

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2010 年 11 月 18 日(18.11.2010)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2010/131475 A1

- (51) 国際特許分類:
C07H 19/06 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2010/003261
- (22) 国際出願日: 2010 年 5 月 14 日(14.05.2010)
- (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 2009-118726 2009 年 5 月 15 日(15.05.2009) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 大鵬薬品工業株式会社(TAIHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1018444 東京都千代田区神田錦町 1-2-7 Tokyo (JP). 松田 彰(MATSUDA, Akira) [JP/JP]; 〒0010024 北海道札幌市北区北 24 条西十二丁目 1 番 7-501 号 Hokkaido (JP). 佐々木 琢磨(SASAKI, Takuma) [JP/JP]; 〒4660812 愛知県名古屋市昭和区八事富士見 101 番地 1-2-404 号 Aichi (JP).
- (72) 発明者: および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 渡邊 正太郎(WATANABE, Shotaro) [JP/JP]; 〒3670241 埼玉県児玉郡神川町大字元原 200-22 大鵬薬品工業株式会社内 Saitama (JP). 畠山 貴尋(HATAKEYAMA, Takahiro) [JP/JP]; 〒3670241 埼玉県児玉郡神川町大字元原 200-22 大鵬薬品工業株式会社内 Saitama (JP).
- (74) 代理人: 特許業務法人アルガ特許事務所(THE PATENT CORPORATE BODY ARUGA PATENT OFFICE); 〒1030013 東京都中央区日本橋人形町 1 丁目 3 番 8 号 沢の鶴人形町ビル Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
一 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: NOVEL STABLE CRYSTAL OF 1-(2'-CYANO-2'-DEOXY-β-D-ARABINOFURANOSYL)CYTOSINE MONOHYDROCHLORIDE

(54) 発明の名称: 1-(2'-シアノ-2'-デオキシβ-D-アラビノフラノシル)シトシン・一塩酸塩の新規安定形結晶

(57) Abstract: Disclosed is a stable crystal of 1-(2'-cyano-2'-deoxy-β-D-arabinofuranosyl)cytosine monohydrochloride. The crystal of 1-(2'-cyano-2'-deoxy-β-D-arabinofuranosyl)cytosine monohydrochloride shows characteristic peaks at 13.7°, 15.7°, 16.0°, 18.6°, 20.3°, and 22.7° as diffraction angles (2θ ± 0.1°) by powder X-ray diffractometry and has a melting point of 192 to 197°C.

(57) 要約: 1-(2'-シアノ-2'-デオキシβ-D-アラビノフラノシル)シトシン・一塩酸塩の安定形結晶を得ること。粉末 X 線回折による回折角 (2θ ± 0.1°) として、13.7°、15.7°、16.0°、18.6°、20.3°、及び 22.7° に特徴的なピークを認め、融点が 192 ~ 197°C である、1-(2'-シアノ-2'-デオキシβ-D-アラビノフラノシル)シトシン・一塩酸塩の結晶。

WO 2010/131475 A1

明 細 書

発明の名称：

1－（2′－シアノ－2′－デオキシ－ β －D－アラビノフラノシル）シトシン・一塩酸塩の新規安定形結晶

技術分野

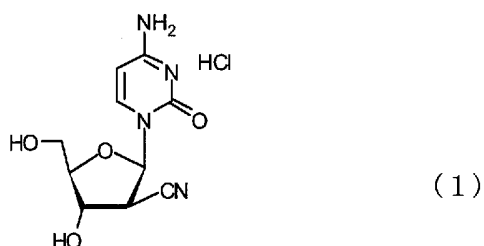
[0001] 本発明は、優れた抗腫瘍活性を有する医薬として有用な1－（2′－シアノ－2′－デオキシ－ β －D－アラビノフラノシル）シトシン・一塩酸塩の、新規安定形結晶及びそれを含有する医薬組成物に関する。

背景技術

[0002] 一般的に、医薬品の有効活性成分として化合物が使用されるとき、品質を安定に保持するために及び／又は保管管理を容易にするために、化合物の化学的及び物理学的な安定性が必要である。このため、得られた化合物は安定形結晶であることが好ましく、通常、医薬品用の原薬としては最安定形結晶が選択される例が多い。

[0003] ところで、特許文献1、非特許文献1及び非特許文献2には、ピリミジンヌクレオシド誘導体の一つとして、下記式（1）

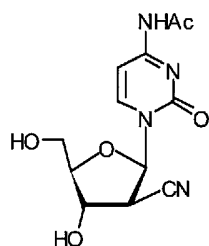
[0004] [化1]



[0005] で表される1－（2′－シアノ－2′－デオキシ－ β －D－アラビノフラノシル）シトシン・一塩酸塩が、インビトロでヒトまたはマウスの腫瘍細胞の増殖抑制作用を有し、インビボでも優れた抗腫瘍活性を有することが記載されている。

[0006] その製造方法としては、下記式（2）

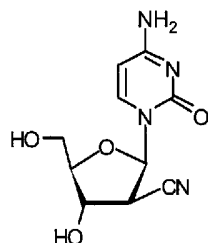
[0007] [化2]



(2)

[0008] で表される 1- (2'-シアノ-2'-デオキシ-β-D-アラビノフラノシル) -N⁴-アセチルシトシンを塩酸のメタノール溶液に溶解し、室温にて攪拌しながら反応させ、反応終了後エタノールとエーテルにて結晶化させる方法（非特許文献 1 及び 2）及び上記式（2）で表される化合物を、酢酸にて加熱還流して脱 N-アセチル処理後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて、
下記式（3）

[0009] [化3]



(3)

[0010] で表される 1- (2'-シアノ-2'-デオキシ-β-D-アラビノフラノシル) シトシンを得、当該化合物を塩酸のメタノール溶液に溶解し、室温にて攪拌しながら反応させ、反応終了後、エタノールとエーテルにて結晶化させる方法（特許文献 1）が報告されている。

