

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2003年3月6日 (06.03.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/018615 A1

(51) 国際特許分類: C07K 1/02, 7/06

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/08694

(22) 国際出願日: 2002年8月28日 (28.08.2002)

(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2001-263320 2001年8月31日 (31.08.2001) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 藤沢薬品工業株式会社 (FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒541-8514 大阪府 大阪市 中央区道修町3丁目4番7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): 河合 一美 (KAWAI, Kazumi) [JP/JP]; 〒541-8514 大阪府 大阪市 中央区道修町3丁目4番7号 藤沢薬品工業株式会社内 Osaka (JP). 伊藤 勝彦 (ITO, Katsuhiko) [JP/JP]; 〒541-8514 大阪府 大阪市 中央区道修町3丁目4番7号 藤沢薬品工業株式会社内 Osaka (JP). 檜垣 知

臣 (HIGAKI, Tomoji) [JP/JP]; 〒541-8514 大阪府 大阪市 中央区道修町3丁目4番7号 藤沢薬品工業株式会社内 Osaka (JP). 松田 充功 (MATSUDA, Mitsunori) [JP/JP]; 〒541-8514 大阪府 大阪市 中央区道修町3丁目4番7号 藤沢薬品工業株式会社内 Osaka (JP).

(74) 代理人: 田伏 英治 (TABUSHI, Eiji); 〒532-8514 大阪府 大阪市 淀川区加島2丁目1番6号 藤沢薬品工業株式会社 大阪工場内 Osaka (JP).

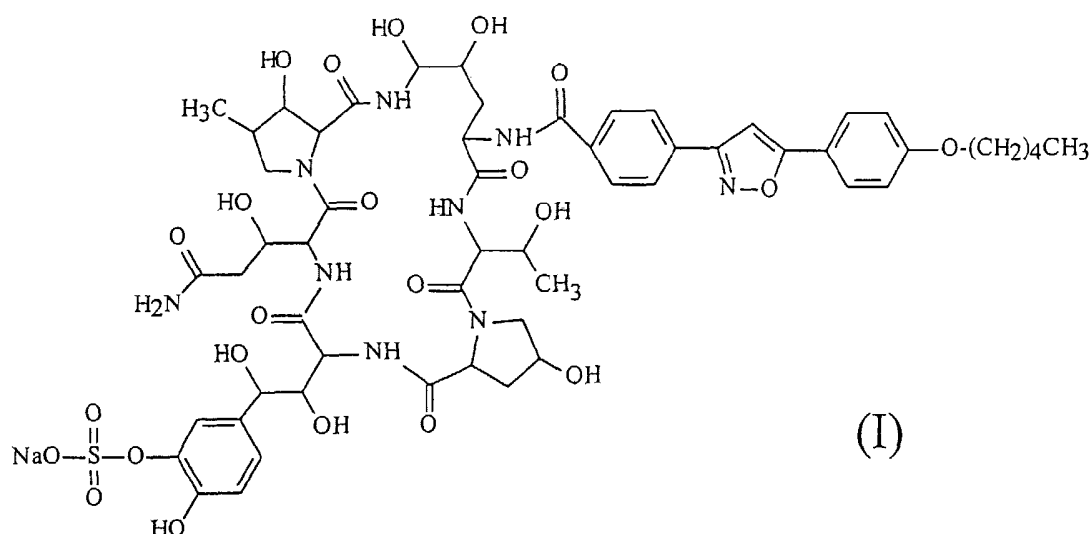
(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[続葉有]

(54) Title: NOVEL CRYSTAL OF CYCLIC LIPOPEPTIDE COMPOUND

(54) 発明の名称: 環状リポペプチド化合物の新規結晶



(57) Abstract: Crystals of the cyclic lipopeptide compound (I) represented by the following chemical structural (I) (I) which can be obtained by dissolving the cyclic lipopeptide compound (I) in a hydrous alcohol or hydrous acetone and then adding ethyl acetate, dichloromethane, acetone, acetonitrile, or a mixture of two or more thereof to the solution with cooling or heating.

