

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2002 年 4 月 25 日 (25.04.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/32848 A1

- (51) 国際特許分類: C07C 67/58, 69/33, 67/62, C12P 7/64
- (21) 国際出願番号: PCT/JP01/09045
- (22) 国際出願日: 2001 年 10 月 15 日 (15.10.2001)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2000-315256
2000 年 10 月 16 日 (16.10.2000) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 三共株式会社 (SANKYO COMPANY, LIMITED) [JP/JP]; 〒103-8426 東京都中央区日本橋本町3丁目5番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 杉尾伸弼 (SUGIO, Nobunari) [JP/JP]. 高松安行 (TAKAMATSU, Yasuyuki) [JP/JP]; 〒971-8183 福島県いわき市泉町下川
- 字大鋸389-4 三共株式会社内 Fukushima (JP). 小島俊氏 (KOJIMA, Shunshi) [JP/JP]. 鈴木睦夫 (SUZUKI, Mutsuo) [JP/JP]. 萩澤 稔 (HAGISAWA, Minoru) [JP/JP]; 〒254-0014 神奈川県平塚市四之宮 1-12-1 三共株式会社内 Kanagawa (JP). 浜野 潔 (HAMANO, Kiyoshi) [JP/JP]; 〒140-8710 東京都品川区広町1丁目2番58号 三共株式会社内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 大野彰夫, 外(OHNO, Akio et al.); 〒140-8710 東京都品川区広町1丁目2番58号 三共株式会社内 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): AU, BR, CA, CN, CO, CZ, HU, ID, IL, IN, KR, MX, NO, NZ, PL, RU, SG, SK, US, VN, ZA.
- (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: METHOD OF PURIFYING PLAVASTATIN

(54) 発明の名称: プラバスタチンを精製する方法

(57) Abstract: A method of isolating or purifying plavastatin or its pharmacologically acceptable salt characterized by involving, in the process of isolating or purifying plavastatin or its pharmacologically acceptable salt, the step of extracting plavastatin by using an organic solvent represented by the formula $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ (wherein R represents alkyl having 3 or more carbon atoms) or the step of decomposing impurities by using an inorganic acid/an inorganic base; and compositions containing plavastatin sodium thus obtained.

(57) 要約:

本発明は、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ (R は炭素数 3 以上のアルキル基を示す。) である有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程を、又は無機酸/無機塩基を用いて不純物を分解する工程を行うことを特徴とするプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法及び該方法により得られるプラバスタチンナトリウム含有組成物に関する。

WO 02/32848 A1

明細書

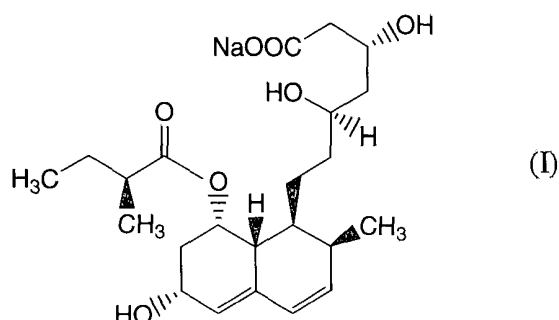
プラバスタチンを精製する方法

技術分野

本発明は、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、式 $\text{C H}_3 \text{C O}_2 \text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程を行うことを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法、不純物を無機酸を用いて分解する工程を行うことを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を行うことを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法に関する。

また、本発明は、上記3工程から選択される2以上の工程を組み合わせることを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法に関する。

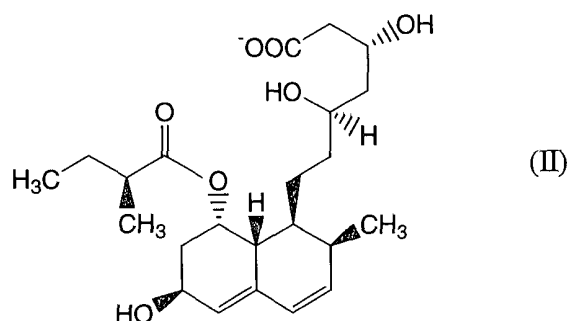
更に、本発明は、下記一般式（I）



を有する化合物を、プラバスタチンナトリウムに対して、0.1重量%以下の量で含有することを特徴とする、工業的に生産されたプラバスタチンナトリウムを含有する組成物に関する。

技術背景

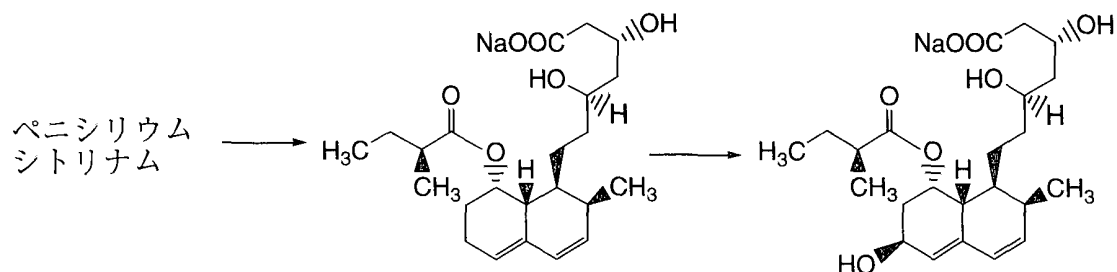
プラバスタチンは、特開昭57-2240号公報（USP 4, 346, 227）にHMG-CoAリダクターゼ阻害剤として開示されている化合物であり、下記式（II）



を有し、現在、プラバスタチンナトリウムが高脂血症治療剤として発売されている。

HMG-CoAリダクターゼ阻害剤として、プラバスタチンの他に多くの化合物が知られているが、例えば、アトロバスタチン、フルバスタチン、イタバスタチン等は、全て合成により製造される化合物である。

一方、ロバスタチン及びシンバスタチンは、プラバスタチンと同様に発酵により製造されるものの、一段階の発酵により生成されるが、プラバスタチンは、二段階発酵により生成される点で相違する。すなわち、プラバスタチンナトリウムは、下記式に示すとおり、一段階目の発酵で生成された前駆体を二段階目で微生物変換培養を行うことにより、生成されるものである。



そもそも、菌を発酵させた場合、化学反応で合成を行うよりも、予想し得ない多くの不純物が生成してしまうものである。各工程毎に精製を行ったとしても、全ての不純物を除去しきれものではなく、特に、工業的生産を目的とした大量培養に

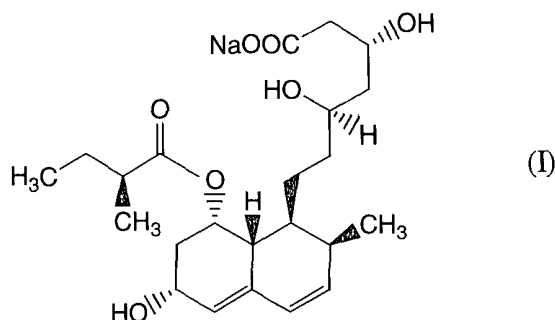
においては、不純物を除去することはなおさら困難である。

一方、「安全で有効な医薬を製造するための重要な因子の一つが、高純度の生成物を得ることである。化学物質は、原料物質から化学合成、生物により生産された当該物質を単離若しくは精製する又は遺伝子組換え細胞等を利用した生産で生成された当該物質を単離若しくは精製する等の製法により取得される。一般的に、遺伝子組換え法を含めいかなる製法を採用しようが、原料の純度、反応の不完全性、単離若しくは精製過程での分解等により、製造される化学物質は100%の純度のものを得ることは困難なことが多い。また、医薬の分野において、診断薬、治療薬は、不純物を含むと診断や治療に好ましくない影響を及ぼす可能性を否定することができないのは、本願発明の属する技術分野における技術常識に属することは明らかであり、できる限り高純度の生成物を得る事が重要とされている。」[東京高裁平成9年（行ケ）第302号事件（12年2月17日判決）]のである。

