

(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
2024年1月18日(18.01.2024)



(10) 国際公開番号
WO 2024/014536 A1

(51) 国際特許分類:

C07D 487/04 (2006.01) *G01N 21/76* (2006.01)
C12Q 1/04 (2006.01) *G01N 33/52* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2023/026063

(22) 国際出願日: 2023年7月14日(14.07.2023)

(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 2022-114168 2022年7月15日(15.07.2022) JP

(71) 出願人: 国立研究開発法人産業技術総合研究所(NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒1008921 東京都千代田区霞が関一丁目3番1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 西原 諒(NISHIHARA Ryo); 〒3058560 茨城県つくば市梅園1-1-1 中央第1 国立研究開発法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP).
栗田 僚二(KURITA Ryoji); 〒3058560 茨城県つくば市梅園1-1-1 中央第1 国立研究開発法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP).

(74) 代理人: 弁理士法人大谷特許事務所(OHTANI PATENT OFFICE); 〒1050001 東京都港区虎ノ門三丁目25番2号 虎ノ門E Sビル7階 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, 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.

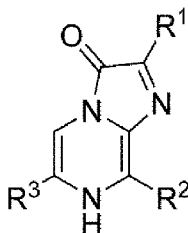
(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告(条約第21条(3))

(54) Title: REAGENT FOR DETECTING SARS-RELATED CORONAVIRUS

(54) 発明の名称: SARS関連コロナウイルスの検出試薬



(1)

(57) Abstract: The present invention relates to a compound represented by a general formula (1) or a salt or a solvate thereof. [In the formula, R¹, R², and R³ are as defined in the description.]

(57) 要約: 本発明は、下記一般式(1)で表される化合物又はその塩若しくは溶媒和物に関する。[式中、R¹、R²、及びR³は、明細書中に規定するとおり。]

WO 2024/014536 A1

明 細 書

発明の名称：SARS関連コロナウイルスの検出試薬

技術分野

[0001] 本発明は、新規な化合物又はその塩若しくは溶媒和物、SARS関連コロナウイルスの検出方法及びSARS関連コロナウイルスの検出剤に関する。

背景技術

[0002] SARS関連コロナウイルスであるSARS-CoV-2ウイルスは、新型コロナウイルス感染症の世界的流行を引き起こした。感染症の診断にあたり、ウイルスの検出を行う必要がある。

現行のウイルス検出原理は、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、もしくは、抗原抗体反応に大別できる。PCRではウイルスが有する遺伝子の増幅を行い、抗原抗体反応ではウイルスタンパクとイムノグロブリンとの特異的アフィニティを利用している。新型コロナウイルスの感染拡大によって、専ら分子生物学で用いられてきた既存装置を、医療現場での使用に適した小型化及びハイスループット化が鋭意行われている。しかしながら、既存技術の延長では簡便性や汎用性が限界に達しつつあり、大規模流行への対応が難しい。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：国際公開第2021／187531号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0004] 特許文献1には、ルシフェリン-ルシフェラーゼ反応における基質であるルシフェリンを改変した特定のセレンテラジンアナログが、ヒト血清アルブミンによって酸化触媒され発光できることが開示されている。

しかし、特定のウイルスを特異的に検出できる発光基質については、何ら開示がされていない。

[0005] 本発明は、特にSARS関連コロナウイルスの検出剤として使用できる新規な化合物又はその塩若しくは溶媒和物、SARS関連コロナウイルスの検出方法及びSARS関連コロナウイルスの検出剤を提供することを課題とする。

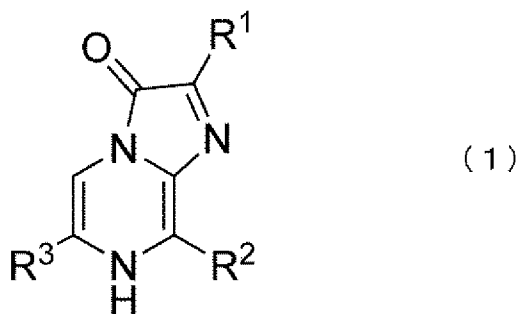
課題を解決するための手段

[0006] 本発明者らは、上記課題に鑑み鋭意検討した結果、特定の化合物がSARS関連コロナウイルスとの反応により発光を発することを見出し、本発明の完成に至った。