[続葉有]



WO 03/018615 A1

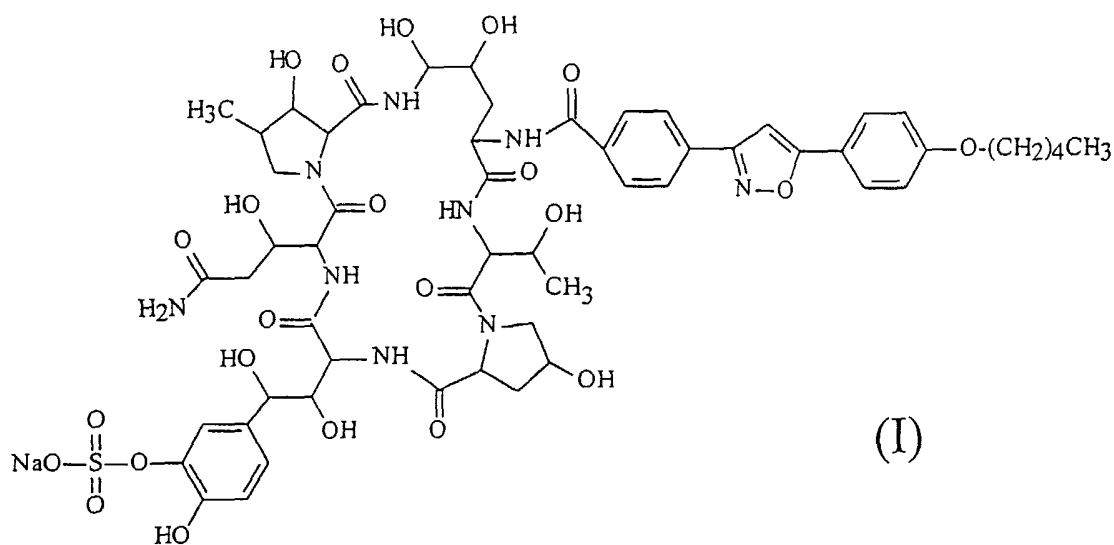


添付公開書類：
— 国際調査報告書

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。

(57) 要約:

下記の化学構造式（I）：



で示される環状リポペプチド化合物（I）を含水アルコールまたは含水アセトンに溶解させ、冷却下ないし加温下で酢酸エチル、ジクロロメタン、アセトンまたはアセトニトリルあるいはそれらの混合溶液を後添加することにより得ることができる環状リポペプチド化合物（I）の結晶。

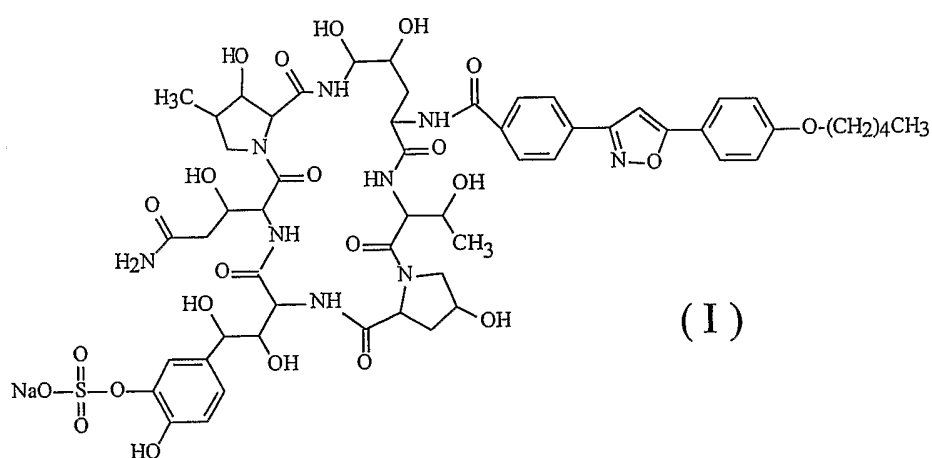
明細書

環状リポペプチド化合物の新規結晶

5

技術分野

本発明は、環状リポペプチド化合物の新規結晶に関するものである。この発明の環状リポペプチド化合物（I）は、下記の構造式：



10

で示される。この化合物は、抗微生物活性（特に抗真菌活性）および β -1, 3-グルカンシンターゼ阻害作用を有し、ニューモシスティス・カリニ（*Pneumocystis carinii*）感染症、例えばカリニ肺炎を含む各種感染症の予防および治療に有用である。