そして、HMG-CoAリダクターゼ阻害剤は、血中コレステロールを有効に低下させるために、投与期間が長期にわたるような薬剤であり、副作用を極力軽減するため、特に高純度であることが必要とされる。

従って、上記のとおり、二段階発酵により生成されるプラバスタチン類は、一段階発酵により生成されるシンバスタチン及びロバスタチンに比べて、不純物もより多く含有するため、精製工程が特に重要であり、不純物を除去し高純度のプラバスタチンを単離又は精製する方法を見出すための研究が続けられていた。

本発明者等は、特に、プラバスタチンを二段階発酵して生成する際に、下記化合物（I）



が必ず生成され、しかも上記化合物（I）の生産量が、プラバスタチンに変換培養する際に生成される不純物の中で最も多いことを見出した。しかしながら、このように、高純度のプラバスタチンを得るためには、医薬を製造するにあたり不純物とされる化合物の中でも、上記化合物（I）を確実に除去することが重要な課題であることがわかったものの、上記化合物（I）は、プラバスタチンの一つの不斉炭素上の水酸基にかかる光学異性体であるため、他の不純物に比べて除去することが非常に困難であった。

従って、クロマトグラフィーのような煩雑で工業的に不利なものではなく、工程生産性を損なわず、しかもクロマトグラフィーで精製される程度の高純度で、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する方法、更に上記化合物（I）を除去し高純度のプラバスタチンを得ることができるような、簡便な単離又は精製方法が望まれていた。

一方、HMG-C o Aリダクターゼ阻害剤の精製方法としては、以下のものが知られている。

（1）WO 92/16276号公報（特表平6-506210号公報）

本公報は、「高性能液体クロマトグラフィーを使用することを特徴とするHMG-C o Aリダクターゼ阻害剤の精製方法、及び、該精製方法により得られたHMG-C o Aリダクターゼ阻害剤」に関する。

本公報の精製方法は、HMG-C o Aリダクターゼ阻害剤の精製工程において、高性能液体クロマトグラフィーを用いることを特徴とする。一方、本発明の単離又

は精製方法は、酢酸 n-プロピル、酢酸 n-ブチルのような式 $\text{C H}_3\text{C O}_2\text{R}$ (上記式中、R は炭素数 3 以上のアルキル基を示す。) を有する有機溶媒を使用することにより、プラバスタチンの不純物を除去するか、及び／又は、無機酸及び／又は無機塩基を用いて分解することにより不純物を除去し、高性能液体クロマトグラフィーを用いずに、高純度のプラバスタチンを得られることを特徴としている点で、本公報の精製方法とは相違する。

また、本発明の「上記化合物 (I) をプラバスタチンナトリウムに対して、0.1 重量% 以下まで除去することを特徴とする」単離又は精製方法については記載も示唆もされていない。

ところで、高性能液体クロマトグラフィーは、大量の溶媒を要し、それらに少量の不揮発性不純物が含まれ得るが故に、大規模生産の場合にはより深刻になる。溶媒の除去に際し、これらの不純物は試料に混入する。加えて、このように多量の溶媒を用いることにより、深刻な環境汚染や多額の蒸溜費用を招くことになる。

従って、高性能液体クロマトグラフィーは、煩雑で工業的に不利であり、工業的なプラバスタチンの単離又は精製に用いられる操作であるとは考えられない。

そして、プラバスタチンの工業生産にあたって、高性能液体クロマトグラフィーを用いたとしても、プラバスタチンの光学異性体である上記化合物 (I) を除去し所望の純度のプラバスタチンを得ることは困難である。

(2) WO 99/42601 号公報

本公報は、「HMG-C o A リダクターゼ阻害剤の濃縮培養液を、酸で pH 4.5 乃至 7.5 に調節した後、酢酸エチルで HMG-C o A リダクターゼ阻害剤を抽出し、所望によりラクトン化させた後結晶化することにより、99.6% 以上の純度を有する HMG-C o A リダクターゼ阻害剤を得る単離又は精製方法」に関する。

本公報の精製方法は、菌により生成されたプラバスタチン類を含む培養濃縮液から、有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程において、酢酸エチルを使

用していることに対して、本発明の精製方法は、酢酸 n-プルピル、酢酸 n-ブチルのような式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ （上記式中、R は炭素数 3 以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を使用している点で、本発明の単離又は精製方法とは相違する。

更に、本発明の単離又は精製方法は、プラバスタチンの不純物を、無機酸及び／又は無機塩基を用いて分解する工程を行うことにより高純度のプラバスタチンを得ることも特徴としているが、本公報では、無機酸及び／又は無機塩基を用いて HMG-CoA リダクターゼ阻害剤の不純物を分解する工程については、記載も示唆もされていない。

また、本発明の「上記化合物（I）をプラバスタチンナトリウムに対して、0.1 重量% 以下まで除去することを特徴とする」単離又は精製方法については、記載も示唆もされていない。

確かに、本公報の実施例 3 では、プラバスタチンの単離又は精製方法が記載されているが、本実施例では、酢酸エチルで抽出されたプラバスタチンの純度が 70.3 % 足らずに留まっており、その後本発明の単離又は精製方法とは相違するクロマトグラフィーを用いて精製する記載はあるものの、最終的に得られたプラバスタチンの純度については全く記載されていない。従って、最終的に高純度のプラバスタチンが得られているのか否かはそもそも不明であるし、加えて上記化合物（I）がプラバスタチンに対して、0.1 重量% 以下まで精製されているかどうかについても記載も示唆もされていない。

また、本公報の実施例において、99.6 % 以上の高純度で得られるとされているロバスタチンでさえ、最終生成物の HPLC のチャート（Fig. 4）を見る限り、純度が 99.6 % 以上のロバスタチンが得られているとは考えにくく、信憑性が無い。

（3）WO 00/17182 号公報

本公報は、「置換クロマトグラフィーを使用することを特徴とする HMG-Co

Aリダクターゼ阻害剤の精製方法及び該精製方法により得られたHMG-C o Aリダクターゼ阻害剤」に関する。

本公報の精製方法は、HMG-C o Aリダクターゼ阻害剤の精製工程において、置換クロマトグラフィーを用いることを特徴とする。一方、本発明の単離又は精製方法は、酢酸 n-プロピル、酢酸 n-ブチルのような式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を使用して、プラバスタチンの不純物を除去するか、及び／又は、無機酸及び／又は無機塩基を用いて分解することにより不純物を除去し、置換クロマトグラフィーを含む一切のクロマトグラフィーを用いずに、高純度のプラバスタチンが得られることを特徴としている点で、本公報の精製方法とは相違する。

また、本発明の「上記化合物（I）をプラバスタチンナトリウムに対して、0.1重量%以下まで除去することを特徴とする」単離又は精製方法については、記載も示唆もされていない。

そして、プラバスタチンの工業的生産にあたって、置換クロマトグラフィーを用いたとしても、煩雑であり、また、プラバスタチンの光学異性体である上記化合物（I）を除去することは困難である。

なお、上記精製方法の他に、通常、当業者が採用する単離又は精製方法としては、例えば、分析用高圧液体クロマトグラフィー（HPLC）を挙げることができるが、分析用HPLCは、プラバスタチンの単離又は精製方法としては実用的手段ではない。分析用HPLCは、非常に細い直径の充填カラム（直径4.6mm×長さ25cm）を用い、一回の分析毎に高圧にあるカラムに約 $10\mu\text{g}$ ($1\times 10^{-2}\text{mg}$) の試料を添加するものであり、一回の分析は、約30分を要する。試料はいずれはカラムから流出するものの、極端に希釈された溶液状であり、分析系では成分検出は可能であるが、収集は実用的でない。更に、分析用HPLCには収集系は付属しておらず、それを設置するにしても、固体試料を得たい場合には溶媒除去を要する。プラバスタチン