本発明は、下記の態様を包含する。

[1] 下記一般式(1)で表される化合物又はその塩若しくは溶媒和物。

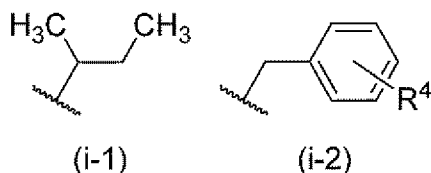
[0007] [化1]



[0008] [式中、

R¹はメチル基又は下記式(i-1)又は(i-2)で表される基のいずれか1種であり；

[0009] [化2]

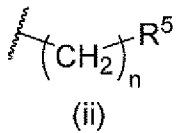


[0010] (式中、R⁴は水素原子、水酸基、フッ素原子、メトキシ基、又はトリフルオロメチル基である。)

R²は水素原子又は下記式(ii)で表される基のいずれか1種であり；

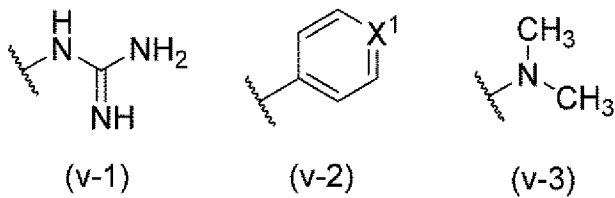
[0011]

[化3]



[0012] (式中、 n は1～5の整数であり、 R^5 は下記式(v-1)、(v-2)又は(v-3)で表される基のいずれか1種である。)

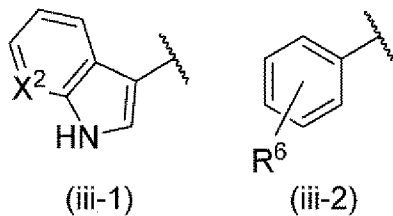
[0013] [化4]



[0014] {式中、 X^1 は窒素原子又はCH基である。}

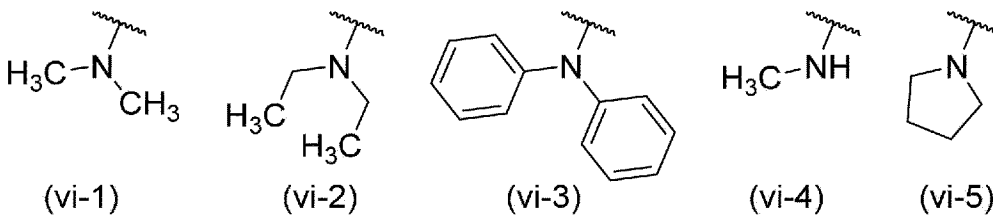
R^3 は下記式(iii-1)又は(iii-2)で表される基のいずれか1種であり；

[0015] [化5]



[0016] (式中、 X^2 は窒素原子又はCH基であり、 R^6 は水酸基、メトキシ基、メチル基、トリフルオロメチル基、又は下記式(vi-1)、(vi-2)、(vi-3)、(vi-4)若しくは(vi-5)で表される基のいずれか1種である。)

[0017] [化6]

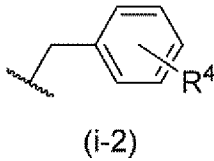


[0018] かつ、

下記(A-i)、(A-ii)、又は(A-iii)の条件を満たす。

(A-i) 前記 R¹ は下記式 (i-2) で表される基であり、

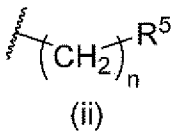
[0019] [化7]



[0020] (式中、R⁴ は前記に同じ。)

かつ、前記 R² は下記式 (ii) で表される基である；

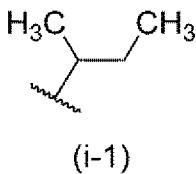
[0021] [化8]



[0022] (式中、n 及び R⁵ は前記に同じ。)

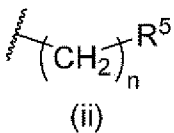
(A-ii) 前記 R¹ は下記式 (i-1) で表される基である (ただし、天然型ウミホタルルシフェリンを除く。)；

[0023] [化9]



[0024] (A-iii) 前記 R¹ はメチル基であり、かつ、前記 R² は下記式 (ii) で表される基である。

[0025] [化10]

