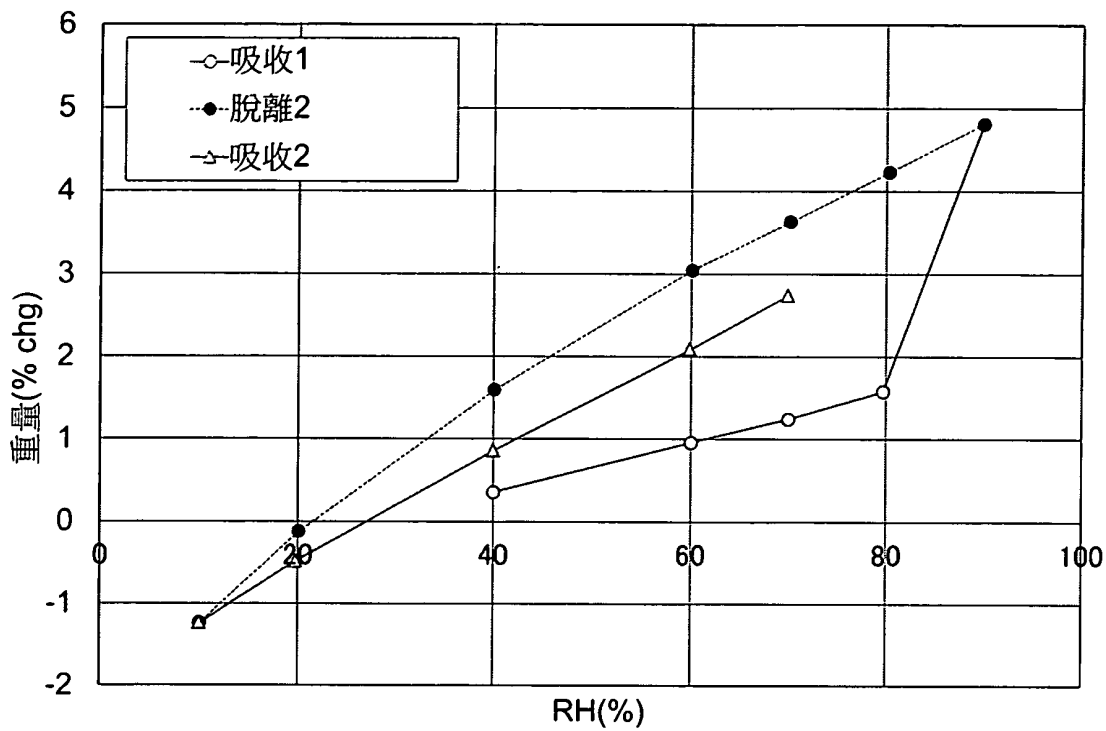
第10圖



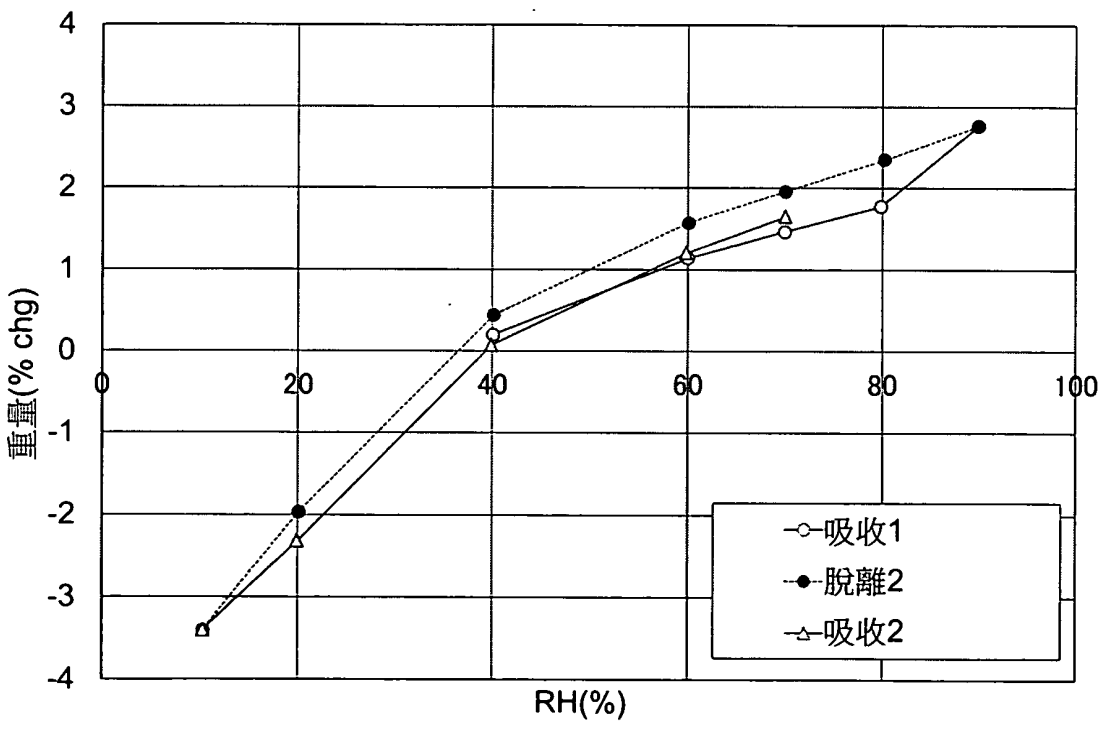
第11圖



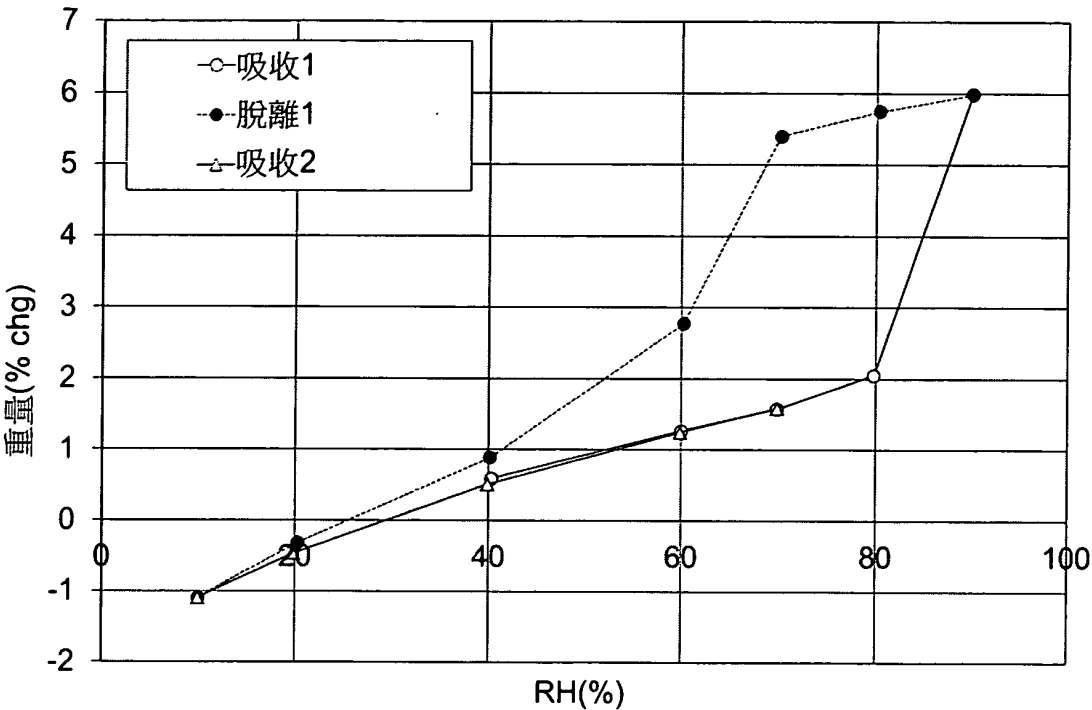
第12圖



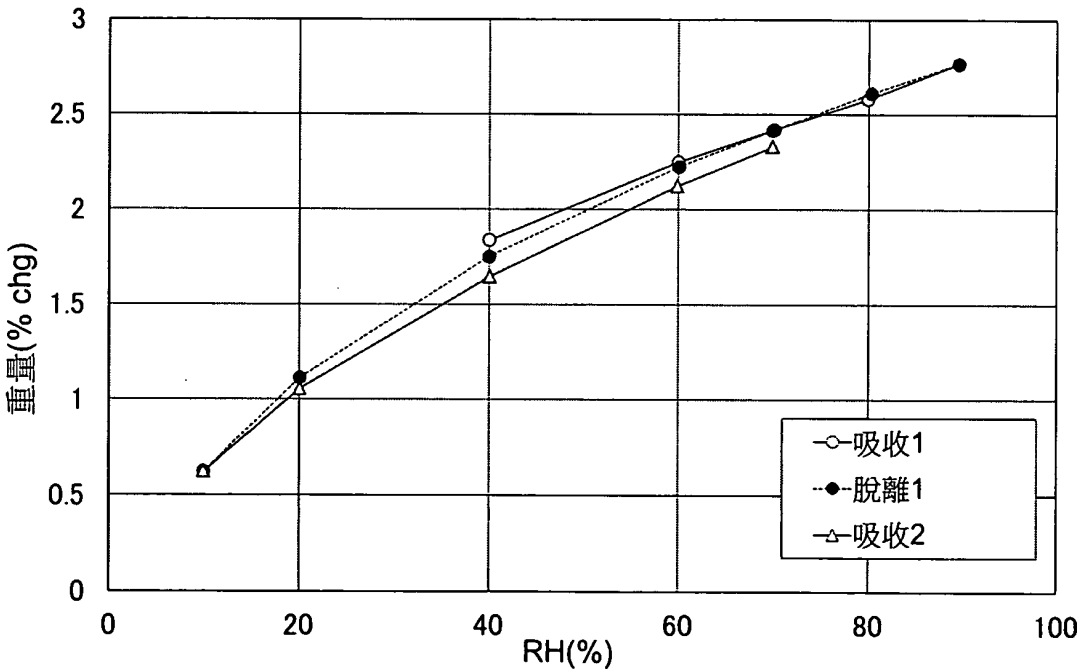
第13圖



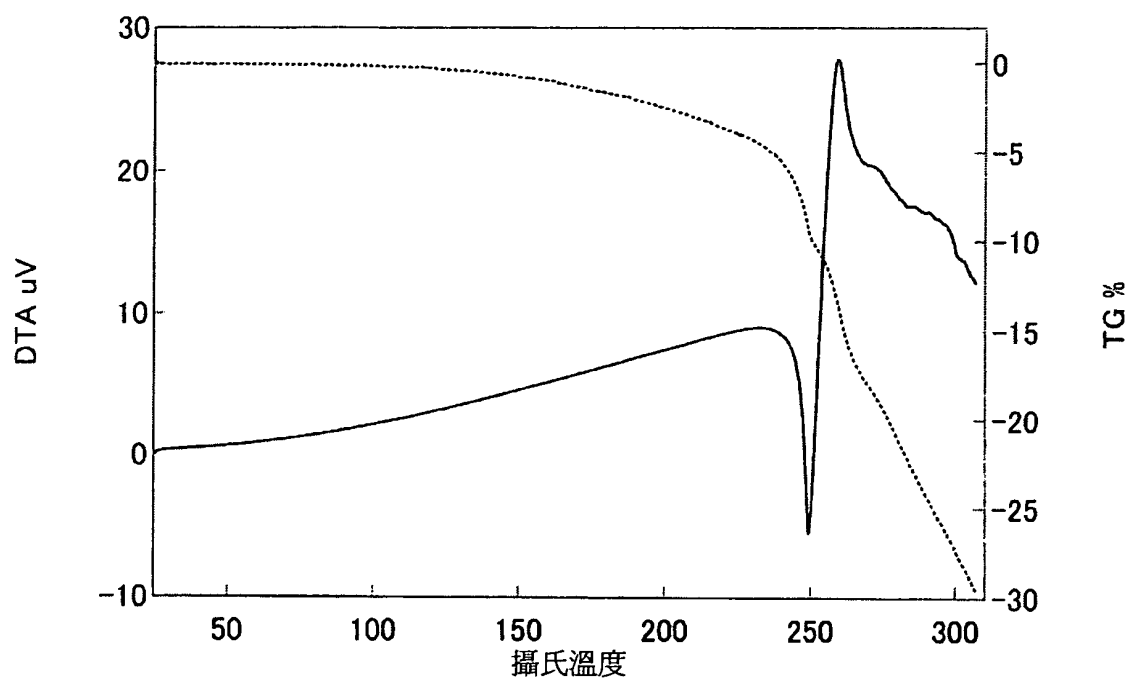
第14圖



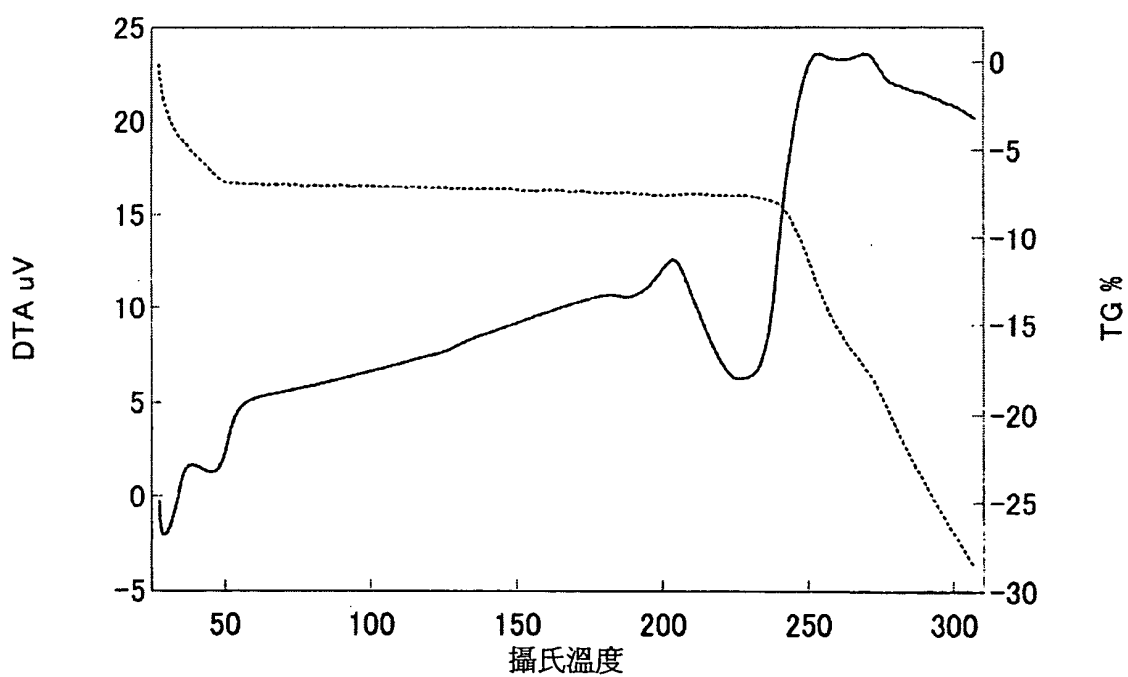
第15圖



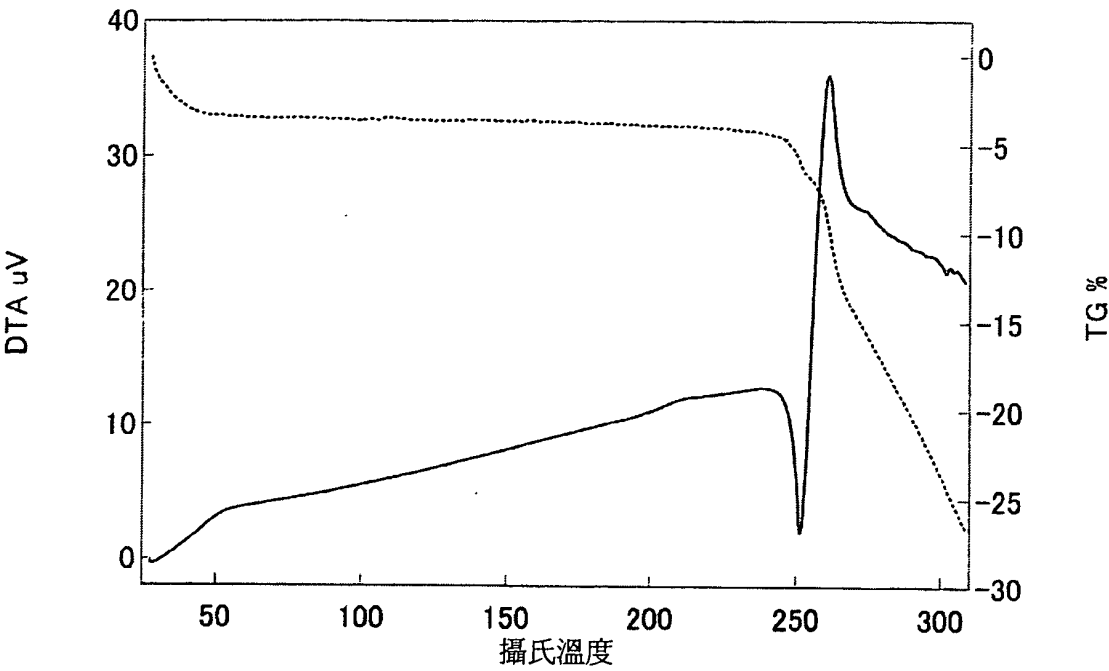
第16圖



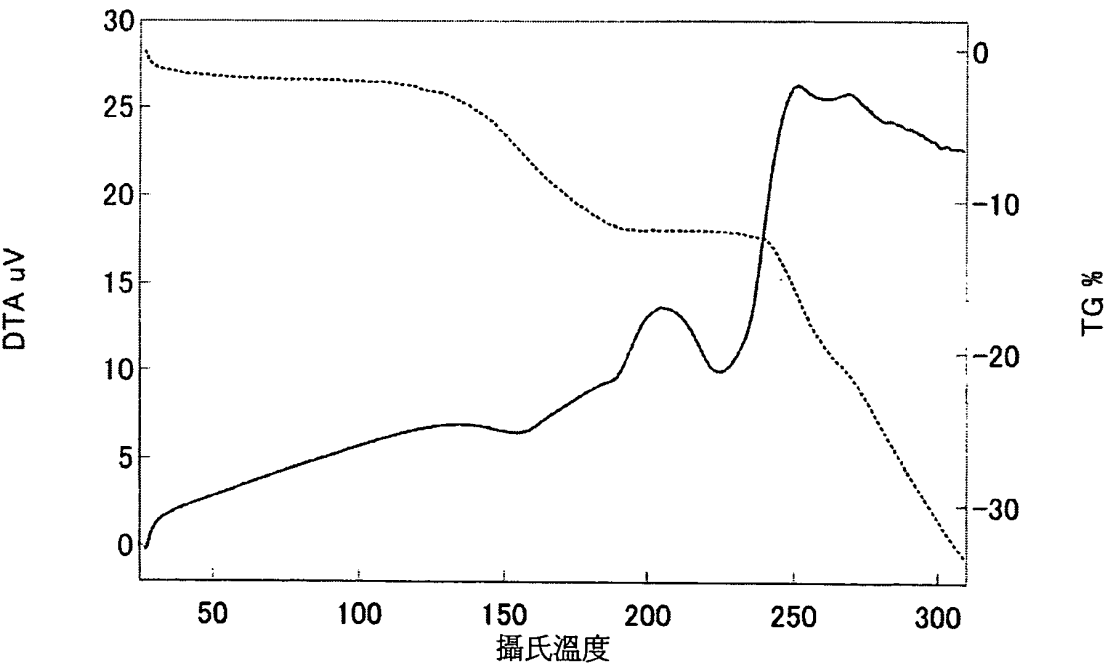
第17圖



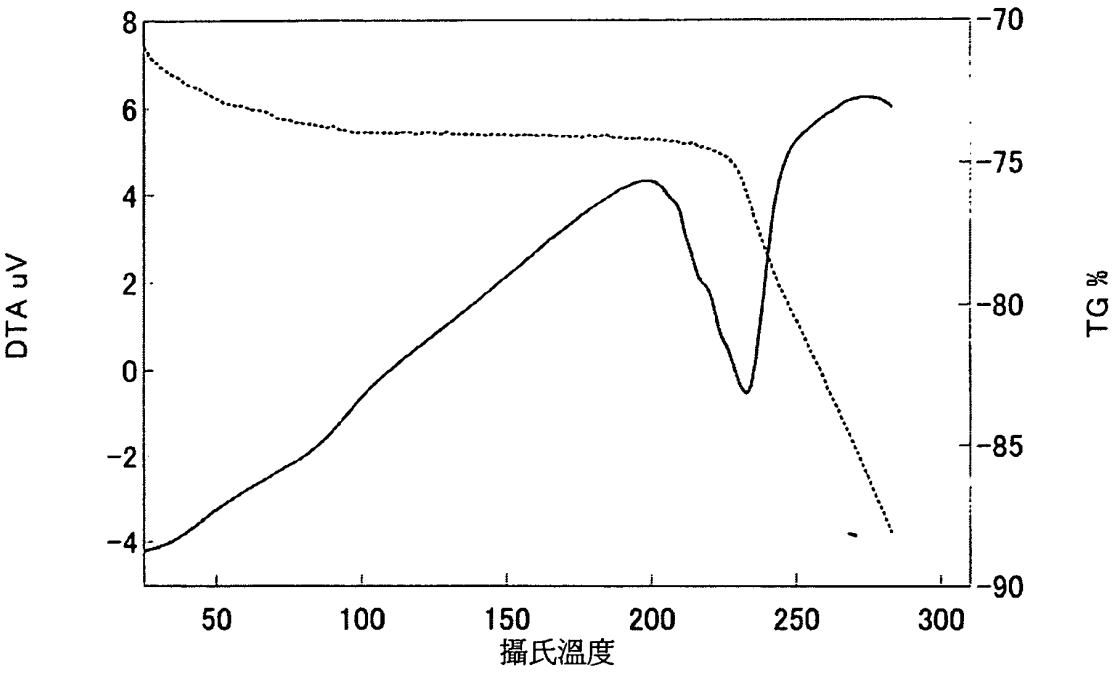