15

背景技術

環状リポペプチド化合物（I）は公知の化合物であり、例えばW O 9 6 / 1 1 2 1 0 号公報中に実施例 2 5 の化合物として記載されている。しかしながら、該公報中の実施例 2 5 に記載された方法によって得られる化合物（I）は、無晶形の化合物であった。その後、鋭意検討の結果、本発明の発明者らは化合物（I）を特別な結

晶型を有するものとして得ることに成功し、本発明を完成した〔以下、この特別の結晶型を有する環状リポペプチド化合物（I）を化合物（I）のB 8 2型結晶と呼称する〕。

発明の開示

5 化合物（I）のB 8 2型結晶の物理化学的特性

本発明により得られる化合物（I）のB 8 2型結晶の物理化学的特性を以下に説明する。

1）結晶形態

針状結晶

10 2）粉末X線回折パターン

化合物（I）のB 8 2型結晶は粉末X線回折パターンにおいて以下の表に示される回折角〔 2θ （°）〕にその特徴的なピークを示す。

回折角（°）	回折角（°）
4.6° 付近	19.2° 付近
5.4° 付近	19.6° 付近
6.4° 付近	20.2° 付近
7.6° 付近	20.7° 付近
9.0° 付近	21.3° 付近
9.8° 付近	22.2° 付近
11.8° 付近	22.7° 付近
12.6° 付近	23.3° 付近
13.9° 付近	24.0° 付近
15.1° 付近	24.5° 付近
15.9° 付近	25.3° 付近
16.9° 付近	26.2° 付近
17.9° 付近	26.7° 付近

第1図として、後記の実施例1で得られた化合物(I)のB82型結晶の粉末X線回折パターンを示す。

ただし、この回折パターンはあくまで参考として挙げられたものであり、化合物(I)の結晶であってその粉末X線回折パターンが本質的にこの回折パターンと同じであるものはいかなるものも、化合物(I)のB82型結晶と同定されるものである。

3) 赤外吸収スペクトル

第2図として、後記の実施例1で得られた化合物(I)のB82型結晶の赤外吸収スペクトルを示す。

ただし、このスペクトルはあくまで参考として挙げられたものであり、化合物(I)の結晶であってその赤外吸収スペクトルがこのスペクトルと本質的に同じものはいかなるものも、化合物(I)のB82型結晶と同定されるものである。

15 化合物(I)のB82型結晶の製造法

以下に、本発明により得られる化合物(I)のB82型結晶の製造法を詳細に説明する。

化合物(I)のB82型結晶は、化合物(I)を含水アルコールまたは含水アセトンに溶解させ、冷却下ないし加温下で、酢酸エチル、ジクロロメタン、アセトンまたはアセトニトリルあるいはそれらの混合溶液を後添加して、冷却下ないし加温下で結晶を析出させることにより得ることができる。

化合物(I)を含む溶液の好ましい例としては、例えば、化合物(I)の含水メタノール溶液、含水エタノール溶液、含水イソプロパノール溶液および含水ブタノール溶液が挙げられる。

また、化合物(I)のB82型結晶は、化合物(I)を含水アルコールに溶解させ、常温ないし加温下（好ましくは、40℃～4

5℃)で、酢酸エチル、ジクロロメタン、アセトンまたはアセトニトリルあるいはそれらの混合溶液を後添加して、ゆっくりと攪拌を続け、次いで、これを冷却(好ましくは、10℃～5℃)し、結晶を析出させることによって得ることができる。

- 5 化合物(I)のB82型結晶を析出させる場合には、溶液を飽和状態をわずかに越えた状態に保つのが好ましい。

以上の製法により得られる化合物(I)のB82型結晶は、常法により濾取、乾燥される。

- 10 本発明で使用する無晶型化合物(I)は、前述のWO96/11210号公報に記載された方法により製造することができる。

産業上の利用可能性

- 15 化合物(I)のB82型結晶は、無晶形の化合物(I)よりも純度が非常に高く、安定性に優れているため、化合物(I)のB82型結晶は、医薬として適しており、また製剤上や保存上の取り扱いが容易である。

