

明 細 書

発明の名称：アゾールベンゼン誘導体の結晶

技術分野

[0001] 本発明は、痛風、高尿酸血症、腫瘍崩壊症候群、尿路結石、高血圧症、脂質異常症、糖尿病、動脈硬化症や心不全等の心血管疾患、糖尿病性腎症等の腎疾患、慢性閉塞性肺疾患等の呼吸器疾患、炎症性腸疾患または自己免疫性疾患等、キサンチンオキシダーゼの関与する疾患の治療薬または予防薬として有用な、新規アゾールベンゼン誘導体の結晶に関する。

背景技術

[0002] キサンチンオキシダーゼは核酸代謝においてヒポキサンチンからキサンチン、さらに尿酸への変換を触媒する酵素である。

キサンチンオキシダーゼの作用に対して、キサンチンオキシダーゼ阻害剤は尿酸合成を阻害することで血中尿酸値を低下させる。すなわち高尿酸血症およびこれに起因する各種疾患の治療に有効である。一方、高尿酸血症が持続して尿酸塩結晶が沈着した結果として起こる病態として、痛風と呼ばれる痛風関節炎、痛風結節がある。また、高尿酸血症は肥満、高血圧、脂質異常症および糖尿病などに関連した生活習慣病やメタボリックシンドロームの因子として重要視されており、最近では疫学調査により腎障害、尿路結石、心血管疾患の危険因子であることが明らかにされつつある（日本痛風・核酸代謝学会ガイドライン改訂委員会編，「高尿酸血症・痛風の治療ガイドライン 第2版」，メディカルレビュー社，2010）。また、キサンチンオキシダーゼ阻害剤は、その活性酸素種発生阻害活性により、活性酸素種が関与する疾患の治療への有用性、例えば、血管機能改善作用を通じた心血管疾患の治療への有用性、が期待されている（*Circulation*，2006；114：2508－2516）。

[0003] 臨床では、高尿酸血症の治療薬としてアロプリノール、フェブキソスタットが使用されているが、アロプリノールには、スティーブンス・ジョンソン

症候群、中毒性表皮壊死症、肝障害、腎機能障害等の副作用が報告されている（Nippon Rinsho, 2003; 61, Suppl. 1: 197-201）。

[0004] キサンチンオキシダーゼ阻害活性を有する化合物としては、例えば、2-フェニルチアゾール誘導体（特許文献1～3）が報告されている。

[0005] 一方、特許文献4および特許文献5には、中央にベンゼン環を有するジチアゾールカルボン酸誘導体が報告されている。また、特許文献6および特許文献7には、ビフェニルチアゾールカルボン酸誘導体が報告されている。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：国際公開第92/09279号

特許文献2：特開2002-105067号

特許文献3：国際公開第96/31211号

特許文献4：国際公開第2011/139886号

特許文献5：国際公開第2011/101867号

特許文献6：国際公開第2010/018458号

特許文献7：国際公開第2010/128163号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明の目的は、痛風、高尿酸血症、腫瘍崩壊症候群、尿路結石、高血圧症、脂質異常症、糖尿病、動脈硬化症や心不全等の心血管疾患、糖尿病性腎症等の腎疾患、慢性閉塞性肺疾患等の呼吸器疾患、炎症性腸疾患または自己免疫性疾患等、キサンチンオキシダーゼの関与する疾患の治療薬または予防薬として有用な、新規化合物の結晶を提供することである。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは上記目的で鋭意研究した結果、2-[4-(2, 2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1, 2, 3, 4-テトラゾール-1-イル)]

フェニル]－4－メチル－1，3－チアゾール－5－カルボン酸（以下、化合物（I）と表すこともある）は結晶化が可能であること、および少なくとも1種類の結晶多形体が存在することを見出した。

[0009] すなわち、本発明は、

[1] 2－[4－（2，2－ジメチルプロポキシ）－3－（1H－1，2，3，4－テトラゾール－1－イル）フェニル]－4－メチル－1，3－チアゾール－5－カルボン酸の結晶；

[2] A晶である、[1]の結晶；

[3] 粉末X線回折スペクトルにおいて、回折角 $2\theta = 7.2^\circ$ 、 11.3° 、 15.9° 、 17.9° 、 20.8° 、 22.3° 、 23.1° 、 23.8° 、 24.3° 、および 28.6° に特徴的なピークを有する、[2]の結晶；

[4] 粉末X線回折スペクトルが、図1に示すパターンを有する、[2]の結晶；

[5] 熱重量測定・示差熱分析における発熱ピークが 232°C である、[2]の結晶；

[6] [1]～[5]のいずれかの結晶、および製薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物；

[7] [1]～[5]のいずれかの結晶を有効成分として含有する、キサントキシダーゼ阻害薬；および

[8] [1]～[5]のいずれかの結晶を有効成分として含有する、痛風、高尿酸血症、腫瘍崩壊症候群、尿路結石、高血圧症、脂質異常症、糖尿病、心血管疾患、腎疾患、呼吸器疾患、炎症性腸疾患および自己免疫性疾患からなる群より選ばれる一つ以上の疾患の治療薬または予防薬；である。

発明の効果

[0010] 本発明により、痛風、高尿酸血症、腫瘍崩壊症候群、尿路結石、高血圧症、脂質異常症、糖尿病、動脈硬化症や心不全等の心血管疾患、糖尿病性腎症等の腎疾患、慢性閉塞性肺疾患等の呼吸器疾患、炎症性腸疾患または自己免

疫性疾患等、キサンチンオキシダーゼの関与する疾患の治療薬または予防薬として有用な、アゾールベンゼン誘導体の結晶が提供される。当該結晶は、医薬品製造用原体として用いることができる。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]図1は、A晶の粉末X線回折スペクトルである。