第18圖



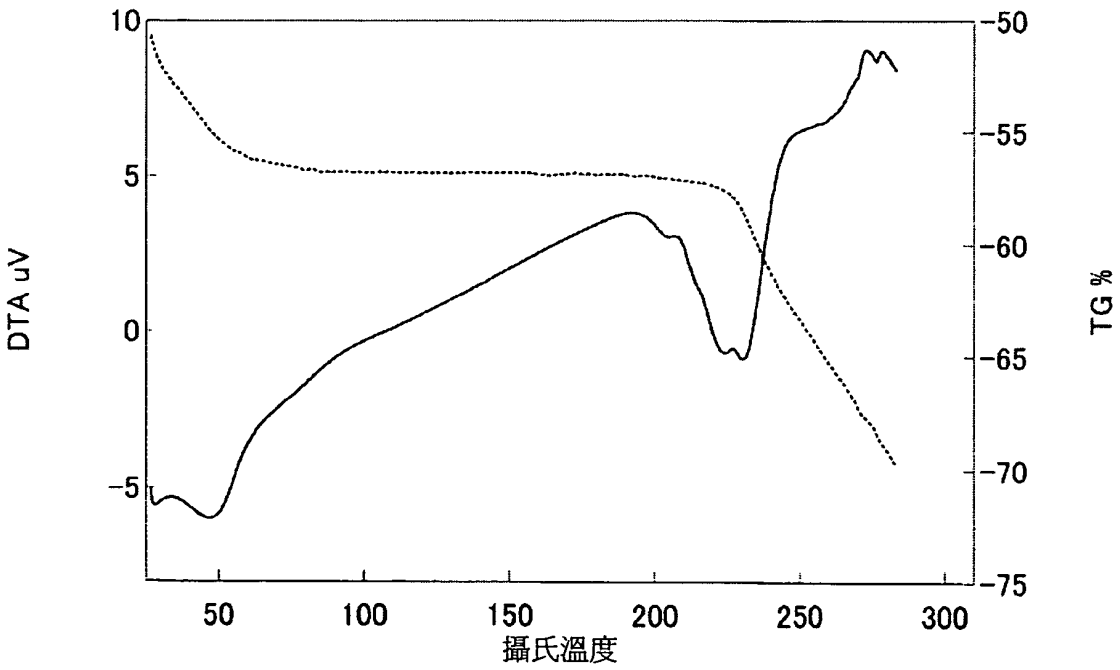
第19圖



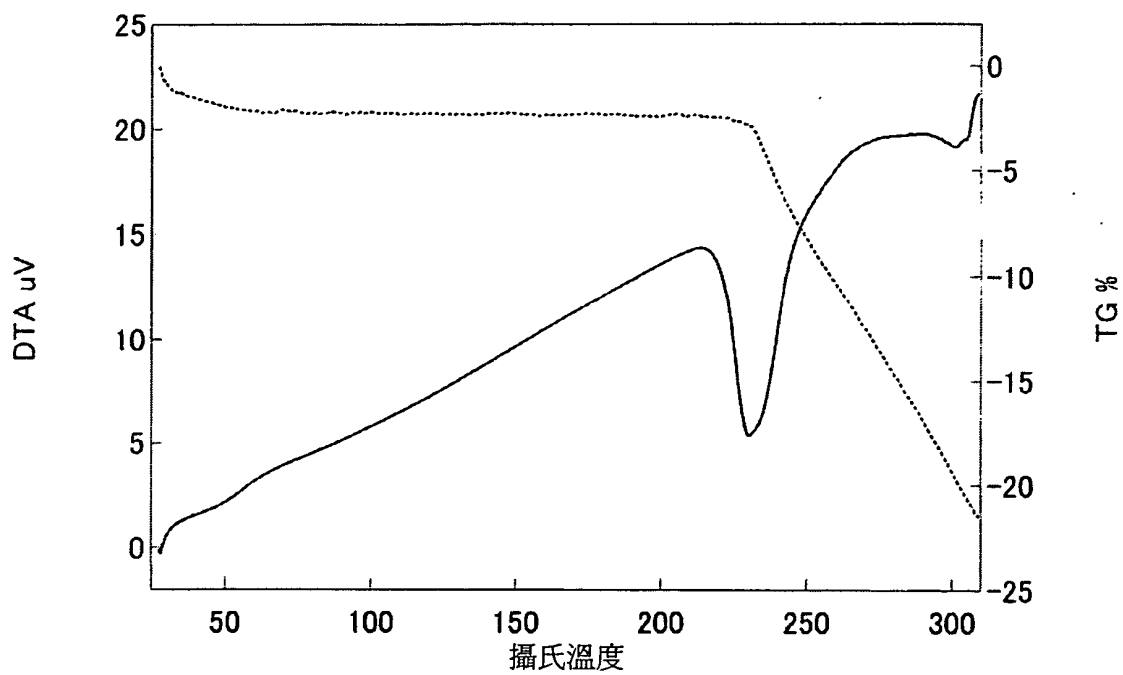
第20圖



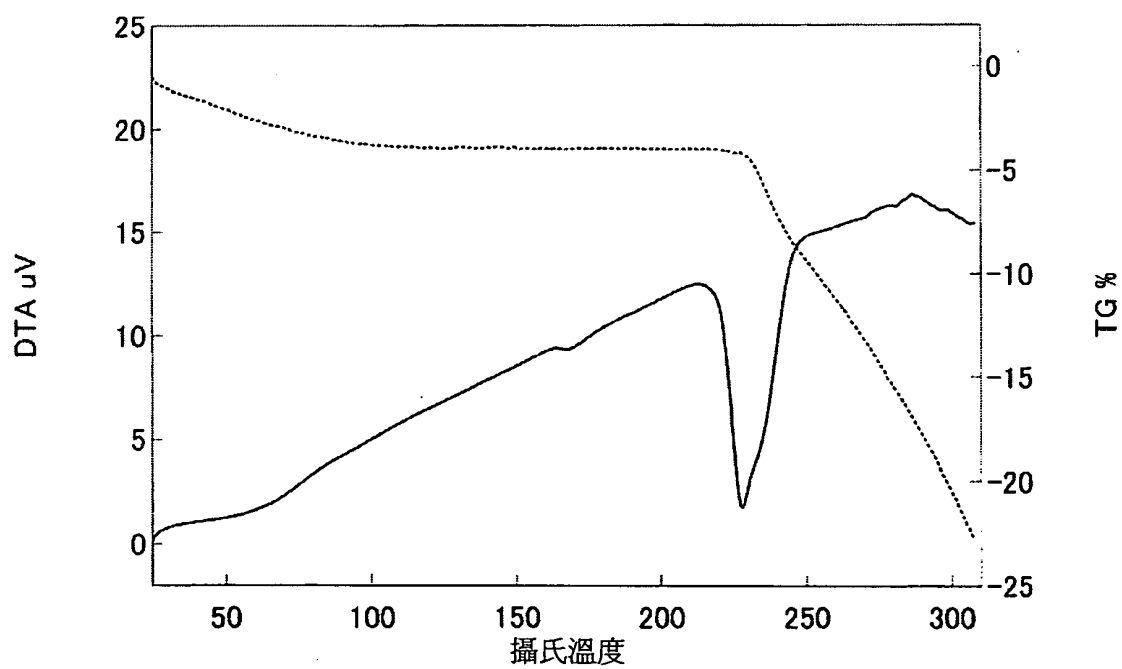
第21圖



第22圖



第23圖



第24圖

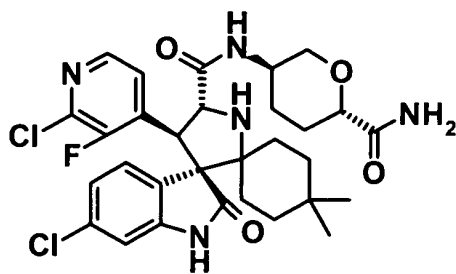
【代表圖】

【本案指定代表圖】：無。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無。

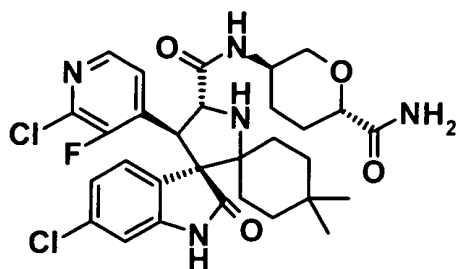
【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



申請專利範圍