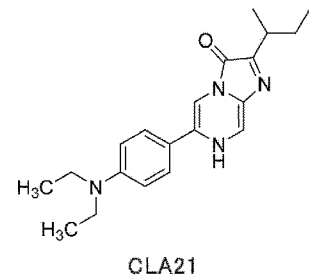
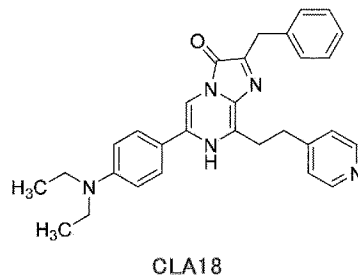
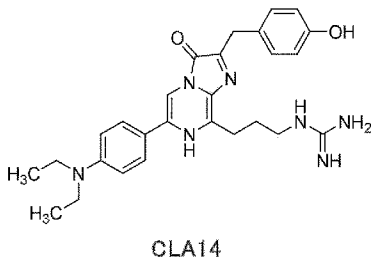
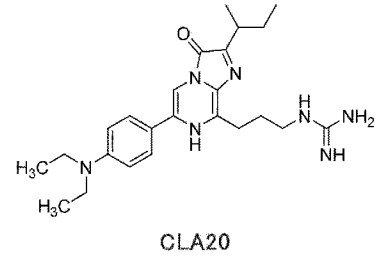
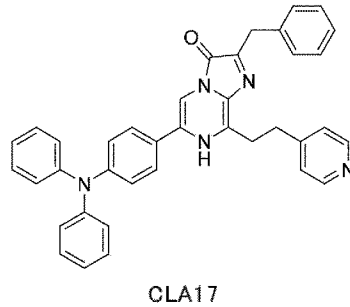
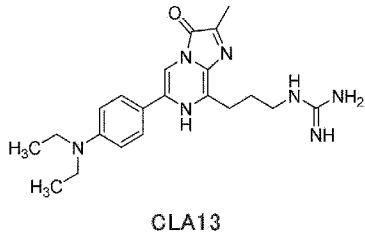
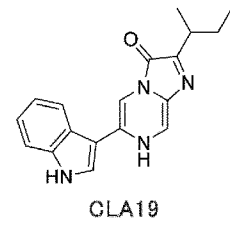
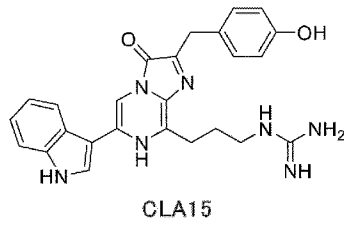
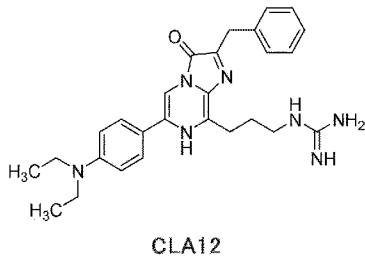


[0026] (式中、n 及び R⁵ は前記に同じ。)

[2] 前記一般式 (1) で表される化合物が下記式のいずれかで表される化合物である、上記 [1] に記載の化合物又はその塩若しくは溶媒和物。

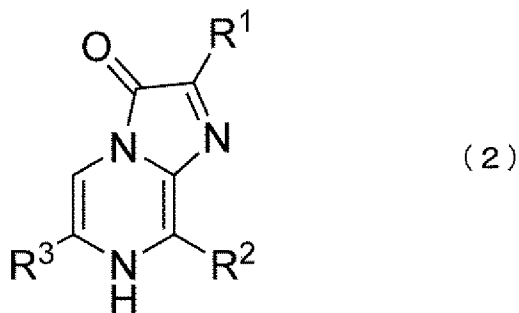
[0027]

[化11]



[0028] [3] 下記一般式(2)で表される化合物又はその塩若しくは溶媒和物と、被検体から採取された生体試料とを接触させる工程を含む、SARS関連コロナウイルスの検出方法。

[0029] [化12]

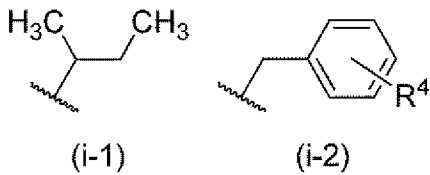


[0030] [式中、

R¹はメチル基又は下記式(i-1)又は(i-2)で表される基のいずれか1種であり；

[0031]

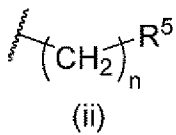
[化13]



[0032] (式中、 R^4 は水素原子、水酸基、フッ素原子、メトキシ基、又はトリフルオロメチル基である。)