発明を実施するための形態

[0012] 「キサンチンオキシダーゼ」は、一般に、ヒポキサンチンからキサンチン、さらに尿酸への酸化反応を触媒する酵素という広義と、同反応を触媒する酵素の1つであるオキシダーゼ型のキサンチンオキシドレダクターゼという狭義で用いられるが、本発明において、「キサンチンオキシダーゼ」とは、特に断りのない限り、ヒポキサンチンからキサンチン、さらに尿酸への酸化反応を触媒する酵素を総称する。この反応を担うキサンチンオキシドレダクターゼには、オキシダーゼ型とデヒドロゲナーゼ型の2つの型が存在するが、いずれの型も本発明のキサンチンオキシダーゼに含まれる。「キサンチンオキシダーゼ阻害活性」、「キサンチンオキシダーゼ阻害剤」等においても、特に断りのない限り、「キサンチンオキシダーゼ」は上記定義と同じ意味を有する。

[0013] 本発明の結晶は、粉末X線回折スペクトル及び／又は熱重量測定・示差熱分析（TG／DTA）等によって特徴付けられる。本発明の結晶の粉末X線回折（XRD）スペクトルは特徴的なパターンを示し、特異的な回折角 2θ の値を有する。また、本発明の結晶は、熱重量測定・示差熱分析（TG／DTA）においても、それぞれに特徴的な熱挙動を示す。

[0014] 本発明のA晶は、粉末X線回折スペクトルにおいて、回折角 $2\theta = 7.2^\circ$ 、 11.3° 、 15.9° 、 17.9° 、 20.8° 、 22.3° 、 23.1° 、 23.8° 、 24.3° 、および 28.6° に特徴的なピークを有する。また、本発明のA晶は、粉末X線回折スペクトルにおいて、図1に示すパターンを有する。熱重量測定・示差熱分析（TG／DTA）において、 232°C に発熱ピークを有する。A晶は無水物晶である。

[0015] ここで「特徴的なピーク」とは各々の結晶多形の粉末X線回折スペクトルにおいて主に認められるピーク及び固有のピークを意味する。本発明の回折角で特定される結晶には、上記の特徴的なピーク以外のピークを認めるものも含まれる。

[0016] 粉末X線回折スペクトルにおける回折角 2θ の位置および相対強度は測定条件によって多少変動しうるものであるため、 2θ がわずかに異なる場合であっても、適宜スペクトル全体のパターンを参照して結晶形の同一性は認定されるべきであり、かかる誤差の範囲の結晶も本発明に含まれる。 2θ の誤差としては、例えば、 $\pm 0.5^\circ$ 、 $\pm 0.2^\circ$ が考えられる。すなわち、上記回折角で特定される結晶には、 $\pm 0.5^\circ$ ないし $\pm 0.2^\circ$ の範囲で一致するものも含まれる。

[0017] 熱重量測定・示差熱分析 (TG/DTA) において、「発熱ピーク」および「吸熱ピーク」とは、ピークの開始点の温度であり、外挿により求めた発熱および吸熱開始温度をいう。TG/DTAにおける吸熱および発熱ピークも測定条件によって多少変動しうる。誤差としては、例えば、 $\pm 5^\circ\text{C}$ 、 $\pm 2^\circ\text{C}$ の範囲が考えられる。すなわち、上記ピークで特定される結晶は、 $\pm 5^\circ\text{C}$ ないし $\pm 2^\circ\text{C}$ の範囲で一致するものも含まれる。

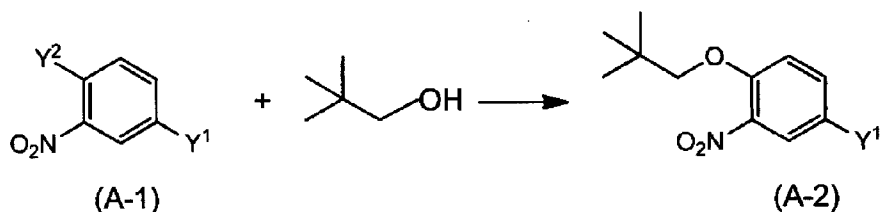
[0018] さらに、粉末X線回折スペクトル、TG/DTAいずれについても、結晶の標準品、例えば、本願実施例記載の方法により得られた各結晶の実測値と、本願記載の数値との差も、測定誤差として許容されうる。すなわち、かかる方法により算出された誤差範囲内で、回折角または吸熱および発熱ピークが一致する結晶も本発明の結晶に含まれる。

[0019] 2-〔4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル)フェニル〕-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボン酸のA晶は、例えば、以下の方法で合成することができる。

[0020] 化合物 (A-2) の合成

[0021]

[化1]



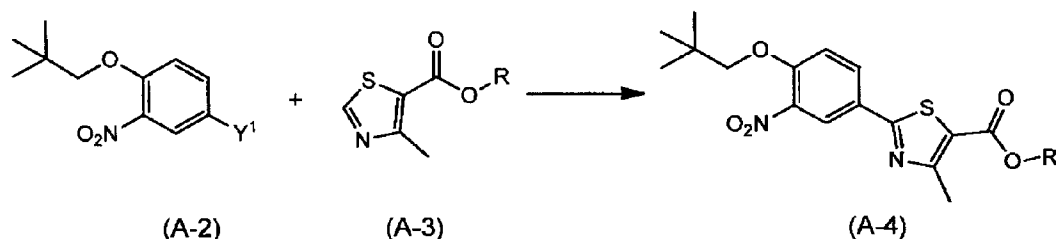
[0022] (式中、 Y^1 および Y^2 は脱離基を表す。)