以上述べたように、化合物(I)のB82型結晶は、きわめてすぐれた利点を有しており、無晶形の化合物(I)に比べて非常に優れているものである。

発明を実施するための最良の形態

- 20 化合物(I)のB82型結晶のそのような利点を示すために、化合物(I)のB82型結晶と前述のWO96/11210号公報中に記載された無晶形の化合物(I)との純度に関する比較実験結果を以下に述べる。

試験サンプル

- 25 試験サンプル1: WO96/11210号公報中の実施例25で得られる無晶形化合物(I)

試験サンプルA: 本発明の化合物(I)のB82型結晶

試験方法

高速液体クロマトグラフィー（H P L C）によって、不純物測定した。

H P L C 条件

- 5 カラム： Puresil C18 120 Å
 内径4.6mm、長さ25cm（粒子径5 μ m）
 移動相： pH2.5過塩素酸緩衝液：アセトニトリル混液（4：3）
 カラム温度： 40℃
- 10 波長： 210nm
 流速： 0.5ml/min
 サンプル濃度： 0.5mg/mL
 注入量： 10 μ l

各試験サンプルの不純物含有率

不純物(Rf値)	純度(面積百分率%)		不純物除去率 (%)	実施例 No.
	試験サンプル1	試験サンプルA		
1 (0.67)	0.015	0	100	2
	0.07	0.02	71	3
2 (0.76)	0.451	0.094	79	1
	0.21	0.07	67	3
3 (1.07)	0.184	0.009	95	2
	0.24	0	100	3
4 (1.11)	0.25	0.047	81	1
	0.359	0.14	61	2

15 高脂溶性物質測定 H P L C 条件

カラム： Puresil C18 120 Å

内径4.6mm、長さ25cm（粒子径5 μ m）

移動相： pH2.5過塩素酸緩衝液：アセトニトリル混液（7：1
3）

カラム温度： 40℃

5 波長： 210nm

流速： 1.4ml/min

サンプル濃度： 1mg/mL

注入量： 20 μ l

各試験サンプルの不純物含有率（高脂溶性物質）

不純物	純度（面積百分率％）		不純物除去率（％）	実施例 No.
	試験サンプル1	試験サンプルA		
1	1.00	0.26	74	1
	0.76	0.11	86	2
2	0.36	0.13	64	1
	0.40	0.09	78	2
3	0.16	0	100	2
4	0.05	0	100	2

10 試験結果から明らかなように、試験サンプルAは、試験サンプル1に比べて、不純物含有の割合が少ないことがわかる。

以上に述べたように、化合物（I）のB82型結晶と、WO96/11210号公報中に記載された無晶形の化合物（I）との間には、その純度に大きな違いが見られた。つまり、本発明の化合物

15 （I）のB82型結晶は、該特許公報中に記載された無晶形の化合物（I）に比べてきわめて優れたものであることが明らかとなったのである。

実施例

実施例 1

化合物（I）（無晶形）0.5 gを、70% メタノール水を用いて、5
0 mg/mL 濃度に溶解した。化合物（I）を溶解したメタノール水溶
液に、酢酸エチルを、化合物（I）の濃度が8 mg/mLとなるように
添加（一次添加後、20 mg/mL 濃度とし、一昼夜攪拌熟成し、その
後、酢酸エチルを二次添加し、最終濃度を8 mg/mLとした。）し
た。総量添加終了後、分離・濾取により化合物（I）のB 8 2型結
10 晶を得た（0.5 g）。本実施例は、常温（25℃）にて実施された。

第1図として、このB 8 2型結晶の粉末X線回折パターンを示す。
また、第2図として、このB 8 2型結晶の赤外吸収スペクトル（K
B r 法）を示す。

以下に、このB 8 2型結晶の粉末X線回折パターンにおけるピー
15 クを示す。測定条件は次の通りである。

対陰極：C u、管電圧：4 0 k v、管電流：3 0 m A、検出器：比
例計数管

回折角 (°)	回折角 (°)
4.6° 付近	19.2° 付近
5.5° 付近	19.6° 付近
6.4° 付近	20.2° 付近
7.6° 付近	20.7° 付近
9.0° 付近	21.3° 付近
9.8° 付近	22.2° 付近
11.8° 付近	22.7° 付近
12.6° 付近	23.3° 付近
13.9° 付近	24.0° 付近
15.1° 付近	24.5° 付近
15.9° 付近	25.3° 付近
16.8° 付近	26.2° 付近
17.9° 付近	26.7° 付近