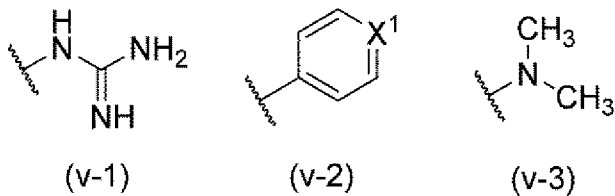
R^2 は水素原子又は下記式 (ii) で表される基のいずれか1種であり；

[0033] [化14]



[0034] (式中、 n は1～5の整数であり、 R^5 は下記式 (v-1)、(v-2) 又は (v-3) で表される基のいずれか1種である。)

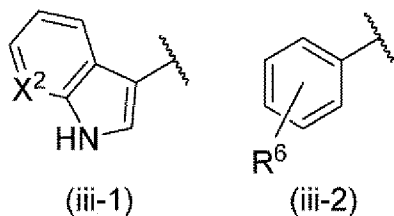
[0035] [化15]



{式中、 X^1 は窒素原子又はCH基である。}

R^3 は下記式 (iii-1) 又は (iii-2) で表される基のいずれか1種である。

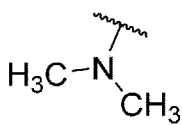
[0036] [化16]



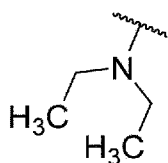
[0037] (式中、 X^2 は窒素原子又はCH基であり、 R^6 は水酸基、メトキシ基、メチル基、トリフルオロメチル基、又は下記式 (vi-1)、(vi-2)、(vi-3)、(vi-4) 若しくは (vi-5) で表される基のいずれか1種である。

)]

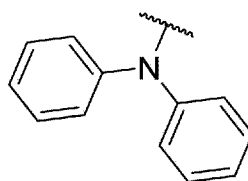
[0038] [化17]



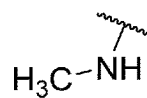
(vi-1)



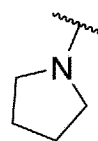
(vi-2)



(vi-3)



(vi-4)

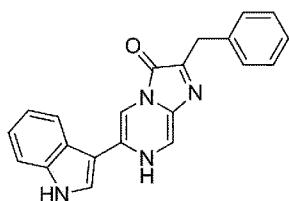


(vi-5)

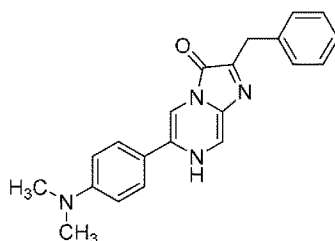
[0039] [4] 前記一般式 (2) で表される化合物が下記式のいずれかで表される化合物である、上記 [3] に記載の SARS 関連コロナウイルスの検出方法

。

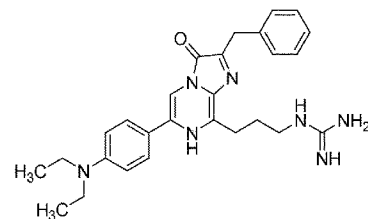
[0040] [化18]



