

(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
2023年11月16日(16.11.2023)



(10) 国際公開番号

WO 2023/219152 A1

(51) 国際特許分類:

C07C 269/08 (2006.01) C12N 9/06 (2006.01)
C07C 227/28 (2006.01) C12N 15/31 (2006.01)
C07C 229/12 (2006.01) C12N 15/53 (2006.01)
C07C 271/22 (2006.01) C12P 13/04 (2006.01)
C07K 1/00 (2006.01)

浜市戸塚区戸塚町216番地 中外製薬株式会社内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 長谷川 芳樹, 外(HASEGAWA Yoshiki et al.); 〒1000005 東京都千代田区丸の内二丁目1番1号丸の内 M Y P L A Z A (明治安田生命ビル) 9階 創英国際特許法律事務所 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2023/017844

(22) 国際出願日: 2023年5月12日(12.05.2023)

(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 2022-079708 2022年5月13日(13.05.2022) JP
特願 2022-079712 2022年5月13日(13.05.2022) JP
PCT/JP2022/047741 2022年12月23日(23.12.2022) JP
22216504.5 2022年12月23日(23.12.2022) EP
111149813 2022年12月23日(23.12.2022) TW

(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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(71) 出願人: 中外製薬株式会社(CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒1158543 東京都北区浮間5丁目5番1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 江島 大貴(EJIMA Hirotaka); 〒2478530 神奈川県鎌倉市梶原200番地 中外製薬株式会社内 Kanagawa (JP). 篠田 清道(SHINODA Kiyomichi); 〒2448602 神奈川県横

(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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, 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, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT,

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING SALT OF AMINO ACID OR SALT OF PEPTIDE COMPOUND OR SOLVATE OF EITHER ONE OF SAID SALTS COMPRISING LITHIUM SALT PRECIPITATION STEP

(54) 発明の名称: リチウム塩の析出工程を含む、アミノ酸の塩若しくはペプチド化合物の塩又はこれらの溶媒和物の製造方法

(57) Abstract: One aspect of the present invention relates to a method for producing a salt of an amino acid, a salt of a peptide compound, or a solvate of either one of the salts, the method comprising the following steps (A) and (B). Step (A): a step for bringing a material to be purified which is a mixture of a component (i) that is a purification target substance and a component (ii) that is an impurity into contact with a lithium-containing substance, in which the component (i) is the amino acid having a protecting group at the N-terminal thereof or the peptide compound having a protecting group at the N-terminal thereof and the component (ii) is a compound other than the purification target substance. Step (B): a step for precipitating a lithium salt that is the purification target substance.

(57) 要約: 本発明の一側面は、以下の工程 (A) 及び (B) を含む、アミノ酸の塩若しくはペプチド化合物の塩又はこれらの溶媒和物の製造方法に関する。工程 (A) ; 精製目的物である以下 (i) と不純物である以下 (ii) との混合物である精製対象物にリチウム含有物質を接触させる工程、 (i) N末端に保護基を有する上記アミノ酸又はN末端に保護基を有する上記ペプチド化合物 (ii) 上記精製目的物以外の化合物、工程 (B) ; 上記精製目的物のリチウム塩を析出させる工程。

WO 2023/219152 A1

RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

規則4.17に規定する申立て：

- 出願し及び特許を与えられる出願人の資格に関する申立て（規則4.17(ii)）

添付公開書類：

- 国際調査報告（条約第21条(3)）
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト（規則5.2(a)）

明 細 書

発明の名称：

リチウム塩の析出工程を含む、アミノ酸の塩若しくはペプチド化合物の塩又はこれらの溶媒和物の製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、リチウム塩の析出工程を含む、アミノ酸の塩若しくはペプチド化合物の塩又はこれらの溶媒和物の製造方法に関する。

背景技術

[0002] アミノ酸の塩若しくはペプチド化合物の塩又はこれらの溶媒和物は、医薬品の候補分子又はその合成中間体になり得る重要な化合物である。アミノ酸の塩又はペプチド化合物の塩又はこれらの溶媒和物の精製方法としては、それらの末端を保護又は修飾した上で精製する方法が知られている。

[0003] 例えば特許文献1には、光学活性3-クロロアラニン誘導体を用いて、2位及び／又は4位がニトロ基で置換されたベンゼンスルホニル基でアミノ基が保護された光学活性アジリジン-2-カルボン酸誘導体、又は、2位及び／又は4位がニトロ基で置換されたベンゼンスルホニル基でアミノ基が保護された光学活性3-ハロアラニン誘導体を経由することが開示されている。

[0004] また、特許文献2には、 β -ヒドロキシ- α -アミノカルボン酸（但し、 α 位のアミノ基の塩基性はアミノ基の置換基の存在により遮蔽されていない）又はその酸との塩をハロゲン化剤で処理することにより、水酸基をハロゲン化することを特徴とする、 β -ハロゲノ- α -アミノカルボン酸又はその塩の製造方法が開示されている。

[0005] ここで、保護基として広く用いられているFmoc基（9-フルオレニルメチルオキシカルボニル基）について、非特許文献1には、Fmoc基でペプチド化合物を保護すると、副生成物としてFmoc- β -アラニンが生成すること、Fmoc- β -アラニンがFmoc-OSu（Fmoc-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル）に由来することが示されている。Fmoc

c-O-Suは、アミノ酸又はペプチド化合物をFmoc基で保護する際に一般的に使用される原料の一つである。Fmoc基以外の汎用的な保護基（例えばtert-ブトキシカルボニル基（Boc基）、ベンジルオキシカルボニル基（Cbz基）等）が用いられる場合でも、その保護基を有するβ-アラニンが不純物として生成することがあり、これらの不純物を高精度に除去することで、創薬の候補分子又はその合成中間体の純度を向上することが求められていた。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：国際公開第2001/060795号

特許文献2：国際公開第1999/033785号

非特許文献

[0007] 非特許文献1：M. Obkircher et al., “Formation of Fmoc-β-alanine during Fmoc-protections with Fmoc-Osu”, Journal of Peptide Science, Volume 14, Issue 6, June 2008, Pages 763-766

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] しかし、β-アラニン又はその誘導体を始めとした不純物の含有率を低減し、目的とするアミノ酸の塩若しくはペプチド化合物の塩又はこれらの溶媒和物を高純度で精製することは困難であった。そこで、本発明の課題は、高純度なアミノ酸の塩若しくはペプチド化合物の塩又はこれらの溶媒和物を得るための方法を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0009] [1] 以下の工程（A）及び（B）を含む、アミノ酸の塩若しくはペプチド化合物の塩又はこれらの溶媒和物の製造方法：

工程（A）；精製目的物である以下（i）と不純物である以下（ii）との混合物である精製対象物にリチウム含有物質を接触させる工程、

(i) N末端に保護基を有する上記アミノ酸又はN末端に保護基を有する上記ペプチド化合物

(ii) 上記精製目的物以外の化合物、

工程(B)；上記精製目的物のリチウム塩を析出させる工程。

[2] 以下の工程(A)及び(B)を含む、精製対象物から不純物を除去する方法：

工程(A)；精製目的物である以下(i)と不純物である以下(ii)との混合物である精製対象物にリチウム含有物質を接触させる工程、

(i) N末端に保護基を有する上記アミノ酸又はN末端に保護基を有する上記ペプチド化合物

(ii) 上記精製目的物以外の化合物、

工程(B)；上記精製目的物のリチウム塩を析出させる工程。

[3] 上記精製目的物が、アミノ酸の塩若しくはペプチド化合物の塩又はこれらの溶媒和物である、[1]又は[2]に記載の方法。

[4] 上記精製目的物のN末端の保護基がカルバメート系保護基である、[1]から[3]のいずれかに記載の方法。

[5] 上記精製目的物が保護基としてフルオレニルメトキシカルボニル基、tert-ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、アリルオキシカルボニル基、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル基又は2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル基を有する、[1]から[4]のいずれかに記載の方法。

[6] 上記不純物が、精製目的物以外の、N末端に保護基を有するアミノ酸又はN末端に保護基を有するペプチド化合物である、[1]から[5]のいずれかに記載の方法。

[7] 上記不純物がN末端に保護基を有するβ-アラニンである、[1]から[6]のいずれかに記載の方法。

[8] 上記不純物が保護基としてカルバメート基を有する、[1]から[7]のいずれかに記載の方法。

[9] 上記不純物が保護基としてフルオレニルメトキシカルボニル基、 *tert*-ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、アリルオキシカルボニル基、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル基又は2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル基を有する、[1] から [8] のいずれかに記載の方法。

[1 0] 上記精製目的物及び上記不純物が同一の保護基を有する、[1] から [9] のいずれかに記載の方法。

[1 1] 上記精製目的物及び上記不純物がN末端に同一の保護基を有する、[1] から [1 0] のいずれかに記載の方法。

[1 2] 上記工程 (A) で上記精製目的物のリチウム塩を形成する、[1] から [1 1] のいずれかに記載の方法。

[1 3] 上記工程 (A) で上記不純物のリチウム塩を形成する、[1] から [1 2] のいずれかに記載の方法。

[1 4] 上記工程 (B) において、上記精製目的物のリチウム塩又はその溶媒和物を固体として析出させる、[1] から [1 3] のいずれかに記載の方法。

[1 5] 上記工程 (B) において、上記精製目的物のリチウム塩又はその溶媒和物を結晶として析出させる、[1] から [1 4] のいずれかに記載の方法。

[1 6] 上記工程 (A) が第一の有機溶媒存在下において行われる、[1] から [1 5] のいずれかに記載の方法。

[1 7] 上記第一の有機溶媒に対する上記精製目的物の溶解度が20 g / L 以上である、[1 6] に記載の方法。

[1 8] 上記第一の有機溶媒に対する上記精製目的物のリチウム塩の溶解度が20 g / L 以下である、[1 6] 又は [1 7] のいずれかに記載の方法。

[1 9] 上記第一の溶媒に対する上記不純物の溶解度が20 g / L 以上である、[1 6] から [1 8] のいずれかに記載の方法。

[2 0] 上記第一の有機溶媒が、ニトリル類、エーテル類、ケトン類、アミ

ド類、ウレア類、スルホキシド類、スルホン類、アルカン類、芳香族化合物類、エステル類、及びハロゲン化アルキル類からなる群より選ばれる少なくとも1種である、[16] から [19] のいずれかに記載の方法。

[21] 上記第一の有機溶媒が、ニトリル類又はエーテル類である、[16] から [20] のいずれかに記載の方法。

[22] 上記第一の有機溶媒が、アセトニトリル、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、1-ブタノール、2-ブタノール、2-メチル-2-プロパノール、エチレングリコール、テトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、2-メチルテトラヒドロフラン、メチルtert-ブチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、アセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、N-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン、ジメチルスルホキシド、スルホラン、ヘプタン、メチルシクロヘキサン、ヘキサン、シクロヘキサン、ペンタン、ベンゼン、トルエン、1,2-ジメチルベンゼン、1,3-ジメチルベンゼン、1,4-ジメチルベンゼン、酢酸エチル、酢酸イソプロピル、ジクロロエタン、ジクロロメタン、クロロホルム、及び四塩化炭素からなる群より選ばれる少なくとも1種である、[16] から [21] のいずれかに記載の方法。

[23] 上記第一の有機溶媒が、アセトニトリル又はテトラヒドロフランである、[16] から [22] のいずれかに記載の方法。

[24] 上記第一の有機溶媒が1種類のみからなる、[16] から [23] のいずれかに記載の方法。

[25] 上記工程(A)が水の存在下において行われる、[1] から [24] のいずれかに記載の方法。

[26] 上記工程(A)において上記第一の有機溶媒以外の有機溶媒を用いない、[16] から [25] のいずれかに記載の方法。

[27] 上記工程(B)が第二の有機溶媒存在下において行われる、[1]

から [26] のいずれかに記載の方法。

[28] 上記第二の有機溶媒に対する上記精製目的物のリチウム塩の溶解度が 10 g/L 以下である、[27] に記載の方法。

[29] 上記第二の有機溶媒が、ニトリル類、アルコール類、エーテル類、ケトン類、アミド類、ウレア類、スルホキシド類、スルホン類、アルカン類、芳香族化合物類、エステル類、及びハロゲン化アルキル類からなる群より選ばれる少なくとも 1 種である、[27] 又は [28] に記載の方法。

[30] 上記第二の有機溶媒が、ニトリル類又はエーテル類である、[27] から [29] のいずれかに記載の方法。

[31] 上記第二の有機溶媒が、アセトニトリル、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、1-ブタノール、2-ブタノール、2-メチル-2-プロパノール、エチレングリコール、テトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、2-メチルテトラヒドロフラン、メチル *tert*-ブチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン、アセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、N-メチル-2-ピロリドン、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン、ジメチルスルホキシド、スルホラン、ヘプタン、メチルシクロヘキサン、ヘキサン、シクロヘキサン、ペンタン、ベンゼン、トルエン、1,2-ジメチルベンゼン、1,3-ジメチルベンゼン、1,4-ジメチルベンゼン、酢酸エチル、酢酸イソプロピル、ジクロロエタン、ジクロロメタン、クロロホルム、及び四塩化炭素からなる群より選ばれる少なくとも 1 種である、[27] から [30] のいずれかに記載の方法。

[32] 上記第二の有機溶媒が、アセトニトリル又はテトラヒドロフランである、[27] から [31] のいずれかに記載の方法。

[33] 上記第二の有機溶媒が 1 種類のみからなる、[27] から [32] のいずれかに記載の方法。

[34] 上記工程 (B) が水の存在下において行われる、[1] から [33]

] のいずれかに記載の方法。

[35] 水に対する上記不純物のリチウム塩の溶解度が10 g/L以上である、[13] から [34] のいずれかに記載の方法。

[36] 上記工程 (B) において上記第二の有機溶媒以外の有機溶媒を用いない、[27] から [35] のいずれかに記載の方法。

[37] 上記工程 (B) において、上記工程 (A) で得られた試料と上記第二の溶媒とを混合する [27] から [36] のいずれかに記載の方法。

[38] 上記工程 (B) において、上記第二の有機溶媒を更に添加する、[27] から [37] のいずれかに記載の方法。

[39] 上記 [37] 又は [38] に記載の工程により、精製目的物のリチウム塩を析出させる、[37] 又は [38] に記載の方法。

[40] 上記第二の有機溶媒が上記第一の有機溶媒と同一の溶媒である、[27] から [39] のいずれかに記載の方法。

[41] 上記工程 (A) 及び (B) が第一の有機溶媒存在下において行われ、

上記精製対象物 1 g に対する上記第一の有機溶媒の容量が、上記工程 (A) 及び上記工程 (B) をとあわせて 1 ml 以上 40 ml 以下である、[1] から [40] のいずれかに記載の方法。

[42] 上記工程 (A) の終了時における、上記精製対象物 1 g に対する上記第一の有機溶媒の容量が、上記工程 (B) において上記第二の有機溶媒の割合を増加させる場合、1 ml 以上 50 ml 以下である、[27] から [41] のいずれかに記載の方法。

[43] 上記工程 (A) の終了時における、上記精製対象物 1 g に対する上記第一の有機溶媒の容量が、上記工程 (B) において上記第二の有機溶媒の割合を増加させない場合、1 ml 以上 100 ml 以下である、[27] から [42] のいずれかに記載の方法。

[44] 上記工程 (A) 及び (B) が第二の有機溶媒存在下において行われ、上記精製対象物 1 g に対する上記第二の有機溶媒の容量が、上記工程 (A)

) 及び上記工程 (B) をとおして 0 m l 以上 1 0 0 m l 以下である、[1] から [4 3] のいずれかに記載の方法。

[4 5] 上記工程 (B) の終了時における、上記精製対象物 1 g に対する上記第二の有機溶媒の容量が、0 m l 以上 1 0 0 m l 以下である、[2 7] から [4 4] のいずれかに記載の方法。

[4 6] 上記精製対象物 1 g に対する上記水の容量が、上記工程 (A) 及び上記工程 (B) をとおして 0. 1 m l 以上 5 0 m l 以下である、[3 4] から [4 5] のいずれかに記載の方法。

[4 7] 上記工程 (A) の終了時における、上記精製対象物 1 g に対する上記水の容量が、0. 1 m l 以上 5 0 m l 以下である、[2 5] から [4 6] のいずれかに記載の方法。

[4 8] 上記工程 (B) の終了時における、上記精製対象物 1 g に対する上記水の容量が、0. 1 m l 以上 5 0 m l 以下である、[3 4] から [4 7] のいずれかに記載の方法。

[4 9] 上記工程 (A) が、 -20°C 以上 100°C 以下の温度範囲で行われる、[1] から [4 8] のいずれかに記載の方法。

[5 0] 上記工程 (B) が、 -20°C 以上 100°C 以下の温度範囲で行われる、[1] から [4 9] のいずれかに記載の方法。

[5 1] 上記工程 (A) の終了時点における、全液体成分中の上記リチウム含有物質の物質量が、上記精製目的物の物質量を基準として、0. 5 当量以上 2. 0 当量以下である、[1] から [5 0] のいずれかに記載の方法。

[5 2] 上記リチウム含有物質は、水酸化リチウム、炭酸リチウム、水素化リチウム、リン酸 3 リチウム、リチウムメトキシド、リチウムエトキシド、リチウムイソプロポキシド、リチウム *t e r t* -ブトキシドメチルリチウム、*n*-ブチルリチウム、*s e c*-ブチルリチウム、*t e r t*-ブチルリチウム、リチウムアミド、リチウムジイソプロピルアミド、リチウムヘキサメチルジシラジド、及びリチウムテトラメチルピペリジドからなる群より選ばれる少なくとも 1 種である、[1] から [5 1] のいずれかに記載の方法。

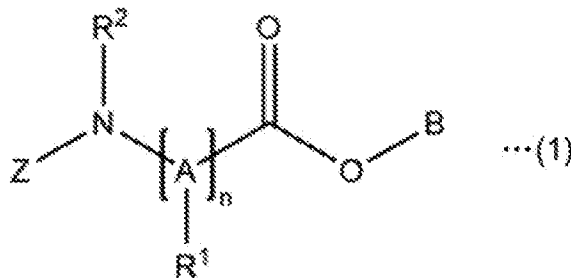
[53] 上記工程（A）において、上記リチウム含有物質、上記精製目的物及び上記第一の有機溶媒とを同時に混合する、[27] から [52] のいずれかに記載の方法。