[0023] Y^1 および Y^2 で示される脱離基としてはハロゲン原子、メタンスルホニルオキシ基、p-トルエンスルホニルオキシ基、トリフルオロメタンスルホニルオキシ基等が挙げられる。本反応は、化合物(A-1)における脱離基 Y^2 に塩基存在下で、ネオペンチルアルコールを反応させることにより化合物(A-2)を合成する方法である。用いる塩基としては、水素化ナトリウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸セシウム等の無機塩、ナトリウムエトキシド、ナトリウムメトキシド、t-ブトキシカリウム等の金属アルコキシド、トリエチルアミン、ピリジン、4-アミノピリジン、N-エチル-N,N-ジイソプロピルアミン(DIPEA)、1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセン(DBU)等の有機アミンが用いられる。本反応は、 0°C ~ 140°C 下で、反応に不活性な溶媒中、化合物(A-1)に対して等量、あるいは小過剰の塩基と、等量あるいは過剰量のネオペンチルアルコールを反応させた後に、化合物(A-1)を加え、通常0.5~16時間反応させることによって行われる。本反応は窒素等の不活性ガス雰囲気下で行うことが好ましい。ここに、溶媒としては特に限定はされないが、例えば、ベンゼン、トルエン、キシレン等の芳香族炭化水素類、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン(THF)、1,4-ジオキサン、1,2-ジメトキシエタン、1,2-ジエトキシエタン等のエーテル類、ジクロロメタン、1,2-ジクロロエタン、クロロホルム等のハロゲン化炭化水素類、N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)、N-メチルピロリドン、ジメチルスルホキシド(DMSO)

、水またはこれらの混合溶媒等が挙げられる。

[0024] 化合物（A-4）の合成

[0025] [化2]



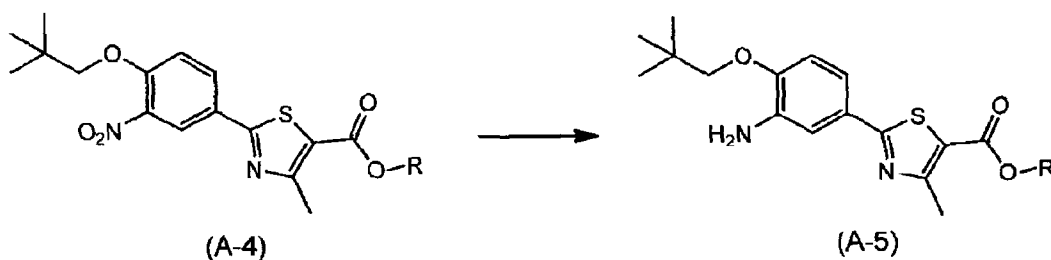
[0026] （式中、Rは炭素数1～6のアルキル基を表す。）

[0027] 本合成法は、化合物（A-2）と（A-3）とをカップリングさせることにより、化合物（A-4）を合成する方法である。Y¹で示される脱離基としてはハロゲン原子、メタンスルホニルオキシ基、p-トルエンスルホニルオキシ基、トリフルオロメタンスルホニルオキシ基等が挙げられる。本反応は化合物（A-2）と（A-3）を等量、あるいは一方を過剰に用い、反応に不活性な溶媒中、塩基および遷移金属触媒存在下、場合により配位子、カルボン酸および銅（Ⅰ価またはⅡ価）塩を加えて、室温～加熱還流下で、通常0.5時間～2日間反応させることによって行われる。本反応は窒素等の不活性ガス雰囲気下で行うことが好ましい。ここに、溶媒としては特に限定はされないが、例えば、ベンゼン、トルエン、キシレン等の芳香族炭化水素類、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン（THF）、1,4-ジオキサン、1,2-ジメトキシエタン、1,2-ジエトキシエタン等のエーテル類、ジクロロメタン、1,2-ジクロロエタン、クロロホルム等のハロゲン化炭化水素類、メタノール、エタノール、2-プロパノール、ブタノール等のアルコール類、N,N-ジメチルホルムアミド（DMF）、N-メチルピロリドン、ジメチルスルホキシド（DMSO）、水またはこれらの混合溶媒等が挙げられる。塩基としては、水素化リチウム、水素化ナトリウム、水素化カリウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリ

ウム、炭酸セシウム、フッ化カリウム、フッ化セシウム、リン酸三カリウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム等、炭素数 1～6 のアルコキシドの金属塩（リチウム塩、ナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩）、炭素数 1～6 のアルキルアニオンの金属塩（リチウム塩、ナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩）、テトラ（炭素数 1～4 のアルキル）アンモニウム塩（フッ化塩、塩化塩、臭化塩）、ジイソプロピルエチルアミン、トリブチルアミン、N-メチルモルホリン、ジアザビスクロウンデセン、ジアザビスクロオクタン、又はイミダゾール等が挙げられる。遷移金属触媒としては、銅、パラジウム、コバルト、鉄、ロジウム、ルテニウム、及びイリジウム等が挙げられる。配位子としては、トリ（*t*-ブチル）ホスフィン、トリ（シクロヘキシル）ホスフィン、*t*-ブチルジシクロヘキシルホスフィン、ジ（*t*-ブチル）シクロヘキシルホスフィン、又はジ（*t*-ブチル）メチルホスフィン等が挙げられる。銅（Ⅰ価またはⅡ価）塩としては、塩化銅（Ⅰ）、臭化銅（Ⅰ）、ヨウ化銅（Ⅰ）、酢酸銅（Ⅰ）、フッ化銅（ⅠⅠ）、塩化銅（ⅠⅠ）、臭化銅（ⅠⅠ）、ヨウ化銅（ⅠⅠ）、酢酸銅（ⅠⅠ）及びこれらの水和物、ならびにこれらの混合物等が挙げられる。カルボン酸としては、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、*n*-ブチル酸、イソブチル酸、ペンタン酸、イソペンタン酸、ピバル酸、及びトリフルオロ酢酸等が挙げられる。

[0028] 化合物（A-5）の合成

[0029] [化3]