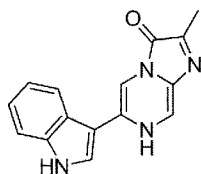
CLA1



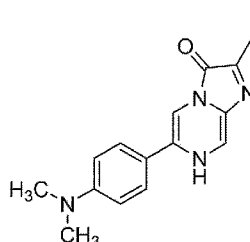
CLA7



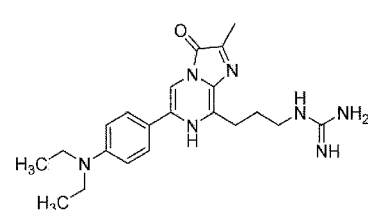
CLA12



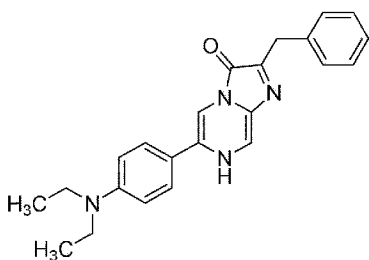
CLA2



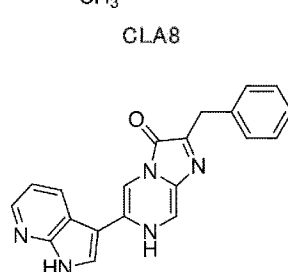
CLA8



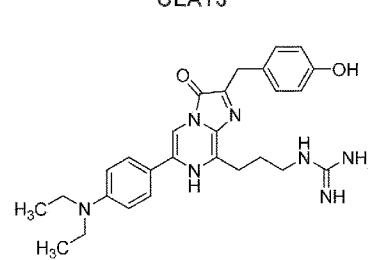
CLA13



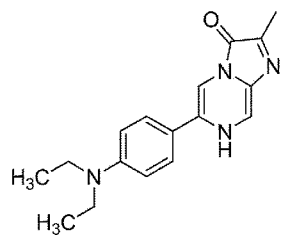
CLA3



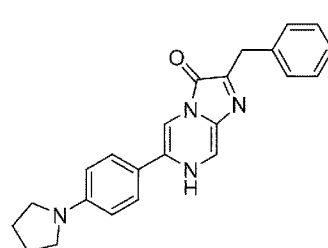
CLA9



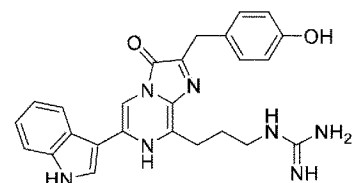
CLA14



CLA4

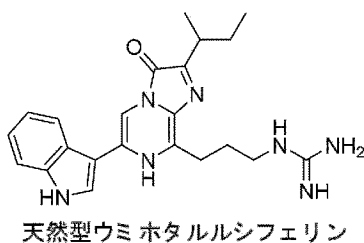
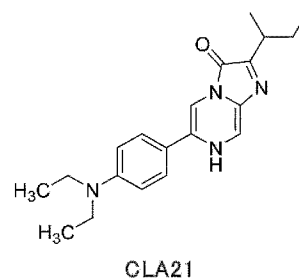
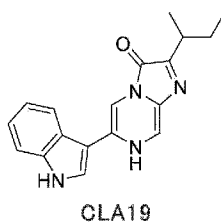
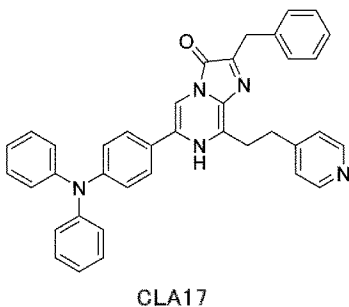
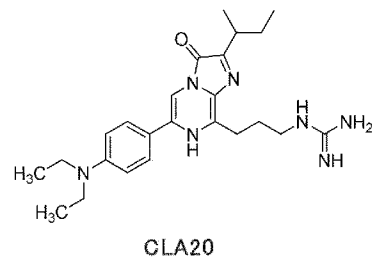
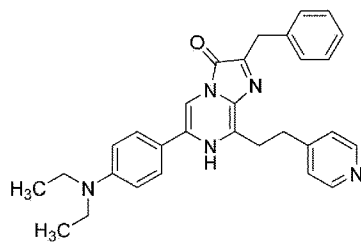
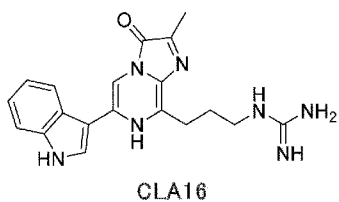


CLA10



CLA15

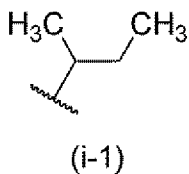
[0041] [化19]



[0042] [5] 前記一般式(2)で表される化合物が、下記条件(B-i)、(B-ii)、及び(B-iii)の少なくとも2つを満たす、上記[3]に記載のSARS関連コロナウイルスの検出方法。

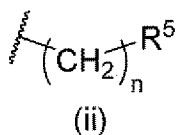
(B-i) 前記R¹は下記式(i-1)で表される基である；

[0043] [化20]



[0044] (B-ii) 前記R²は下記式(ii)で表される基である；

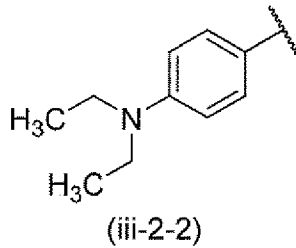
[0045] [化21]



[0046] (式中、n及びR⁵は前記に同じ。)