実施例 2

化合物 (I) (無晶形) 0.2 gを、80% エタノール水を用いて、50 mg/mL 濃度に溶解した。化合物 (I) を溶解したエタノール水溶液に、酢酸エチルを、化合物 (I) の濃度が17 mg/mLとなるように添加し、一昼夜攪拌熟成し、分離・濾取により化合物 (I) のB 8 2 型結晶を得た (0.18g)。本実施例は常温 (25℃) にて実施された。

実施例 3

10 化合物 (I) (無晶形) 3.2 gを、75% メタノール水を用いて、約40 mg/mL 濃度に溶解した。化合物 (I) を溶解したメタノール水溶液に、化合物 (I) の濃度が約85% となるようにメタノールを添加した。その後、5℃まで冷却し、5℃に保持した状態で、更に酢

酸エチルを、化合物（I）の濃度が約25mg/mL となるように添加（一次添加）し、その後、別途用意していた酢酸エチル/アセトン 1：1 混合溶液を、化合物（I）の濃度が約3mg/mL となるように時間をかけて二次添加した。総量添加終了後、分離・濾取により化合物（I）の B 8 2 型結晶を得た。（2.2 g）

実施例 4

化合物（I）（無晶形）を90% アセトン水を用いて、6 mg/mL 濃度に溶解した。この化合物（I）を溶解したアセトン水溶液に、この溶解液の4.4倍量の酢酸エチルを添加した。常温（25℃）にて3-4時間攪拌後、40℃まで加温し、その後、5℃まで攪拌しつつ冷却した。18-20時間攪拌を続けた後、分離・濾取により化合物（I）の B 8 2 型結晶を得た。

実施例 5

化合物（I）（無晶形）を70%イソプロピルアルコール水を用いて、6 mg/mL 濃度に溶解した。この化合物（I）を溶解したイソプロピル水溶液に、この溶解液の1.6倍量の酢酸エチルを添加した。常温（25℃）にて3-4時間攪拌後、40℃まで加温し、その後、5℃まで攪拌しつつ、約20時間かけて冷却した。晶析溶液を顕微鏡下で観察したところ、 B 8 2 型結晶を認めた。

実施例 6

化合物（I）（無晶形）を90%メタノール水を用いて、12.5 mg/mL 濃度に溶解した。この化合物（I）を溶解したメタノール水溶液に、この溶解液の1.5倍量のジクロロメタンを添加した。常温（25℃）にて3-4時間攪拌後、40℃まで加温し、その後、5℃まで攪拌しつつ約20時間かけて冷却した。晶析溶液を顕微鏡下で観察したところ、 B 8 2 型結晶を認めた。

実施例 7

- 化合物（I）（無晶形）を80%メタノール水を用いて、6 mg/mL濃度に溶解した。この化合物（I）を溶解したメタノール水溶液に、この溶解液の3.2倍量のアセトニトリルを添加した。常温（25℃）にて3-4時間攪拌後、40℃まで加温し、その後、5℃まで攪拌しつつ、約20時間かけて冷却した。晶析溶液を顕微鏡下で観察したところ、B 8 2型結晶を認めた。

実施例 8

- 化合物（I）（無晶形）を90%メタノール水を用いて、100 mg/mL濃度に溶解した。この化合物（I）を溶解したメタノール水溶液を、常温（25℃）下で3-4時間攪拌後、40℃まで加温し、その後、5℃まで攪拌しつつ、約20時間かけて冷却した。晶析溶液を顕微鏡下で観察したところ、B 8 2型結晶を認めた。