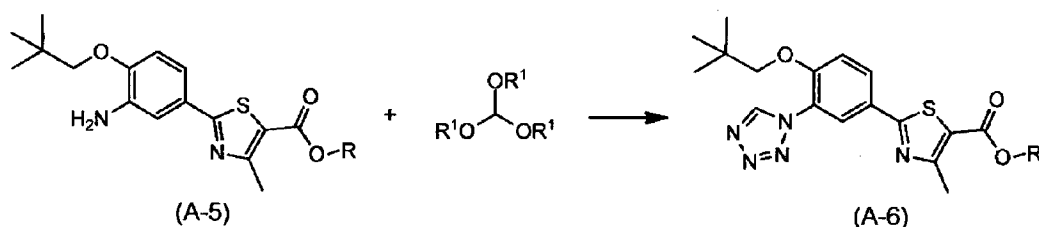
[0030] （式中、Rは炭素数 1～6 のアルキル基を表す。）

[0031] 本合成法は、化合物（A-4）のニトロ基を還元することにより、化合物

(A-5)を合成する方法である。本反応は、化合物(A-4)を、反応に不活性な溶媒中、遷移金属触媒存在下、水素ガス雰囲気下、室温～加熱還流下で、通常0.5時間～2日間反応させることによって行われる。ここに、溶媒としては特に限定はされないが、例えば、ベンゼン、トルエン、キシレン等の芳香族炭化水素類、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン(THF)、1,4-ジオキサン、1,2-ジメトキシエタン、1,2-ジエトキシエタン等のエーテル類、ジクロロメタン、1,2-ジクロロエタン、クロロホルム等のハロゲン化炭化水素類、メタノール、エタノール、2-プロパノール、ブタノール等のアルコール類、N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)、N-メチルピロリドン、ジメチルスルホキシド(DMSO)、酢酸エチルまたはこれらの混合溶媒等が挙げられる。遷移金属触媒としては、パラジウム-炭素、水酸化パラジウム、パラジウムブラック、白金-炭素、ラネ-ニッケル等が好ましい。

[0032] 化合物 (A-6) : 2-[4-(2, 2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1, 2, 3, 4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1, 3-チアゾール-5-カルボン酸のアルキルエステルの合成

[0033] [化4]



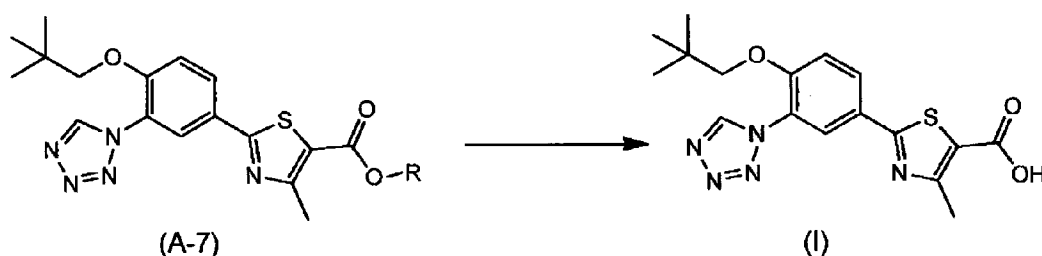
[0034] (式中、RおよびR¹は、独立して、炭素数1～6のアルキル基を表す。)

[0035] 本合成法は、化合物（A-5）とオルトギ酸エステルとアジド化合物を反応させてテトラゾール環を合成する方法である。本反応は、化合物（A-5）、オルトギ酸エステルとアジド化合物を等量、あるいはいずれかを過剰に用い、反応に不活性な溶媒中、酸存在下、室温～加熱還流下で、通常0.5時間～2日間反応させることによって行われる。本反応は窒素等の不活性ガ

ス雰囲気下で行うことが好ましい。オルトギ酸エステルとしては、オルトギ酸トリメチル及びオルトギ酸トリエチル等が挙げられる。また、アジド化合物としては、ナトリウムアジド、トリメチルシリルアジド等が挙げられる。用いる酸としてはギ酸、酢酸等の有機酸、塩酸、硫酸等の無機酸、インジウムトリフラート、イッテリビウムトリフラート、亜鉛トリフラート、トリクロロインジウム等のルイス酸が挙げられる。これらの反応に用いられる溶媒としては特に限定はされないが、例えば、ベンゼン、トルエン、ジクロロメタン、ジクロロエタン、クロロホルム、四塩化炭素、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン（THF）、1,4-ジオキサン、1,2-ジメトキシエタン、1,2-ジエトキシエタン、N,N-ジメチルホルムアミド（DMF）、N-メチルピロリドン、ジメチルスルホキシド（DMSO）またはこれらの混合溶媒等が挙げられ、酢酸等の酸を溶媒として用いてもよい。

[0036] 化合物（I）：2-〔4-（2,2-ジメチルプロポキシ）-3-（1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル）フェニル〕-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボン酸のA晶の合成

[0037] [化5]



[0038] （式中、Rは、炭素数1～6のアルキル基を表す。）

[0039] 化合物（I）のA晶は、化合物（A-7）を溶媒に懸濁し、塩基の水溶液を添加して加水分解する工程、および反応物を中和する工程を含む方法により製造することができる。また、前記方法において、中和物に水を添加する工程、次いで反応溶液を攪拌する工程を含むことができる。化合物（A-7）を懸濁する溶媒としては、例えば、ベンゼン、トルエン、キシレン等の芳

香族炭化水素類、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン（THF）、1, 4-ジオキサン、1, 2-ジメトキシエタン、1, 2-ジエトキシエタン等のエーテル類、ジクロロメタン、1, 2-ジクロロエタン、クロロホルム等のハロゲン化炭化水素類、メタノール、エタノール、2-プロパノール、ブタノール等のアルコール類、N, N-ジメチルホルムアミド（DMF）、N-メチルピロリドン、ジメチルスルホキシド（DMSO）、水またはこれらの混合溶媒等が挙げられる。好ましくは、エーテル類もしくはアルコール類、水またはこれらの混合溶媒である。

[0040] 化合物（A-7）において、Rは、炭素数1～6のアルキル基が好ましく、エチル基がより好ましい。ここで、アルキル基とは、直鎖または分岐鎖の脂肪族飽和炭化水素基をいう。炭素数1～6のアルキル基としては、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、*tert*-ブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、ヘキシル基等を具体例として挙げるができる。