[54] 上記工程（A）において、上記精製目的物及び上記第一の有機溶媒との混合液と上記リチウム含有物質とを混合する、[27] から [53] のいずれかに記載の方法。

[55] 上記工程（A）において、上記リチウム含有物質及び上記第一の有機溶媒との混合液と上記精製対象物とを混合する、[27] から [54] のいずれかに記載の方法。

[56] 上記アミノ酸又は上記ペプチド化合物を構成するN末端アミノ酸が、下記一般式（1）で表される、[1] から [55] のいずれかに記載の方法。

[化1]



[上記一般式（1）において、

nは1以上3以下の数を表し、

R¹が複数存在するときは、R¹は互いに同一であっても異なってもよく、

R¹及びR²は水素原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、シクロアルキル基、アリール基、ヘテロシクリル基若しくはヘテロアリール基又はこれらの置換基からなる群より選ばれる2つ以上が結合した置換基を表し、これらの基は、置換基を有してよく、これらの基は飽和炭化水素基又は不飽和炭化水素基であってよく、

Aは炭素原子を表し、

Bは水素原子又はアミノ酸若しくはペプチド化合物との結合点を示し、

Zはフルオレニルメトキシカルボニル基、tert-ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、アリルオキシカルボニル基、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル基又は2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル基を表し、

R¹及びR²はN及びAと共に結合して環を形成していてもよく、その場合、R¹及びR²は、環形成に関わらない場合の置換基の構造から水素原子が1つ引き抜かれた構造の置換基であり、

nが2である場合、R²及び2つ存在するR¹の内いずれか1つ以上は水素原子ではない。]

[57] 上記アミノ酸又は上記ペプチド化合物を構成するN末端アミノ酸が、(S)-2-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)-3-フェニルプロパン酸、3-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)プロパン酸、3-(ベンジルオキシカルボニルアミノ)プロパン酸、(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル-酢酸、(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-3-フェニルプロパン酸、3-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニルアミノ)プロパン酸、(R)-3-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニルアミノ)-3-フェニルプロパン酸及び(S)-1-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニル)ピロリジン-2-カルボン酸からなる群より選ばれる少なくとも1種である、[1]から[56]のいずれかに記載の方法。

[58] 上記アミノ酸又は上記ペプチド化合物を構成するN末端アミノ酸が、配列番号1で表されるアミノ酸配列と90%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドを触媒とした還元的アミノ化反応によって得られたものである、[1]から[57]のいずれかに記載の方法。

[59] 上記ポリペプチドが、配列番号1で表されるアミノ酸配列における

1つ以上のアミノ酸残基が改変されたアミノ酸配列を含む、[58]に記載の方法。

[60] 上記ポリペプチドが、配列番号8で表されるアミノ酸配列を含む、[58]又は[59]に記載の方法。

[61] 上記ポリペプチドが、N末端及びC末端のいずれか一方又は両方に、配列番号1で表されるアミノ酸配列における1つのアミノ酸残基が改変された配列と90%以上の配列同一性を有する配列以外のアミノ酸配列を含む、[58]から[60]のいずれかに記載の方法。

[62] 上記ポリペプチドが、N末端及びC末端のいずれか一方又は両方に、タグ配列を含む、[58]から[61]のいずれかに記載の方法。

[63] 上記ポリペプチドが、N末端及びC末端のいずれか一方又は両方に、ストレプトアビジン結合ペプチドタグ配列及びHisタグ配列からなる群より選ばれる1つ以上を含む、[58]から[62]のいずれかに記載の方法。

[64] 上記ポリペプチドのアミノ酸残基数が300以上400以下である、[58]から[63]のいずれかに記載の方法。

[65] 上記工程(B)において得られる析出物の純度が95モル%以上である、[1]から[64]のいずれかに記載の方法。

[66] 上記工程(B)において得られる析出物の見掛け純度が95%以上である、[1]から[65]のいずれかに記載の方法。

[67] 上記工程(B)において得られる析出物の不純物含有率が5モル%以下である、[1]から[66]のいずれかに記載の方法。

[68] 上記工程(B)において得られる析出物の見掛け不純物含有率が5%以下である、[1]から[67]のいずれかに記載の方法。

[69] 上記精製対象物中の上記不純物含有率を低減する、[1]から[68]のいずれかに記載の方法。

[70] 上記精製対象物中の上記見掛け不純物含有率を低減する、[1]から[69]のいずれかに記載の方法。

[71] アミノ酸の塩若しくはペプチド化合物の塩又はこれらの溶媒和物が、アミノ酸のリチウム塩若しくはペプチド化合物のリチウム塩又はこれらの溶媒和物である、[1] から [70] のいずれかに記載の方法。

[72] 上記リチウム塩を、リチウム塩以外の塩にする工程を更に備える、[1] から [71] のいずれかに記載の方法。

[73] [1] から [72] のいずれかに記載の工程を含む、アミノ酸若しくはペプチド化合物、又はこれらの塩、又はこれらの溶媒和物の製造方法。

[74] [1] から [73] のいずれかに記載の工程を含む、ペプチド化合物若しくはその塩又はこれらの溶媒和物の製造方法。

[75] [1] から [74] のいずれかに記載の方法を含み、上記アミノ酸若しくは上記ペプチド化合物、又はこれらの溶媒和物と、アミノ酸又はペプチド化合物とを結合させる工程を備える、環状ペプチド化合物の製造方法。

[76] 上記ペプチド化合物又は結合により得られたペプチド化合物を環化させる工程を備える、[73] から [75] のいずれかに記載の方法。

[77] アミノ酸のリチウム塩若しくはペプチド化合物のリチウム塩又はこれらの溶媒和物であって、

上記アミノ酸のリチウム塩は、上記一般式(1)で表されるアミノ酸のリチウム塩を純度99モル%以上又は見掛け純度99%以上で含有し、

上記ペプチド化合物のリチウム塩は、上記一般式(1)で表されるアミノ酸の残基を有するペプチド化合物のリチウム塩を純度99モル%以上又は見掛け純度99%で含有する、アミノ酸のリチウム塩若しくはペプチド化合物のリチウム塩又はこれらの溶媒和物。

[78] 結晶である、[77]に記載のアミノ酸のリチウム塩若しくはペプチド化合物のリチウム塩又はこれらの溶媒和物。

発明の効果

[0010] 本発明によれば、高純度なアミノ酸の塩若しくはペプチド化合物の塩又はこれらの溶媒和物を得るための方法を提供することができる。

発明を実施するための形態

- [0011] 本明細書において「1つ又は複数の」とは、1つ又は2つ以上の数を意味する。「1つ又は複数の」が、ある基の置換基に関連する文脈で用いられる場合、この用語は、1つからその基が許容する置換基の最大数までの数を意味する。「1つ又は複数の」として具体的には、たとえば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、及び／又はそれより大きい数が挙げられる。
- [0012] 本明細書において、範囲を示す「～」とはその両端の値を含み、例えば、「A～B」は、A以上であり、かつB以下である範囲を意味する。
- [0013] 本明細書において、「約」という用語は、数値と組み合わせて使用される場合、その数値の+10%及び10%の値範囲を意味する。
- [0014] 本発明において、「及び／又は」との用語の意義は、「及び」と「又は」が適宜組み合わせられたあらゆる組合せを含む。具体的には、例えば、「A、B、及び／又はC」には、以下の7通りのバリエーションが含まれる；(i) A、(ii) B、(iii) C、(iv) A及びB、(v) A及びC、(vi) B及びC、(vii) A、B、及びC。
- [0015] 本発明の実施形態について説明する。ただし、本発明は以下の実施形態に限定されるものではない。
- [0016] 本発明の一実施形態は、以下の工程(A)及び(B)を含む、アミノ酸の塩若しくはペプチド化合物の塩又はこれらの溶媒和物の製造方法である。
- 工程(A)；精製目的物である以下(i)と不純物である以下(ii)との混合物である精製対象物にリチウム含有物質を接触させる工程、
- (i) N末端に保護基を有する上記アミノ酸又はN末端に保護基を有する上記ペプチド化合物
- (ii) 上記精製目的物以外の化合物、
- 工程(B)；上記精製目的物のリチウム塩を析出させる工程
- [0017] 本発明の別の実施形態は、上記工程(A)及び(B)を含む、精製対象物から不純物を除去する方法である。
- [0018] 本発明の更に別の実施形態は、アミノ酸のリチウム塩若しくはペプチド化合物のリチウム塩又はこれらの溶媒和物であって、上記アミノ酸のリチウム

塩は、上記一般式（１）で表されるアミノ酸のリチウム塩を純度 99 モル%以上又は見掛け純度 99 %以上で含有し、上記ペプチド化合物のリチウム塩は、上記一般式（１）で表されるアミノ酸の残基を有するペプチド化合物のリチウム塩を純度 99 モル%以上又は見掛け純度 99 %で含有する、アミノ酸のリチウム塩若しくはペプチド化合物のリチウム塩又はこれらの溶媒和物である。

[0019] 従来、上述した精製目的物を精製する場合、それらを高純度で精製することは困難であった。一般に、精製目的物は、ペプチド化合物及びタンパク質合成等の原料として用いられる。高純度のペプチド化合物及びタンパク質を得ることは、それらが医薬品である場合に、不純物による副作用を抑制する為に重要である。すなわち、それらを構成する原料を高純度で精製することは重要である。本発明者らが鋭意検討した結果、驚くべきことに、精製目的物をリチウム塩に変換することで、高純度に精製することができることを新規に見出し、精製目的物の有用性、それらを用いたペプチド化合物及びタンパク質合成における有用性を向上させたものである。

[0020] 本発明におけるアミノ酸の塩若しくはペプチド化合物の塩又はこれらの溶媒和物、より好ましくは、アミノ酸の塩又はペプチド化合物の塩、よりさらに好ましくはアミノ酸のリチウム塩又はペプチド化合物のリチウム塩は、精製対象物を工程（A）及び工程（B）により処理することで得られる。本発明における精製対象物は、前記精製目的物と前記不純物の混合物である。本明細書における精製目的物とは、N末端に保護基を有する前記アミノ酸又はN末端に保護基を有する前記ペプチド化合物をいう。前記精製目的物としては、上記一般式（１）で表されるアミノ酸が例示される。また、本明細書における前記不純物とは、前記精製対象物中に含まれる、前記精製目的物以外の化合物をいう。前記不純物としては、準特定不純物（精製目的物以外の、N末端に保護基を有するアミノ酸又はN末端に保護基を有するペプチド化合物）が挙げられる。より具体的には、 β -アラニン又はその誘導体が例示される。本明細書における誘導体とは、ある有機化合物を母体として考えたと

き、官能基の導入、酸化、還元、原子の置き換えなど、母体の構造や性質を大幅に変えない程度の改変がなされた化合物のことを指し、 β -アラニンの誘導体としては、特定不純物（N末端に保護基を有する β -アラニン）が例示される。

本明細書における「アミノ酸」には、天然アミノ酸、及び非天然アミノ酸（アミノ酸誘導体ということがある。）が含まれる。また、本明細書において、「アミノ酸残基」には、天然アミノ酸残基、及び非天然アミノ酸（アミノ酸誘導体）残基が含まれる。

[0021] 天然アミノ酸とは、グリシン（G l y）、アラニン（A l a）、セリン（S e r）、トレオニン（T h r）、バリン（V a l）、ロイシン（L e u）、イソロイシン（I l e）、フェニルアラニン（P h e）、チロシン（T y r）、トリプトファン（T r p）、ヒスチジン（H i s）、グルタミン酸（G l u）、アスパラギン酸（A s p）、グルタミン（G l n）、アスパラギン（A s n）、システイン（C y s）、メチオニン（M e t）、リシン（L y s）、アルギニン（A r g）、及びプロリン（P r o）を指す。

[0022] 非天然アミノ酸（アミノ酸誘導体）は特に限定されないが、 β -アミノ酸、D型アミノ酸、N置換アミノ酸（P r oを除く。）、 α 、 α -ジ置換アミノ酸、側鎖が天然アミノ酸と異なるアミノ酸、ヒドロキシカルボン酸等が例示される。本明細書において、非天然のN置換アミノ酸は、P r o以外のN置換アミノ酸を意味する。

[0023] 本明細書におけるアミノ酸としては、任意の立体配置が許容される。アミノ酸の側鎖の選択は特に制限を設けないが、水素原子の他にも例えばアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アララルキル基、ヘテロアララルキル基、シクロアルキル基、スピロ結合したシクロアルキル基から自由に選択される。それぞれには置換基が付与されていてもよく、それら置換基も制限されず、例えば、ハロゲン原子、O原子、S原子、N原子、B原子、S i原子、又はP原子を含む任意の置換基の中から独立して1つ又は2つ以上自由に選択されてよい。すなわち、置換されていても

よいアルキル基、アルコキシ基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基、シクロアルキル基等、又はオキソ、アミノカルボニル、ハロゲン原子等が例示される。一実施形態に係るアミノ酸は、同一分子内にカルボキシ基とアミノ基を有する化合物であってよい（この場合であっても、プロリン、ヒドロキシプロリンのようなイミノ酸もアミノ酸に含まれる。）。

[0024] 工程（A）は、精製対象物にリチウム含有物質を接触させる工程である。また、工程（A）により前記精製目的物のリチウム塩が形成されてよく、前記不純物のリチウム塩が形成されてよい。工程（B）は、精製目的物のリチウム塩を析出させる工程である。また、工程（A）の一部及び工程（B）の一部は時間的に重複して行われてもよい。なお、工程（A）の前に、前記精製対象物を本発明以外の方法で精製してもよい。例えば、精製目的物のリチウム塩を形成せず、精製目的物をフリー体の状態で析出することで精製することもできる。工程（A）及び工程（B）の少なくとも一方は溶媒存在下で行うことができ、本明細書では溶媒中から固体が生じることを「析出」という。

[0025] 精製目的物の保護基は、カルバメート基であってよい。カルバメート基はフルオレニルメトキシカルボニル基、*tert*-ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、アリルオキシカルボニル基、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル基又は2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル基を指し、フルオレニルメトキシカルボニル基、*tert*-ブトキシカルボニル基又はベンジルオキシカルボニル基であってよく、フルオレニルメトキシカルボニル基又はベンジルオキシカルボニル基であってよく、フルオレニルメトキシカルボニル基であってよく、ベンジルオキシカルボニル基であってよい。

[0026] 不純物の保護基は、カルバメート基であってよい。カルバメート基はフルオレニルメトキシカルボニル基、*tert*-ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、アリルオキシカルボニル基、2, 2, 2-トリクロ

ロエトキシカルボニル基又は2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル基を指し、フルオレニルメトキシカルボニル基、tert-ブトキシカルボニル基又はベンジルオキシカルボニル基であってよく、フルオレニルメトキシカルボニル基又はベンジルオキシカルボニル基であってよく、フルオレニルメトキシカルボニル基であってよく、ベンジルオキシカルボニル基であってよい。これらの保護基は、不純物のN末端を保護する保護基であってよい。

[0027] 精製目的物の保護基と不純物の保護基は異なっていてもよく、同一であってよい。精製目的物の保護基と前記不純物の保護基は同一であることが好ましい。

[0028] 工程(A)は第一の有機溶媒存在下において行われてもよい。精製目的物とリチウム含有物質の接触を効率的に進行させる観点から、第一の有機溶媒は精製目的物を溶解できる溶媒である。第一の有機溶媒に対する前記精製目的物の溶解度は20g/L以上であることが好ましい。第一の有機溶媒に対する前記精製目的物のリチウム塩の溶解度が20g/L以下であることが好ましい。第一の有機溶媒に対する前記不純物の溶解度が20g/L以上であることが好ましい。

[0029] 第一の有機溶媒としては、アセトニトリル等のニトリル類、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、1-ブタノール、2-ブタノール、2-メチル-2-プロパノール、エチレングリコール等のアルコール類、テトラヒドロフラン、1,4-ジオキサン、2-メチルテトラヒドロフラン、メチルtert-ブチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、ジエチルエーテル、1,2-ジメトキシエタン等のエーテル類、アセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン等のケトン類、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、N-メチル-2-ピロリドン等のアミド類、1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン等のウレア類、ジメチルスルホキシド等のスルホキシド類、スルホラン等のスルホン類、ヘプタン、メチルシクロヘキサン、ヘキサン、シクロヘキサン、ペンタン等のアルカン類、

ベンゼン、トルエン、1, 2-ジメチルベンゼン、1, 3-ジメチルベンゼン、1, 4-ジメチルベンゼン等の芳香族化合物類、酢酸エチル、酢酸イソプロピル等のエステル類、ジクロロエタン、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素等のハロゲン化アルキル類からなる群より選ばれる少なくとも1種が例示される。第一溶媒の種類は複数であってもよいが、工程(A)の簡素化の観点から1種類であることが好ましい。

[0030] 工程(A)は水の存在下において行われてもよい。

[0031] 工程(B)は第二の有機溶媒存在下において行われてもよい。第二の有機溶媒とは、精製目的物のリチウム塩の溶解度が小さい溶媒、すなわち精製目的物のリチウム塩にとっての貧溶媒として機能する溶媒である。第二の有機溶媒に対する前記精製目的物のリチウム塩の溶解度は10 g/L以下であることが好ましい。

[0032] 第二の有機溶媒としては、アセトニトリル等のニトリル類、メタノール、エタノール、1-プロパノール、2-プロパノール、1-ブタノール、2-ブタノール、2-メチル-2-プロパノール、エチレングリコール等のアルコール類、テトラヒドロフラン、1, 4-ジオキサン、2-メチルテトラヒドロフラン、メチルtert-ブチルエーテル、ジイソプロピルエーテル、ジエチルエーテル、1, 2-ジメトキシエタン等のエーテル類、アセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン等のケトン類、ジメチルホルムアミド、ジメチルアセトアミド、N-メチル-2-ピロリドン等のアミド類、1, 3-ジメチル-2-イミダゾリジノン等のウレア類、ジメチルスルホキシド等のスルホキシド類、スルホラン等のスルホン類、ヘプタン、メチルシクロヘキサン、ヘキサン、シクロヘキサン、ペンタン等のアルカン類、ベンゼン、トルエン、1, 2-ジメチルベンゼン、1, 3-ジメチルベンゼン、1, 4-ジメチルベンゼン等の芳香族化合物類、酢酸エチル、酢酸イソプロピル等のエステル類、ジクロロエタン、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素等のハロゲン化アルキル類からなる群より選ばれる少なくとも1種が例示される。第二溶媒の種類は複数であってもよいが、工程(B)の