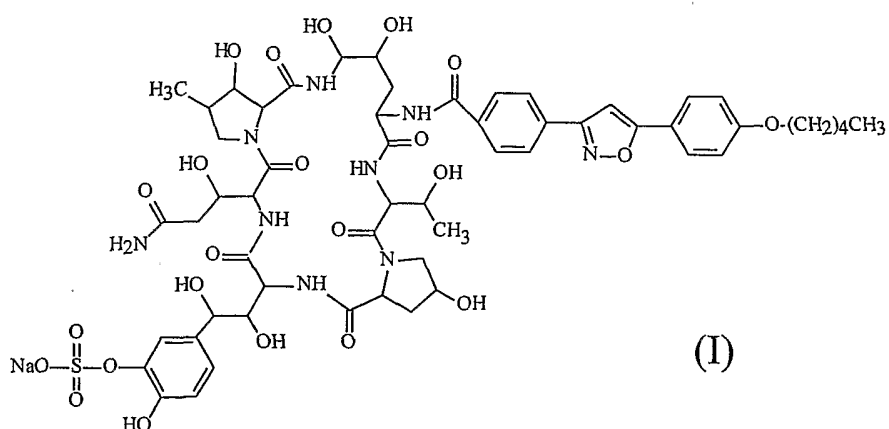
図面の簡単な説明

- 図 1 粉末X線回折パターンを示す。
- 図 2 赤外吸収スペクトルを示す。

請求の範囲

1. 粉末X線回折パターンにおいて下記の表に示される回折角にピークを示すことを特徴とする下記の化学構造式で示される環状リポペプチド化合物 (I) の結晶：

回折角 (°)
4.6° 付近
5.4° 付近
9.0° 付近
9.8° 付近
16.9° 付近

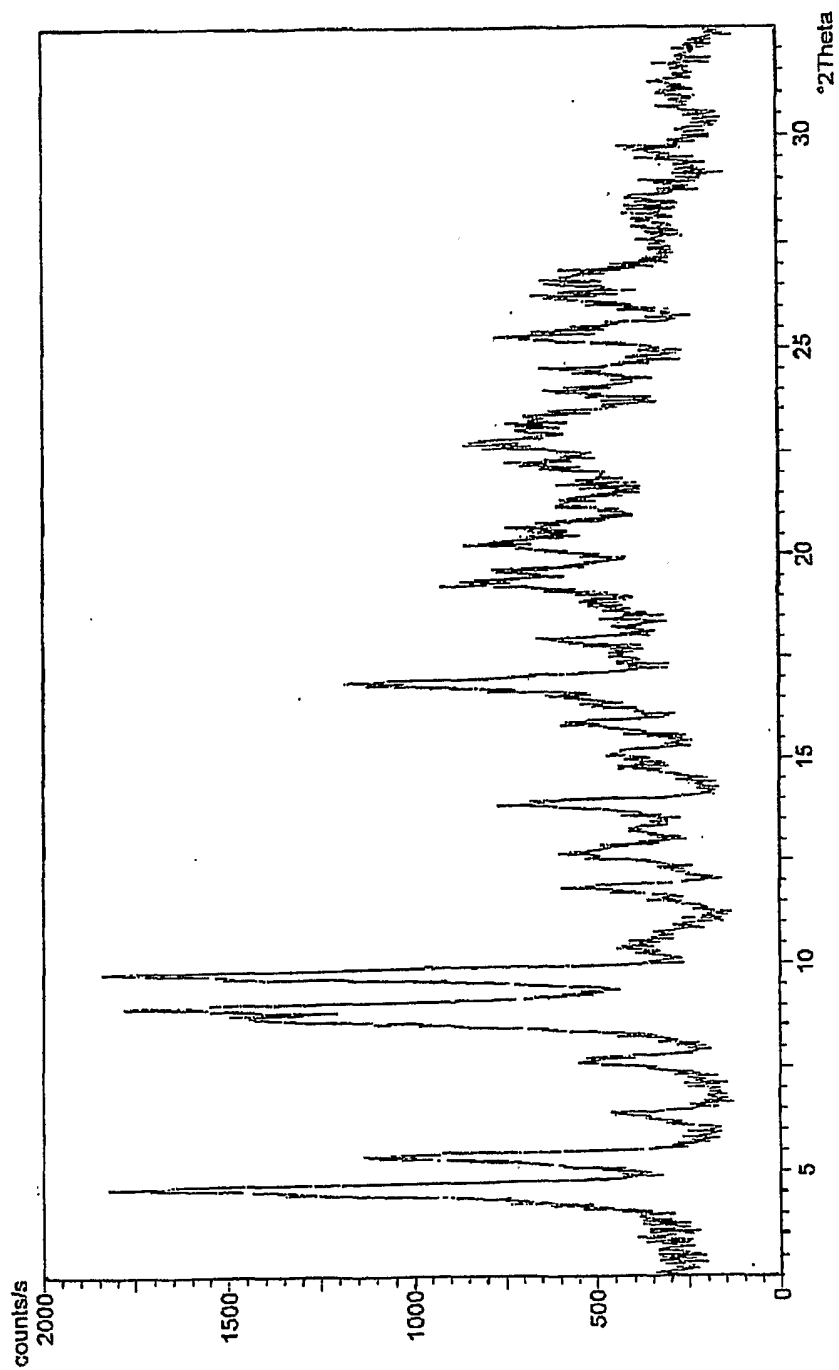