の単離又は精製に分析用H P L Cを使うとすると、僅か1個の5mg錠を作るに必要なプラバスタチンを単離又は精製するのに、500回の分析と250時間を要することとなり、分析用H P L Cはプラバスタチンの単離又は精製の目的には非現実的な操作であり、工業的に不利であることが明らかである。

また、分取用H P L Cも、前述の理由により、工業的規模のプラバスタチンの単離又は精製に適した手法とはいえない。

シリカゲルクロマトグラフィーは、シリカゲル粒子の大きさに基づき、カラムクロマトグラフィーとフラッシュクロマトグラフィーに大別できるが、工業規模の単離又は精製に使用するために適した手法であるとは期待されなかった。

実際に、各種クロマトグラフィーを用いて、上記化合物（I）及びその他の不純物の分離を試みたが、上記化合物（I）はプラバスタチンの立体異性体であるため、該化合物をプラバスタチンから分離できなかった。

再結晶は、医薬品分野で広く用いられている単離又は精製操作である。しかしながら、再結晶を使用しても、構造的にプラバスタチンと類似する上記化合物（I）をプラバスタチンから選択的に分離し、組成物中のプラバスタチンの純度を所望の水準まで改善するには効果的でなかった。

ガスクロマトグラフィーや蒸溜のような、他の単離又は精製法も考慮したが、いずれも試料分子の大きさの差異に準拠した分離に基づいており、両者とも試料の加熱を要する。しかしながら、プラバスタチンはその融点では分解する傾向があるため、これらを単離又は精製法とすることができない。

また、上記化合物（I）を除去するため前記単離又は精製方法のいずれかを繰り返したとしても逆にプラバスタチンの収率をも減少させてしまう。

更に、上述されているような、従来知られているいかなる単離又は精製方法を組み合わせても、上記化合物（I）を0.1%以下の量まで除去し、プラバスタチンの工業的生産に適用されうる方法とはならなかった。

従って、工程生産性を損なうことなく、高純度のプラバスタチン、特に、プラ

バスタチンの類縁物質である上記一般式（I）を有する化合物を除去することにより高純度であるプラバスタチンを得る事ができる単離又は精製方法は、今まで全く知られていない。

発明の開示

本発明者らは、プラバスタチンを含有する医薬組成物について鋭意研究を行った結果、高純度のプラバスタチン（好適には、純度が99.5%以上）を得る単離又は精製方法、更にプラバスタチンの類縁物質である上記化合物（I）を含めた不純物を該医薬組成物から除去する単離又は精製方法、特に上記化合物（I）をプラバスタチンに対して0.1重量%以下の量まで除去する単離又は精製方法を見出し、本発明を完成した。

本発明は、

（1） プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程を行うことを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法、

（2） プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、不純物を無機酸を用いて分解する工程を行うことを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法及び

（3） プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、不純物を無機塩基を用いて分解する工程を行うことを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法

に関し、好適には、

（4） Rが、炭素数3又は4個の直鎖又は分枝鎖アルキル基である、（1）に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法、

(5) Rが、n-プロピル基又はn-ブチル基である、(1)に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法、

(6) 無機酸がリン酸である、(2)に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法及び

(7) 無機酸を用いて分解する工程のpHが、2乃至5である、(2)又は(6)に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法である。

更に、本発明は、

(8) プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程及び不純物を無機酸を用いて分解する工程を組み合わせることを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法、

(9) プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、不純物を無機酸を用いて分解する工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を組み合わせることを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法並びに

(10) プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程、不純物を無機酸を用いて分解する工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を組み合わせることを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法

に関し、好適には、

(11) Rが、炭素数3又は4個の直鎖又は分枝鎖アルキル基である、(8)又

は(10)に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法、

(12) Rが、n-プロピル基又はn-ブチル基である、(8)又は(10)に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法、

(13) 無機酸がリン酸である、(8)乃至(12)から選択されるいずれか一項に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法及び

(14) 無機酸を用いて分解する工程のpHが、2乃至5である、(8)乃至(13)から選択されるいずれか一項に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法である。

また、本発明は、

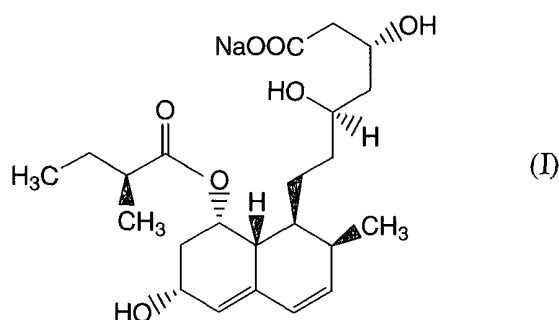
(15) プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を組み合わせることを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法
に関し、好適には、

(16) Rが、炭素数3又は4個の直鎖又は分枝鎖アルキル基である、(15)に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法及び

(17) Rが、n-プロピル基又はn-ブチル基である、(15)に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法である。

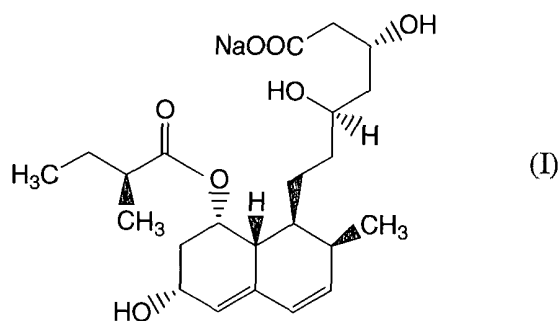
また、本発明は、

(18) プラバスタチンナトリウムを単離又は精製する工程において、式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ (上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。)を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程及び不純物を無機酸を用いて分解する工程を組み合わせて行うことにより、下記一般式 (I)



を有する化合物を、プラバスタチンナトリウムに対して、0.1重量%以下の量まで除去することを特徴とする、プラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法、

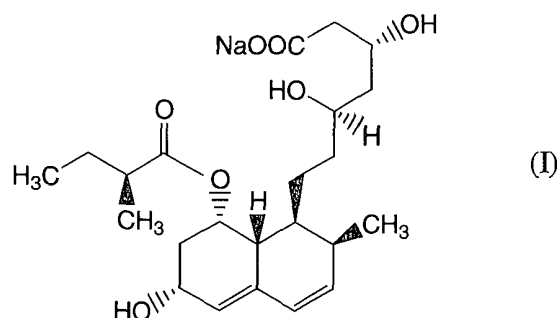
(19) プラバスタチンナトリウムを単離又は精製する工程において、不純物を無機酸を用いて分解する工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を組み合わせて行うことにより、下記一般式 (I)



を有する化合物を、プラバスタチンナトリウムに対して、0.1重量%以下の量まで除去することを特徴とする、プラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法並びに

(20) プラバスタチンナトリウムを単離又は精製する工程において、式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ (上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。)を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程、不純物を無機酸を用いて分解する

工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を組み合わせる行うことにより、下記一般式（I）



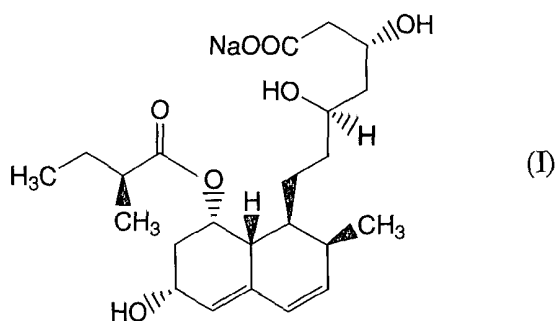
を有する化合物を、プラバスタチンナトリウムに対して、0.1重量%以下の量まで除去することを特徴とする、プラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法に関し、好適には、