簡素化の観点から1種類であることが好ましい。

[0033] 工程（B）は水の存在下において行われてもよく、不純物のリチウム塩を溶解させる観点から、水の存在下において行われることが好ましい。水に対する不純物のリチウム塩の溶解度は10 g/L以上であることが好ましい。

[0034] 第二の有機溶媒は工程（A）において第一の有機溶媒と共に用いられてもよい。

工程（B）においては、前記精製目的物のリチウム塩を析出させる。析出の際、前記第二の有機溶媒を添加し、その割合を増加させることで、前記精製目的物のリチウム塩の析出を促すことができる。前記第二の有機溶媒の割合を増やす場合、工程（A）で用いた前記第一の有機溶媒に前記第二の有機溶媒を添加すればよい。

[0035] また、前記第一の有機溶媒の割合又は第二の有機溶媒の割合とは、前記第一の有機溶媒又は第二の有機溶媒の体積を精製目的物の質量で除することで算出される体積/質量比（m l / g、以降 v / wともいう）を意味する。

[0036] また、工程（A）において用いた前記第一の有機溶媒に対する前記精製目的物のリチウム塩の溶解度が十分小さい場合、前記第一の有機溶媒および前記第二の有機溶媒は同一の溶媒であっても良い。この場合、工程（B）において前記第二の有機溶媒を添加する必要はない。この場合、工程（A）において前記精製目的物に前記リチウム含有物質を接触させると速やかに工程（B）が開始され、精製目的物のリチウム塩が析出する。

[0037] 精製目的物のリチウム塩は、固体として析出させることが好ましい。ここでいう固体には、結晶又は非晶が含まれる。また、結晶として析出させる（晶出させる）ことがより好ましい。この場合、工程（B）は、精製目的物のリチウム塩を晶出させる工程ということもできる。

[0038] 前記精製対象物1 gに対する前記第一の有機溶媒の容量は、工程（A）及び工程（B）をとおして、1 ml以上、2 ml以上又は3 ml以上であってよく、100 ml以下、80 ml以下、60 ml又は40 ml以下であってよい。前記第一の有機溶媒の前記精製対象物1 gに対する容量は、工程（A

) 及び工程 (B) をとおして、1 ml 以上 100 ml 以下、1 ml 以上 80 ml 以下、2 ml 以上 60 ml 以下又は 3 ml 以上 40 ml 以下であってよい。

[0039] 工程 (A) の終了時における、前記精製対象物 1 g に対する前記第一の有機溶媒の容量 (第一の有機溶媒の初期濃度) は、工程 (B) において第二の有機溶媒の割合を増加させる場合、1 ml 以上、2 ml 以上又は 3 ml 以上であってよく、50 ml 以下、40 ml 以下、30 ml 以下又は 20 ml 以下であってよい。第一の有機溶媒の初期濃度は、1 ml 以上 50 ml 以下、1 ml 以上 40 ml 以下、2 ml 以上 30 ml 以下又は 3 ml 以上 20 ml 以下であってよい。

[0040] 工程 (A) の終了時における、前記精製対象物 1 g に対する前記第一の有機溶媒の容量 (第一の有機溶媒の初期濃度) は、工程 (B) において第二の有機溶媒の割合を増加させない場合、1 ml 以上、10 ml 以上、20 ml 以上、30 ml 以上又は 35 ml 以上であってよく、100 ml 以下、75 ml 以下、50 ml 以下又は 37 ml 以下であってよい。第一の有機溶媒の初期濃度は、1 ml 以上 100 ml 以下、10 ml 以上 75 ml 以下、20 ml 以上 50 ml 以下、30 ml 以上 37 ml 以下又は 35 ml 以上 37 ml 以下であってよい。

[0041] 精製対象物 1 g に対する第二の有機溶媒の容量は、工程 (A) 及び (B) をとおして、0 ml 以上であってよく、40 ml 以下、60 ml 以下、80 ml 以下又は 100 ml 以下であってよい。精製対象物 1 g に対する第二の有機溶媒の容量は、工程 (A) 及び (B) をとおして、0 ml 以上 100 ml 以下、0 ml 以上 80 ml 以下、1 ml 以上 60 ml 以下又は 1 ml 以上 40 ml 以下であってよい。

[0042] 工程 (B) の終了時における、精製対象物 1 g に対する第二の有機溶媒の容量は、0 ml 以上であってよく、40 ml 以下、60 ml 以下、80 ml 以下、又は 100 ml 以下であってよい。工程 (B) の終了時における、精製対象物 1 g に対する第二の有機溶媒の容量は、0 ml 以上 100 ml 以下

、0 ml 以上80 ml 以下、0 ml 以上60 ml 以下又は0 ml 以上40 ml 以下であってよい。

[0043] 前記精製対象物1 g に対する前記水の容量は、工程 (A) 及び (B) をと おして、0.1 ml 以上、0.3 ml 以上又は0.5 ml 以上であってよく、50 ml 以下、30 ml 以下、10 ml 以下又は5 ml 以下であってよい。溶媒中の水の容量は、工程 (A) 及び (B) をと おして、0.1 ml 以上50 ml 以下、0.1 ml 以上30 ml 以下、0.3 ml 以上10 ml 以下 又は0.5 ml 以上5 ml 以下であってよい。

[0044] 工程 (A) の終了時における、前記精製対象物1 g に対する前記水の容量 (水の初期濃度) は、0.1 ml 以上、0.3 ml 以上又は0.5 ml 以上 であってよく、50 ml 以下、30 ml 以下、10 ml 以下又は4 ml 以下 であってよい。水の初期濃度は、0.1 ml 以上50 ml 以下、0.1 ml 以上30 ml 以下、0.3 ml 以上10 ml 以下又は0.5 ml 以上4 ml 以下 であってよい。

[0045] 工程 (B) の終了時における、前記精製対象物1 g に対する前記水の容量 (水の初期濃度) は、0.1 ml 以上、0.3 ml 以上又は0.5 ml 以上 であってよく、50 ml 以下、30 ml 以下、10 ml 以下又は4 ml 以下 であってよい。水の初期濃度は、0.1 ml 以上50 ml 以下、0.1 ml 以上30 ml 以下、0.3 ml 以上10 ml 以下又は0.5 ml 以上4 ml 以下 であってよい。

[0046] 工程 (A) 及び工程 (B) は第一の有機溶媒及び第二の有機溶媒以外のそ の他の溶媒の存在下において行われても良い。その他の溶媒としては、リン 酸緩衝液、CHES (N-シクロヘキシル-2-アミノエタンスルホン酸) 、Tris (トリスヒドロキシメチルアミノメタン)、ピシン (N,N-ジ (2-ヒドロキシエチル) グリシン) 等の緩衝液が例示される。

[0047] 工程 (A) が行われる温度は、-20℃ 以上であってよく、0℃ 以上であ ってよく、10℃ 以上であってよく、20℃ 以上であってもよい。工程 (A) が行われる温度は、100℃ 以下であってよく、80℃ 以下であってよく

、60℃以下であってよく、40℃以下であってよく、30℃以下であってよい。工程（A）が行われる温度は、-20～100℃であってよく、0～80℃であってよく、10～60℃であってよく、10～40℃であってよく、20～30℃であってよい。

[0048] 工程（B）が行われる温度は、-20℃以上であってよく、0℃以上であってよく、10℃以上であってよく、20℃以上であってよく、30℃以上であってよく、35℃以上であってよい。工程（A）が行われる温度は、100℃以下であってよく、80℃以下であってよく、60℃以下であってよく、40℃以下であってよく、30℃以下であってよい。工程（A）が行われる温度は、-20～100℃であってよく、0～80℃であってよく、10～60℃であってよく、10～40℃であってよく、20～30℃であってよい。

[0049] 工程（A）及び工程（B）における、温度、各種溶液に含まれる物質の濃度等の諸条件は同じであってよく、異なってもよい。両者においてこれらの諸条件が異なる場合、上述した工程（A）の各種条件の中から選択された条件が組み合わされてよい。

また、前記工程（A）の終了時点における前記リチウム含有物質の物質量は、精製目的物の物質量を基準として、0.5当量以上、0.8当量以上又は1.0当量以上であってよく、2.0当量以下、1.5当量以下又は1.1当量以下であってよい。前記反応物の質量を基準としたリチウム含有物質の含有量は、0.5当量以上2.0当量以下、0.8当量以上1.5当量以下又は1.0当量以上1.1当量以下であってよい。

[0050] なお、本明細書における前記リチウム含有物質とは、工程（A）において前記精製目的物と接触させるための、リチウムを含有する物質をいう。工程（A）において用いるリチウム含有物質としては、例えば、水酸化リチウム、リチウムtert-ブトキシド、水酸化リチウム、炭酸リチウム、水素化リチウム、リン酸3リチウム、リチウムメトキシド、リチウムエトキシド、リチウムイソプロポキシド、リチウムtert-ブトキシドメチルリチウム

、*n*-ブチルリチウム、*sec*-ブチルリチウム、*tert*-ブチルリチウム、リチウムアミド、リチウムジイソプロピルアミド、リチウムヘキサメチルジシラジド、及びリチウムテトラメチルピペリジドからなる群より選ばれる少なくとも1種が挙げられる。

[0051] 精製対象物にリチウム含有物質を接触させる方法に制限はないが、精製対象物及びリチウム含有物質を第一の有機溶媒存在下において接触させることができる。この場合、精製対象物、リチウム含有物質及び第一の有機溶媒は、はじめから同じ容器で混合してもよく、精製対象物と第一の有機溶媒とを混合し、得られた混合液にリチウム含有物質を添加してもよく、リチウム含有物質と第一の有機溶媒とを混合し、得られた混合液に精製対象物を添加してもよい。

[0052] なお、第一の有機溶媒、第二の有機溶媒及びリチウム含有物質の量を定める際の基準となる、精製対象物中の精製目的物の含有量は、実測値、推定値又は計算値であってよく、実測値又は計算値であることが好ましく、実測値であることが最も好ましい。

[0053] 精製目的物に含まれる、N末端に保護基を有するアミノ酸又はN末端に保護基を有するペプチド化合物を構成するアミノ酸としては、上記一般式(1)で表されるアミノ酸(アミノ酸(1)ともいう。)、疎水性アミノ酸、脂肪族アミノ酸、芳香族アミノ酸等が挙げられる。

[0054] *n*は1以上3以下の数を示し、1以上3以下の整数であってよい。*n*は1, 2又は3であってよい。*n*が2である場合、 R^2 及び2つ存在する R^1 の内いずれか1つ以上は水素原子でなく、 R^2 及び2つ存在する R^1 の内2つ以上が水素原子でなくともよく、 R^2 及び2つ存在する R^1 の3つともが水素原子でなくともよい。

[0055] R^1 及び R^2 は水素原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、シクロアルキル基、アリール基、ヘテロシクリル基若しくはヘテロアリール基又はこれらの置換基からなる群より選ばれる2つ以上が結合した置換基(例えばベンジル基等)を表し、これらの基は、置換基を有してよく、これら

の基は飽和又は不飽和であってよい。

[0056] Aは炭素原子を表し、Bは水素原子又はアミノ酸若しくはペプチド化合物との結合点を示す。

[0057] Zはフルオレニルメトキシカルボニル基、tert-ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、アリルオキシカルボニル基、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル基又は2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル基を表す。

[0058] R¹及びR²はN及びAと共に結合して環を形成してよい。その場合、R¹及びR²は、環形成に関わらない場合の置換基の構造から水素原子が1つ引き抜かれた構造の置換基である。

[0059] 本明細書において「アルキル」とは、脂肪族炭化水素から任意の水素原子を1個除いて誘導される1価の基であり、骨格中にヘテロ原子（炭素及び水素原子以外の原子をいう。）又は不飽和の炭素-炭素結合を含有せず、水素及び炭素原子を含有するヒドロカルビル又は炭化水素基構造の部分集合を有する。アルキルは直鎖状のものだけでなく、分枝鎖状のものも含む。アルキルとして具体的には、炭素原子数1~20（C₁~C₂₀、以下「C_p~C_q」とは炭素原子数がp~q個であることを意味する）のアルキルであり、好ましくはC₁~C₁₀アルキル、より好ましくはC₁~C₆アルキルが挙げられる。アルキルとして、具体的には、メチル、エチル、n-プロピル、i-プロピル、n-ブチル、s-ブチル、t-ブチル、イソブチル（2-メチルプロピル）、n-ペンチル、s-ペンチル（1-メチルブチル）、t-ペンチル（1, 1-ジメチルプロピル）、ネオペンチル（2, 2-ジメチルプロピル）、イソペンチル（3-メチルブチル）、3-ペンチル（1-エチルプロピル）、1, 2-ジメチルプロピル、2-メチルブチル、n-ヘキシル、1, 1, 2-トリメチルプロピル、1, 2, 2-トリメチルプロピル、1, 1, 2, 2-テトラメチルプロピル、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, 2-ジメチルブチル、2, 3-ジメチルブチル、3, 3-ジメチルブチル、1-エチルブチル、2-エチルブチル

等が挙げられる。

[0060] 本明細書において「アルキレン」とは、上記「アルキル」からさらに任意の水素原子を1個除いて誘導される二価の基を意味し、 $C_4 \sim C_8$ アルキレンが好ましい。アルキレンとして具体的には、 $-CH_2-$ 、 $-(CH_2)_2-$ 、 $-(CH_2)_3-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-(CH_2)_4-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2CH_2-$ 、 $-C(CH_3)_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)CH_2-$ 、 $-CH_2C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH(CH_3)-$ 、 $-(CH_2)_5-$ 、 $-(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_7-$ 、 $-(CH_2)_8-$ などが挙げられる。

[0061] 本明細書において「アルケニル」とは、少なくとも1個の二重結合（2個の隣接 SP^2 炭素原子）を有する1価の基である。二重結合及び置換分（存在する場合）の配置によって、二重結合の幾何学的形態は、エントゲーゲン（E）又はツザンメン（Z）、シス又はトランス配置をとることができる。アルケニルは、直鎖状のものだけでなく、分枝鎖状ものも含む。アルケニルとして好ましくは $C_2 \sim C_{10}$ アルケニル、より好ましくは $C_2 \sim C_6$ アルケニルが挙げられ、具体的には、たとえば、ビニル、アリル、1-プロペニル、2-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル（シス、トランスを含む）、3-ブテニル、ペンテニル、3-メチル-2-ブテニル、ヘキセニルなどが挙げられる。

[0062] 本明細書において「アルキニル」とは、少なくとも1個の三重結合（2個の隣接 SP 炭素原子）を有する、1価の基である。アルキニルは、直鎖状のものだけでなく、分枝鎖状のものも含む。アルキニルとして好ましくは $C_2 \sim C_{10}$ アルキニル、より好ましくは $C_2 \sim C_6$ アルキニルが挙げられ、具体的には、たとえば、エチニル、1-プロピニル、プロパルギル、3-ブチニル、ペンチニル、ヘキシニル、3-フェニル-2-プロピニル、3-(2'-フルオロフェニル)-2-プロピニル、2-ヒドロキシ-2-プロピニル、3-(3-フルオロフェニル)-2-プロピニル、3-メチル-(5-フェニル)-4-ペンチニルなどが挙げられる。

- [0063] 本明細書において「シクロアルキル」とは、飽和又は部分的に飽和した環状の1価の脂肪族炭化水素基を意味し、単環、ビスシクロ環、スピロ環を含む。シクロアルキルとして好ましくは $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルが挙げられ、具体的には、たとえば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル、ビスシクロ [2, 2, 1] ヘプチル、スピロ [3, 3] ヘプチルなどが挙げられる。
- [0064] 本明細書において「アリール」とは1価の芳香族炭化水素環を意味し、好ましくは $C_6 \sim C_{10}$ アリールが挙げられる。アリールとして具体的には、たとえば、フェニル、ナフチル（たとえば、1-ナフチル、2-ナフチル）などが挙げられる。
- [0065] 本明細書において「ヘテロシクリル」とは、炭素原子に加えて1～5個のヘテロ原子を含有する、非芳香族の環状の1価の基を意味する。ヘテロシクリルは、環中に二重及び又は三重結合を有していてもよく、環中の炭素原子は酸化されてカルボニルを形成してもよく、単環でも縮合環でもよい。環を構成する原子の数は好ましくは4～10であり（4～10員ヘテロシクリル）、より好ましくは4～7である（4～7員ヘテロシクリル）。ヘテロシクリルとしては具体的には、たとえば、アゼチジニル、オキシラニル、オキセタニル、アゼチジニル、ジヒドロフリル、テトラヒドロフリル、ジヒドロピラニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロピリジニル、テトラヒドロピリミジニル、モルホリニル、チオモルホリニル、ピロリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、オキサゾリジニル、イソオキサゾリジニル、チアゾリジニル、イソチアゾリジニル、1, 2-チアジナン、チアジアゾリジニル、アゼチジニル、オキサゾリドン、ベンゾジオキサニル、ベンゾオキサゾリル、ジオキサラニル、ジオキサニル、テトラヒドロピロロ [1, 2-c] イミダゾール、チエタニル、3, 6-ジアザビスシクロ [3, 1, 1] ヘプタニル、2, 5-ジアザビスシクロ [2, 2, 1] ヘプタニル、3-オキサ-8-アザビスシクロ [3, 2, 1] オクタニル、スルタム、2-オキサスピロ [3, 3] ヘプチルなどが挙げられる。