106年2月8日修正本

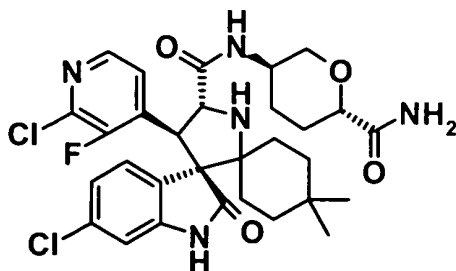
1. 一種下述式(1)所表示之(3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-呓喃-3-基]-6''-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2''-側氧-1'',2''-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3''-吡啶]-5'-甲醯胺或其鹽之結晶，



其於銅之 K α 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，具有第 1 圖所示之 X 射線繞射圖案。

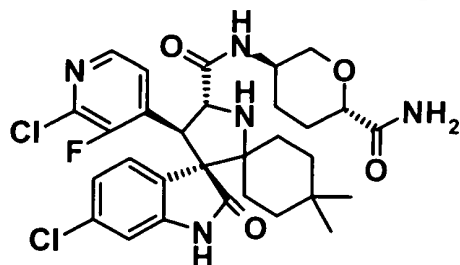
2. 如請求項 1 之結晶，其於銅之 K α 線(波長 $\lambda=1.54$ 埃)之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=7.78$ 、 9.14 、 10.06 、 10.78 、 12.18 、 13.42 、 14.34 、 15.50 、 16.62 、 17.06 、 17.66 、 18.18 、 18.74 、 20.18 、 22.46 、 24.90 、 25.54 、 26.94 、 27.58 、 28.90 顯示特徵的波峰。

3. 一種下述式(1)所表示之(3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-呓喃-3-基]-6''-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2''-側氧-1'',2''-