これらの方法で得られる結晶は、この当時、1/2 エタノール和物とされ、その融点は 175 ~ 176 °C であったとされている（特許文献 1 及び非特許文献 1 ~ 2）。しかしながら、この融点以外に、その結晶多形や安定性に関する具体的な報告はなされていない。

先行技術文献

特許文献

[0011] 特許文献1：特許第2559917号公報（特開平4-235182号公報）

非特許文献

[0012] 非特許文献1：ジャーナル オブ メディシナル ケミストリー，1991年，34巻，2917-2919

非特許文献2：ジャーナル オブ メディシナル ケミストリー，1993年，36巻，4183-4189

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0013] 本発明は抗腫瘍剤として有用な化合物の安定形結晶を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0014] 本発明者らは、1-(2'-シアノ-2'-デオキシ-β-D-アラビノフラノシル)シトシン・塩酸塩の安定形結晶を得ることを課題とし、先ずは上記特許文献1及び非特許文献1～2記載の公知の方法で、融点175～176℃の1/2エタノール和物の結晶を得ることを試みた。

しかしながら、本発明者らは、全く予想しなかったことに、上記公知の方法の再現実験では文献記載の融点175～176℃の1/2エタノール和物の結晶（以下、「公知文献の結晶」とも云う。）を再現することができなかった。

更に、本発明者らは、上記融点175～176℃の1/2エタノール和物の結晶を得るために、種々の一般的な結晶の製造条件（インターナショナルジャーナル オブ ファーマシューティクス，1990年，60巻，11-26等を参照）を考慮しながら鋭意実施したが、ついに公知文献の結晶を再現することはできなかった。

そうすると、このように種々製造条件を考慮しても得られない結晶は、工業的に安定して製造、供給できる結晶としては好ましいものとはいえないと

考えられる。このような原因として、当時、得られた結晶が結晶多形であった可能性もあり、医薬品用の原薬に結晶多形の存在が確認された場合、通常、単一の結晶または存在比が一定に管理された混合型の結晶として安定して製造することは容易ではなくなり、鋭意検討が必要となると云う問題がある。

[0015] ところで、従来得られていた結晶が、ある時期を境に従来技術によっては突然得られなくなった例は過去にも論文で報告されている。例えば、抗HIV（ヒト免疫不全ウイルス）薬であるリトナビルの場合、突然出現した安定形結晶であるフォームIIのために、従来存在したフォームIが従来の製造方法では得られなくなったと記載されている（オーガニック プロセス リサーチ アンド デベロップメント，2000年，4巻，413-417）。セフェム系抗生物質として開発されている化合物でも、突然出現した安定形結晶である γ 晶のために、従来存在した α 晶が従来の製造方法では得られなくなったと記載されている（分離技術，2003年，33巻，379-385）。HIV-1 逆転写酵素阻害剤として開発されている化合物でも、突然出現した安定形結晶であるフォームIIIのために、従来存在したフォームIが従来の製造方法では得られなくなったと記載されている（オーガニック プロセス リサーチ アンド デベロップメント，2005年，9巻，933-942）。

このような知見を総合すると、当時得られていた公知文献の結晶は、安定性の面で本発明の結晶に劣るため得られなくなったと考えられる。また、公知文献の結晶は反応系中で一時的に生じることがあっても直ちに安定形結晶に結晶形転移して結果的に得られなくなったとも考えられる。

[0016] 本発明者らは、この検討のなかで、後記実施例に示すように、エタノールを含有せず、従来の融点175～176℃の公知の結晶よりも15～20℃も融点が高い結晶（以下、「本発明の結晶」とも云う）が得られ、一般に安定性に優れた結晶（安定形結晶）の融点是不安定な結晶（準安定形結晶）の融点よりも高いことから、本発明の結晶が安定形結晶であることを見出し、

本発明を完成させた。

[0017] すなわち、本発明は、以下の（１）～（４）に係るものである。

（１） 粉末X線回折による回折角（ $2\theta \pm 0.1^\circ$ ）として、 13.7° 、 15.7° 、 16.0° 、 18.6° 、 20.3° 、及び 22.7° に特徴的なピークを認め、融点が $192 \sim 197^\circ\text{C}$ である、 $1-(2'-\text{シアノ}-2'-\text{デオキシ}-\beta\text{-D-アラビノフラノシル})\text{シトシン}\cdot\text{一塩酸塩}$ の結晶。

（２） 粉末X線回折による回折角（ $2\theta \pm 0.1^\circ$ ）として、 6.4° 、 12.6° 、 17.3° 、及び 21.7° に特徴的なピークを認め、融点が $192 \sim 197^\circ\text{C}$ である、 $1-(2'-\text{シアノ}-2'-\text{デオキシ}-\beta\text{-D-アラビノフラノシル})\text{シトシン}\cdot\text{一塩酸塩}$ の結晶。

（３） 前記（１）又は（２）に記載の結晶を含有する医薬組成物。

（４） 上記（１）又は（２）の結晶を含有する抗腫瘍剤。

発明の効果

[0018] 本発明の、 $1-(2'-\text{シアノ}-2'-\text{デオキシ}-\beta\text{-D-アラビノフラノシル})\text{シトシン}\cdot\text{一塩酸塩}$ の結晶は、優れた物理的安定性及び／又は化学的安定性を有しているため、例えば、保存安定性、純度、取り扱い性（より低い吸湿性）及び／又は品質管理性等の観点から、また、優れた抗腫瘍効果を有することから抗腫瘍剤として有用である点から、 $1-(2'-\text{シアノ}-2'-\text{デオキシ}-\beta\text{-D-アラビノフラノシル})\text{シトシン}$ の他の非晶質形態又は他の結晶形態等と比較して優れており、医薬品として有用である。

図面の簡単な説明

[0019] [図1] I形結晶の粉末X線回折チャートを示す。

[図2] II形結晶の粉末X線回折チャートを示す。

[図3] III形結晶の粉末X線回折チャートを示す。

発明を実施するための形態

[0020] 本発明の結晶、特にI形結晶、II形結晶及びIII形結晶の3種の結晶は、上記式（１）で表される $1-(2'-\text{シアノ}-2'-\text{デオキシ}-\beta\text{-D-}$