[0041] 化合物（A-7）から化合物（1）への加水分解反応は、化合物（A-7）を上記溶媒（例えば、化合物（A-7）の15倍量）に懸濁させた後、化合物（A-7）に等量、あるいは小過剰の塩基を反応させることで進行する。好ましい塩基としては、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウムを挙げるができる。本反応は0℃から100℃で進行するが、好ましくは20-30℃である。加水分解反応後、使用した塩基と等量、あるいは小過剰の酸を反応させることで中和する。好ましい酸としては、塩酸を挙げるができる。中和反応は0℃から100℃で進行するが、好ましくは0-30℃である。

[0042] 次いで、中和させた反応物に水（例えば、化合物（A-7）の5倍量）を加え、1時間攪拌した後、析出物を濾取、乾燥して結晶を得る。溶媒量、水の添加量、攪拌条件、濾別までの時間は特に限定されないが、それらの条件が結晶の収率、化学純度、粒子径、粒度分布などに影響することがあるので、目的に応じて組み合わせて設定することが好ましい。濾取は通常の方法、

例えば自然濾過、加圧濾過、減圧濾過、または遠心分離を用いることができる。乾燥は通常の方法、例えば自然乾燥、減圧乾燥、加熱乾燥、減圧加熱乾燥を用いることができる。上記反応の中間体化合物は、合成過程において、必要であれば、再結晶、再沈殿又は種々のクロマトグラフィー法などの常法により精製することができる。

[0043] 本発明の結晶は、特徴的な粉末X線回折スペクトルや熱重量測定・示差熱分析（TG／DTA）によって識別できるが、他の結晶形が存在する場合、その混入率という点について言及するものではない。特定の結晶を単独で得る場合、少なくとも、これらの測定方法によって検出できない程度の混入であれば許容される。また、医薬として特定の結晶を原体として使用する場合、他結晶の含有を許容しない趣旨でもない。

[0044] 本発明の結晶は、医薬の有効成分として用いることができる。また、他の結晶形が存在する場合、単独の結晶のみならず、2種以上の混合物で用いることができる。

[0045] 本発明において、2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチルー1,3-チアゾール-5-カルボン酸の結晶を得ることにより、結晶でないものに比べ、製造時の取り扱いや再現性、安定性、また、保存安定性などが有利となる。

[0046] 本発明の結晶と、医薬上許容される担体を用いて医薬組成物とすることができる。

本発明の結晶を含有する製剤は、通常製剤化に用いられる添加剤を用いて調製される。それら添加剤としては、固形製剤の場合、乳糖、白糖、ブドウ糖、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、結晶セルロース、軽質無水ケイ酸、合成ケイ酸アルミニウム、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム、及びリン酸水素カルシウム等の賦形剤；結晶セルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、及びポリビニルピロリドン等の結合剤；デンプン、カルボキシ

メチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、クロスカルメロースナトリウム、及びカルボキシメチルスターチナトリウム等の崩壊剤；タルク、及びステアリン酸類等の滑沢剤；ヒドロキシメチルプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、及びエチルセルロース等のコーティング剤；着色剤；半固形製剤の場合、白色ワセリン等の基剤、液状製剤の場合、エタノール等の溶剤、エタノール等の溶解補助剤、パラオキシ安息香酸エステル類等の保存剤、ブドウ糖等の等張化剤、クエン酸類等の緩衝剤、Ｌ－アスコルビン酸等の抗酸化剤、ＥＤＴＡ等のキレート剤、及びポリソルベート８０等の懸濁化剤・乳化剤、等を挙げることができる。

[0047] 本発明の結晶は、固形製剤、半固形製剤、及び液状製剤等のいずれの剤形、経口剤及び非経口剤（注射剤、経皮剤、点眼剤、坐剤、経鼻剤、および吸入剤等）のいずれの適用製剤であっても使用することができる。

[0048] 本発明の結晶を有効成分として含有する医薬組成物は、キサンチンオキシダーゼ阻害薬、もしくは痛風、高尿酸血症、腫瘍崩壊症候群、尿路結石、高血圧症、脂質異常症、糖尿病、動脈硬化症や心不全等の心血管疾患、糖尿病性腎症等の腎疾患、慢性閉塞性肺疾患等の呼吸器疾患、炎症性腸疾患または自己免疫性疾患等、キサンチンオキシダーゼの関与する疾患の治療薬または予防薬として用いることができる。ここで、「予防」とは、未だ罹患または発症をしていない個体において、罹患または発症を未然に防ぐことであり、「治療」とは既に罹患または発症した個体において、疾患や症状を治癒、抑制または改善させることをいう。

実施例

[0049] [測定方法]

本発明の結晶の粉末X線回折は、以下の条件で測定した。

装置：ブルカー・エイエックスエス製D8 DISCOVER With
GADDS CS

線源：Cu・K α ，波長：1.541838（10⁻¹⁰m）、40kV－40

m A、入射側平板グラファイトモノクロメータ、コリメータ $\phi 300 \mu\text{m}$ 、
2次元PSPC検出器、スキャン $3 \sim 40^\circ$

本発明の結晶の熱重量測定・示差熱分析 (TG/DTA) は、以下の条件
で測定した。

装置：リガク製TG8120

昇温速度：毎分 10°C 、雰囲気：窒素、サンプルパン：アルミニウム、リフ
ァレンス：アルミナ、サンプリング：1.0秒、測定温度範囲： $25 \sim 300^\circ\text{C}$

^1H NMRスペクトル (400MHz 、 $\text{DMSO}-d_6$ または CDCl_3)
を測定したものについては、その化学シフト (δ : ppm) およびカップリ
ング定数 (J : Hz) を示す。以下の略号はそれぞれ次のものを表す。

装置：JEOL製JMT-C400/54/SS

s=singlet、d=doublet、t=triplet、q=qu
artet、brs=broad singlet、m=multiple
t

[0050] [参考例1]

エチル 2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1,3-チ
アゾール-5-カルボキシレートの製造