[0066] 本明細書において「ヘテロアリアル」とは、炭素原子に加えて1～5個のヘテロ原子を含有する、芳香族性の環状の1価の基を意味する。環は単環でも、他の環との縮合環でもよく、部分的に飽和されていてもよい。環を構成する原子の数は5～12（5～12員ヘテロアリアル）であってよく、6～10（5～12員ヘテロアリアル）であってよく、6～7（6～7員ヘテロアリアル）であってよい。ヘテロアリアルとして具体的には、たとえば、フリル、チエニル、ピロリル、イミダゾリル、ピラゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、オキサジアゾリル、チアジアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、ピリジル、ピリミジル、ピリダジニル、ピラジニル、トリアジニル、ベンゾフラニル、ベンゾチエニル、ベンゾチアジアゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾオキサジアゾリル、ベンゾイミダゾリル、インドリル、イソインドリル、インダゾリル、キノリル、イソキノリル、シンノリニル、キナゾリニル、キノキサリニル、ベンゾジオキサリル、インドリジニル、イミダゾピリジルなどが挙げられる。

[0067] 本明細書において、「置換していてもよい」とは、「置換基を有していてもよい」ということであって、ある基が任意の置換基によって置換されていてもよいことを意味する。置換基としては、例えば、ハロゲン原子、酸素原子、硫黄原子、窒素原子、ホウ素原子、ケイ素原子、リン原子等を含む置換基が挙げられる。より具体的には、置換基としては、アルキル基、アルコキシ基、フルオロアルキル基、フルオロアルコキシ基、オキソ基、アミノカルボニル基、アルキルスルホニル基、アルキルスルホニルアミノ基、シクロアルキル基、アリール基、ヘテロアリアル基、ヘテロシクリル基、アリールアルキル基、ヘテロアリアルアルキル基、ハロゲン基、ニトロ基、アミノ基、モノアルキルアミノ基、ジアルキルアミノ基、シアノ基、カルボキシル基、アルコキシカルボニル基、ホルミル基等が例示される。

[0068] アミノ酸又はペプチド化合物を構成するN末端アミノ酸は、配列番号1で表されるアミノ酸配列と90%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含むが

リペプチドを触媒とした還元的アミノ化反応によって得ることができる。

[0069] 配列番号1で表されるアミノ酸配列との同一性は、90%以上、91%以上、92%以上、93%以上、94%以上、95%以上、96%以上、97%以上、98%以上、99%以上又は100%であってよい。

[0070] 配列番号1で表されるアミノ酸配列との同一性は、Karlin and AltschulによるアルゴリズムBLAST (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1993) 90:5873-7)によって決定することができる。このアルゴリズムに基づいて、BLASTN又はBLASTXと呼ばれるプログラムが開発されている (Altschul et al., J. Mol. Biol. (1990) 215:403-10)。BLASTに基づくBLASTXによってアミノ酸配列を解析する場合には、パラメーターは例えばscore=50、Wordlength=3とする。BLASTとGapped BLASTプログラムを用いる場合には、各プログラムのデフォルトパラメーターを用いる。これらの解析方法の具体的な手法は公知であるNCBI (National Center for Biotechnology Information)のBLAST (Basic Local Alignment Search Tool)のウェブサイトの情報を参照することができる。

[0071] 本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における1つ以上のアミノ酸残基が改変されたポリペプチドであってよく、1~20個、1~15個、1~10個、1~7個又は1~5個のアミノ酸残基が改変されていてよい。改変されているアミノ酸残基は3個以内であってよく、2個以内であってよく、1個であってよい。

[0072] 改変は、置換、欠失及び挿入からなる群より選ばれる1つ以上であってよく、置換であってよい。改変は保存的改変であってよい。保存的改変であるとは、改変前のポリペプチドと比較して目的とする触媒活性を減じないようなアミノ酸残基の改変であることを意味する。

[0073] また、前記改変は、改変前のアミノ酸残基とは異なる天然アミノ酸への置

換であってよい。さらに、前記置換に用いられる天然アミノ酸は、グリシン、アラニン、セリン、スレオニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、ヒスチジン、グルタミン、アスパラギン、グルタミン酸、アスパラギン酸、システイン、メチオニン、リシン、アルギニン及びプロリンからなる群より選ばれる1つ以上であってよい。

[0074] 本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における44位のヒスチジン残基、117位のフェニルアラニン残基、141位のメチオニン残基、156位のスレオニン残基、182位のヒスチジン残基、186位のグルタミン残基、253位のトリプトファン残基、及び260位のリシン残基からなる群より選ばれる1つ以上のアミノ酸残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が改変された配列を含むポリペプチドであってよく、還元的アミノ化反応に対する触媒活性がより一層向上することから、141位のメチオニン残基、182位のヒスチジン残基、253位のトリプトファン残基、及び260位のリシン残基からなる群より選ばれる1つ以上のアミノ酸残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が改変された配列を含むポリペプチドであってよく、さらに、141位のメチオニン残基、253位のトリプトファン残基、及び260位のリシン残基からなる群より選ばれる1つ以上のアミノ酸残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が改変された配列を含むポリペプチドであってよい。

[0075] 本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における44位のヒスチジン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基がヒスチジン残基以外のアミノ酸残基に置換された配列を含むポリペプチドであってよい。当該ポリペプチドは、配列番号2で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドであってよい。配列番号2においてXで表されるアミノ酸残基は、アラニン残基、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、フェニルアラニン残基、グリシン残基、イソロイシン残基、リシン残基、ロイシン残基、メチオニン残基、アスパラギン残基、プロリン残基、グルタミン残基、アル

ギニン残基、セリン残基、スレオニン残基、バリン残基、トリプトファン残基又はチロシン残基である。

[0076] 還元的アミノ化反応に対する触媒活性がより一層向上することから、44位のヒスチジン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基は、メチオニン残基に置換された配列を含んでいてよい。すなわち、本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における44位のヒスチジン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基がメチオニン残基に置換したアミノ酸配列（H44M）を含んでいてよい。

[0077] 本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における117位のフェニルアラニン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基がフェニルアラニン残基以外のアミノ酸残基に置換された配列を含むポリペプチドであってよい。当該ポリペプチドは、配列番号3で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドであってよい。配列番号3においてXで表されるアミノ酸残基は、アラニン残基、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、グリシン残基、ヒスチジン残基、イソロイシン残基、リシン残基、ロイシン残基、メチオニン残基、アスパラギン残基、プロリン残基、グルタミン残基、アルギニン残基、セリン残基、スレオニン残基、バリン残基、トリプトファン残基又はチロシン残基である。

[0078] 還元的アミノ化反応に対する触媒活性がより一層向上することから、117位のフェニルアラニン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、ロイシン残基に置換された配列を含んでいてよい。すなわち、本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における117位のフェニルアラニン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基がロイシン残基に置換したアミノ酸配列（F117L）を含んでいてよい。

[0079] 本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における141位のメチオニン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、メチオニン残基以外のアミノ酸残基に置換された配列を含むポリペプチドであってよい。当該ポリペプチドは、配列番号4で表されるアミノ酸配列を

含むポリペプチドであってよい。配列番号4においてXで表されるアミノ酸残基は、アラニン残基、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、フェニルアラニン残基、グリシン残基、ヒスチジン残基、イソロイシン残基、リシン残基、ロイシン残基、アスパラギン残基、プロリン残基、グルタミン残基、アルギニン残基、セリン残基、スレオニン残基、バリン残基、トリプトファン残基又はチロシン残基である。

[0080] 還元的アミノ化反応に対する触媒活性がより一層向上することから、141位のメチオニン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基は、チロシン残基、トリプトファン残基、バリン残基、スレオニン残基、セリン残基、アルギニン残基、ロイシン残基、リシン残基、イソロイシン残基、ヒスチジン残基、フェニルアラニン残基及びアラニン残基からなる群より選ばれる一つ以上のアミノ酸残基により置換された配列を含んでいてよい。すなわち、本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における141位のメチオニン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基がチロシン残基、トリプトファン残基、バリン残基、スレオニン残基、セリン残基、アルギニン残基、ロイシン残基、リシン残基、イソロイシン残基、ヒスチジン残基、フェニルアラニン残基、又はアラニン残基に置換したアミノ酸配列(M141Y、M141W、M141V、M141T、M141S、M141R、M141L、M141K、M141I、M141H、M141F又はM141A)を含んでいてよい。さらに、141位のメチオニン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基は、チロシン残基、トリプトファン残基、バリン残基、リシン残基、イソロイシン残基、フェニルアラニン残基及びアラニン残基からなる群より選ばれる一つ以上のアミノ酸残基により置換された配列を含んでいてよい。すなわち、本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における141位のメチオニン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基がチロシン残基、トリプトファン残基、バリン残基、リシン残基、イソロイシン残基、ヒスチジン残基、フェニルアラニン残基、又はアラニン残基に置換したアミノ酸配列(M141Y、M1

4 1 W、M 1 4 1 V、M 1 4 1 K、M 1 4 1 I、M 1 4 1 H、M 1 4 1 F、
又はM 1 4 1 A) を含んでいてよい。

[0081] 本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における156位のスレオニン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基がスレオニン残基以外のアミノ酸残基に置換された配列を含むポリペプチドであってよい。当該ポリペプチドは、配列番号5で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドであってよい。配列番号5においてXで表されるアミノ酸残基は、アラニン残基、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、フェニルアラニン残基、グリシン残基、ヒスチジン残基、イソロイシン残基、リシン残基、ロイシン残基、アスパラギン残基、プロリン残基、グルタミン残基、アルギニン残基、セリン残基、スレオニン残基、バリン残基、トリプトファン残基又はチロシン残基である。

[0082] 還元的アミノ化反応に対する触媒活性がより一層向上することから、156位のスレオニン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、セリン残基により置換された配列を含んでいてよい。すなわち、本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における156位のスレオニン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基がセリン残基に置換したアミノ酸配列(T156S)を含んでいてよい。

[0083] 本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における182位のヒスチジン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基がヒスチジン残基以外のアミノ酸残基に置換された配列を含むポリペプチドであってよい。当該ポリペプチドは、配列番号6で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドであってよい。配列番号6においてXで表されるアミノ酸残基は、アラニン残基、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、フェニルアラニン残基、グリシン残基、イソロイシン残基、リシン残基、ロイシン残基、メチオニン残基、アスパラギン残基、プロリン残基、グルタミン残基、アルギニン残基、セリン残基、スレオニン残基、バリン残基、トリプトファン残基又はチロシン残基である。

[0084] 還元的アミノ化反応に対する触媒活性がより一層向上することから、182位のヒスチジン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、チロシン残基、グルタミン残基、メチオニン残基、ロイシン残基、グリシン残基、フェニルアラニン残基及びアラニン残基からなる群より選ばれる一つ以上のアミノ酸残基により置換された配列を含んでいてよい。すなわち、本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における182位のヒスチジン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、チロシン残基、グルタミン残基、メチオニン残基、ロイシン残基、グリシン残基、フェニルアラニン残基、又はアラニン残基に置換したアミノ酸配列（H182Y、H182Q、H182M、H182L、H182G、H182F、又はH182A）を含んでいてよい。さらに、182位のヒスチジン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、メチオニン残基、ロイシン残基、及びフェニルアラニン残基からなる群より選ばれる一つ以上のアミノ酸残基により置換された配列を含んでいてよい。すなわち、本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における182位のヒスチジン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、メチオニン残基、ロイシン残基、又はフェニルアラニン残基に置換したアミノ酸配列（H182M、H182L、又はH182F）を含んでいてよい。

[0085] 本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における186位のグルタミン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基がグルタミン残基以外のアミノ酸残基に置換された配列を含むポリペプチドであってよい。当該ポリペプチドは、配列番号7で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドであってよい。配列番号7においてXで表されるアミノ酸残基は、アラニン残基、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、フェニルアラニン残基、グリシン残基、ヒスチジン残基、イソロイシン残基、リシン残基、ロイシン残基、メチオニン残基、アスパラギン残基、プロリン残基、アルギニン残基、セリン残基、スレオニン残基、バリン残基、トリプトファン残基又はチロシン残基である。

[0086] 還元的アミノ化反応に対する触媒活性がより一層向上することから、配列番号1で表されるアミノ酸配列における186位のグルタミン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、メチオニン残基及びグルタミン酸残基からなる群より選ばれる一つ以上のアミノ酸残基により置換された配列を含んでよい。すなわち、本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における186位のグルタミン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、メチオニン残基又はグルタミン酸残基に置換したアミノ酸配列(Q186M、又はQ186E)を含んでよい。

[0087] 本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における253位のトリプトファン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基がトリプトファン残基以外のアミノ酸残基に置換された配列を含むポリペプチドであってよい。当該ポリペプチドは、配列番号8で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドであってよい。配列番号8においてXで表されるアミノ酸残基は、アラニン残基、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、フェニルアラニン残基、グリシン残基、ヒスチジン残基、イソロイシン残基、リシン残基、ロイシン残基、メチオニン残基、アスパラギン残基、プロリン残基、グルタミン残基、アルギニン残基、セリン残基、スレオニン残基、バリン残基、又はチロシン残基である。

[0088] 還元的アミノ化反応に対する触媒活性がより一層向上することから、253位のトリプトファン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、チロシン残基、バリン残基、スレオニン残基、セリン残基、アルギニン残基、グルタミン残基、プロリン残基、アスパラギン残基、メチオニン残基、ロイシン残基、リシン残基、イソロイシン残基、ヒスチジン残基、フェニルアラニン残基及びアラニン残基からなる群より選ばれる一つ以上のアミノ酸残基により置換された配列を含んでよい。すなわち、本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における253位のトリプトファン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、チロシン残基、バリン残基、スレオニン残基、セリン残基、アルギニン残基、グルタミン残基、

プロリン残基、アスパラギン残基、メチオニン残基、ロイシン残基、リシン残基、イソロイシン残基、ヒスチジン残基、フェニルアラニン残基、又はアラニン残基に置換したアミノ酸配列（W253Y、W253V、W253T、W253S、W253R、W253Q、W253P、W253N、W253M、W253L、W253K、W253I、W253H、W253F、又はW253A）を含んでいてよい。さらに、253位のトリプトファン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、ロイシン残基、イソロイシン残基及びヒスチジン残基からなる群より選ばれる一つ以上のアミノ酸残基により置換された配列を含んでいてよい。すなわち、本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における253位のトリプトファン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、ロイシン残基、イソロイシン残基又はヒスチジン残基に置換したアミノ酸配列（W253L、W253I、又はW253H）を含んでいてよい。

[0089] 本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における260位のリシン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基がリシン残基以外のアミノ酸残基に置換された配列を含むポリペプチドであってよい。当該ポリペプチドは、配列番号9で表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドであってよい。配列番号9においてXで表されるアミノ酸残基は、アラニン残基、アスパラギン酸残基、グルタミン酸残基、フェニルアラニン残基、グリシン残基、ヒスチジン残基、イソロイシン残基、ロイシン残基、メチオニン残基、アスパラギン残基、プロリン残基、グルタミン残基、アルギニン残基、セリン残基、スレオニン残基、バリン残基、トリプトファン残基又はチロシン残基である。

[0090] 還元的アミノ反応に対する触媒活性がより一層向上することから、260位のリシン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、チロシン残基、トリプトファン残基、スレオニン残基、セリン残基、アルギニン残基、グルタミン残基、アスパラギン残基、メチオニン残基、ロイシン残基、ヒスチジン残基、グリシン残基、フェニルアラニン残基、グルタミン酸残基及びアラ

ニン残基からなる群より選ばれる一つ以上のアミノ酸残基により置換された配列を含んでいてよい。すなわち、本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における260位のリシン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、チロシン残基、トリプトファン残基、スレオニン残基、セリン残基、アルギニン残基、グルタミン残基、アスパラギン残基、メチオニン残基、ロイシン残基、ヒスチジン残基、グリシン残基、フェニルアラニン残基、グルタミン酸残基又はアラニン残基に置換したアミノ酸配列（K260Y、K260W、K260T、K260S、K260R、K260Q、K260N、K260M、K260L、K260H、K260G、K260F、K260E、又はK260A）を有していてよい。さらに、260位のリシン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、グルタミン残基、メチオニン残基、グルタミン酸残基及びアスパラギン残基からなる群より選ばれる一つ以上のアミノ酸残基により置換された配列を含んでいてよい。すなわち、本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号1で表されるアミノ酸配列における260位のリシン残基に相当する部位に位置するアミノ酸残基が、グルタミン残基、メチオニン残基、グルタミン酸残基又はアスパラギン残基に置換したアミノ酸配列（K260Q、K260M、K260E、又はK260N）を有していてよい。

[0091] 本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号4で表され、Xで表されるアミノ酸残基がバリン残基であるアミノ酸配列a1（変異：M141V）、配列番号4で表され、Xで表されるアミノ酸残基がチロシン残基であるアミノ酸配列a2（変異：M141Y）、配列番号6で表され、Xで表されるアミノ酸残基がロイシン残基であるアミノ酸配列a3（変異：H182L）、配列番号8で表され、Xで表されるアミノ酸残基がヒスチジン残基であるアミノ酸配列a4（変異：W253H）、又は配列番号9で表され、Xで表されるアミノ酸残基がグルタミン酸残基であるアミノ酸配列a5（変異：K260E）を含むことができる。

[0092] 本実施形態に係るポリペプチドは、アミノ酸配列a1、a2、a3、a4

又は a 5 と 9 0 % 以上の配列同一性を有する配列を含むことができる。前記配列同一性は、9 1 % 以上、9 2 % 以上、9 3 % 以上、9 4 % 以上、9 5 % 以上、9 6 % 以上、9 7 % 以上、9 8 % 以上、又は 9 9 % 以上であってよく、1 0 0 % であってよい。

[0093] 本実施形態に係るポリペプチドは、アミノ酸配列 a 1、a 2、a 3、a 4 又は a 5 における 1 つ以上のアミノ酸残基が改変された配列を含むポリペプチドであってよく、1 ~ 2 0 個、1 ~ 1 5 個、1 ~ 1 0 個、1 ~ 7 個又は 1 ~ 5 個のアミノ酸残基が改変されていてよい。改変されているアミノ酸残基は 3 個以内であってよく、2 個以内であってよく、1 個であってよい。