- （21） Rが、炭素数3又は4個の直鎖又は分枝鎖アルキル基である、（18）又は（20）に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法及び
- （22） Rが、n-プロピル基又はn-ブチル基である、（18）又は（20）に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法、
- （23） 無機酸がリン酸である、（18）乃至（22）から選択されるいずれか一項に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法、
- （24） 無機酸を用いて分解する工程のpHが、2乃至5である、（18）乃至（23）から選択されるいずれか一項に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法及び
- （25） プラバスタチンナトリウムの純度が、99.5%以上である、（18）乃至（24）から選択されるいずれか一項に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法である。

更に、本発明は、

- （26） プラバスタチンナトリウムを単離又は精製する工程において、

式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を組み合わせる行うことにより、下記一般式（I）



を有する化合物を、プラバスタチンナトリウムに対して、0.1重量%以下の量まで除去することを特徴とする、プラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法に関し、好適には、

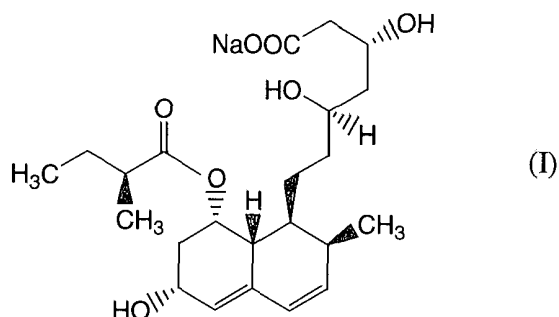
（27） Rが、炭素数3又は4個の直鎖又は分枝鎖アルキル基である、（26）に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法及び

（28） Rが、n-プロピル基又はn-ブチル基である、（26）に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法及び

（29） プラバスタチンナトリウムの純度が、99.5%以上である、（26）乃至（28）から選択されるいずれか一項に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法である。

更に、本発明は、

（30） 下記一般式（I）

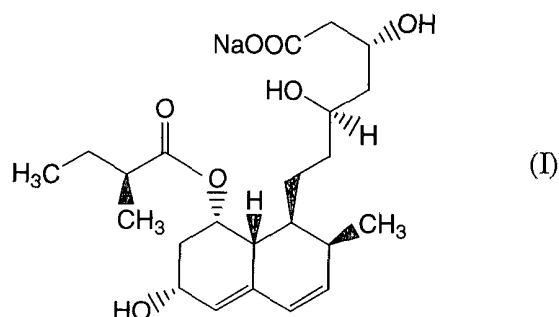


を有する化合物を、プラバスタチンナトリウムに対して、0.1重量%以下の量で含有することを特徴とする、工業的に生産されたプラバスタチンナトリウムを含有する組成物

に関し、好適には、

(31) プラバスタチンナトリウムの純度が、99.5%以上である、(30)に記載の工業的に生産されたプラバスタチンナトリウムを含有する組成物、

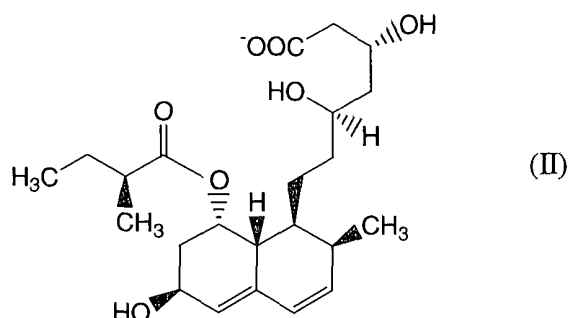
(32) (8)乃至(17)から選択されるいずれか一項に記載の単離又は精製方法により得られ、下記一般式(I)



を有する化合物を、プラバスタチンナトリウムに対して、0.1重量%以下の量で含有することを特徴とする、プラバスタチンナトリウムを含有する組成物及び

(33) プラバスタチンナトリウムの純度が、99.5%以上である、(32)に記載のプラバスタチンナトリウムを含有する組成物である。

本発明において、「プラバスタチン類」とは、下記式(II)



を有するプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩、及び、上記式 (I I) と類似の構造を有する化合物、即ちプラバスタチンの類縁物質 [例えば、上記化合物 (I) を挙げることができる。] をいう。

プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製は、通常、以下に記載する単離又は精製方法によって達成される。

まず、変換培養を終えたプラバスタチンを含む培養液を、常法に従って、ろ過及び／又は遠心法により、菌体を分離し、その後濃縮して培養濃縮液を得る。

得られた培養濃縮液は、所望により、酸を用いて pH を調節した後、酢酸エチルのような水と混和しにくい有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する。例えば、WO 99 / 4 2 6 0 1 号公報では、HMG-CoA リダクターゼ阻害剤を含む培養濃縮液を、酸を用いて pH を 4.5 ~ 7.5 (好適には 5.5 ~ 7.5) に調節した後、酢酸エチルを用いて抽出している。

そのようにして得られたプラバスタチン類は常法に従って、上記抽出液から採取される。例えば、上記抽出液を、水、飽和食塩水等で洗浄後、水酸化ナトリウムを加え、抽出分液し、逆抽出水層としてプラバスタチン塩の水溶液を得ることができる。得られたプラバスタチン塩は、所望により結晶化することもできる。

所望により行なわれる結晶化は、一般に有機合成化学の技術において周知の方法 [例えば、Ullmann's, Encyclopedia of Industrial Chemistry, Vol. A24, 5th edition (1993), pp.437-505 に記載の方法] により以下のように行うことができ

る。

結晶化の方法としては、例えば、得られたプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の組成物に、有機溶媒及び水を加え、加温溶解し、接種することにより、結晶体としてプラバスタチンを得ることができる。

結晶化に使用される有機溶媒としては、例えば、ヘキサン、ヘプタンのような脂肪族炭化水素類；トルエン、キシレンのような芳香族炭化水素類；酢酸メチル、酢酸エチル、酢酸 n-プロピル、酢酸 n-ブチルのようなエステル類；酢酸のような有機酸類；メタノール、エタノール、n-プロパノール、イソプロパノール、n-ブタノール、イソブタノール、t-ブタノール、イソアミルアルコール、ジエチレングリコール、グリセリン、オクタノールのようなアルコール類；アセトン、メチルエチルケトンのようなケトン類；ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、ジメトキシエタン、ジエチレングリコールジメチルエーテルのようなエーテル類；ホルムアミド、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、ヘキサメチルリン酸トリアミドのようなアミド類；ジメチルスルホキシドのようなスルホキシド類；又は水と1種類以上の上記有機溶媒との混合溶媒であり、好適には、水と1種類以上の上記有機溶媒との混合溶媒であり、更に好適には、水と、アルコール類、エステル類及びケトン類から選択される1種類以上の有機溶媒との混合溶媒であり、最も好適には、水、アルコール類及びエステル類の混合溶媒である。

本発明の単離又は精製方法は、上述のように常法に従って、培養濃縮液を得た後、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、酢酸エチルではなく、

式 $\text{C}_3\text{H}_7\text{CO}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）

を有する有機溶媒を用いて抽出することを特徴とする。

上記式中、Rの定義における「炭素数3以上のアルキル基」は、例えば、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、s-ブチル、t-ブチル、ペンチル、イソペンチル、2-メチルブチル、ネオペンチル、1-エチルプロピル、ヘキシル、イソヘキシル、4-メチルペンチル、3-メチルペンチル、2-メチルペンチル、1-メチルペンチル、3, 3-ジメチルブチル、2, 2-ジメチルブチル、1, 1-ジメチルブチル、1, 2-ジメチルブチル、1, 3-ジメチルブチル、2, 3-ジメチルブチル、1-エチルブチル、2-エチルブチル基のような基であり、好適には、炭素数3乃至6個の直鎖又は分枝鎖アルキル基であり、更に好適には、炭素数3又は4個の直鎖又は分枝鎖アルキル基であり、最も好適には、n-プロピル又はn-ブチル基である。