2. 請求項 1 記載の環状リポペプチド化合物 (I) を含水アルコールまたは含水アセトンに溶解させ、冷却下ないし加温下で酢酸エチル、ジクロロメタン、アセトンまたはアセトニトリルあるいはそれらの混合溶液を後添加することにより得ることができる環状リポペプチド化合物 (I) の結晶。
3. 請求項 1 記載の環状リポペプチド化合物 (I) を含水アルコールまたは含水アセトンに溶解させ、5℃～45℃でゆっくりと攪拌

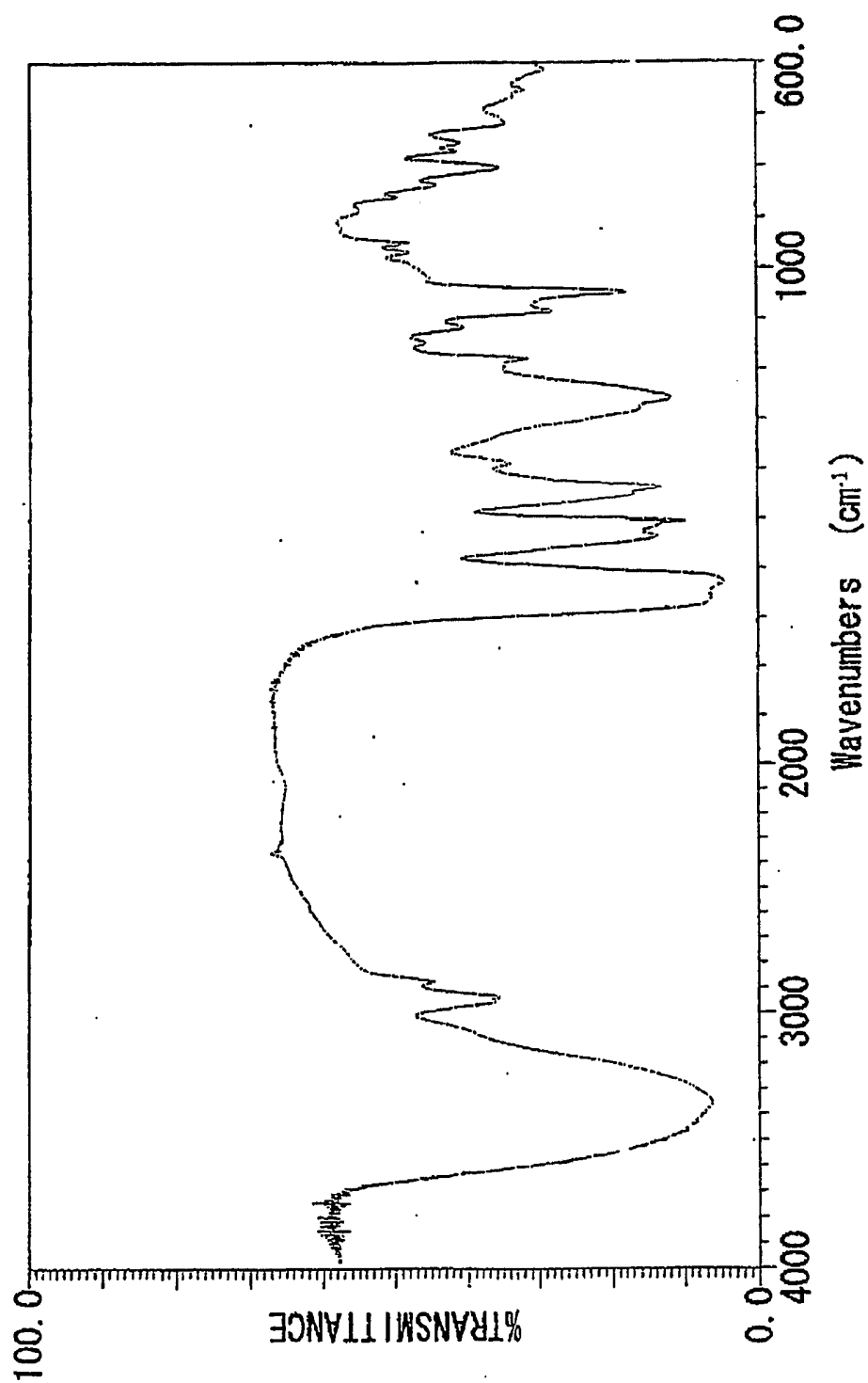
を続け、次いで、これに酢酸エチル、ジクロロメタン、アセトンまたはアセトニトリルあるいはそれらの混合溶液を後添加した後、
5℃～45℃で攪拌、放置することにより得ることができる請求項
2記載の結晶。