(1) ネオペンチルアルコール1.06gをトルエン40.0mLに懸濁さ
せ、窒素雰囲気下、 0°C に冷却させた後、t-ブトキシカリウム1.35g
を加えて、 0°C で30分間攪拌させた。次に 0°C にて、4-ブロモ-1-フ
ルオロ-2-ニトロベンゼン2.20gを加えた後に、室温まで昇温させて
、室温にて2時間攪拌した。反応混合液に水を加え、酢酸エチルで抽出した
。有機層を食塩水で洗浄後、乾燥、減圧濃縮を行い、4-ブロモ-1-(2,
2-ジメチルプロポキシ)-2-ニトロベンゼン3.12gを得た。

(2) 4-ブロモ-1-(2,2-ジメチルプロポキシ)-2-ニトロベン
ゼン4.18gに炭酸水素化カリウム3.04g、塩化パラジウム(II)

63 mg、臭化銅 (I) 297 mg を加え、トルエン 45 mL に懸濁させた。その後にエチル 4-メチル-1, 3-チアゾール-5-カルボキシレート 2.97 g、イソ酪酸 133 μ L 及びジ-*t*-ブチルシクロヘキシルホスフィン 333 μ L を加えて、窒素雰囲気下、120°C で 14 時間加熱した。反応混合液をセライトろ過して不溶物を取り除き、ろ液に水を加え、酢酸エチルで抽出した。有機層を食塩水で洗浄後、乾燥、減圧濃縮した後に常法により精製し、エチル 2-[4-(2, 2-ジメチルプロポキシ)-3-ニトロフェニル]-4-メチル-1, 3-チアゾール-5-カルボキシレート 5.13 g を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.08 (9H, s), 1.39 (3H, t, $J=6.8$ Hz), 2.77 (3H, s), 3.79 (2H, s), 4.36 (2H, q, $J=6.8$ Hz), 7.12 (1H, d, $J=8.8$ Hz), 8.10 (1H, dd, $J=2.0, 8.8$ Hz), 8.45 (1H, d, $J=2.0$ Hz)

(3) エチル 2-[4-(2, 2-ジメチルプロポキシ)-3-ニトロフェニル]-4-メチル-1, 3-チアゾール-5-カルボキシレート 5.13 g をエタノール 50 mL に懸濁させ、パラジウム/炭素 (10% w t) 500 mg を加えた後に、水素雰囲気下、50°C で 20 時間攪拌した。反応混合液をろ過し、ろ液を減圧濃縮することで、エチル 2-[3-アミノ-4-(2, 2-ジメチルプロポキシ)フェニル]-4-メチル-1, 3-チアゾール-5-カルボキシレート 4.66 g を得た。

(4) エチル 2-[3-アミノ-4-(2, 2-ジメチルプロポキシ)フェニル]-4-メチル-1, 3-チアゾール-5-カルボキシレート 2.58 g を酢酸 30 mL に懸濁させた後、アジ化ナトリウム 962 mg、オルトギ酸トリエチル 2.19 g を加え、窒素雰囲気下、70°C で 2 時間加熱した。室温まで冷却させた後に反応混合液に水 20 mL を加え、常法により精製し、エチル 2-[4-(2, 2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1, 2, 3, 4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1, 3-

ーチアゾールー5ーカルボキシレート2.78gを得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1.00 (9H, s), 1.39 (3H, t, $J=6.8\text{ Hz}$), 2.78 (3H, s), 3.82 (2H, s), 4.36 (2H, q, $J=6.8\text{ Hz}$), 7.18 (1H, d, $J=8.8\text{ Hz}$), 8.08 (1H, dd, $J=2.4, 8.8\text{ Hz}$), 8.42 (1H, d, $J=2.4\text{ Hz}$), 9.19 (1H, s)

[0051] [実施例1]

2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾールー1-イル)フェニル]-4-メチルー1,3-チアゾールー5-カルボン酸のA晶の製造

エチル 2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾールー1-イル)フェニル]-4-メチルー1,3-チアゾールー5-カルボキシレート2.58gをテトラヒドロフラン/メタノール=1/1の混合溶液30.0Lに溶解し、2M水酸化ナトリウム水溶液6.50mLを加えて、20-30℃で3時間攪拌した。20-30℃で攪拌しながら反応混合液に2M塩酸6.50mLをゆっくりと加え、さらに水17.0mLをゆっくりと加えた。反応溶液を20-30℃で1時間攪拌した後、結晶を濾取した。得られた結晶を、メタノール/水=1/1の混合溶媒7.0mLおよび水7.0mLで洗浄した。結晶を50℃で減圧乾燥し、2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾールー1-イル)フェニル]-4-メチルー1,3-チアゾールー5-カルボン酸の結晶2.25gを得た。得られた結晶のXRDを図1に示す。回折角 $2\theta=7.2^\circ$ 、 11.3° 、 15.9° 、 17.9° 、 20.8° 、 22.3° 、 23.1° 、 23.8° 、 24.3° 、および 28.6° にピークが観測された。また、熱重量測定・示差熱分析(TG/DTA)における発熱ピークは、 232°C であった。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ : 0.83 (9H, s), 2.66 (3H, s), 3.83 (2H, s), 7.47 (1H, d, $J=8$

, 8 Hz), 8.18 (1H, dd, J=2.4, 8.8 Hz), 8.27 (1H, d, J=2.0 Hz), 9.78 (1H, s), 13.40 (1H, s)

[0052] [参考例2]

2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボン酸の製造

エチル 2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボキシレート 307 mg をテトラヒドロフラン/メタノール=1/1の混合溶液 8.0 mL に溶解し、2 M 水酸化ナトリウム水溶液 1.0 mL を加えて、室温で3時間攪拌した。反応混合液に 2 M 塩酸 1.0 mL を加えて攪拌した後に、水 6.0 mL を加え、常法により精製し、2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボン酸 244 mg を得た。

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ: 0.83 (9H, s), 2.66 (3H, s), 3.83 (2H, s), 7.47 (1H, d, J=8.8 Hz), 8.18 (1H, dd, J=2.4, 8.8 Hz), 8.27 (1H, d, J=2.0 Hz), 9.78 (1H, s), 13.40 (1H, s)