また、本発明の単離又は精製方法は、上述のようなプラバスタチンの単離又は精製方法において、プラバスタチンの不純物を無機酸を用いて分解する工程及び／又は不純物を無機塩基を用いて分解する工程を行うことを特徴とする。

上記式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ を有する有機溶媒を用いてプラバスタチンを抽出する工程、プラバスタチンの不純物を無機酸を用いて分解する工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程から選択される2以上の工程を組み合わせで行う場合は、順不同で希望する工程を、単離又は精製方法において適宜実施することができる。そのような単離又は精製方法の具体例としては、例えば、

(a) プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程及び不純物を無機酸を用いて分解する工程を組み合わせで行うことを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法、

(b) プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程

において、式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を組み合わせることを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法、

（c） プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、不純物を無機酸を用いて分解する工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を組み合わせることを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法並びに

（d） プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程、不純物を無機酸を用いて分解する工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を組み合わせることを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法を挙げることができる。

プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の不純物を無機酸により分解する工程は、不活性溶媒の存在下又は非存在下（好適には、存在下）、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を、pH 2乃至5を付与する条件（好適には、pH 3乃至4）で行われる。

不純物の無機酸分解で使用される「無機酸」とは、通常の反応において、無機酸として用いられるものであれば特に限定はないが、例えば、臭化水素酸、塩酸、硫酸、過塩素酸、リン酸、硝酸のような無機酸を挙げることができ、好適には、リン酸又は硫酸であり、最も好適には、リン酸である。

不純物の無機酸分解における反応温度及び反応時間は、pH値にも依存するが、基本的には、反応温度が低ければ反応時間は長くする必要があり、反応温度が高ければ反応時間は短くする必要があるが、例えば、反応温度は、20℃乃至80℃（好適には、40℃乃至60℃）であり、反応時間は、1分間乃至6時間（好適には、5分間乃至20分間）である。

不純物の無機酸分解で使用される「不活性溶媒」は、通常、溶媒として使用されるものであれば特に限定はないが、例えば、メタノール、エタノール、*n*-プロパノール、イソプロパノール、*n*-ブタノール、イソブタノール、*t*-ブタノール、イソアミルアルコール、ジエチレングリコール、グリセリン、オクタノール、シクロヘキサノール、メチルセロソルブのようなアルコール類；水；又は水と上記アルコール類との混合溶媒であり、好適には、水又は水と上記アルコール類との混合溶媒であり、最も好適には、水又は水とエタノールとの混合溶媒である。

反応終了後、目的化合物であるプラバスタチンは常法に従って、反応液から採取される。例えば、酢酸エチルのような水と混和しない有機溶媒を加え、目的化合物を含む有機層を分離し、水等で洗浄して、溶剤を留去することによって得られる。更に必要ならば、活性炭を加えて脱色し、ろ過により活性炭を除去した後、水酸化ナトリウム、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシドのような塩を形成する試薬を加え、ロータリエバポレーター等により減圧下濃縮して、プラバスタチンの塩を得ることができる。

プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の不純物を無機塩基で分解する工程は、不活性溶媒の存在下又は非存在下（好適には、存在下）に、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を、pH10乃至14を付与する条件で行われる。

不純物の無機塩基分解で使用する「無機塩基」は、通常の反応において、無機塩基として使用されるものであれば特に限定はないが、例えば、炭酸リチウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウムのようなアルカリ金属炭酸塩類；炭酸水素リチウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウムのようなアルカリ金属重炭酸塩類；水素化リチウム、水素化ナトリウム、水素化カリウムのようなアルカリ金属水素化物類；水酸化リチウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムのようなアルカリ金属水酸化物類；又はリチウムメトキシド、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、カリウムトートキシドのようなアルカリ金属アルコキシド類であり、好適には、アルカリ金属水酸化物類であり、最も好適には、水酸化ナトリウムである。

不純物の無機塩基分解における反応温度及び反応時間は、pH値にも依存するが、基本的には、反応温度が低ければ反応時間は長くする必要があり、反応温度が高ければ反応時間は短くする必要があるが、例えば、反応温度は、 -10°C 乃至 110°C であり、反応時間は、15分間乃至200時間である。

不純物の無機塩基分解で使用する「不活性溶媒」は、本反応に不活性なものであれば特に限定はないが、不純物の無機酸分解で使用する不活性溶媒と同様のものを挙げることができる。

また、菌により生成されたプラバスタチン類を含む培養濃縮液に含まれる不純物を無機塩基で分解する場合の好適な反応条件は、pHは、11乃至14（より好適には、11乃至12）であり、反応温度は、 40°C 乃至 110°C （より好適には、 95°C 乃至 105°C ）であり、反応時間は、2時間乃至24時間（より好適には、2時間乃至5時間）である。

一方、菌により生成されたプラバスタチン類を含む培養濃縮液から有機溶媒を用

いて酸性（好適には、pH 4 乃至 6）で一旦抽出分液した後、アルカリ性（好適には、pH 8 乃至 9）として逆抽出した水溶液に含まれる不純物を無機塩基で分解する場合の好適な反応条件は、pH は、1.3 乃至 1.4（より好適には、1.3.5 乃至 1.4）であり、反応温度は、 -10°C 乃至 50°C （より好適には、 -5°C 乃至 5°C ）であり、反応時間は、2 時間乃至 180 時間（より好適には、20 時間乃至 50 時間であり、最も好適には、25 時間乃至 35 時間）である。

反応終了後、目的化合物であるプラバスタチンは常法に従って、上記反応液から採取される。例えば、硫酸水溶液のような酸水溶液を加え、酢酸エチルのような水と混和しない有機溶媒を加え、目的化合物を含む有機層を分離し、水等で洗浄して、溶剤を留去することによって得られる。更に必要ならば、活性炭を加えて脱色し、ろ過により活性炭を除去した後、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、水酸化ナトリウムのような塩を形成する試薬を加え、ロータリエバポレーター等により減圧下濃縮して、プラバスタチンの塩を得ることができる。

更に、本発明の単離又は精製方法は、得られたプラバスタチン塩を結晶化する工程を含んでいてもよく、結晶化する方法は、上述のように常法に従って行うことができる。

発明の効果

本発明の単離又は精製方法は、カラムクロマトグラフィーのような煩雑で、工業的に不利な方法を使用することなく、高純度のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩（好適には、純度が 99.5 % 以上）を得る方法である。

また、本発明の単離又は精製方法により上記化合物（I）がプラバスタチンに対して 0.1 % 以下の量まで除去される。

産業上の利用可能性

本発明のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を、医薬として使用する場合には、それ自体或は適宜の薬理学的に許容される、賦形剤、希釈剤等と混合し、例えば、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤若しくはシロップ剤等による経口的又は注射剤若しくは坐剤等による非経口的に投与することができる。

なお、本発明の精製度の分析は、高性能液体クロマトグラフィー（H P L C）を用いて行うことができる。H P L Cの測定条件は、

A：移動相：20%アセトニトリル、30%メタノール、50%TEAP 緩衝液
(0.3%Triethylamine- H_3PO_4 (pH3.2))；

検出波長：UV 2 3 8 nm；

カラム：Waters 社製逆相カラム Symmetry C18 3.5 μm , ϕ 4.6mm $\times$ 15cm；

流量：1ml/min、

B：移動相：メタノール：水：酢酸(100)：トリエチルアミン混液(600:400:1:1)；

検出波長：UV 2 3 8 nm；

カラム：エルマ光学製カラム ERC - ODS - 1262 ϕ 6mm $\times$ 10cm；

カラム温度：30℃；

流量：1ml/min、又は

C：移動相：メタノール：水：酢酸(100)：トリエチルアミン混液(450:550:1:1)；

検出波長：UV 2 3 8 nm；

カラム：B E C K M A N 社製カラム U L T R A S P H E R E ODS ϕ 4. 6mm $\times$ 15cm 5 μm ；

カラム温度：25℃；

流量：1.3ml/min

である。

以下に、実施例を示し、本発明を更に詳細に説明するが、本発明の範囲はこれらに限定されるものではない。

実施例 1 培養濃縮液より酢酸 *n*-ブチルを用いた抽出

(1 a) 培養液の濃縮

変換培養を終えたプラバスタチン培養液 10 L を水酸化ナトリウムで pH12 としたのち、50℃に加温し 30 分間攪拌した。培養液を室温に冷却後、ろ過助剤として 500 g のセライト 545 (商標) (セライト コーポレーション社製) を加えてろ過した。分離した菌体に水を 3 L 加え、再度懸濁させた後ろ過した。得られた 2 つの濃縮液を合併し 10 L の培養濃縮液を得た。