ーアラビノフラノシル) シトシン・一塩酸塩 (以下、「化合物 (1)」とも云う) を含む溶液から結晶化するか又は再結晶により、それぞれ単一の結晶として得ることができる。

なお、化合物 (1) の形態は、結晶状でなくともよいが、結晶であってもよい。結晶の場合、例えば、I I 形結晶を原料として I 形結晶を析出させたり、また I I I 形結晶を原料として I 形結晶を析出させたりすることもできる。

[0021] 本発明で用いられる 1- (2'-シアノ-2'-デオキシ-β-D-アラビノフラノシル) シトシン・一塩酸塩 (化合物 (1)) は、上記式 (2) で表される 1- (2'-シアノ-2'-デオキシ-β-D-アラビノフラノシル) -N⁴-アセチルシトシン (以下、「化合物 (2)」とも云う) や上記式 (3) で表される 1- (2'-シアノ-2'-デオキシ-β-D-アラビノフラノシル) シトシン (以下、「化合物 (3)」とも云う) を原料として有機化学合成法により得ることができ、例えば、化合物 (2) を脱N-アセチル化及び塩酸付加により、また、化合物 (3) を塩酸付加により、得ることができる。

[0022] より具体的な化合物 (1) を得る方法としては、化合物 (2) を酸処理して化合物 (3) を得、これに塩酸付加をして化合物 (1) を得る方法；化合物 (2) を塩酸メタノール溶液を用いて酸処理及び塩酸付加を一工程で行って化合物 (1) を得る方法等が挙げられる。

このうち、作業効率向上や収率向上の点から、酸処理及び塩酸付加を一工程で行なうのが好ましく、このときの条件としては、化合物 (2) 100mg に対して、0.5~3%塩酸メタノール溶液を 1~20mL を用い、10~40℃程度 (好ましくは、室温) で、0.5~3時間 (好ましくは 1±0.25時間) 攪拌するのが好ましい。

[0023] 化合物 (2) 及び (3) は、前述の特許文献 1 及び非特許文献 1~2 に記載された製造方法によって製造できる。

また、酸処理に用いる酸としては、硫酸、塩酸等の無機酸；酢酸、トリフ

ルオロ酢酸等の有機酸が挙げられ、これらを単独で又は2種以上混合して用いてもよい。

[0024] 本発明の結晶を析出させる方法としては、特に限定されないが、加温状態で上記化合物(1)を溶解させる溶媒(以下、「溶解溶媒」とも云う)に溶解させ、当該化合物(1)を溶解させた溶液を放置又は冷却手段にて冷却し、結晶を析出させる方法；当該溶解させた溶液(以下、「溶解溶液」とも云う)から、当該化合物(1)に対して溶解性が低い溶媒(以下、「低溶解性溶媒」とも云う)にて、結晶を析出させる方法等が挙げられるが、このうち、当該溶解溶液から、低溶解性溶媒にて結晶を析出させる方法が好ましい。この一例として、当該溶解溶液を、冷却した低溶解性溶媒に添加して結晶を析出させる方法等が挙げられる。

[0025] 結晶を析出させる工程で用いられる溶媒としては、特に限定されないが、水；メタノール、エタノール、イソプロパノール等のアルコール類；アセトン、メチルエチルケトン等のケトン類；ジエチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、*t*-ブチルメチルエーテル等のエーテル類等が挙げられる。これら溶媒は、単一で又は複数の混合溶媒として使用できる。

[0026] 前記溶解溶媒としては、化合物(1)を加温状態で溶解させることができる溶媒が好ましく、具体的には、アルコール類が、安定性の点から、より好ましく、このうち、炭素数1～5のアルコール類、特に、エタノールが好ましい。加温状態の溶解溶媒の温度は、通常0℃～溶媒の沸点であるのが好ましく、20～40℃であるのがより好ましい。このときの当該化合物(1)の濃度は、特に限定されないが、溶解溶液中、0.25～0.6(W/V)%であるのが好ましい。

[0027] 前記低溶解性溶媒としては、化合物(1)を溶解させた溶液に添加した後、放置又は冷却にて結晶を析出させることができる溶媒が好ましく、具体的には、エーテル類が、安定性の点から、好ましく、このうち、特に、ジエチルエーテルが好ましい。

当該溶解溶液を添加する際の低溶解性溶媒の温度は、-40℃～溶媒の沸

点であるのが好ましく、 $-20 \sim 20^{\circ}\text{C}$ であるのがより好ましく、 $0 \sim 10^{\circ}\text{C}$ であるのが更に好ましい。一方の低溶解性溶媒に添加する際の溶解溶液の温度は、 $-20^{\circ}\text{C} \sim$ 溶媒の沸点であるのが好ましく、より $-5 \sim 45^{\circ}\text{C}$ 、更に $0 \sim 40^{\circ}\text{C}$ であるのが好ましい。

また、低溶解性溶媒の使用量は、溶解溶液 1 容量部に対して、 $0 \sim 1$ 容量部であるのが好ましい。

[0028] 析出の際の温度は、通常 $-50 \sim 30^{\circ}\text{C}$ であるのが好ましく、 $-40 \sim 20^{\circ}\text{C}$ であるのがより好ましく、 $-30 \sim 10^{\circ}\text{C}$ であるのが更に好ましい。この際、溶解溶液やこれと低溶解性溶媒との混合溶液を冷却手段にて冷却してもよい。例えば、冷却した容器に溶解溶液を滴下すること；溶解溶液やこの混合溶液を冷却すること等が挙げられる。この析出の際、当該溶液を放置していてもよいし、攪拌してもよい。

[0029] 析出した結晶は、例えば、ろ過、有機溶剤による洗浄、減圧乾燥等の公知の分離精製手段によって、前記溶解溶液や混合溶液から単離精製することができる。洗浄に使用される有機溶剤としては、前記低溶解性溶媒が挙げられ、このうち、前記エーテル類を用いるのが好ましい。