- 5 4. 請求項1記載の環状リポペプチド化合物(I)を含水アルコールまたは含水アセトンに溶解させ、冷却下ないし加温下で酢酸エチル、ジクロロメタン、アセトンまたはアセトニトリルあるいはそれらの混合物を後添加することにより結晶を得ることを特徴とする環状リポペプチド化合物(I)の結晶の製造法。
- 10 5. 請求項1記載の環状リポペプチド化合物(I)を含水アルコールまたは含水アセトンに溶解させ、5℃～45℃でゆっくりと攪拌を続け、次いで、これに酢酸エチル、ジクロロメタン、アセトンまたはアセトニトリルあるいはそれらの混合物を後添加した後、5℃～45℃で攪拌、放置することにより結晶を得ることを特徴とする
15 請求項4記載の製造法。

1



2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/08694

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07K1/02, 7/06

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.Cl⁷ C07K1/02, 7/06

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)

CA/BIOSIS/WPIDS/MEDLINE/REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 511866 A2 (MERCK & CO. INC.), 04 November, 1992 (04.11.92), Claims; examples & JP 5-239090 A & US 5336756 A & CA 2067294 A	1-5
A	WO 00/52037 A1 (ELI LILLY AND CO.), 08 September, 2000 (08.09.00), Claims; examples & EP 1157030 A1 & JP 2002-539090 A & AU 200038635 A	1-5
A	WO 96/11210 A1 (FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD.), 18 April, 1996 (18.04.96), Claims; examples & EP 788511 A1 & JP 10-507174 A & US 6107458 A & AU 9535780 A	1-5

☐ 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
20 November, 2002 (20.11.02)

Date of mailing of the international search report
03 December, 2002 (03.12.02)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

IntCl.⁷ C07K1/02, 7/06

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))

IntCl.⁷ C07K1/02, 7/06

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)

CA/BIOSIS/WPIDS/MEDLINE/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
A	EP 511866 A2 (MERCK & CO. INC.) 1992.11.04, 特許請求の範囲、実施例等参照, & JP 5-239090 A & US 5336756 A & CA 2067294 A	1-5
A	WO 00/52037 A1 (ELI LILLY AND COMPANY) 2000.09.08, 特許請求の範囲、実施例等参照, & EP 1157030 A1 & JP 2002-539090 A & AU 200038635 A	1-5
A	WO 96/11210 A1 (FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 1996.04.18, 特許請求の範囲、実施例等参照, & EP 788511 A1 & JP 10-507174 A & US 6107458 A & AU 9535780 A	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」 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

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

20.11.02

国際調査報告の発送日

03.12.02

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)

坂崎 恵美子

4N

9451

電話番号 03-3581-1101 内線 3488