(1 b) 酢酸 *n*-ブチルを用いた抽出

得られた培養濃縮液を 25%硫酸で pH5.7 とした後、5 L の酢酸 *n*-ブチルを加え攪拌してプラバスタチンを抽出した。分離した水層を 75%硫酸で pH5.7 とした後、5 L の酢酸 *n*-ブチルを加えて攪拌し抽出した。得られた 2 つの酢酸 *n*-ブチル層を合併し、これに 2 L の飽和食塩水を加えて攪拌して洗浄した。上層を分離して得た 8 L の抽出液に 1 L の水を加え、攪拌しながら 25%水酸化ナトリウムを加えて pH9.5 とした後、水層を分離してプラバスタチンのナトリウム塩水溶液 1 L を得た。H P L C (条件 A) によるプラバスタチンナトリウムの純度は、90%以上であった。本実施例の結果より、酢酸 *n*-ブチルを用いることにより、高純度のプラバスタチンナトリウムが得られていることが明らかである。

実施例 2 培養濃縮液より酢酸 *n*-プロピルを用いた抽出

酢酸 *n*-ブチルのかわりに酢酸 *n*-プロピルを用いて、実施例 1 と同様に処理をし、プラバスタチンのナトリウム塩水溶液を得た。H P L C (条件 A) によるプラバスタチンナトリウムの純度は、85%以上であった。本実施例の結果より、酢酸 *n*-ブ

ロピルを用いることにより、高純度のプラバスタチンナトリウムが得られていることが明らかである。

実施例 3 リン酸による不純物の分解

実施例 1 で得られた水溶液 [H P L C (条件 A) による化合物 (I) / プラバスタチンナトリウムは 9.3%] に 350 ml のエタノールを加え、リン酸で pH3.0 に調整した後、50℃で 10 分間攪拌した。H P L C (条件 A) による化合物 (I) / プラバスタチンナトリウムは 0.9%であった。本実施例の結果より、リン酸を用いることにより、化合物 (I) が顕著に除去されていることが明らかである。

実施例 4 硫酸による不純物の分解

リン酸のかわりに硫酸を用いて、実施例 3 と同様に処理をした。H P L C (条件 A) による化合物 (I) / プラバスタチンナトリウムは 3%であった。本実施例の結果より、硫酸を用いることにより、化合物 (I) が顕著に除去されていることが明らかである。

実施例 5 水酸化ナトリウムによる不純物の分解、抽出及び結晶化

(5 a) 水酸化ナトリウムによる不純物の分解

プラバスタチンの培養濃縮液 500ml [H P L C (条件 B) による化合物 (I) / プラバスタチンナトリウムは 12.1%] を 100℃まで加熱した後、2 当量分の水酸化ナトリウムを水溶液として添加した (pH11.3)。100℃で 3 時間攪拌後冷却し、室温にて 20%硫酸水溶液で pH8.5 に調整し、水酸化ナトリウムによるアルカリ処理液を得た(プラバスタチンナトリウムの含有量:56.6g)。H P L C (条件 B) による化合物 (I) / プラバスタチンナトリウムは 0.41%であった。本実施例の結果より、水酸化ナトリウムを用いることにより、化合物 (I) が顕著に除去されていることが明らかである。

(5 b) 水酸化ナトリウムによる不純物の分解後の抽出及び結晶化

(5 a) で得られた水酸化ナトリウムによるアルカリ処理液 260g(プラバスタチンナトリウムの含有量:19g)に酢酸 n-ブチルを用いて、実施例 (1 b) と同様にして水層を分離してプラバスタチンのナトリウム塩水溶液を得た。

得られたプラバスタチンのナトリウム塩水溶液を約 1/2 量まで減圧濃縮した後、水 77ml を加え再び減圧濃縮した。濃縮液をプラバスタチンのフリー体に対して 6 倍量となるように水で液量を調整して 0~5℃まで冷却し、20%硫酸水溶液を滴下し pH4.6 でプラバスタチンのフリー体結晶を析出し、1 晩攪拌した後ろ過した。結晶を冷希硫酸(pH4)で洗浄し、プラバスタチンのフリー体湿品結晶を得た。

プラバスタチンのフリー体湿品に酢酸エチル 63ml を加え室温で溶解した後、室温で攪拌しながら 20%硫酸水溶液で pH4.5 に調整し、攪拌抽出分液後酢酸エチル層に水 21ml を加え抽出洗浄後分液した。抽出洗浄した酢酸エチル層にエタノール 25ml を加えた後、室温で攪拌しながら 6%水酸化ナトリウム・エタノール溶液で pH8.7 に調整しナトリウム塩化液を得た。この後、常法に従って結晶化し、プラバスタチンナトリウム塩の結晶 8.95g を得た。この方法で得られたプラバスタチンナトリウム塩の HPLC (条件 C) による純度は 99.67%であり、化合物 (I) / プラバスタチンナトリウムは、0.1 重量%であった。

本実施例の結果より、水酸化ナトリウムによる不純物の分解工程及び酢酸 n-ブチルを用いた抽出工程によって、化合物 (I) が顕著に除去されていることが明らかである。

実施例 6 酢酸 n-ブチルによる抽出、リン酸による不純物の分解、及び結晶化

実施例 3 で得られた酸処理液に、25%水酸化ナトリウムを加えて pH12 としさらに 50℃で 30 分攪拌を続けた。溶液を減圧下ロータリーエバポレーターで 1 L まで濃縮し、プラバスタチンナトリウム塩を含有する濃縮液を得た。得られた濃縮液を硫酸で pH4.0 に調整した後、プラバスタチンを 0.5 L の酢酸エチルで抽出し、抽

出液を水 0.2 L で洗浄した。抽出液に 5 g の活性炭を加え 10 分間放置した後、ろ紙でろ過し、ろ液を 25%水酸化ナトリウムで pH8.7 に調整したのち、減圧下ロータリーエバポレーターで乾固して 50 g のプラバスタチンナトリウム塩を得た。常法に従って結晶化し、34 g のプラバスタチンナトリウム塩の粗結晶を得た。粗結晶を同じ組成の溶媒を用いて再結晶してプラバスタチンナトリウム塩の純粋な結晶 32 g を得た。

この方法で得られたプラバスタチンナトリウム塩の HPLC（条件 A）による純度は 99.7%以上であり、化合物（I）／プラバスタチンナトリウムは、0.1 重量%であった。

本実施例より、酢酸 n-ブチルによる抽出及びリン酸による不純物の分解工程によって、化合物（I）が 0.1 重量%以下まで除去され、高純度のプラバスタチンナトリウムが得られたことが明らかである。

更に、酢酸 n-ブチルによる抽出工程及びリン酸による不純物の分解工程に、水酸化ナトリウムによる不純物の分解工程を加えることにより、化合物（I）が更に除去され、高純度のプラバスタチンナトリウムが得られたことが明らかである。