[0030] このようにして、本発明の結晶、特に I 形結晶、II 形結晶又は III 形結晶を製造することができる。

例えば、I 形結晶を得る方法としては、化合物 (1) をエタノールに加熱溶解し、次いで、この溶解液を $0 \pm 5^{\circ}\text{C}$ に冷却したジエチルエーテルに滴下しながら攪拌することにより得ることが好ましい。

また、II 形結晶を得る方法としては、化合物 (1) 又は I 形結晶をエタノールに加熱溶解し、次いで、この溶液を $40 \pm 5^{\circ}\text{C}$ に冷却した後、ジエチルエーテルを滴下しながら攪拌することにより得ることが好ましい。

また、III 形結晶を得る方法としては、化合物 (1) 又は I 形結晶をエタノールに加熱溶解し、次いで、この溶液を $0 \pm 5^{\circ}\text{C}$ に冷却したプレートに滴下することにより得ることが好ましい。

[0031] このようにして得られた化合物 (1) の I \sim III 形結晶は、いずれも 1

92～197℃の融点を有するが、図1～3の粉末X線回折チャートに示すように、以下の特徴的な回折ピークによって識別される。

すなわち、I形結晶の粉末X線回折パターンは、図1に示すように、粉末X線回折による回折角（ $2\theta \pm 0.1^\circ$ ）として、13.7°、15.7°、16.0°、18.6°、20.3°、及び22.7°付近に特徴的なピークが認められる。

また、II形結晶の粉末X線回折パターンは、図2に示すように、粉末X線回折による回折角（ $2\theta \pm 0.1^\circ$ ）として、6.4°、12.6°、17.3°、及び21.7°付近に特徴的なピークが認められる。

また、III形結晶の粉末X線回折パターンは、図3に示すように、粉末X線回折による回折角（ $2\theta \pm 0.1^\circ$ ）として、14.2°、16.4°、17.0°、18.0°、及び20.2°付近に特徴的なピークが認められる。

[0032] 本発明の結晶は、保存安定性が非常に高く、品質管理上も有利であり、取り扱い性も優れた結晶である。特に、後記実施例に示すように、I形結晶は、高温高湿条件下で長期間保管しても、総類縁物質含量は殆どなく、結晶形変化も見られず、またII形結晶又はIII形結晶が、70～90℃付近で数時間加熱すること又30～50℃付近75%RH以上で1ヶ月長期間保存することによってI形結晶に転移することからも、I形結晶は、II形結晶やIII形結晶よりも、安定性に優れている。

そして、上述の特許文献1の記載から明らかなように、前記化合物（1）は強い抗腫瘍活性を有するため、本発明の結晶を含有する医薬組成物は、特に、抗腫瘍剤として使用することができ、また、当該製剤を製造するために使用することができる。

[0033] 本発明の結晶、特にI形、II形又はIII形の各結晶形態として、I形、II形又はIII形結晶の純度が、実質的に95%以上、好ましくは、実質的に98%以上、より好ましくは、実質的に99%以上であることが好ましい。

[0034] 本発明の結晶は、粉碎するかまたは粉碎することなく、種々の形態の抗腫瘍剤、例えば錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、シロップ剤等の経口剤；静脈内注射、皮下注射、筋肉内注射、坐剤等の非経口剤等に加工することができる。本発明の結晶は、静脈内投与されるものであり、その投与形態は注射剤であるのが好ましく、斯かる注射剤は、用時に溶解させて使用することができる凍結乾燥注射剤や粉末注射剤などの固形状注射剤として用いるのが望ましい。

抗腫瘍剤は、薬学的に許容される担体を用いて当業者の公知慣用の製剤方法により製造できる。このとき、他の抗腫瘍剤、例えば5-FU、テガフル・ウラシル製剤、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム製剤、ドキソルビシン、エピルビシン、塩酸イリノテカン、エトポシド、ドセタキセル、パクリタキセル、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、クレスチン、レンチナン、ピシバニール等と併用してもよい。

[0035] 抗腫瘍剤として使用される場合の本発明の結晶の投与量はこれを適用すべき患者の症状により或いはその剤型等により一定でないが、一般に、1日当たり、本発明の結晶量で2.0～4.0 mg/m²を1回又は数回に分けて投与するのが好ましい。

実施例

[0036] 以下に、実施例及び参考例を挙げ本発明の製造方法を具体的に説明する。

[0037] 参考例1 1-(2'-シアノ-2'-デオキシ-β-D-アラビノフラノシル)-N⁴-アセチルシトシンの合成

N⁴-アセチル-2'-シアノ-2'-デオキシ-3', 5'-O-(1, 1, 3, 3-テトライソプロピルジシロキサン-1, 3-ジイル)-1-β-D-アラビノフラノシルシトシン(537 mg, 1 mmol)のTHF(5 mL)溶液に、1 Mフッ化テトラブチルアンモニウムTHF溶液(2 mL)、酢酸0.06 mL(1 mmol)を加え、室温で15分撹拌した。撹拌後濃縮し、残渣を8%エタノール・クロロホルムを展開溶媒としてシリカゲル(11 g)カラムクロマトグラフィーで精製した。目的フラクションの濃

縮残渣をヘキサン・ジエチルエーテルで洗浄し、標記化合物を白色結晶として 259 mg (収率: 88%) 得た。

[0038] 実施例 1 1-(2'-シアノ-2'-デオキシ-β-D-アラビノフラノシル)シトシン・一塩酸塩の合成

1-(2'-シアノ-2'-デオキシ-β-D-アラビノフラノシル)-N⁴-アセチルシトシン (100 mg, 0.34 mmol) を 1% 塩酸メタノール (7.5 mL) に溶解し、室温 (20~25℃) で 1 時間攪拌した。反応液を濃縮し、この濃縮物にエタノール (10 mL) を注入し共蒸発させて標記化合物を 34 mg 得た。(収率: 35%)

融点: 192℃

元素分析:

計算値 (C₁₀H₁₃ClN₄O₄として): C, 41.60; H, 4.54; N, 19.41

実測値: C, 41.45; H, 4.52; N, 19.41

[0039] 実施例 2 1-(2'-シアノ-2'-デオキシ-β-D-アラビノフラノシル)シトシン・一塩酸塩の I 形結晶の製造

実施例 1 で得られた 1-(2'-シアノ-2'-デオキシ-β-D-アラビノフラノシル)シトシン・一塩酸塩 (200 mg) をエタノール (34 mL) 中で加熱還流して溶解し、0℃に冷却したジエチルエーテル (34 mL) 中に滴下した。2 時間攪拌後、析出物を濾取、35℃にて減圧乾燥し、123 mg (収率: 62%) の標記化合物を I 形結晶として得た。

融点 (分解点): 192~197℃

元素分析:

計算値 (C₁₀H₁₃ClN₄O₄として): C, 41.60; H, 4.54; N, 19.41

実測値: C, 41.64; H, 4.51; N, 19.28

図 1 に、ここで得られた I 形結晶の粉末 X 線回折チャートを示す。粉末 X 線回折による回折角 (2θ ± 0.1°) として、13.7°、15.7°、

16. 0°、18. 6°、20. 3°、及び22. 7°の各付近に特徴的なピークが認められた。

なお、粉末X線回折データはフィリップス社製のX線回折装置PW3050によりCuK α 線(1. 541 Å)を照射し、縦型ゴニオメーターを用いて検出した。

[0040] 実施例3 1-(2'-シアノー-2'-デオキシ- β -D-アラビノフラノシル)シトシン・一塩酸塩のII形結晶の製造

1-(2'-シアノー-2'-デオキシ- β -D-アラビノフラノシル)シトシン・一塩酸塩のI形結晶(200 mg)をエタノール(34 mL)中で加熱還流して溶解し、40°Cに冷却した後、この化合物が溶解したエタノール(34 mL)を、滴下しながら、還流状態(40°Cに加熱した反応容器)のジエチルエーテル(34 mL)中に注入した。還流しながら1時間攪拌後、ジエチルエーテル中の析出物を濾取し、35°Cにて減圧乾燥し、119 mg(収率: 60%)の標記化合物をII形結晶として得た。

図2に、ここで得られたII形結晶の粉末X線回折チャートを示す。このII形結晶を、上記と同様にして粉末X線回折装置を用いて測定し、粉末X線回折による回折角($2\theta \pm 0. 1^\circ$)として、6. 4°、12. 6°、17. 3°、21. 7°の各付近に特徴的なピークが認められた。

融点(分解点): 192~196°C

元素分析:

計算値(C₁₀H₁₃ClN₄O₄として): C, 41. 60; H, 4. 54; N, 19. 41

実測値: C, 41. 48; H, 4. 57; N, 19. 14

[0041] 実施例4 1-(2'-シアノー-2'-デオキシ- β -D-アラビノフラノシル)シトシン・一塩酸塩のIII形結晶の製造

1-(2'-シアノー-2'-デオキシ- β -D-アラビノフラノシル)シトシン・一塩酸塩のI形結晶(200 mg)をエタノール(34 mL)中で加熱還流して溶解し、得られた溶液を0°Cに冷却した容器へゆっくり滴下し

た。2時間攪拌後、析出物を濾取し、35℃にて減圧乾燥し、66mg（収率：33%）の標記化合物をIII形結晶として得た。

図3に、ここで得られたIII形結晶の粉末X線回折チャートを示す。このIII形結晶を、上記と同様にして粉末X線回折装置を用いて測定し、粉末X線回折による回折角（ $2\theta \pm 0.1^\circ$ ）として、 14.2° 、 16.4° 、 17.0° 、 18.0° 、 20.2° の各付近に特徴的なピークが認められた。

融点：195℃

元素分析：

計算値（ $C_{10}H_{13}ClN_4O_4$ として）：C, 41.60；H, 4.54；N, 19.41

実測値：C, 41.59；H, 4.42；N, 19.29

[0042] 実施例5 安定性試験

I形及びII形結晶粉末をガラス製シャーレに均一に散布し、適度に通気穴を開けたアルミ箔（曝光条件保存用のみ透明樹脂製フィルム）で蓋をし、試験検体を調製した。これらの検体を、それぞれ、 $[60^\circ\text{C}]$ 、 $[40^\circ\text{C}/\text{相対湿度 (RH) 75\%}]$ 、 $[25^\circ\text{C}/\text{相対湿度 (RH) 60\%}/\text{曝光 } 2000 \text{ h} \cdot \text{r}]$ 、 $[25^\circ\text{C}/\text{相対湿度 (RH) 60\%}/\text{遮光}]$ の各4条件下で、30日間保存した後、高性能液体クロマトグラフィー（HPLC）及び粉末X線回折（XRD）により試験した。

粉末X線回折（XRD）は、上記のとおりに測定を行なった。

HPLC分析は、検体22.9mgを10mLの0.01mol/L塩酸で溶解後、以下のような条件にて、結晶中の類縁物質の含量の測定を行なった。

カラム Synergi Hydro-RP 80A Phenomenex（ $\phi 4.6 \text{ mm} \times 25 \text{ cm}$, $4 \mu\text{m}$ ）；温度25℃

移動相 リン酸二水素カリウム2.05gを水3000mLに溶かし、リン酸を加えてpH3.0とする。この液2940mLにメタノール60m

Lを加えて調製する。

流速 約 1.0 mL/分

検出器 紫外吸光光度計（測定波長 254 nm）

標品 1-（2'-シアノ-2'-デオキシ-β-D-アラビノフラノシル）シトシン・一塩酸塩

総類縁物質とは、1-（2'-シアノ-2'-デオキシ-β-D-アラビノフラノシル）シトシン・一塩酸塩以外に検出された物質であり、総類縁物質（%）は、標準品に対する総類縁物質の含有比である。