[0094] 本実施形態に係るポリペプチドは、その他のポリペプチド又はタンパク質と融合していてもよい。すなわち、本実施形態に係るポリペプチドは、N 末端及び C 末端のいずれか一方又は両方に、配列番号 1 で表されるアミノ酸配列における 1 つのアミノ酸残基が改変された配列と 9 0 % 以上の配列同一性を有する配列以外のアミノ酸配列（他のアミノ酸配列）を有していてよい。当該他のアミノ酸配列は、例えば、タグ配列であってよい。

[0095] 当該他のアミノ酸配列を有するポリペプチド又はタンパク質としては、例えば、数個（例えば 6 個、1 0 個等）の His（ヒスチジン）残基からなるタグである His タグ（6 X His、1 0 X His 等）、ストレプトアビジンのビオチンへの結合部位への結合能を有するアミノ酸配列を含むストレプトアビジン結合ペプチドタグ（SBP タグ）、GST（Glutathione S-transferase）、HA（インフルエンザ凝集素）、イムノグロブリン定常領域、B-ガラクトシダーゼ、MBP（マルトース結合タンパク質）、FLAG（Hopp, T. P. et al., BioTechnology (1988) 6, 1204-1210）、インフルエンザ凝集素（HA）、ヒト c-myc の断片、VSV-GP の断片、p18 HIV の断片、T7-tag、HSV-tag、E-tag、SV40T 抗原の断片、Ick tag、 α -tubulin の断片、B-tag、Protein C の断片、Stag、StrepTag、HaloTag 等が挙げられ

る。Hisタグは、例えば、配列番号11で表されるアミノ酸配列であってよい。SBPタグは、例えば、配列番号12で表されるアミノ酸配列であってよい。

[0096] 本実施形態に係るポリペプチドは、N末端及びC末端のいずれか一方又は両方に、ストレプトアビジン結合ペプチドタグ配列及びHisタグ配列からなる群より選ばれる1つ以上を含んでいてよく、C末端にストレプトアビジン結合ペプチドタグ配列(SBPタグ)及びHisタグ配列を含んでいてよい。

[0097] 本実施形態に係るポリペプチドは、配列番号4で表され、Xで表されるアミノ酸残基がバリン残基であるアミノ酸配列a1(変異:M141V)、配列番号4で表され、Xで表されるアミノ酸残基がチロシン残基であるアミノ酸配列a2(変異:M141Y)、配列番号6で表され、Xで表されるアミノ酸残基がロイシン残基であるアミノ酸配列a3(変異:H182L)、配列番号8で表され、Xで表されるアミノ酸残基がヒスチジン残基であるアミノ酸配列a4(変異:W253H)、又は配列番号9で表され、Xで表されるアミノ酸残基がグルタミン酸残基であるアミノ酸配列a5(変異:K260E)と、タグ配列とを有することができる。本実施形態に係るポリペプチドは、アミノ酸配列a1、a2、a3、a4又はa5と、タグ配列と、に加えて、アミノ酸配列a1、a2、a3、a4又はa5と、タグ配列と、を連結するリンカー配列を有してよい。リンカー配列は、例えば、GGSS又はGGSで表されるアミノ酸配列を有してよい。

[0098] 一実施形態に係るポリペプチドは、アミノ酸配列a1、a2、a3、a4又はa5と、アミノ酸配列a1、a2、a3、a4又はa5のC末端に結合し、アミノ酸配列:GGSSで表されるリンカー配列と、当該リンカー配列に結合し、配列番号11で表されるHisタグとから構成されるポリペプチドX1であってよい。ポリペプチドX1における1つ以上のアミノ酸残基は改変されていてよく、1~20個、1~15個、1~10個、1~7個又は1~5個のアミノ酸残基が改変されていてよい。ポリペプチドX1において

、改変されているアミノ酸残基は3個以内であってよく、2個以内であってよく、1個であってよい。

[0099] 一実施形態に係るポリペプチドは、アミノ酸配列 a 1、a 2、a 3、a 4 又は a 5 と、アミノ酸配列 a 1、a 2、a 3、a 4 又は a 5 の C 末端に結合した配列番号 1 2 で表される S B P タグと、配列番号 1 1 で表される H i s タグと、H i s タグ及び S B P タグを連結し、アミノ酸配列 G G S で表されるリンカー配列とから構成されるポリペプチド X 2 であってよい。ポリペプチド X 2 における1つ以上のアミノ酸残基は改変されていてよく、1~20個、1~15個、1~10個、1~7個又は1~5個のアミノ酸残基が改変されていてよい。ポリペプチド X 2 において、改変されているアミノ酸残基は3個以内であってよく、2個以内であってよく、1個であってよい。

[0100] 本実施形態に係るポリペプチドは、他のポリペプチドとの混合物として用いられても良く、単離・生成された状態で用いられてもよい。他のポリペプチドとの混合物として用いられた場合、目的生成物を単離・生成する工程を経て目的とするアミノ酸を得ることができる。

[0101] 本実施形態に係るポリペプチドが単量体として存在する場合におけるアミノ酸残基数は、300以上、310以上、320以上、又は325以上であってよく、330であってよい。また、400以下、390以下、380以下、又は375以下であってよい。ポリペプチドのアミノ酸残基数は、300以上400以下であってよい。

[0102] また、前記他のアミノ酸配列が N 末端及び C 末端のいずれにも付加されていない場合、本実施形態に係るポリペプチドのアミノ酸残基数は、300以上、310以上、320以上、又は325以上であってよく、330であってよい。また、360以下、350以下、340以下、又は335以下であってよい。

[0103] さらに、前記他のアミノ酸配列が N 末端及び C 末端のいずれか一方又は両方に付加されている場合、本実施形態に係るポリペプチドのアミノ酸残基数は、340以上、350以上、360以上、又は370以上であってよく、

374であってよい。また、400以下、390以下、380以下、又は375以下であってよい。

[0104] なお、本実施形態に係るポリペプチドは単量体として用いてもよく、2つ以上の単量体同士が会合した形態で用いてもよい。さらに本実施形態に係るポリペプチドはホモダイマーであってよい。

[0105] 本実施形態に係るポリペプチドがホモダイマーである場合、アミノ酸残基数は単量体として存在する場合の2倍となる。

[0106] N末端に保護基を有するペプチド化合物は、30残基以下、25残基以下、20残基以下、15残基以下、14残基以下、13残基以下、12残基以下、11残基以下、10残基以下、9残基以下、8残基以下、7残基以下、6残基以下、5残基以下、4残基以下、3残基以下又は2残基以下、また、2残基以上、3残基以上、4残基以上、5残基以上、6残基以上、7残基以上、8残基以上、9残基以上、10残基以上、11残基以上、12残基以上、13残基以上、14残基以上、又は15残基以上のアミノ酸からなるペプチド化合物であってよい。また、N末端に保護基を有するペプチド化合物は、2～10残基、2～8残基、2～6残基、又は2～4残基のアミノ酸からなるペプチド化合物等であってよい。また、N末端に保護基を有するペプチド化合物は、5～30残基、7～25残基、8～15残基、9～14残基、10～13残基、又は11残基のアミノ酸からなるペプチド化合物等であってよい。また、アミノ酸(1)の残基をN末端に含むペプチド化合物が挙げられる。

[0107] 工程(B)においては、工程(B)において得られる析出物(精製結果物)中に含まれる準特定不純物の含有量が低減されるように精製結果物が析出されてよい。工程(B)においては、精製結果物の純度が95モル%以上となるように精製結果物が析出されてよい。前記純度は、96モル%以上であることがより好ましく、97モル%以上であることがさらに好ましく、98モル%以上であることがよりさらに好ましく、99モル%以上であることが特に好ましく、100モル%であることが最も好ましい。本明細書における

「純度」は、広義には、純度を測定する対象となる物質中に含まれる、目的物質の存在割合を意味し、狭義には、精製結果物中に含まれる、精製目的物のリチウム塩及び特定不純物のリチウム塩の物質量の合計を基準とした、精製目的物のリチウム塩の物質量の割合を意味する。

[0108] 工程（B）においては、精製結果物中の不純物含有率が5モル%以下となるように精製結果物が析出されてよい。前記不純物含有率は4モル%以下であることが好ましく、3%モル以内であることがより好ましく、2モル%以内であることがさらにこのましく、1モル%以内であることが特に好ましく、0モル%であることが最も好ましい。本明細書における「不純物含有率」とは、精製結果物中に含まれる、精製目的物のリチウム塩及び特定不純物のリチウム塩の物質量の合計を基準とした、特定不純物のリチウム塩の物質量を意味する。

[0109] 純度又は不純物含有率は、例えば、核磁気共鳴装置、ガスクロマトグラフィー、又は高速液体クロマトグラフィーにより測定することができる。高速液体クロマトグラフィーを用いる場合、UV吸収ピークの面積比により算出できる。下記式1 aに純度を求める式を、下記式2 aに不純物含有率を求める式を示す。

[数1]

純度 =

$$\frac{\text{精製目的物のリチウム塩のUV吸収ピーク面積} \times \text{精製目的物のリチウム塩の単位UV吸収ピーク面積当たりの物質量}}{(\text{特定不純物のリチウム塩のUV吸収ピーク面積} \times \text{特定不純物のリチウム塩の単位UV吸収ピーク面積当たりの物質量}) + \text{精製目的物のリチウム塩のUV吸収ピーク面積} \times \text{精製目的物のリチウム塩の単位UV吸収ピーク面積当たりの物質量}} \times 100 \quad (\text{モル}\%) \quad \dots \text{式 1 a}$$

[数2]

不純物含有率 =

$$\frac{\text{特定不純物のリチウム塩のUV吸収ピーク面積} \times \text{特定不純物のリチウム塩の単位UV吸収ピーク面積当たりの物質量}}{(\text{特定不純物のリチウム塩のUV吸収ピーク面積} \times \text{特定不純物のリチウム塩の単位UV吸収ピーク面積当たりの物質量}) + \text{精製目的物のリチウム塩のUV吸収ピーク面積} \times \text{精製目的物のリチウム塩の単位UV吸収ピーク面積当たりの物質量}} \times 100 \quad (\text{モル}\%) \quad \dots \text{式 2 a}$$

[0110] ここで、単位UV吸収ピーク面積当たりの物質量とは、精製目的物又は特定不純物のUV吸収ピーク面積を物質量で除した値である。

[0111] 工程（B）においては、精製結果物の見掛け純度が95%以上となるように精製結果物が析出されてよい。見掛け純度は、96%以上であることがより好ましく、97%以上であることがさらに好ましく、98%以上であることがよりさらに好ましく、99%以上であることが特に好ましく、100%であることが最も好ましい。本明細書における「見掛け純度」とは、精製結果物を高速液体クロマトグラフィーで精製目的物と特定不純物に分離した後に測定される両者の特定波長におけるUV吸収ピーク面積の合計を基準とした、精製目的物の前記特定波長におけるUV吸収ピーク面積の割合を意味する。

[0112] 工程（B）においては、精製結果物の見掛け不純物含有率が5%以下となるように精製結果物が析出されてよい。見掛け不純物含有率は4%以下であることが好ましく、3%以内であることがより好ましく、2%以内であることがさらにこのましく、1%以内であることが特に好ましく、0%であることが最も好ましい。本明細書における「見掛け不純物含有率」とは、精製結果物を高速液体クロマトグラフィーで精製目的物と特定不純物に分離した後に測定される両者の特定波長におけるUV吸収ピーク面積の合計を基準とした、特定不純物特定波長におけるUV吸収ピーク面積の割合を意味する。

[0113] 下記式1bに見掛け純度を求める式を、下記式2bに見掛け不純物含有率を求める式を示す。

[数3]

$$\text{見掛け純度} = \frac{\text{精製目的物のリチウム塩の特定波長におけるUV吸収ピーク面積}}{(\text{精製目的物のリチウム塩の特定波長におけるUV吸収ピーク面積} + \text{特定不純物のリチウム塩の特定波長におけるUV吸収ピーク面積})} \times 100 \quad (\%)$$

・・・式1b

[数4]

$$\text{見掛け不純物含有率} = \frac{\text{特定不純物のリチウム塩の特定波長におけるUV吸収ピーク面積}}{(\text{精製目的物のリチウム塩の特定波長におけるUV吸収ピーク面積} + \text{特定不純物のリチウム塩の特定波長におけるUV吸収ピーク面積})} \times 100$$

(%) ……式2b

[0114] 本明細書における特定波長とは、精製目的物が有する保護基が示す極大吸

収波長から前後10%以内の波長である。また、極大吸収波長が複数存在する場合、その中の最大吸収波長における吸収強度を基準として、30%以上の吸収強度を示す極大吸収波長であれば、極大吸収波長としていずれを選択してもよい。また、複数存在する極大吸収波長の内、長波長側を選択することでノイズの影響を軽減することができる。また、選択した極大吸収波長の吸収強度に応じて試料濃度を調整することができる。測定の際には、試料濃度の調整の容易さやノイズ軽減の観点から最も好ましいと思われる極大吸収波長を選択することができる。

- [0115] 例えば、Fmoc基であれば254nm、Boc基であれば197nm、Cbz基であれば210nmのUV光を特定波長のUV光とすることができる。
- [0116] 一実施形態に係る製造方法においては、リチウム塩を得ることで、精製対象物におけるβ-アラニン又はその誘導体の含有率を低減することができる。言い換えれば、本実施形態に係る製造方法は、β-アラニン又はその誘導体の含有率を低減する工程を備えていてもよい。
- [0117] 本実施形態に係る製造方法は、リチウム塩以外の塩にする工程を更に備えてよい。具体的には、例えば、一実施形態に係る製造方法により得られたリチウム塩を脱塩して、フリー体のアミノ酸又はフリー体のペプチド化合物を得ることができる。脱塩は、既知の方法によって行うことができる。さらに、得られたフリー体のアミノ酸又はペプチド化合物から、リチウム塩以外の塩を製造することができる。リチウム塩以外の塩としては、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸等の無機酸との塩；酢酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、乳酸、ステアリン酸、安息香酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸等の有機酸との塩；アルカリ金属（ナトリウム又はカリウム）との塩；カルシウム、マグネシウム等のアルカリ土類金属との塩；アンモニウム塩等を例示することができる。
- [0118] また一実施形態に係る製造方法は、得られたフリー体のアミノ酸又はペプ

チド化合物をアミノ酸又はペプチド化合物と常法により連結することで、目的とするアミノ酸残基数のペプチド化合物、例えば環状部を有するペプチド化合物（環状ペプチド化合物）を生成することができる。

[0119] 本実施形態に係る環状ペプチド化合物のアミノ酸残基数は、30以下、25以下、20以下、15以下、14以下、13以下、12以下、11以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、又は2以下であってよい。また、本実施形態に係る環状ペプチド化合物は、2以上、3以上、4以上、5以上、6以上、7以上、8以上、9以上、10以上、11以上、12以上、13以上、14以上、又は15以上のアミノ酸からなるペプチド化合物であってよい。また、本実施形態に係る環状ペプチド化合物のアミノ酸残基数は、2以上10以下、2以上8以下、2以上6以下、又は2以上4以下であってよい。また、本実施形態に係る環状ペプチド化合物のアミノ酸残基数は、5以上30以下、7以上25以下、8以上15以下、9以上14以下、10以上13以下、又は11であってよい。

[0120] 環状ペプチド化合物の「環状部」とは、2以上のアミノ酸残基が連結され、形成されている環状の部分の意味する。環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸残基数は、5以上14以下、6以上14以下、7以上14以下、8以上14以下、9以上14以下、10以上14以下、5以上13以下、6以上13以下、7以上13以下、8以上13以下、9以上13以下、10以上13以下、5以上12以下、6以上12以下、7以上12以下、8以上12以下、9以上12以下、10以上12以下、5以上11以下、6以上11以下、7以上11以下、8以上11以下、9以上11以下、10以上11以下、又は11であってよい。環状部は、アミド結合、炭素-炭素結合形成反応、S-S結合、チオエーテル結合、トリアゾール結合等の共有結合を介して形成されることが好ましく、アミノ酸残基が連結した直鎖状のペプチド化合物のN末端側の基とC末端側の基とを結合させて形成させることができる。具体的には、例えば、アミノ酸残基が連結した直鎖状のペプチド化合物のN末端側のアミノ基とC末端側のカルボキシル基とを結合させて形成さ

せることができる。環化は、アミド結合のような炭素－窒素結合による環化、エステル結合及びエーテル結合のような炭素－酸素結合による環化、チオエーテル結合のような炭素－硫黄結合による環化、炭素－炭素結合による環化、硫黄－硫黄結合による環化、又は複素環構築による環化など、どのような形態であってもよい。これらのうちでは、アミド結合及び炭素－炭素結合などの共有結合を介した環化が好ましく、側鎖のカルボキシ基と主鎖のアミノ基によるアミド結合を介した環化がより好ましい。環化に用いられるカルボキシ基及びアミノ基等の位置は、主鎖上のものでも、側鎖上のものでもよく、環化可能な位置にあれば、特に制限されない。

[0121] 本実施形態に係る環状ペプチド化合物は、環原子数が15以上46以下であってよい。本明細書において「環原子数」とは、環の最も内側の部分を含む環式化合物の原子（環原子）の数を意味し、化合物が複数の環を有する場合は当該原子の数が最も多い環の当該原子の数として定義する。なお、2つの環が一部の原子を共有して存在している場合、共有する原子の数が小さい方を使用して、それぞれの環の環原子数を算出する。「環原子数」について具体例で更に説明すると、例えば、この方法を用いると、テトラヒドロフラン（THF）の環原子数は5であり、タクロリムス（FK506）の環原子数は21である。

[0122] 本実施形態に係る環状ペプチド化合物の環原子数は、例えば、34以上46以下、34以上43以下、34以上40以下、34以上37以下、34以上36以下、又は34であってよい。環原子数の算出に使用される環原子は、炭素原子、水素原子、窒素原子、酸素原子、硫黄原子、リン原子、及びケイ素原子からなる群から選択されてもよく、炭素原子、水素原子、窒素原子、及び酸素原子からなる群から選択されてもよい。