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3''-吡啶]-5'-甲醯胺或其鹽之結晶，



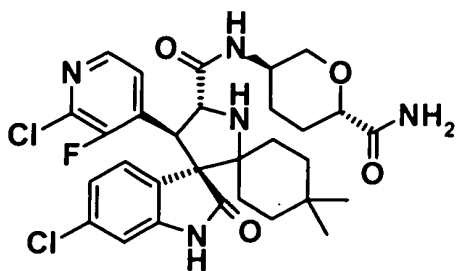
其於銅之 $K\alpha$ 線 (波長 $\lambda=1.54$ 埃) 之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，具有第 2 圖所示之 X 射線繞射圖案。

4. 如請求項 3 之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線 (波長 $\lambda=1.54$ 埃) 之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=7.62$ 、 13.06 、 15.10 、 17.22 、 21.98 顯示特徵的波峰。
5. 一種下述式 (1) 所表示之 (3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-哌喃-3-基]-6''-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2''-側氧-1'',2''-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3''-吡啶]-5'-甲醯胺或其鹽之結晶，



其於銅之 $K\alpha$ 線 (波長 $\lambda=1.54$ 埃) 之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，具有第 3 圖所示之 X 射線繞射圖案。

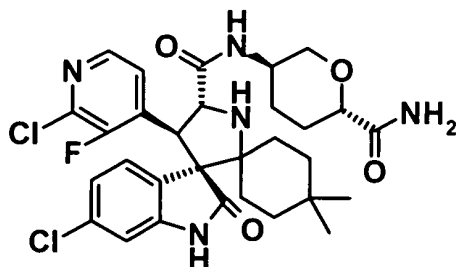
6. 如請求項 5 之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線 (波長 $\lambda=1.54$ 埃) 之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=9.18$ 、 12.18 、 15.58 、 16.22 、 17.22 、 18.42 、 18.82 、 19.86 顯示特徵的波峰。
7. 一種下述式 (1) 所表示之 (3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-哌喃-3-基]-6''-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2''-側氧-1'',2''-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3''-吡啶]-5'-甲醯胺或其鹽之結晶，