[0043] この試験の安定性結果を表 1 に示す。

I 形結晶、II 形結晶ともに種々の条件（加湿及び曝光条件下など）にて安定性試験を行った結果、表 1 に示すとおり、総類縁物質の増加は認められず、極めて安定な結晶形であることが判明した。

また、II 形結晶は、40℃/相対湿度（RH）75%、30 日で I 形結晶に転移し、その融点、粉末 X 線回折チャートは実施例 1 で得られたものと一致した。また、上記 III 形結晶を、80℃、2 時間加熱することにより I 形結晶に転移し、その融点、粉末 X 線回折チャートは実施例 1 で得られたものと一致した。

以上のことから、I～III 形結晶は、融点が 192～197℃であり、何れも安定性に優れており、特に I 形結晶は、II 形結晶や III 形結晶よりも安定性に優れることが判明した。

[0044]

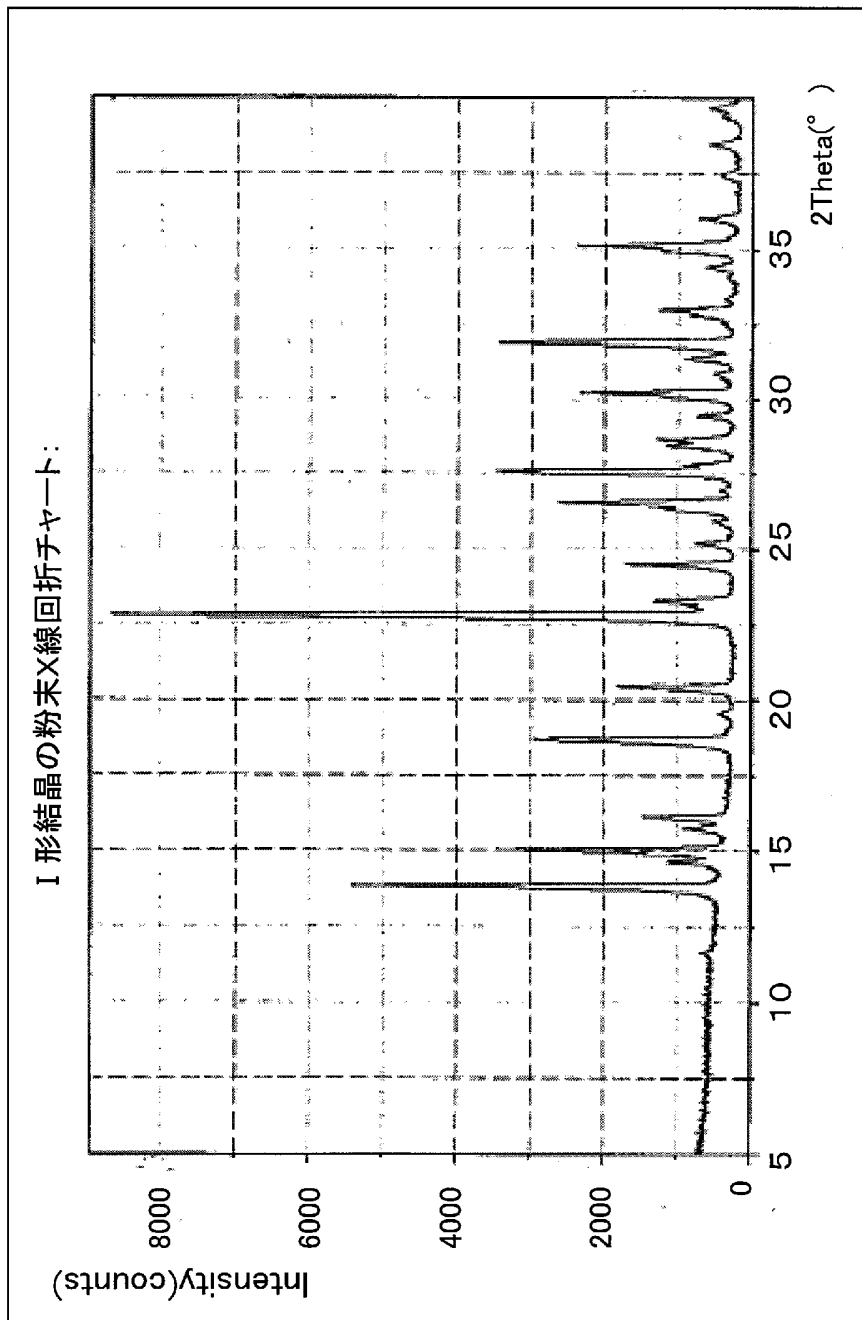
[表1]

保存温度	総類縁物質 (%)						初期値からの結晶形変化
	結晶形	保存期間				初期値からの増加量	
		Initial	10日	18日	30日		
60℃	I	0.07	0.06	0.07	0.07	0.00	不変
	II	0.06	0.06	0.07	0.07	0.01	不変
40℃/75%RH	I	0.07	0.07	0.06	0.05	-0.02	不変
	II	0.06	0.06	0.08	0.16	0.10	変化 (II→I)
25℃/60%RH/2000lx	I	0.07	0.09	0.09	0.13	0.06	不変
	II	0.06	0.15	0.23	0.38	0.32	不変
25℃/60%RH/遮光	I	0.07	0.07	0.06	0.07	0.00	不変
	II	0.06	0.06	0.07	0.09	0.03	不変