[0123] 本実施形態に係る環状ペプチド化合物は、環状部に加えて、直鎖部を有していてもよい。環状ペプチド化合物のアミノ酸残基数の具体的態様は、上述したペプチド化合物のアミノ酸残基数の具体的態様と同様である。環状ペプチド化合物が直鎖部を有する場合、環状部と直鎖部を合わせたアミノ酸残基

数が同範囲に入ることが好ましい。また、環状ペプチド化合物が直鎖部を有する場合、環状部を構成するアミノ酸残基数は、5以上15以下、6以上15以下、6以上14以下、7以上14以下、8以上14以下、又は7以上13以下が好ましく、7以上12以下、又は8以上11以下がより好ましく、9以上11以下が更に好ましく、10又は11が特に好ましく、直鎖部を構成するアミノ酸残基数は、1以上8以下、1以上7以下、1以上6以下、1以上5以下、又は1以上4以下であることが好ましく、1以上3以下であることがより好ましい。

[0124] 本実施形態に係る環状ペプチド化合物の分子量は、特に限定されるものではないが、例えば、500以上、550以上、600以上、650以上、700以上、750以上、800以上、850以上、900以上、又は950以上であってよく、1000以上、1100以上、1200以上、1300以上、又は1400以上が好ましい。本実施形態に係るペプチド化合物の分子量の上限としては、特に限定されるものではないが、5000以下、4000以下、3000以下、2500以下、又は2000以下が好ましい。本明細書における分子量は、化合物分子を構成する原子の原子量の総和（単位：「g/mol」）を意味し、分子構造式に含まれる原子の原子量の総和を算出することで得られる（単位「g/mol」）。本明細書においては分子量の単位を省略することがある。なお、ペプチド化合物の分子量は、実施例に記載の液体クロマトグラフィー質量分析（LC/MS）により測定することができる。本実施形態に係る（i）1つ又は複数のN置換アミノ酸残基を含有するペプチド化合物は、1つ又は複数のN置換アミノ酸残基を含有するペプチド化合物である限りにおいて、上述したペプチド化合物の具体的態様を制限なく適用できる。

[0125] 本実施形態に係る環状ペプチド化合物は、1つ又は複数のN置換アミノ酸残基を含有してよく、少なくとも3つのN置換アミノ酸残基を含むことが好ましく、少なくとも4つのN置換アミノ酸残基を含むことがより好ましく、少なくとも5つのN置換アミノ酸残基を含むことが更に好ましい。N置

換アミノ酸残基は、N置換環状ペプチド化合物中に連続して存在していても、不連続に存在していてもよい。

実施例

[0126] 本発明は、以下の実施例によってさらに例示されるが、これに限定されるものではない。本発明の実施に用いたテトラヒドロフラン、アセトニトリル、水酸化リチウム水溶液、リチウムtert-ブトキシドテトラヒドロフラン溶液、及び、(S)-2-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)-3-フェニルプロパン酸に代表されるアミノ酸誘導体の原料類は、特に記載したもの以外、商業的供給業者から入手し、精製せずに用いた。なお、実施例中では表1、2に記載の略号を使用した。

[表1]

略号	名称
Boc	tert-ブトキシカルボニル
Cbz	ベンジルオキシカルボニル
Fmoc	9-フルオレニルメチルオキシカルボニル
NADP+	酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリル酸
NMAADH	N-メチルアミノ酸デヒドロゲナーゼ

[表2]

略号	名称	構造式
Boc-Phe-OH	(S)-2-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)-3-フェニルプロパン酸	
Boc-beta-Ala-OH	3-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)プロパン酸	
Cbz-beta-Ala-OH	3-(ベンジルオキシカルボニルアミノ)プロパン酸	
Cbz-MeGly(cPent)-OH	(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル酢酸	
Cbz-MePhe-OH	(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-3-フェニルプロパン酸	
Fmoc-beta-Ala-OH	3-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニルアミノ)プロパン酸	
Fmoc-beta-Phe-OH	(R)-3-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニルアミノ)-3-フェニルプロパン酸	
Fmoc-Pro-OH	(S)-1-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニル)ピロリジン-2-カルボン酸	

[0127] 高速液体クロマトグラフィーの条件1

装置：Waters AQUITY H-class/QDa

カラム：(I. D. x長さ (mm)、粒子径 (μm))：ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1x50、1.8)

移動相：A) 0.05% TFA H₂O、B) 0.05% TFA MeCN

勾配 (A/B)：100/0~2/98 (5.0分間)⇒2/98 (1.0分間)⇒100/0 (0.01分間)⇒100/0 (2.0分間)

流速 (ml/分)：0.5

カラム温度：30℃

[0128] 高速液体クロマトグラフィーの条件2

装置 : Waters AQUITY H-class

カラム : (I. D. x長さ (mm)、粒子径 (μm)) : Ascendis
Express RP-Amide (2.1x50、2.7)

移動相 : A) 0.05% TFA H₂O、B) 0.05% TFA
MeCN

勾配 (A/B) : 95/5~0/100 (4.0分間) \Rightarrow 0/100 (0.5分間) \Rightarrow 95/5 (0.1分間) \Rightarrow 95/5 (1.4分間)

流速 (ml/分) : 0.5

カラム温度 : 35°C

[0129] 高速液体クロマトグラフィーの条件3

装置 : Waters AQUITY H-class/QDa

カラム : (I. D. x長さ (mm)、粒子径 (μm)) : Ascendis
Express C18 (3.0x50、2.7)

移動相 : A) 0.05% TFA H₂O、B) 0.05% TFA
MeCN

勾配 (A/B) : 95/5~0/100 (5.0分間) \Rightarrow 0/100 (1.0分間) \Rightarrow 95/5 (0.01分間) \Rightarrow 95/5 (2.0分間)

流速 (ml/分) : 0.5

カラム温度 : 30°C

[0130] 高速液体クロマトグラフィーの条件4

装置 : Waters AQUITY H-class/QDa

カラム (I. D. x長さ (mm)、粒子径 (μm)) : DAICEL CH
IRALPAK IC-3 (4.6x150、3)

移動相 : A) 0.05% TFA H₂O、B) 0.05% TFA
MeCN

勾配 (A/B) : 95/5~40/60 (20.0分間) \Rightarrow 95/5 (0.1分間) \Rightarrow 95/5 (4.9分間)

流速 (ml/分) : 1.0

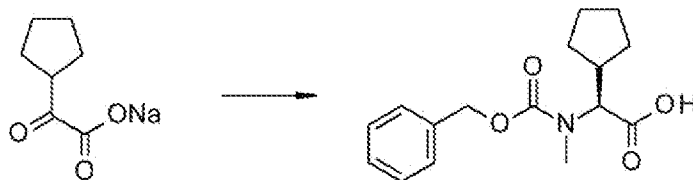
カラム温度：30℃

[0131] 調製例1：W253H-SBP-His調製

配列番号8で表され、XがHisであるアミノ酸配列に対し、C末端にStreptavidin-binding peptideタグ配列 (GTDEKTTGWRGGHVVEGLAGELEQLRARLEHHPQ)、リンカー配列 (GGS) 及びHisタグ配列 (HHHHHH) を付加した遺伝子を合成し、大腸菌発現用ベクターにクローニングした。この発現ベクターをBL21 (DE3) 大腸菌株 (Novagen) に導入し、Overnight Express Instant TB Medium (Novagen) を用いて18℃で2日間培養することで最終調製品である目的タンパク質を発現させた (配列番号10、W253H)。

[0132] 合成例1：(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル酢酸粗精製物の合成

[化2]



[0133] 2-シクロペンチル-2-オキソ酢酸ナトリウム塩 (3.9 g、24 mmol)、メチルアミン塩酸塩 (8.1 g、120 mmol)、D-グルコース (8.7 g、48 mmol) 及びN,N-ジ(2-ヒドロキシエチル)グリシン (7.8 g、48 mmol) を蒸留水 (50 mL) に溶解させ、反応容器の外温を25℃に設定した。5 M水酸化ナトリウム水溶液 (6.0 mL) を加え、pH 8.8に調整した。NADP+ (0.18 g、0.24 mmol)、D-グルコース脱水素酵素 (3.8 mg、960 U、250 U/mg) 及びNMAADH改変酵素溶液 (最終調製品、1.6 mL、酵素として43 mg相当、1.1質量%) を加え、反応容器の外温25℃で24時間攪拌した。濃塩酸 (3.0 mL) を加えてpH 1.9に調整し、1時間攪拌した。不溶物をセライトパッドでろ過し、セライトパッドを蒸留水 (20 mL)

L) で洗浄し、(S) - 2 - シクロペンチル - 2 - (メチルアミノ) 酢酸溶液 (120 g) を得た。

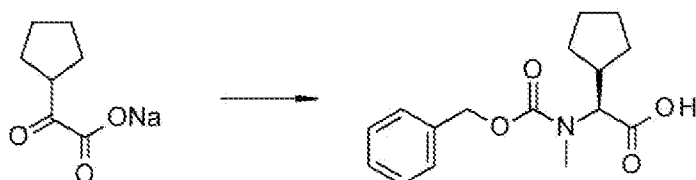
[0134] 高速液体クロマトグラフィーの条件1を用いて、質量分析 (MS (ESI)) を行った。保持時間1.5分で、 $m/z = 158.1$ (M+H)⁺のピークが確認され、目的とする(S) - 2 - シクロペンチル - 2 - (メチルアミノ) 酢酸溶液が得られていることを確認した。

[0135] (S) - 2 - シクロペンチル - 2 - (メチルアミノ) 酢酸溶液 (60 g、12 mmol 相当) に10 M水酸化ナトリウム水溶液 (10 mL) を加え、pHを12.0に調整した。得られた溶液を反応容器の外温40°Cで減圧下濃縮乾固した。蒸留水 (30 mL) を加え、濃塩酸 (0.75 mL) を加えてpH9.7に調整した。アセトニトリル (10 mL)、N-カルボベンゾキシオキシスクシンイミド (4.2 g、17 mmol)、メチルtert-ブチルエーテル (10 mL) を加え1時間攪拌した。50 w/v%水酸化ナトリウム水溶液 (1.5 mL) を加え3時間攪拌した。N-カルボベンゾキシオキシスクシンイミド (1.2 g、4.8 mmol) を加え90分攪拌した。50 w/v%水酸化ナトリウム水溶液 (0.5 mL) を加え18時間攪拌した。濃塩酸 (8.0 mL) を加え、有機層に目的物を抽出し、得られた有機層を反応容器の外温40°Cで減圧下濃縮乾固した。メチルtert-ブチルエーテル (15 mL) を加え、有機層を5%リン酸水素二ナトリウム水溶液で2回 (10 mL × 2)、2 M水酸化ナトリウム水溶液で1回 (10 mL) 洗浄し、目的物を水層に抽出した。得られた水層を合わせメチルtert-ブチルエーテル (20 mL)、濃塩酸 (1.5 mL) を加えることで目的物を有機層へ再抽出した。得られた有機層を反応容器の外温40°Cで減圧下濃縮乾固した。メチルtert-ブチルエーテル (30 mL)、1 M水酸化ナトリウム水溶液 (30 mL) を加え目的物を水層に抽出した。得られた水層をメチルtert-ブチルエーテル (30 mL) で洗浄した。トルエン (30 mL)、濃塩酸 (3.0 mL) を加えて目的物を有機層に再抽出した。得られた有機層を反応容器の外温40°Cで減圧下濃縮乾固し、(S) - 2

－（ベンジルオキシカルボニル（メチル）アミノ）－2－シクロペンチル－
酢酸粗精製物（2.8 g）を得た。

[0136] 合成例 2：（S）－2－（ベンジルオキシカルボニル（メチル）アミノ）－
2－シクロペンチル－酢酸粗精製物の合成

[化3]



[0137] 2－シクロペンチル－2－オキソ－酢酸ナトリウム塩（5.3 g、33 mmol）、メチルアミン塩酸塩（11 g、160 mmol）、D－グルコース（12 g、65 mmol）、N，N－ジ（2－ヒドロキシエチル）グリシン（11 g、65 mmol）を蒸留水（69 mL）に溶解させ、反応容器の外温を25℃に設定した。50 w/v%水酸化ナトリウム水溶液（4.8 mL）を加え、pH 9.2に調整した。NADP+（0.25 g、0.33 mmol）、D－グルコース脱水素酵素（26 mg、1300 U、50 U/mg）、NMAADH改変酵素溶液（最終調製品、2.0 mL、酵素として53 mg相当、1.0質量%）を加え、反応容器の外温25℃で21時間攪拌した（反応転化率99%以上）。濃塩酸（7.5 mL）を加えてpH 1.9に調整し、1時間攪拌した。不溶物をセライトパッドでろ過し、セライトパッドを蒸留水（11 mL）で洗浄し、（S）－2－シクロペンチル－2－（メチルアミノ）酢酸溶液（130 g）を得た。

[0138] 高速液体クロマトグラフィーの条件1を用いて、質量分析（MS（ESI））を行った。保持時間1.4分で、 $m/z = 158.1$ （ $M+H$ ）⁺のピークが確認され、目的とする（S）－2－シクロペンチル－2－（メチルアミノ）酢酸溶液が得られていることを確認した。

[0139] （S）－2－シクロペンチル－2－（メチルアミノ）酢酸溶液（27 g、6.5 mmol相当）に50 w/v%水酸化ナトリウム水溶液（3.2 mL）を加え、pHを12.3に調整した。得られた溶液を反応容器の外温40

℃で濃縮乾固した。反応容器の外温25℃で蒸留水(24 mL)、濃塩酸(0.53 mL)を加えてpHを9.2に調製した。メチルtert-ブチルエーテル(5.3 mL)、アセトニトリル(2.7 mL)、N-カルボベンゾキシオキシスクシンイミド(1.8 g、7.2 mmol)を加えて105分攪拌した。アセトニトリル(1.6 mL)を加えて更に30分攪拌した。50 w/v%水酸化ナトリウム水溶液(0.8 mL)を加えてpH9.3に調整し、105分攪拌した。N-カルボベンゾキシオキシスクシンイミド(1.0 g、3.9 mmol)を加えて105分攪拌した。50 w/v%水酸化ナトリウム水溶液(0.5 mL)を加えてpH9.2に調整した後、N-カルボベンゾキシオキシスクシンイミド(1.1 g、4.6 mmol)を加えて13時間攪拌した。濃塩酸(4.3 mL)を加えてpH0.4に調整した後、メチルtert-ブチルエーテル(3.0 mL)を加え、目的物を有機層へ抽出した。得られた水層にメチルtert-ブチルエーテル(5.3 mL)を加えて、目的物を有機層へ抽出した。得られた有機層を合わせ2 M水酸化ナトリウム水溶液(11 mL)を加えることで塩基性にし、メチルtert-ブチルエーテル(5.3 mL)を加えて目的物を水層へ抽出した。水層にメチルtert-ブチルエーテル(11 mL)を加えて洗浄した。水層にメチルtert-ブチルエーテル(11 mL)、濃塩酸(2.1 mL)を加えて、pH0.0に調整し、目的物を有機層に抽出し、(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル-酢酸粗精製物溶液(14 g)を得た。

[0140] 高速液体クロマトグラフィーの条件1を用いて、質量分析(MS(ESI))を行った。保持時間3.9分で、 $m/z = 292.1$ (M+H)⁺のピークが確認され、目的とする(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル-酢酸粗精製物が得られていることを確認した。

[0141] 合成例3: (S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル-酢酸リチウム塩種晶の合成法

(S) - 2 - (ベンジルオキシカルボニル (メチル) アミノ) - 2 - シクロペンチル - 酢酸 (1.0 g、3.4 mmol、市販品) をテトラヒドロフラン (5.0 ml、5.0 v/w) に溶解し、反応容器の外温 25°C で攪拌した。リチウム tert - ブトキシド (0.30 g、3.8 mmol) を加え、結晶の析出を確認した。テトラヒドロフラン (20 ml、20 v/w) を加え 1 時間攪拌した。結晶をろ過し、得られた結晶をテトラヒドロフラン (5.0 ml、5.0 v/w) で洗浄した。反応容器の外温 40°C で減圧下 3 時間乾燥することで (S) - 2 - (ベンジルオキシカルボニル (メチル) アミノ) - 2 - シクロペンチル - 酢酸リチウム塩 (0.90 g、収率 88%) を得た。

[0142] 比較例 1 及び実施例 1 : アミノ酸誘導体の、フリー体での精製及びリチウム塩での精製

アミノ酸誘導体の、フリー体 (カルボン酸) での精製とリチウム塩での精製とを比較した。不純物を含むアミノ酸誘導体をフリー体又はリチウム塩としてそれぞれ単離し、見掛け純度を比較した。見掛け純度又は見掛け不純物含有率は高速液体クロマトグラフィーの UV 吸収ピーク面積比により算出した。見掛け純度は式 1 b、見かけ不純物含有率は式 2 b より算出した。

[0143] 比較例 1 : (S) - 2 - (ベンジルオキシカルボニル (メチル) アミノ) - 2 - シクロペンチル - 酢酸 (フリー体) の精製

合成例 1 で得た (S) - 2 - (ベンジルオキシカルボニル (メチル) アミノ) - 2 - シクロペンチル - 酢酸粗精製物 (1.4 g、(S) - 2 - (ベンジルオキシカルボニル (メチル) アミノ) - 2 - シクロペンチル - 酢酸として理論収量 1.8 g、6.0 mmol 相当) をトルエン (3.0 mL、1.7 v/w) に溶解し、反応容器の外温 25°C で攪拌翼を用いて攪拌した。ヘプタン (1.0 mL、0.6 v/w)、種晶 ((S) - 2 - (ベンジルオキシカルボニル (メチル) アミノ) - 2 - シクロペンチル - 酢酸 (フリー体) の結晶、市販品、5.0 mg) を加えて 15 分攪拌し、結晶の析出を確認した。ヘプタン (5.5 mL、3.1 v/w) を 1 時間かけて滴下し、更に 3

0分撹拌した。反応容器の外温0℃で更に1時間撹拌した。結晶をろ過し、得られた結晶をヘプタン/トルエン(v/v) = 4/1 (4.0 mL、2.3 v/w) で洗浄した。反応容器の外温40℃で減圧下1時間乾燥することで(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル-酢酸(1.3 g、収率73% (合成例1の2-シクロペンチル-2-オキソ-酢酸ナトリウム塩を基準に算出))を得た。