[0053] [参考例3]

キサントニンオキシダーゼ阻害活性の測定

(1) 試験化合物の調製

2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボン酸を DMSO (シグマ社製) に 20 mM の濃度になるように溶解した後、使用時の目的の濃度に調製して用いた。

(2) 測定方法

2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボン酸のキサンチンオキシダーゼ阻害活性評価を文献記載の方法 (Method Enzymatic Analysis, 1,521-522, 1974) を一部改変して実施した。本評価は、オキシダーゼ型のキサンチンオキシドレダクターゼ活性の測定により行われた。すなわち、あらかじめ20 mM水酸化ナトリウム溶液にて10 mMに調製したキサンチン (シグマ社製) 溶液を100 mMリン酸緩衝液を用いて30 μ Mに調製し、96穴プレートに75 μ L/穴ずつ加えた。最終濃度の100倍になるようにDMSOにて希釈した試験化合物を1.5 μ L/穴ずつ添加し、ミキシング後にマイクロプレートリーダーSPECTRA max Plus 384 (モレキュラーデバイス社製) にて290 nmの吸光度を測定した。続けてオキシダーゼ型キサンチンオキシドレダクターゼ (バターミルク由来、CaliBiochem社製) を100 mMリン酸緩衝液を用いて30.6 mU/mLに調製し、73.5 μ L/穴ずつ加えた。ミキシング後速やかに290 nmにおける吸光度変化を5分間測定した。試験化合物溶液の代わりにDMSOを添加したときの酵素活性を100%として試験化合物の阻害率を計算し、用量応答曲線にフィットさせてオキシダーゼ型キサンチンオキシドレダクターゼに対する50%阻害濃度を計算した。

2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボン酸は、 $1.0 \text{ nM} \leq \text{IC}_{50} < 5.0 \text{ nM}$ のキサンチンオキシダーゼ阻害活性を示した。

[0054] [参考例4]

血中尿酸低下作用 (正常ラット)

2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボン酸の血中尿酸低下作用を確認した。8~9週齢のSpr

g u e - D a w l e y 系雄性ラット（日本チャールス・リバー株式会社）に 0.5%メチルセルロース液に懸濁した試験化合物を経口ゾンデを用いて強制投与した。投与後2時間に尾静脈より採血した後、血漿を分離した。血中尿酸値は尿酸測定キット（LタイプワコーUA・F：和光純薬工業）を用いて、ウリカーゼ法にて吸光度計を用いて測定し、尿酸低下率を下式により求めた。

尿酸低下率（%）＝（対照動物の尿酸値－試験化合物投与動物の尿酸値）× 100／対照動物の尿酸値

2－[4－（2，2－ジメチルプロポキシ）－3－（1H－1，2，3，4－テトラゾール－1－イル）フェニル]－4－メチル－1，3－チアゾール－5－カルボン酸は、10mg/kg、1mg/kg、いずれの用量においても尿酸低下率50%以上を示した。

この結果から、2－[4－（2，2－ジメチルプロポキシ）－3－（1H－1，2，3，4－テトラゾール－1－イル）フェニル]－4－メチル－1，3－チアゾール－5－カルボン酸が強力な血中尿酸低下効果を有することが示された。

[0055] [参考例5]

血中尿酸低下作用の持続性（正常ラット）

2－[4－（2，2－ジメチルプロポキシ）－3－（1H－1，2，3，4－テトラゾール－1－イル）フェニル]－4－メチル－1，3－チアゾール－5－カルボン酸を、参考例4と同じ方法でSprague-Dawley系雄性ラットに投与した。投与後24時間に尾静脈より採血した後、血漿を分離した。血中尿酸値は尿酸測定キット（LタイプワコーUA・F：和光純薬工業）を用いて、ウリカーゼ法にて吸光度計を用いて測定し、尿酸低下率を下式により求めた。

尿酸低下率（%）＝（対照動物の尿酸値－試験化合物投与動物の尿酸値）× 100／対照動物の尿酸値

2－[4－（2，2－ジメチルプロポキシ）－3－（1H－1，2，3，

4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボン酸は、投与後24時間において、10mg/kgの用量で尿酸低下率50%以上を示し、3mg/kgの用量で尿酸低下率40%以上を示した。

この結果から、2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボン酸が長時間にわたる持続的な血中尿酸低下効果を有することが示された。

[0056] [参考例6]

血中尿酸低下作用 (ビーグル犬)

2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボン酸について、ビーグル犬における血中尿酸低下作用を確認した。ビーグル犬(北山ラベス)に0.5%メチルセルロース液に懸濁した試験化合物を強制経口投与した。投与後8時間に橈側皮静脈より採血した後、血漿を分離した。血中尿酸値はLC-MS/MS法を用いて測定し、尿酸低下率を下式により求めた。

尿酸低下率 (%)

$$= (\text{対照動物の尿酸値} - \text{試験化合物投与動物の尿酸値}) \times 100 / \text{対照動物の尿酸値}$$

2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボン酸は、10mg/kgの用量において、投与後8時間において、尿酸低下率80%以上を示した。

この結果から本発明の化合物がイヌにおいて強力な血中尿酸低下効果を有することが示された。

[0057] [参考例7]

組織および血漿におけるキサンチンオキシダーゼ阻害活性の持続性

本発明の「キサンチンオキシダーゼ」について、本実施例に限り、オキシダーゼ型のキサンチンオキシドレダクターゼが担う酸化反応触媒活性と、オキシダーゼ型とデヒドロゲナーゼ型両方のキサンチンオキシドレダクターゼが担う酸化反応触媒活性とを区別するために、前者を「XO活性」、後者を「XOR活性」と称する。「組織XO活性」、「血漿XO活性」、「組織XO阻害活性」、「組織XOR阻害活性」等についても、「XO活性」および「XOR活性」は同じ意味を有する。「組織」には、肝臓、腎臓、脂肪組織、腸、血管が含まれる。なお、本試験における同一サンプルにおけるXOR活性阻害率とXO活性阻害率は同程度の数値となるものと考えられている。