実施例 7 水酸化ナトリウムによる不純物の分解、硫酸による分解及び結晶化

実施例（5 a）で得られた水酸化ナトリウムによるアルカリ処理液から、酢酸エチルを用いて、実施例（5 b）と同様にして抽出し、プラバスタチンのナトリウム塩水溶液を得た。得られた水溶液に 350 ml のエタノールを加え、硫酸で pH1.5 に調整した後、20℃で 1 時間攪拌した。常法に従って結晶化し、プラバスタチンナトリウム塩の純粋な結晶を得た。H P L C（条件 C）による化合物（I）／プラバスタチンナトリウムは、0.1 重量%以下であった。

本実施例より、硫酸による不純物の分解工程及び水酸化ナトリウムによる不純物の分解工程によって、化合物（I）が 0.1 重量%以下まで除去され、高純度のプラバスタチンナトリウムが得られた。

比較例 1 酢酸エチルによるプラバスタチンの抽出

酢酸 n-ブチルのかわりに酢酸エチルを用いて、実施例 (1 a) と同様に処理をし、プラバスタチンのナトリウム塩水溶液を得た。H P L C (条件 A) によるプラバスタチンナトリウムの純度は、約 70%であった。

培養濃縮液から、プラバスタチン類を抽出する有機溶媒が、酢酸エチル、酢酸 n-プロピル、及び酢酸 n-ブチルである場合の、化合物 (I) / プラバスタチンナトリウム (%) は、以下のとおりである。下記結果より、酢酸エチルで抽出するよりも、酢酸 n-プロピル又は酢酸 n-ブチルにより抽出することによって、高純度のプラバスタチンが得られていることが明らかである。

【表 1】

	実施例 (1 a)	実施例 2	比較例 1
抽出溶媒	酢酸 n-ブチル	酢酸 n-プロピル	酢酸エチル
プラバスタチンの純度 (%)	> 9 0	> 8 5	約 7 0

請求の範囲

1. プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、式 $\text{C H}_3\text{C O}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程を行うことを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。
2. プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、不純物を無機酸を用いて分解する工程を行うことを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。
3. プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、不純物を無機塩基を用いて分解する工程を行うことを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。
4. Rが、炭素数3又は4個の直鎖又は分枝鎖アルキル基である、請求項1に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。
5. Rが、n-プロピル基又はn-ブチル基である、請求項1に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。
6. 無機酸がリン酸である、請求項2に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。
7. 無機酸を用いて分解する工程のpHが、2乃至5である、請求項2又は請求項6に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方

法。

8. プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程及び不純物を無機酸を用いて分解する工程を組み合わせて行うことを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。

9. プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、不純物を無機酸を用いて分解する工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を組み合わせて行うことを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。

10. プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程、不純物を無機酸を用いて分解する工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を組み合わせて行うことを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。

11. Rが、炭素数3又は4個の直鎖又は分枝鎖アルキル基である、請求項8又は請求項10に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。

12. Rが、n-プロピル基又はn-ブチル基である、請求項8又は請求項10に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。

13. 無機酸がリン酸である、請求項8乃至請求項12から選択されるいずれか一項に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。

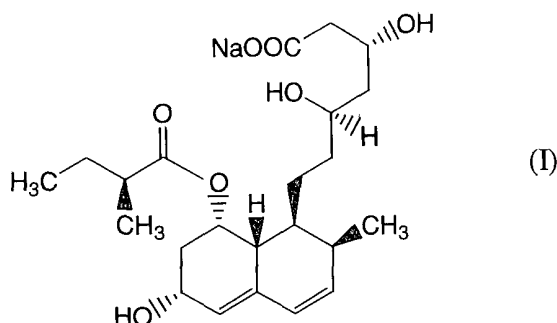
14. 無機酸を用いて分解する工程のpHが、2乃至5である、請求項8乃至請求項13から選択されるいずれか一項に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。

15. プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩を単離又は精製する工程において、式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を組み合わせることを特徴とする、プラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。

16. Rが、炭素数3又は4個の直鎖又は分枝鎖アルキル基である、請求項15に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。

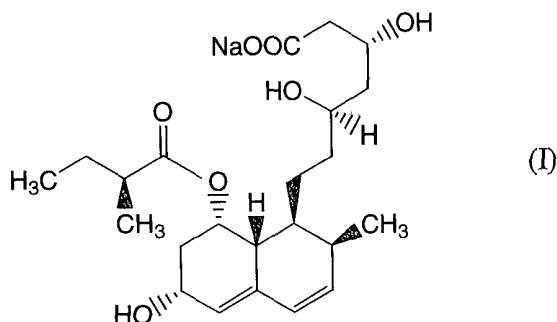
17. Rが、n-プロピル基又はn-ブチル基である、請求項15に記載のプラバスタチン若しくはその薬理上許容される塩の単離又は精製方法。

18. プラバスタチンナトリウムを単離又は精製する工程において、式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程及び不純物を無機酸を用いて分解する工程を組み合わせるにより、下記一般式（I）



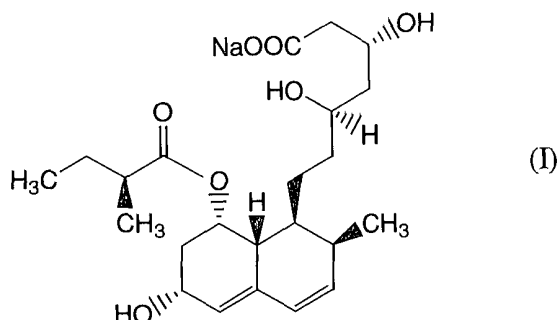
を有する化合物を、プラバスタチンナトリウムに対して、0.1重量%以下の量まで除去することを特徴とする、プラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法。

19. プラバスタチンナトリウムを単離又は精製する工程において、不純物を無機酸を用いて分解する工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を組み合わせるにより、下記一般式 (I)



を有する化合物を、プラバスタチンナトリウムに対して、0.1重量%以下の量まで除去することを特徴とする、プラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法。

20. プラバスタチンナトリウムを単離又は精製する工程において、式 $\text{C}_3\text{H}_7\text{CO}_2\text{R}$ (上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。) を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程、不純物を無機酸を用いて分解する工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を組み合わせるにより、下記一般式 (I)



を有する化合物を、プラバスタチンナトリウムに対して、0.1重量%以下の量まで除去することを特徴とする、プラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法。

21. Rが、炭素数3又は4個の直鎖又は分枝鎖アルキル基である、請求項18又は請求項20に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法。

22. Rが、n-プロピル基又はn-ブチル基である、請求項18又は請求項20に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法。

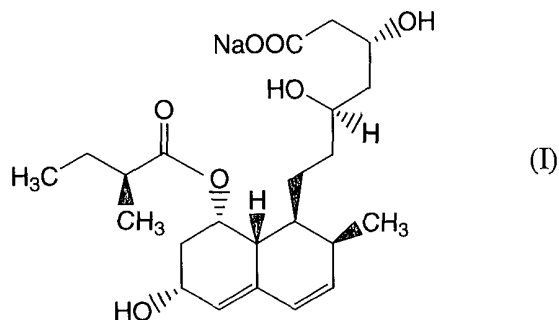
23. 無機酸がリン酸である、請求項18乃至請求項22から選択されるいずれか一項に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法。

24. 無機酸を用いて分解する工程のpHが、2乃至5である、請求項18乃至請求項23から選択されるいずれか一項に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法。

25. プラバスタチンナトリウムの純度が、99.5%以上である、請求項18乃至請求項24から選択されるいずれか一項に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法。

26. プラバスタチンナトリウムを単離又は精製する工程において、

式 $\text{C H}_3\text{C O}_2\text{R}$ （上記式中、Rは炭素数3以上のアルキル基を示す。）を有する有機溶媒を用いてプラバスタチン類を抽出する工程及び不純物を無機塩基を用いて分解する工程を組み合わせる行うことにより、下記一般式（I）