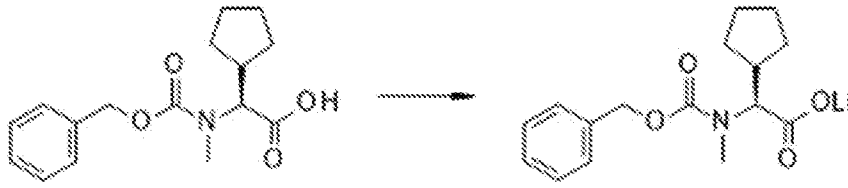
[0144] 高速液体クロマトグラフィーの条件3を用いて、質量分析(MS(ESI))による構造確認を行った。保持時間2.6分で、不純物の一つであるCbz-β-Ala-OHが有するm/z = 224.1 (M+H)⁺のピークが確認された。保持時間3.9分で、Cbz-MeGly(cPent)-OHが有するm/z = 292.1 (M+H)⁺のピークが確認された。210 nmの測定波長で、Cbz-MeGly(cPent)-OH及びCbz-β-Ala-OHのUV吸収ピーク面積を測定し、前記式1b及び2bを用いて見掛け純度及び見掛け不純物含有率を計算した。見掛け純度及び見掛け不純物含有率の計算は、合成例1で得た(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル-酢酸粗精製物(精製前)、及び、比較例1により得られた(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル-酢酸(精製後)の両方に対して行った。結果を表3に示す。

[表3]

	Cbz-β-Ala-OH (見掛け不純物含有率)	Cbz-MeGly(cPent)-OH (見掛け純度)
精製前	1.5%	98.5%
精製後	1.3%	98.7%

[0145] 実施例1-1: (S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル-酢酸のリチウム塩での精製

[化4]



[0146] 比較例1で得た(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル-酢酸(500mg、1.7mmol)をアセトニトリル(2.5ml、5.0v/w)に溶解し、反応容器の外温25℃で攪拌翼を用いて攪拌した。4M水酸化リチウム水溶液(0.47ml、1.9mmol)、蒸留水(0.50ml、1.0v/w)を加え反応容器の外温40℃で20分攪拌した。アセトニトリル(5.0ml、10v/w)を10分間かけて加え、種晶(合成例3により合成、5.0mg)を加えて40分攪拌し、結晶の析出を確認した。反応容器の外温を25℃に設定し、3時間攪拌した。反応容器の外温を0℃に設定し30分攪拌し、アセトニトリル(2.5ml、5.0v/w)を5分間かけて加え、更に30分攪拌した。アセトニトリル(5.0ml、10v/w)を5分間かけて加え、30分攪拌した。結晶をろ過し、得られた結晶を蒸留水/アセトニトリル(v/v)=5/95(2.0mL、4.0v/w)で洗浄した。反応容器の外温40℃で減圧下3時間乾燥することで(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル-酢酸リチウム塩(360mg、収率71%、比較例1で得た(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル-酢酸を基準に算出)を得た。

[0147] 高速液体クロマトグラフィーの条件3を用いて、質量分析(MS(ESI))及びそれに基づく見掛け純度分析を行った。保持時間2.6分で、不純物の一つであるCbz-β-Ala-OHのピークが確認された。保持時間3.9分で、Cbz-MeGly(cPent)-OHが有するm/z=292.1(M+H)⁺のピークが確認された。210nmの測定波長で、Cbz-MeGly(cPent)-OH及びCbz-β-Ala-OHのUV

吸収ピーク面積を測定し、前記式 1 b 及び式 2 b を用いて見掛け純度及び見掛け不純物含有率を計算した。見掛け純度及び見掛け不純物含有率の計算は、比較例 1 により得られた (S) - 2 - (ベンジルオキシカルボニル (メチル) アミノ) - 2 - シクロペンチル - 酢酸 (精製前)、及び、実施例 1 - 1 により得られた (S) - 2 - (ベンジルオキシカルボニル (メチル) アミノ) - 2 - シクロペンチル - 酢酸リチウム塩 (精製後) の両方に対して行った。結果を表 4 に示す。

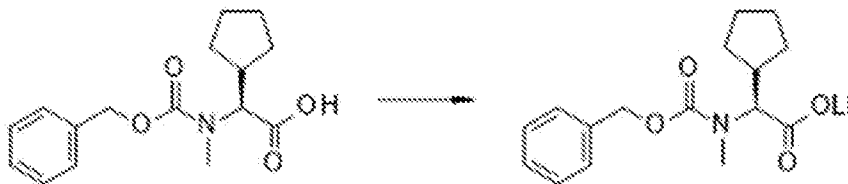
[表4]

	C b z - β - A l a - OH (見掛け不純物含有率)	C b z - M e G l y (c P e n t) - OH (見掛け純度)
精製前	1. 3 %	98. 7 %
精製後	N. D.	100 %

N. D. : 検出されず

[0148] 実施例 1 - 2 : (S) - 2 - (ベンジルオキシカルボニル (メチル) アミノ) - 2 - シクロペンチル - 酢酸リチウム塩での精製

[化5]



[0149] 合成例 2 で得た (S) - 2 - (ベンジルオキシカルボニル (メチル) アミノ) - 2 - シクロペンチル - 酢酸粗生成物溶液 (7. 0 g、(S) - 2 - (ベンジルオキシカルボニル (メチル) アミノ) - 2 - シクロペンチル - 酢酸として理論収量 0. 95 g、3. 3 mmol 相当) を反応容器の外温 40 °C で濃縮乾固した。アセトニトリル (3. 2 mL、3. 4 v/w) を加え、反応容器の外温 25 °C で攪拌翼を用いて攪拌した。蒸留水 (0. 53 mL、0. 6 v/w)、4 M 水酸化リチウム水溶液 (0. 90 mL、3. 6 mmol) を添加して 20 分攪拌した。アセトニトリル (2. 7 mL、2. 8 v/w)

)を10分間かけて加え、種晶(合成例3により合成、5.0mg)を加えて15分間攪拌した。アセトニトリル(5.3mL、5.6v/w)を20分間かけて加え17時間攪拌した。アセトニトリル(5.3mL、5.6v/w)を30分間かけて加え、1時間攪拌した。アセトニトリル(5.3mL、5.6v/w)を30分間かけて加え、1時間攪拌した。結晶をろ過し、得られた結晶を蒸留水/アセトニトリル(v/v)=5/95(3.2mL、3.4v/w)で洗浄し、反応容器の外温40℃で減圧下2.5時間乾燥することで(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル-酢酸リチウム塩(収量:620mg、収率:64%、合成例2の2-シクロペンチル-2-オキソ-酢酸ナトリウム塩を基準に算出)を得た。

[0150] 高速液体クロマトグラフィーの条件1を用いて、質量分析(MS(ESI))及びそれに基づく見掛け純度分析を行った。保持時間2.8分で、不純物の一つであるCbz-β-Ala-OHのピークが確認された。保持時間3.9分で、Cbz-MeGly(cPent)-OHが有するm/z=292.1(M+H)⁺のピークが確認された。210nmの測定波長で、Cbz-MeGly(cPent)-OH及びCbz-β-Ala-OHのUV吸収ピーク面積を測定し、前記式1b及び式2bを用いて見掛け純度及び見掛け不純物含有率を計算した。見掛け純度及び見掛け不純物含有率の計算は、合成例2で得た(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル-酢酸粗精製物溶液(精製前)、及び、実施例1-2により得られた(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル-酢酸リチウム塩(精製後)の両方に対して行った。結果を表5に示す。

[表5]

	C b z - β - A l a - O H (見掛け不純物含有率)	C b z - M e G l y (c P e n t) - O H (見掛け純度)
精製前	3.6%	96.4%
精製後	N. D.	100%

N. D. : 検出されず

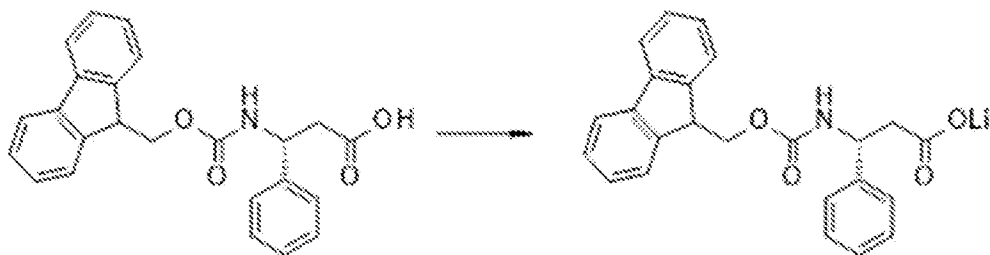
[0151] 高速液体クロマトグラフィー4の条件を用いて、キラル分析を実施した。測定波長は210nmを使用した。(S)体および(R)体の保持時間は標品(Amatek社より購買)の分析により、(S)体が16.7分、(R)体が17.3分と確認した。キラル分析の結果、実施例1-2により得られた(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-2-シクロペンチル-酢酸リチウム塩(精製後)中に(R)体は検出されず99.9% ee以上の光学純度であることを確認した。

[0152] 実施例2：アミノ酸誘導体のリチウム塩化による精製

リチウム塩化によるアミノ酸誘導体の精製効果を評価した。特定の保護基を有するアミノ酸誘導体に同じ保護基を有する3-アミノプロパン酸(β -アラニン)を不純物として加え、混合物とした。混合物をリチウム塩化により単離精製し、混合物と単離化合物の見掛け純度を比較することで精製効果を検証した。見掛け不純物含有率は実施例1に記載の方法を同じ手法を用いて算出した。

[0153] 実施例2-1：(R)-3-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニルアミノ)-3-フェニルプロパン酸リチウム塩の合成

[化6]



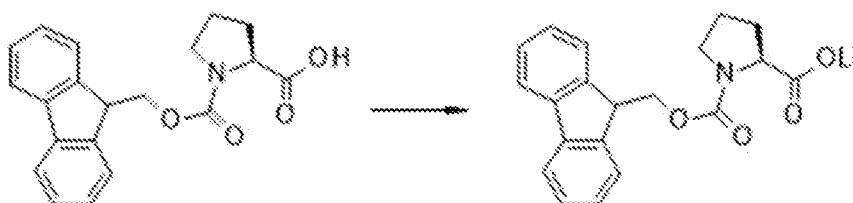
- [0154] (R)-3-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニルアミノ)-3-フェニルプロパン酸 (500 mg、1.3 mmol)、3-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニルアミノ)プロパン酸 (20 mg、0.065 mmol) にテトラヒドロフラン (18 ml、36 v/w)、蒸留水 (2.0 ml、4.0 v/w) を加え反応容器の外温 25°C で攪拌翼を用いて攪拌した。4 M 水酸化リチウム水溶液 (0.081 ml、0.32 mmol) を 3 分間かけて加え、10 分攪拌した。4 M 水酸化リチウム水溶液 (0.081 ml、0.32 mmol) を 3 分間かけて加え、1 時間攪拌し、結晶の析出を確認した。更に、4 M 水酸化リチウム水溶液 (0.081 ml、0.32 mmol) を 3 分間かけて加え、1 時間攪拌する操作を 2 回繰り返した。結晶をろ過し、得られた結晶を蒸留水/テトラヒドロフラン (v/v) = 10/90 (5.0 mL、10 v/w) で洗浄した。反応容器の外温 40°C で減圧下 2 時間乾燥することで (R)-3-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニルアミノ)-3-フェニルプロパン酸リチウム塩 (430 mg、収率 84%) を得た。
- [0155] 高速液体クロマトグラフィーの条件 1 を用いて、質量分析 (MS (ESI)) を行った。保持時間 4.2 分に、Fmoc- β -Phg-OH が有する $m/z = 388.2$ (M+H)⁺ のピークが確認された。高速液体クロマトグラフィーの条件 2 を用いて、見掛け純度分析を行った。保持時間 2.4 分で、不純物である Fmoc- β -Ala-OH のピークが確認された。保持時間 2.8 分で、Fmoc- β -Phg-OH のピークが確認された。254 nm の測定波長で、Fmoc- β -Phg-OH 及び Fmoc- β -Ala-OH の UV 吸収ピーク面積を測定し、前記式 1 b 及び式 2 b を用いて見掛け純度及び見掛け不純物含有率を計算した。見掛け純度及び見掛け不純物含有率の計算は、実施例 2-1 を行う前後 (精製前後) において行った。結果を表 6 に示す。

[表6]

	Fmoc-β-Ala-OH (見掛け不純物含有率)	Fmoc-β-Phg-OH (見掛け純度)
精製前	4.7%	95.3%
精製後	0.5%	99.5%

[0156] 実施例2-2: (S)-1-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニル)ピロリジン-2-カルボン酸リチウム塩の合成

[化7]



[0157] (S)-1-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニル)ピロリジン-2-カルボン酸 (500 mg、1.5 mmol)、3-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニルアミノ)プロパン酸 (23 mg、0.074 mmol) にテトラヒドロフラン (6.8 ml、14 v/w)、蒸留水 (0.75 ml、1.5 v/w) を加え反応容器の外温 25℃ で攪拌翼を用いて攪拌した。4 M 水酸化リチウム水溶液 (0.37 ml、1.5 mmol) を 2 分間かけて加え、1 時間攪拌した。テトラヒドロフラン (5.0 ml、10 v/w) を 10 分間かけて加え 20 分攪拌し、結晶の析出を確認した。テトラヒドロフラン (7.5 ml、15 v/w) を 15 分間かけて加え 20 分攪拌した。テトラヒドロフラン (5.0 ml、10 v/w) を 10 分間かけて加え 40 分攪拌した。結晶をろ過し、得られた結晶を蒸留水/テトラヒドロフラン (v/v) = 5/95 (7.5 mL、15 v/w) で洗浄した。反応容器の外温 40℃ で減圧下 2 時間乾燥することで (S)-1-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニル)ピロリジン-2-カルボン酸リチウム塩 (400 mg、収率 79%) を得た。

[0158] 高速液体クロマトグラフィーの条件 1 を用いて、質量分析 (MS (ESI)) を行った。保持時間 3.9 分で、Fmoc-Pro-OH が有する m/

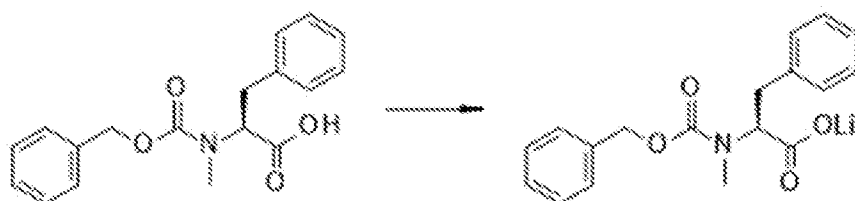
z = 338.1 (M+H)⁺のピークが確認された。高速液体クロマトグラフィーの条件2を用いて、見掛け純度分析を行った。保持時間2.4分で、不純物であるFmoc-β-Ala-OHのピークが確認された。保持時間2.6分で、Fmoc-Pro-OHのピークが確認された。254nmの測定波長で、Fmoc-Pro-OH及びFmoc-β-Ala-OHのUV吸収ピーク面積を測定し、前記式1b及び式2bを用いて見掛け純度及び見掛け不純物含有率を計算した。見掛け純度及び見掛け不純物含有率の計算は、実施例2-2を行う前後（精製前後）において行った。結果を表7に示す。

[表7]

	Fmoc-β-Ala-OH (見掛け不純物含有率)	Fmoc-Pro-OH (見掛け純度)
精製前	5.1%	94.9%
精製後	0.1%未満	99.9%以上

[0159] 実施例2-3：(S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-3-フェニルプロパン酸リチウム塩の合成

[化8]



[0160] (S)-2-(ベンジルオキシカルボニル(メチル)アミノ)-3-フェニルプロパン酸(500mg、1.6mmol)、3-(ベンジルオキシカルボニルアミノ)プロパン酸(18mg、0.080mmol)にアセトニトリル(6.8ml、14v/w)、蒸留水(0.75ml、1.5v/w)を加え反応容器の外温25℃で攪拌翼を用いて攪拌した。4M水酸化リチウム水溶液(0.44ml、1.8mmol)を2分間かけて加え、10分攪拌し、結晶の析出を確認した。アセトニトリル(13ml、25v/w)を30分間かけて加え90分攪拌した。結晶をろ過し、得られた結晶を蒸留

水／アセトニトリル (v/v) = 5/95 (5.0 mL、10.0 v/w) で洗浄した。反応容器の外温40℃で減圧下3時間乾燥することで (S) - 2 - (ベンジルオキシカルボニル (メチル) アミノ) - 3 - フェニルプロパン酸リチウム塩 (460 mg、収率90%) を得た。

[0161] 高速液体クロマトグラフィーの条件1を用いて、質量分析 (MS (ESI)) を行った。保持時間3.9分で、Cbz-MePhe-OHが有する $m/z = 314.1$ (M+H)⁺ のピークが確認された。高速液体クロマトグラフィーの条件2を用いて、見掛け純度分析を行った。保持時間1.6分で、不純物である Cbz-β-Ala-OH のピークが確認された。保持時間2.5分で、Cbz-MePhe-OH のピークが確認された。210 nm の測定波長で、Cbz-MePhe-OH 及び Cbz-β-Ala-OH の UV 吸収ピーク面積を測定し、前記式 1 b 及び式 2 b を用いて見掛け純度及び見掛け不純物含有率を計算した。見掛け純度及び見掛け不純物含有率の計算は、実施例 2-3 を行う前後 (精製前後) において行った。結果を表 8 に示す。

[表8]

	Cbz-β-Ala-OH (見掛け不純物含有率)	Cbz-MePhe-OH (見掛け純度)
精製前	2.6%	97.4%
精製後	N. D.	100%

N. D. : 検出されず

[0162] 実施例 2-4 : (S) - 2 - (tert-ブトキシカルボニルアミノ) - 3 - フェニルプロパン酸リチウム塩の合成

[化9]