其於銅之 $K\alpha$ 線 (波長 $\lambda=1.54$ 埃) 之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，具有第 4 圖所示之 X 射線繞射圖案。

8. 如請求項 7 之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線 (波長 $\lambda=1.54$ 埃) 之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=6.46$ 、 7.86 、 9.12 、 13.00 、 14.42 、 19.32 、 20.34 、 20.42 、 21.98 顯示特徵的波峰。

9. 一種下述式 (1) 所表示之 (3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-嘓喃-3-基]-6''-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2''-側氧-1'',2''-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3''-吡啶]-5'-甲醯胺或其鹽之結晶，

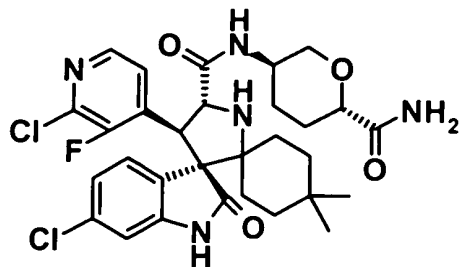


其於銅之 $K\alpha$ 線 (波長 $\lambda=1.54$ 埃) 之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，具有第 6 圖所示之 X 射線繞射圖案。

10. 如請求項 9 之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線 (波長 $\lambda=1.54$ 埃) 之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=7.56$ 、 8.26 、 14.00 、 16.26 、 16.78 、 17.72 、 18.42 、 18.62 、 20.28 、 23.06 顯示特徵的波峰。

11. 一種下述式 (1) 所表示之 (3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-

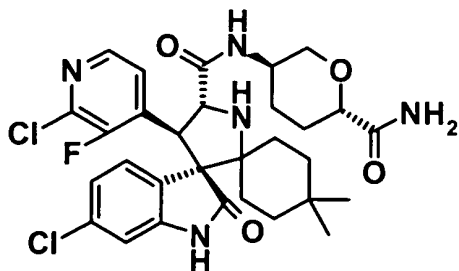
胺甲醯基四氫-2H-哌喃-3-基]-6''-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2''-側氧-1'',2''-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啉-3',3''-吡啶]-5'-甲醯胺或其鹽之結晶，



其於銅之 $K\alpha$ 線 (波長 $\lambda=1.54$ 埃) 之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，具有第 7 圖所示之 X 射線繞射圖案。

12. 如請求項 11 之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線 (波長 $\lambda=1.54$ 埃) 之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=6.28$ 、 7.72 、 12.62 、 14.06 、 15.50 、 16.62 、 16.96 、 19.68 、 21.18 、 25.82 顯示特徵的波峰。

13. 一種下述式 (1) 所表示之 (3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-哌喃-3-基]-6''-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2''-側氧-1'',2''-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啉-3',3''-吡啶]-5'-甲醯胺或其鹽之結晶，

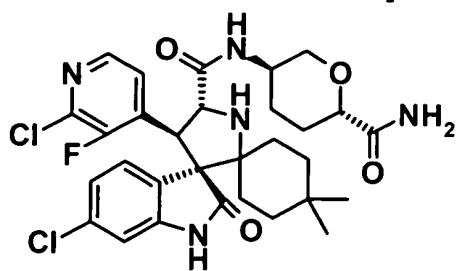


其於銅之 $K\alpha$ 線 (波長 $\lambda=1.54$ 埃) 之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，具有第 8 圖所示之 X 射線繞射圖案。

14. 如請求項 13 之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線 (波長 $\lambda=1.54$ 埃) 之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=6.2, 2$

、 7.34、 7.90、 12.46、 13.60、 14.22、 15.56、 18.86、 19.04、 19.52、 19.72、 20.54 顯示特徵的波峰。

15. 一種下述式(1)所表示之(3'R,4'S,5'R)-N-[(3R,6S)-6-胺甲醯基四氫-2H-呓喃-3-基]-6"-氯-4'-(2-氯-3-氟吡啶-4-基)-4,4-二甲基-2"-側氧-1",2"-二氫二螺[環己烷-1,2'-吡咯啶-3',3"-吡啶]-5'-甲醯胺或其鹽之結晶，



其於銅之 $K\alpha$ 線 (波長 $\lambda=1.54$ 埃) 之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，具有第 9 圖所示之 X 射線繞射圖案。

16. 如請求項 15 之結晶，其於銅之 $K\alpha$ 線 (波長 $\lambda=1.54$ 埃) 之照射所獲得的粉末 X 射線繞射圖，於繞射角度 $2\theta=6.16$ 、 7.18、 7.88、 12.38、 13.50、 13.88、 15.46、 18.46、 19.10、 19.28、 19.66、 20.28、 21.88、 24.68 顯示特徵的波峰。

17. 一種醫藥，其含有如請求項 1 至 16 中任一項之結晶。