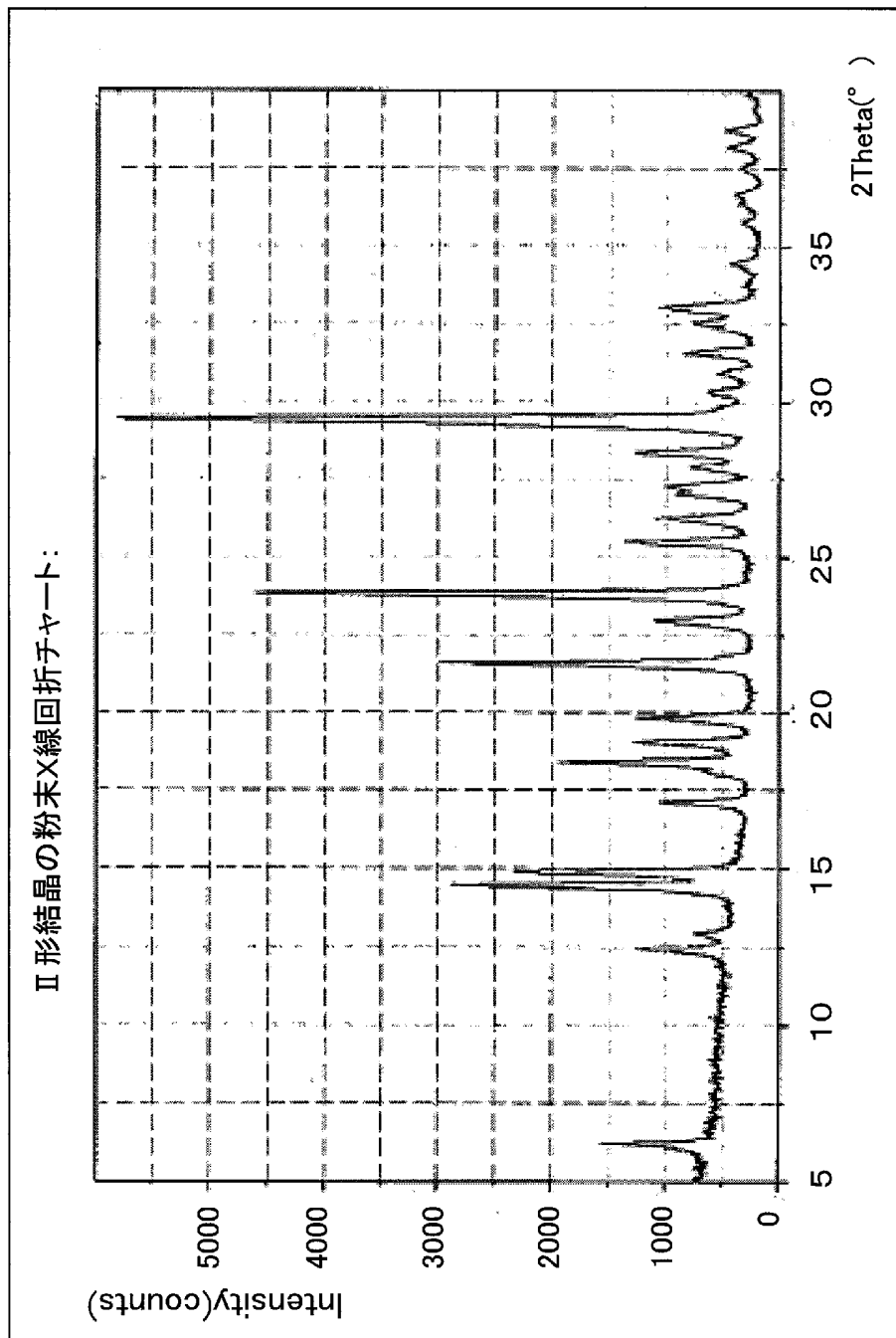
請求の範囲

- [請求項1] 粉末X線回折による回折角 ($2\theta \pm 0.1^\circ$) として、 13.7° 、 15.7° 、 16.0° 、 18.6° 、 20.3° 、及び 22.7° に特徴的なピークを認め、融点が $192 \sim 197^\circ\text{C}$ である、1- (2'-シアノ-2'-デオキシ- β -D-アラビノフラノシル) シトシン・一塩酸塩の結晶。
- [請求項2] 粉末X線回折による回折角 ($2\theta \pm 0.1^\circ$) として、 6.4° 、 12.6° 、 17.3° 、及び 21.7° に特徴的なピークを認め、融点が $192 \sim 197^\circ\text{C}$ である、1- (2'-シアノ-2'-デオキシ- β -D-アラビノフラノシル) シトシン・一塩酸塩の結晶。
- [請求項3] 請求項1又は2に記載の結晶を含有する医薬組成物。
- [請求項4] 請求項1又は2に記載の結晶を含有する抗腫瘍剤。