[0058] 2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボン酸について、組織XO活性、組織XOR活性および血漿XO活性を確認した。7～9週齢のSprague-Dawley系雄性ラット（日本チャールス・リバー株式会社）に0.5%メチルセルロース液に懸濁した試験化合物を経口ゾンデを用いて強制投与した。投与後24時間または27時間後に腹大動脈からの採血および組織の採材を行った。得られた血液は遠心分離し、血漿を採取した。

[0059] 組織XO活性、組織XOR活性および血漿XO活性は、pterinがそれぞれの型のキサンチンオキシドレダクターゼにより酸化され蛍光物質であるisoxanthopterinが生成される反応を用いて測定した。組織を各組織濃度が肝臓：25mg/mL、腎臓：25mg/mL、脂肪：5mg/mL、腸：5mg/mL、血管：30mg/mLとなるように、1mMEDTAおよびプロテアーゼ阻害剤を含んだpH7.4のリン酸カリウム溶液でホモジナイズし、4℃、12000rpmで15分遠心した。XO活性の測定時は組織ホモネートの上清または血漿を50μM pterinを含んだ溶液と混合し37℃で反応させた。XOR活性の測定時は、組織ホモネートの上清を50μM pterinおよび50μM Methylene Blueを含んだ溶液と混合し37℃で反応させた。コントロール

としてオキシダーゼ型キサンチンオキシドレダクターゼ（バターミルク由来、Calbiochem社製）と50 μ M pterinを含んだ溶液を同様の方法で反応させた。生成されたisoxanthopterinの蛍光強度を測定し、コントロールの酵素活性およびタンパク濃度で補正しXOまたはXOR活性として算出した。

XO阻害活性およびXOR阻害活性は下式により求めた。

XO阻害活性（％）＝（対照動物のXO活性またはXOR活性－試験化合物投与動物のXO活性またはXOR活性） $\times$ 100／対照動物のXO活性またはXOR活性

投与約27時間後の組織および血漿XO阻害活性を次の表に示す。

[0060] [表1]

組織及び血漿中XO阻害活性
（投与後約27時間解剖時）

% of inhibition (vs. vehicle)		
用量 (mg/kg)	1	10
肝臓	80%以上	80%以上
腎臓	60%以上	70%以上
血漿	25%以上	40%以上

[0061] 2－[4－（2，2－ジメチルプロポキシ）－3－（1H－1，2，3，4－テトラゾール－1－イル）フェニル]－4－メチル－1，3－チアゾール－5－カルボン酸は、10mg/kgの用量において、投与後27時間の肝臓のXO活性を対照動物と比較して80%以上阻害し、投与後27時間の腎臓のXO活性を対照動物と比較して70%以上阻害し、投与後27時間の血漿のXO活性を対照動物と比較して40%以上阻害した。

[0062] 2－[4－（2，2－ジメチルプロポキシ）－3－（1H－1，2，3，

4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボン酸は、1 mg/kgの用量において、投与後27時間の肝臓のXO活性を対照動物と比較して80%以上阻害し、投与後27時間の腎臓のXO活性を対照動物と比較して60%以上阻害し、投与後27時間の血漿のXO活性を対照動物と比較して25%以上阻害した。

また、投与24時間後の組織XOR阻害活性を次の表に示す。

[0063] [表2]

組織中XOR阻害活性 (投与後24時間解剖時) % of inhibition (vs. vehicle)		
用量 (mg/kg)	1	10
肝臓	80%以上	80%以上
血管	30%以上	50%以上

[0064] 2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,2,3,4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1,3-チアゾール-5-カルボン酸は10 mg/kgの用量において、投与後24時間の肝臓のXOR活性を対照動物と比較して80%以上阻害し、投与後24時間の血管のXOR活性を対照動物と比較して50%以上阻害した。

また、1 mg/kgの用量において、投与後24時間の肝臓のXOR活性を対照動物と比較して80%以上阻害し、投与後24時間の血管XOR活性を対照動物と比較して30%以上阻害した。

以上の結果から、本発明の化合物が各組織において長時間にわたる持続的なXO活性、XOR活性阻害作用を有することが示された。

産業上の利用可能性

[0065] 本発明の2-[4-(2,2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1,

2, 3, 4-テトラゾール-1-イル)フェニル]-4-メチル-1, 3-チアゾール-5-カルボン酸の結晶は、医薬品として用いられる。さらに、当該結晶は、医薬品製造用原体として用いることができる。

請求の範囲

- [請求項1] 2-〔4-(2, 2-ジメチルプロポキシ)-3-(1H-1, 2, 3, 4-テトラゾール-1-イル)フェニル〕-4-メチル-1, 3-チアゾール-5-カルボン酸の結晶。
- [請求項2] A晶である、請求項1に記載の結晶。
- [請求項3] 粉末X線回折スペクトルにおいて、回折角 $2\theta = 7.2^\circ$ 、 11.3° 、 15.9° 、 17.9° 、 20.8° 、 22.3° 、 23.1° 、 23.8° 、 24.3° 、および 28.6° に特徴的なピークを有する、請求項2に記載の結晶。
- [請求項4] 粉末X線回折スペクトルが、図1に示すパターンを有する、請求項2に記載の結晶。
- [請求項5] 熱重量測定・示差熱分析における発熱ピークが 232°C である、請求項2に記載の結晶。
- [請求項6] 請求項1～5のいずれか1項に記載の結晶、および製薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。
- [請求項7] 請求項1～5のいずれか1項に記載の結晶を有効成分として含有する、キサンチンオキシダーゼ阻害薬。
- [請求項8] 請求項1～5のいずれか1項に記載の結晶を有効成分として含有する、痛風、高尿酸血症、腫瘍崩壊症候群、尿路結石、高血圧症、脂質異常症、糖尿病、心血管疾患、腎疾患、呼吸器疾患、炎症性腸疾患および自己免疫性疾患からなる群より選ばれる一つ以上の疾患の治療薬または予防薬。