[0163] (S) - 2 - (tert-ブトキシカルボニルアミノ) - 3 - フェニルプ

ロパン酸 (500 mg、1.9 mmol)、3-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)プロパン酸 (18 mg、0.094 mmol) にアセトニトリル (9.8 ml、20 v/w)、蒸留水 (0.25 ml、0.5 v/w) を加え反応容器の外温 25°C で攪拌翼を用いて攪拌した。1 M リチウム tert-ブトキシドテトラヒドロフラン溶液 (1.0 ml、1.0 mmol) を 5 分間かけて加え 30 分攪拌した。更に、1 M リチウム tert-ブトキシドテトラヒドロフラン溶液 (1.0 ml、1.0 mmol) を 5 分間かけて加え 30 分攪拌した。アセトニトリル (10 ml、20 v/w) を 1 時間かけて加え、2 時間攪拌した。結晶をろ過し、得られた結晶を蒸留水/アセトニトリル (v/v) = 1/99 (5.0 mL、10 v/w) で洗浄した。反応容器の外温 40°C で減圧下 2 時間乾燥することで (S)-2-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)-3-フェニルプロパン酸リチウム塩 (360 mg、収率 71%) を得た。

[0164] 高速液体クロマトグラフィーの条件 1 を用いて、質量分析 (MS (ESI)) を行った。保持時間 3.5 分で、Boc-Phe-OH が有する $m/z = 166.0$ (M-Boc)⁺ のピークが確認された。高速液体クロマトグラフィーの条件 1 を用いて、見掛け純度分析を行った。保持時間 2.5 分で、不純物である Boc-β-Ala-OH のピークが確認された。保持時間 3.5 分で、Boc-Phe-OH のピークが確認された。197 nm の測定波長で、Boc-Phe-OH 及び Boc-β-Ala-OH の UV 吸収ピーク面積を測定し、前記式 1 b 及び式 2 b を用いて見掛け純度及び見掛け不純物含有率を計算した。見掛け純度及び見掛け不純物含有率の計算は、実施例 2-4 を行う前後 (精製前後) において行った。結果を表 9 に示す。

[表9]

	Boc-β-Ala-OH (見掛け不純物含有率)	Boc-Phe-OH (見掛け純度)
精製前	0.4%	99.6%
精製後	0.1%未満	99.9%以上

請求の範囲

- [請求項1] 以下の工程（A）及び（B）を含む、アミノ酸の塩若しくはペプチド化合物の塩又はこれらの溶媒和物の製造方法：
- 工程（A）；精製目的物である以下（i）と不純物である以下（i i）との混合物である精製対象物にリチウム含有物質を接触させる工程、
- （i）N末端に保護基を有する前記アミノ酸又はN末端に保護基を有する前記ペプチド化合物
- （i i）前記精製目的物以外の化合物、
- 工程（B）；前記精製目的物のリチウム塩を析出させる工程。
- [請求項2] 以下の工程（A）及び（B）を含む、精製対象物から不純物を除去する方法：
- 工程（A）；精製目的物である以下（i）と不純物である以下（i i）との混合物である精製対象物にリチウム含有物質を接触させる工程、
- （i）N末端に保護基を有するアミノ酸又はN末端に保護基を有するペプチド化合物
- （i i）前記精製目的物以外の化合物、
- 工程（B）；前記精製目的物のリチウム塩を析出させる工程。
- [請求項3] 前記精製目的物のN末端の保護基がカルバメート系保護基である、請求項1又は2に記載の方法。
- [請求項4] 前記精製目的物が保護基としてフルオレニルメトキシカルボニル基、tert-ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、アリルオキシカルボニル基、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル基又は2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル基を有する、請求項1から3のいずれか一項に記載の方法。
- [請求項5] 前記不純物が、精製目的物以外の、N末端に保護基を有するアミノ酸又はN末端に保護基を有するペプチド化合物である、請求項1から

4のいずれか一項に記載の方法。

[請求項6] 前記不純物がN末端に保護基を有するβ-アラニンである、請求項1から5のいずれか一項に記載の方法。

[請求項7] 前記工程(A)で前記精製目的物のリチウム塩を形成する、請求項1から6のいずれか一項に記載の方法。

[請求項8] 前記工程(B)において、前記精製目的物のリチウム塩又はその溶媒和物を固体として析出させる、請求項1から7のいずれか一項に記載の方法。

[請求項9] 前記工程(B)において、前記精製目的物のリチウム塩又はその溶媒和物を結晶として析出させる、請求項1から8のいずれか一項に記載の方法。

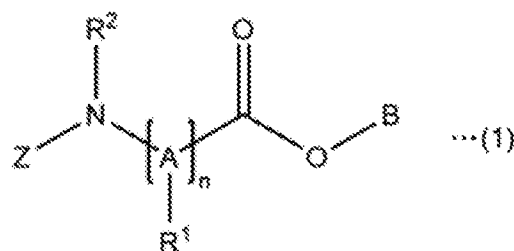
[請求項10] 前記工程(A)が第一の有機溶媒存在下において行われる、請求項1から9のいずれか一項に記載の方法。

[請求項11] 前記工程(B)が第二の有機溶媒存在下において行われる、請求項1から10のいずれか一項に記載の方法。

[請求項12] 前記工程(B)が水の存在下において行われる、請求項1から11のいずれか一項に記載の方法。

[請求項13] 前記アミノ酸又は前記ペプチド化合物を構成するN末端アミノ酸が、下記一般式(1)で表される、請求項1から12のいずれか一項に記載の方法。

[化1]



[前記一般式(1)において、

nは1以上3以下の数を表し、

R¹が複数存在するときは、R¹は互いに同一であっても異なってもよく、

R¹及びR²は水素原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、シクロアルキル基、アリール基、ヘテロシクリル基若しくはヘテロアリール基又はこれらの置換基からなる群より選ばれる2つ以上が結合した置換基を表し、これらの基は、置換基を有してよく、これらの基は飽和炭化水素基又は不飽和炭化水素基であってよく、

Aは炭素原子を表し、

Bは水素原子又はアミノ酸若しくはペプチド化合物との結合点を示し、

Zはフルオレニルメトキシカルボニル基、tert-ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、アリルオキシカルボニル基、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル基又は2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル基を表し、

R¹及びR²はN及びAと共に結合して環を形成していてもよく、その場合、R¹及びR²は、環形成に関わらない場合の置換基の構造から水素原子が1つ引き抜かれた構造の置換基であり、

nが2である場合、R²及び2つ存在するR¹の内いずれか1つ以上は水素原子ではない。]

[請求項14] 前記工程(B)において得られる析出物の純度が95モル%以上である、請求項1から13のいずれか一項に記載の方法。

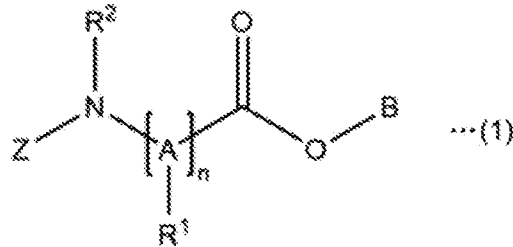
[請求項15] アミノ酸のリチウム塩若しくはペプチド化合物のリチウム塩又はこれらの溶媒和物であって、

前記アミノ酸のリチウム塩は、下記一般式(1)で表されるアミノ酸のリチウム塩を純度99モル%以上又は見掛け純度99%以上で含有し、

前記ペプチド化合物のリチウム塩は、下記一般式(1)で表されるアミノ酸の残基を有するペプチド化合物のリチウム塩を純度99モル

%以上又は見掛け純度99%で含有する、アミノ酸のリチウム塩若しくはペプチド化合物のリチウム塩又はこれらの溶媒和物。

[化2]



[前記一般式(1)において、

nは1以上3以下の数を表し、

R¹が複数存在するときは、R¹は互いに同一であっても異なってもよく、

R¹及びR²は水素原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、シクロアルキル基、アリール基、ヘテロシクリル基若しくはヘテロアリール基又はこれらの置換基からなる群より選ばれる2つ以上が結合した置換基を表し、これらの基は、置換基を有してよく、これらの基は飽和炭化水素基又は不飽和炭化水素基であってよく、

Aは炭素原子を表し、

Bは水素原子又はアミノ酸若しくはペプチド化合物との結合点を示し、

Zはフルオレニルメトキシカルボニル基、tert-ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、アリルオキシカルボニル基、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル基又は2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル基を表し、

R¹及びR²はN及びAと共に結合して環を形成していてもよく、その場合、R¹及びR²は、環形成に関わらない場合の置換基の構造から水素原子が1つ引き抜かれた構造の置換基であり、

nが2である場合、R²及び2つ存在するR¹の内いずれか1つ以

上は水素原子ではない。]

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2023/017844

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<p><i>C07C 269/08</i>(2006.01)i; <i>C07C 227/28</i>(2006.01)i; <i>C07C 229/12</i>(2006.01)i; <i>C07C 271/22</i>(2006.01)i; <i>C07K 1/00</i>(2006.01)i; <i>C12N 9/06</i>(2006.01)i; <i>C12N 15/31</i>(2006.01)i; <i>C12N 15/53</i>(2006.01)i; <i>C12P 13/04</i>(2006.01)i FI: C07C269/08 CSP; C07K1/00 ZNA; C07C227/28; C07C229/12; C12N9/06 Z; C12N15/31; C12P13/04 ZNA; C07C271/22; C12N15/53</p> <p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07C269/08; C07C227/28; C07C229/12; C07C271/22; C07K1/00; C12N9/06; C12N15/31; C12N15/53; C12P13/04		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2023 Registered utility model specifications of Japan 1996-2023 Published registered utility model applications of Japan 1994-2023		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAplus/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	JP 51-59889 A (MEIJI SEIKA CO.) 25 May 1976 (1976-05-25) page 3, upper right column	1-4, 7-15 5, 6
X A	JP 4-229199 A (BECTON DICKINSON & CO.) 18 August 1992 (1992-08-18) paragraph [0042]	1-4, 7-15 5, 6
X A	JP 7-501312 A (GESELLSCHAFT FUER BIOTECHNOLOGISCHE FORSCHUNG MBH) 09 February 1995 (1995-02-09) page 4, lower left column to upper right column	1-4, 7-15 5, 6
X A	JP 2004-524297 A (ELI LILLY AND CO.) 12 August 2004 (2004-08-12) paragraphs [0239]-[0241]	1-4, 7-15 5, 6
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“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)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search 11 July 2023		Date of mailing of the international search report 25 July 2023
Name and mailing address of the ISA/JP Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2023/017844

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 101456859 A (SOUTH CHINA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY) 17 June 2009 (2009-06-17) example 1	1-4, 7-15
A		5, 6
X	CN 105272910 A (CHENGDU XINJIE HI-TECH DEVELOPMENT CO., LTD.) 27 January 2016 (2016-01-27) example 1	1-4, 7-15
A		5, 6
X	CN 105273023 A (KUNMING JIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 27 January 2016 (2016-01-27) paragraph [0009]	1-4, 7-15
X	JP 2021-519766 A (UNIV. OF LEEDS) 12 August 2021 (2021-08-12) paragraphs [0402], [0403]	1-4, 7-15
A		5, 6
A	Journal of Peptide Science. 2008, 14, 763-766, Published online 25 January 2008 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI:10.1002/psc.1001 abstract, table 2	1-15

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - on paper or in the form of an image file.
 - b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2023/017844

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP 51-59889 A	25 May 1976	(Family: none)	
JP 4-229199 A	18 August 1992	US 5055594 A example 1 EP 467318 A1	
JP 7-501312 A	09 February 1995	WO 1992/022566 A1 pp. 8, 9 EP 589927 A1	
JP 2004-524297 A	12 August 2004	US 2004/0116699 A1 manufacturing example C3 WO 2002/059095 A1 EP 1358163 A1	
CN 101456859 A	17 June 2009	(Family: none)	
CN 105272910 A	27 January 2016	(Family: none)	
CN 105273023 A	27 January 2016	(Family: none)	
JP 2021-519766 A	12 August 2021	WO 2019/186164 A1 pp. 118, 119 EP 3773555 A1 KR 10-2020-0135846 A CN 112165938 A US 2022/0305011 A1	

<p>A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））</p> <p>C07C 269/08(2006.01)i; C07C 227/28(2006.01)i; C07C 229/12(2006.01)i; C07C 271/22(2006.01)i; C07K 1/00(2006.01)i; C12N 9/06(2006.01)i; C12N 15/31(2006.01)i; C12N 15/53(2006.01)i; C12P 13/04(2006.01)i FI: C07C269/08 CSP; C07K1/00 ZNA; C07C227/28; C07C229/12; C12N9/06 Z; C12N15/31; C12P13/04 ZNA; C07C271/22; C12N15/53</p>														
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））</p> <p>C07C269/08; C07C227/28; C07C229/12; C07C271/22; C07K1/00; C12N9/06; C12N15/31; C12N15/53; C12P13/04</p> <p>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</p> <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922 - 1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971 - 2023年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996 - 2023年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994 - 2023年</td> </tr> </table> <p>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）</p> <p>CAplus/REGISTRY (STN)</p>			日本国実用新案公報	1922 - 1996年	日本国公開実用新案公報	1971 - 2023年	日本国実用新案登録公報	1996 - 2023年	日本国登録実用新案公報	1994 - 2023年				
日本国実用新案公報	1922 - 1996年													
日本国公開実用新案公報	1971 - 2023年													
日本国実用新案登録公報	1996 - 2023年													
日本国登録実用新案公報	1994 - 2023年													
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>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</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X A</td> <td>JP 51-59889 A (明治製菓株式会社) 25.05.1976 (1976 - 05 - 25) 3頁右上欄</td> <td>1-4, 7-15 5, 6</td> </tr> <tr> <td>X A</td> <td>JP 4-229199 A (バクトン・デイツキンソン・アンド・カンパニー) 18.08.1992 (1992 - 08 - 18) [0042]</td> <td>1-4, 7-15 5, 6</td> </tr> <tr> <td>X A</td> <td>JP 7-501312 A (ゲゼルシャフト・フュア・ビオテクノロジーシエ・フォルシユンク・ミット・ベシュレンクテル・ハフツング) 09.02.1995 (1995 - 02 - 09) 4頁左下欄－右上欄</td> <td>1-4, 7-15 5, 6</td> </tr> </tbody> </table> <p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p> <p>* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な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抵触するものではなく、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</p>			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	X A	JP 51-59889 A (明治製菓株式会社) 25.05.1976 (1976 - 05 - 25) 3頁右上欄	1-4, 7-15 5, 6	X A	JP 4-229199 A (バクトン・デイツキンソン・アンド・カンパニー) 18.08.1992 (1992 - 08 - 18) [0042]	1-4, 7-15 5, 6	X A	JP 7-501312 A (ゲゼルシャフト・フュア・ビオテクノロジーシエ・フォルシユンク・ミット・ベシュレンクテル・ハフツング) 09.02.1995 (1995 - 02 - 09) 4頁左下欄－右上欄	1-4, 7-15 5, 6
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												
X A	JP 51-59889 A (明治製菓株式会社) 25.05.1976 (1976 - 05 - 25) 3頁右上欄	1-4, 7-15 5, 6												
X A	JP 4-229199 A (バクトン・デイツキンソン・アンド・カンパニー) 18.08.1992 (1992 - 08 - 18) [0042]	1-4, 7-15 5, 6												
X A	JP 7-501312 A (ゲゼルシャフト・フュア・ビオテクノロジーシエ・フォルシユンク・ミット・ベシュレンクテル・ハフツング) 09.02.1995 (1995 - 02 - 09) 4頁左下欄－右上欄	1-4, 7-15 5, 6												
<p>国際調査を完了した日</p> <p>11.07.2023</p>	<p>国際調査報告の発送日</p> <p>25.07.2023</p>													
<p>名称及びあて先</p> <p>日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>	<p>権限のある職員（特許庁審査官）</p> <p>水島 英一郎 4H 3968</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3443</p>													

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	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
X A	JP 2004-524297 A (イーライ・リリー・アンド・カンパニー) 12.08.2004 (2004 - 08 - 12) [0239]-[0241]	1-4, 7-15 5, 6
X A	CN 101456859 A (SOUTH CHINA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY) 17.06.2009 (2009 - 06 - 17) 実施例 1	1-4, 7-15 5, 6
X A	CN 105272910 A (CHENGDU XINJIE HI-TECH DEVELOPMENT CO., LTD.) 27.01.2016 (2016 - 01 - 27) 実施例 1	1-4, 7-15 5, 6
X A	CN 105273023 A (KUNMING JIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 27.01.2016 (2016 - 01 - 27) [0009]	1-4, 7-15 5, 6
X A	JP 2021-519766 A (ユニヴァーシティ・オブ・リーズ) 12.08.2021 (2021 - 08 - 12) [0402]、[0403]	1-4, 7-15 5, 6
A	JOURNAL OF PEPTIDE SCIENCE, 2008, 14, 763-766, Published online 25 January 2008 in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI: 10.1002/psc.1001 Abstract, Table 2	1-15

第 I 欄 ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第 1 ページの 1. c の続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。
- a. 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
- 附属書C/ST.25テキストファイル形式
- 紙形式又はイメージファイル形式
- b. 国際出願とともに、PCT規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表
- c. 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
- 附属書C/ST.25テキストファイル形式(PCT規則13の3.1(a))
- 紙形式又はイメージファイル形式(PCT規則13の3.1(b)及びPCT実施細則第713号)
2. さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。
3. 補足意見:

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2023/017844

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 51-59889 A	25.05.1976	(ファミリーなし)	
JP 4-229199 A	18.08.1992	US 5055594 A Example I EP 467318 A1	
JP 7-501312 A	09.02.1995	WO 1992/022566 A1 8-9頁 EP 589927 A1	
JP 2004-524297 A	12.08.2004	US 2004/0116699 A1 製造例 C 3 WO 2002/059095 A1 EP 1358163 A1	
CN 101456859 A	17.06.2009	(ファミリーなし)	
CN 105272910 A	27.01.2016	(ファミリーなし)	
CN 105273023 A	27.01.2016	(ファミリーなし)	
JP 2021-519766 A	12.08.2021	WO 2019/186164 A1 118, 119頁 EP 3773555 A1 KR 10-2020-0135846 A CN 112165938 A US 2022/0305011 A1	