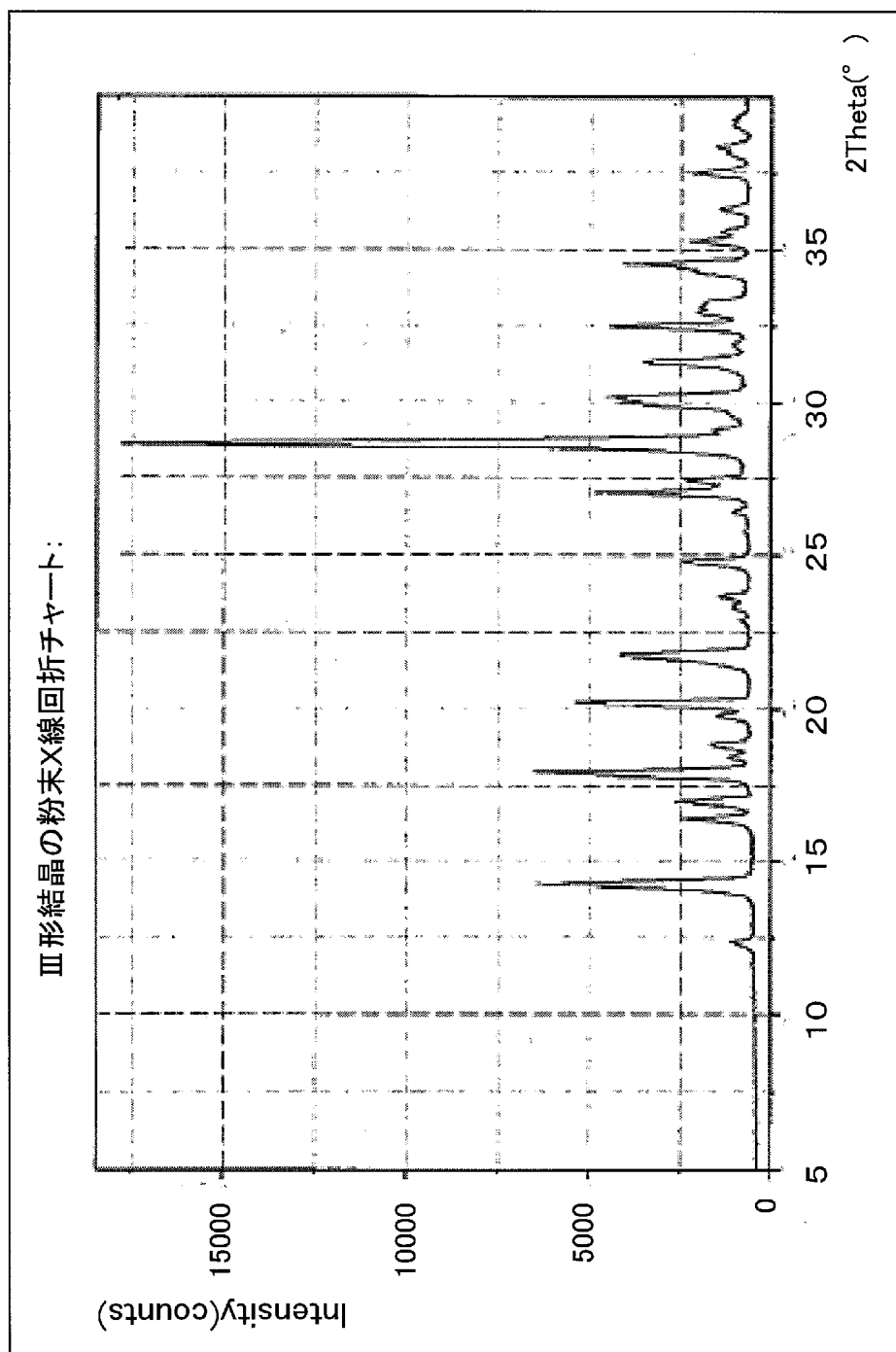
[図1]



[図2]



[図3]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/003261

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07H19/06(2006.01) i, A61K31/7068(2006.01) i, A61P35/00(2006.01) i

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)

C07H19/06, A61K31/7068, A61P35/00

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2010
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2010	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2010

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

CA/REGISTRY (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII), BEILSTEIN (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 4-235182 A (SANKYO CO., LTD.), 24 August 1992 (24.08.1992), example 9 & WO 91/19713 A1 & EP 535231 A1	1-4
Y	Azuma, A et al., Nucleosides and Nucleotides. 141. Chemical Stability of a New Antitumor Nucleoside, 2'-C-Cyano-2'-deoxy-1-β-D- arabino-pentofuranosylcytosine (CNDAC) in Alkaline Medium: Formation of 2'-C-Cyano-2'- deoxy-1-β-D-ribo-pentofuranosylcytosine (CNDC) and Its Antitumor Activity, Journal of Medicinal Chemistry (1995), 38(17), 3391-3397	1-4

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
23 June, 2010 (23.06.10)Date of mailing of the international search report
06 July, 2010 (06.07.10)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2010/003261

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Azuma, A. et al., Nucleosides and nucleotides. 122. 2'-C-Cyano-2'-deoxy-1- β -D-arabinofuranosylcytosine and its derivatives. A new class of nucleoside with a broad antitumor spectrum, Journal of Medicinal Chemistry (1993), 36(26), p4183-4189	1-4
Y	edited by Noriaki HIRAYAMA, Yuki Kagobutsu Kessho Sakusei Handbook -Genri to KnowHow-, Maruzen Co., Ltd., 25 July 2008 (25.07.2008), pages 57 to 62, 78 to 81	1-4
A	Matsuda, A. et al., Synthesis of a new potent antitumor nucleoside, 2'-C-cyano-2'-deoxy-1- β -D-arabinofuranosylcytosine, Nucleic Acids Symposium Series (1990), 22(Symp. Nucleic Acids Technol., 1990), pages 51 to 52	1-4

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C07H19/06(2006.01)i, A61K31/7068(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i

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. C07H19/06, A61K31/7068, A61P35/00

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

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2010年
日本国実用新案登録公報	1996-2010年
日本国登録実用新案公報	1994-2010年

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/REGISTRY(STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII), BEILSTEIN(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 請求項の番号
Y	JP 4-235182 A (SANKYO CO LTD) 1992. 08. 24, 実施例 9 & WO 91/19713 A1 & EP 535231 A1	1-4
Y	Azuma, A et al., Nucleosides and Nucleotides. 141. Chemical Stability of a New Antitumor Nucleoside, 2'-C-Cyano-2'-deoxy-1-β-D-arabino-pentofuranosylcytosine (CNDAC) in Alkaline Medium: Formation of 2'-C-Cyano-2'-deoxy-1-β-D-ribo-pentofuranosylcytosine (CNDG) and Its Antitumor Activity, Journal of Medicinal Chemistry	1-4

☒ 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

23. 06. 2010

国際調査報告の発送日

06. 07. 2010

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)

渕野 留香

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

4P

9048

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 請求項の番号
	(1995), 38(17), 3391-3397	
Y	Azuma, A. et al., Nucleosides and nucleotides. 122. 2'-C-Cyano-2'-deoxy-1- β -D-arabinofuranosylcytosine and its derivatives. A new class of nucleoside with a broad antitumor spectrum, Journal of Medicinal Chemistry (1993), 36(26), p4183-4189	1-4
Y	平山令明 編, 有機化合物結晶作成ハンドブックー原理とノウハウ ー, 丸善(株), 2008.07.25, p57-62, 78-81	1-4
A	Matsuda, A. et al., Synthesis of a new potent antitumor nucleoside, 2'-C-cyano-2'-deoxy-1- β -D-arabinofuranosylcytosine, Nucleic Acids Symposium Series (1990), 22(Symp. Nucleic Acids Technol., 1990), p51-52	1-4