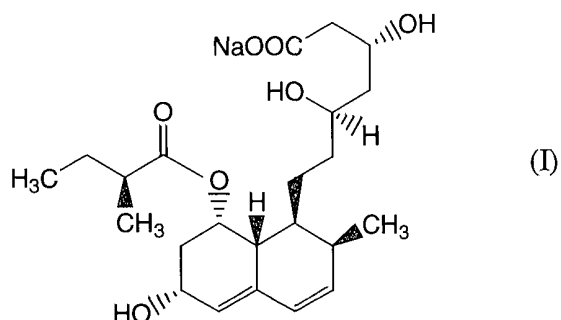
を有する化合物を、プラバスタチンナトリウムに対して、0.1重量%以下の量まで除去することを特徴とする、プラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法。

27. Rが、炭素数3又は4個の直鎖又は分枝鎖アルキル基である、請求項26に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法。

28. Rが、n-プロピル基又はn-ブチル基である、請求項26に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法。

29. プラバスタチンナトリウムの純度が、99.5%以上である、請求項26乃至請求項28から選択されるいずれか一項に記載のプラバスタチンナトリウムの単離又は精製方法。

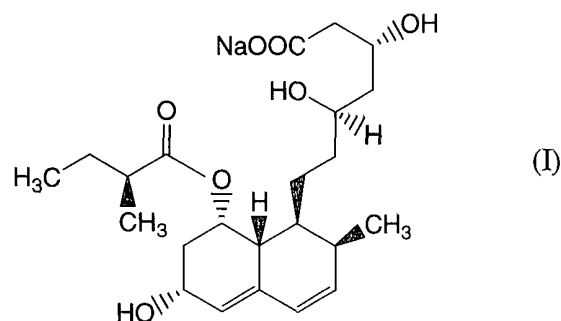
30. 下記一般式（I）



を有する化合物を、プラバスタチンナトリウムに対して、0.1重量%以下の量で含有することを特徴とする、工業的に生産されたプラバスタチンナトリウムを含有する組成物。

31. プラバスタチンナトリウムの純度が、99.5%以上である、請求項30に記載の工業的に生産されたプラバスタチンナトリウムを含有する組成物。

32. 請求項8乃至請求項17から選択されるいずれか一項に記載の単離又は精製方法により得られ、下記一般式(I)



を有する化合物を、プラバスタチンナトリウムに対して、0.1重量%以下の量で含有することを特徴とする、プラバスタチンナトリウムを含有する組成物。

33. プラバスタチンナトリウムの純度が、99.5%以上である、請求項32に記載のプラバスタチンナトリウムを含有する組成物。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/09045

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ C07C67/58, C07C69/33, C07C67/62, C12P7/64

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.⁷ C07C67/58, C07C69/33, C07C67/62, C12P7/64

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)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	EP 605230 A1 (Sankyo Company, Limited), 06 July, 1994 (06.07.94), especially, Claims 1, 7; page 27, chemical compound VI, page 52, Method 2; pages 132 to 133, (2) Isolation & JP 6-247894 A & US 5451688 A	2-3, 6-7, 9, 13-14, 19, 23-25, 30-33 1, 4-5, 8, 10-12, 15-18 20-22, 26-29
X A	GB 2077264 A (Sankyo Company, Limited), 16 December, 1981 (16.12.81), especially, Claims & FR 2483912 A1 & JP 57-2240 A & US 4346227 A	30-31 1-29, 32-33
X A	GB 2111052 A (Sankyo Company Limited), 29 June, 1983 (29.06.83), especially, chemical compound I & FR 2516935 A1 & JP 58-89191 A & US 4537859 A	30-31 1-29, 32-33

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search
05 December, 2001 (05.12.01)

Date of mailing of the international search report
18 December, 2001 (18.12.01)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/09045

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	WO 92/16276 A1 (Merck & Co., Inc.), 01 October, 1992 (01.10.92), especially, example 8 & EP 578723 A1 & JP 6-506210 A & US 5202029 A	30-31 1-29, 32-33

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/09045

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

(See extra sheet.)

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/09045

Continuation of Box No. II of continuation of first sheet (1)

Although claims 1 to 33 each pertains to plavastatin, this compound and a method of purifying it had been publicly known, as approved by the applicant. Thus, it cannot be regarded as a "special technical feature" under Rule 13.2 of the Regulations under the PCT.

The "technical feature" of claims 1, 4, 5, 8, 10 to 18, 20 to 29, 32 and 33 resides in a method of isolating and purifying plavastatin involving the step of extracting it by using an organic solvent represented by the formula $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$.

The "technical feature" of claims 2, 6, 7, 9 and 19 resides in a method of isolating and purifying plavastatin involving the step of decomposing impurities by using an inorganic acid.

The "technical feature" of claim 3 resides in a method of isolating and purifying plavastatin involving the step of decomposing impurities by using an inorganic base.

The "technical feature" of claims 30 and 31 resides in compositions containing plavastatin sodium in which the content of the compounds represented by the general formula (I) is 0.1% by weight or less.

Such being the case, it does not appear that there is a technical relationship among these groups of inventions involving one or more of the same or corresponding special technical features. Thus, these inventions are not considered as relating to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ⁷ C07C67/58, C07C69/33, C07C67/62, C12P7/64		
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 ⁷ C07C67/58, C07C69/33, C07C67/62, C12P7/64		
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		
国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)		
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
X A	EP 605230 A1 (SANKYO COMPANY LIMITED) 6.7月.1994 (06.07.94), 特にClaim 1, 7, 第27頁化合物(VI), 第52頁Method 2, 第132~133頁(2) Isolation & JP 6-247894 A & US 5451688 A	2-3, 6-7, 9, 13-14, 19, 23-25, 30-33 1, 4-5, 8, 10-12, 15-18 20-22, 26-29
X A	GB 2077264 A (Sankyo Company, Limited) 16.12月.1981 (16.12.81), 特にClaims & FR 2483912 A1 & JP 57-2240 A & US 4346227 A	30-31 1-29, 32-33
☒ 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」 国際出願日前の出願または特許であるが、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	
05.12.01	18.12.01	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 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) 伊藤 幸司 印	4H 9450
	電話番号 03-3581-1101	内線 3443

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
X A	GB 2111052 A (Sankyo Company Limited) 29.6月.1983 (29.06.83), 特に化合物(I) & FR 2516935 A1 & JP 58-89191 A & US 4537859 A	30-31 1-29, 32-33
X A	WO 92/16276 A1 (MERCK & CO., INC.) 1.10月.1992 (01.10.92), 特にEXAMPLE 8 & EP 578723 A1 & JP 6-506210 A & US 5202029 A	30-31 1-29, 32-33

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1～33はいずれもプラバスタチンに関連するものであるが、当該化合物及びその精製方法は出願人も認めるように公知であって、それをPCT規則13.2にいう「特別な技術的特徴」とすることはできない。

請求の範囲1, 4-5, 8, 10-18, 20-29, 32-33の「技術的特徴」は、式 $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{R}$ を有する有機溶媒を用いて抽出する工程を含むプラバスタチンを単離・精製する方法である。

請求の範囲2, 6-7, 9, 19の「技術的特徴」は、不純物を無機酸を用いて分解することによるプラバスタチンを単離・精製する方法である。

請求の範囲3の「技術的特徴」は、不純物を無機塩基を用いて分解することによるプラバスタチンを単離・精製する方法である。

1. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☒ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

第II欄の続き

請求の範囲30-31の「技術的特徴」は、一般式(I)で表される化合物含有量が0.1重量%以下の量であるプラバスタチンナトリウム含有組成物である。

よって、これらの発明は、一又は二以上の同一又は対応する特別な技術的特徴を含む技術的關係にないから、単一の一般的発明概念を形成するように連関しているものとは認められない。