(B-iii) 前記 R^3 は下記式 (iii-2-2) で表される基である。

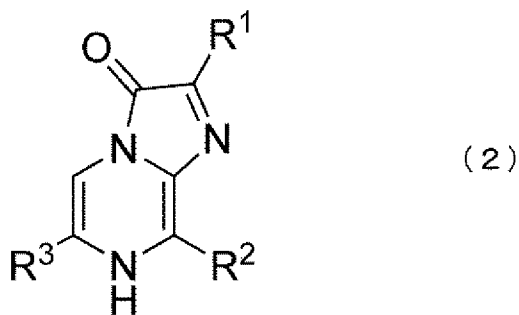
[0047] [化22]



[0048] [6] 前記接触させる工程の後、発光を測定する工程を更に含む、上記 [3] ~ [5] のいずれか 1 項に記載の SARS 関連コロナウイルスの検出方法。

[7] 下記一般式 (2) で表される化合物又はその塩若しくは溶媒和物を含む、SARS 関連コロナウイルスの検出剤。

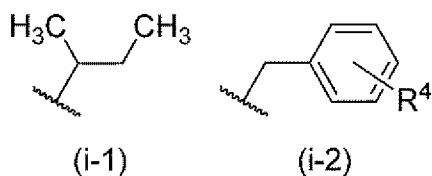
[0049] [化23]



[0050] [式中、

R^1 はメチル基又は下記式：

[0051] [化24]



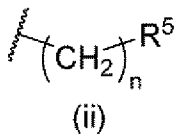
[0052] (式中、 R^4 は水素原子、水酸基、フッ素原子、メトキシ基、又はトリフルオロメチル基である。)

で表される基のいずれか 1 種であり；

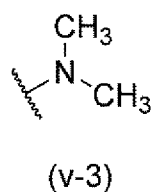
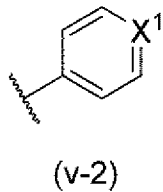
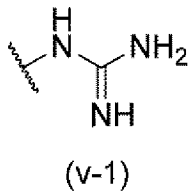
R^2 は水素原子又は下記式：

[0053]

[化25]

[0054] (式中、 n は 1 ～ 5 の整数であり、 R^5 は下記式：

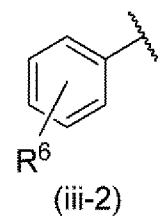
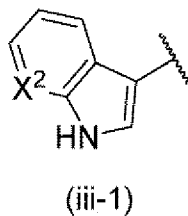
[0055] [化26]

[0056] {式中、 X^1 は窒素原子又は C H 基である。} で表される基のいずれか 1 種である。)

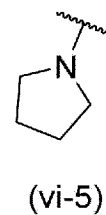
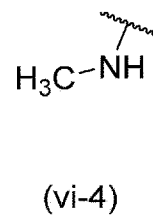
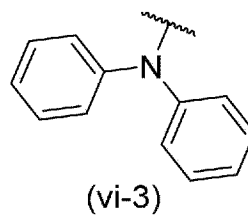
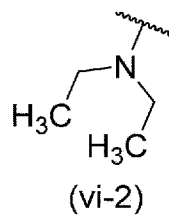
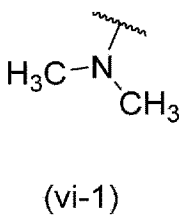
で表される基のいずれか 1 種であり；

 R^3 は下記式：

[0057] [化27]

[0058] (式中、 X^2 は窒素原子又は C H 基であり、 R^6 は水酸基、メトキシ基、メチル基、トリフルオロメチル基、又は下記式 (vi-1)、(vi-2)、(vi-3)、(vi-4) 若しくは (vi-5) で表される基のいずれか 1 種である。)

[0059] [化28]



発明の効果

[0060] 本発明により、新規な化合物又はその塩若しくは溶媒和物、SARS 関連

コロナウイルスの検出方法及びSARS関連コロナウイルスの検出剤が提供される。

図面の簡単な説明

[0061] [図1]図1は、天然型ウミホタルルシフェリンと、(i) SARS-CoV-2ウイルスのスパイクタンパク質の各ドメイン及び(ii)他種ウイルスのスパイクタンパク質との発光活性測定の結果を示す。

[図2]図2(i)は、天然型ウミホタルルシフェリンと、免疫グロブリンタンパク質IgAとの交差反応性を示す。図2(ii)は、SARS-CoV-2ウイルスのスパイクタンパク質の濃度と、天然型ウミホタルルシフェリンの発光強度の相関を示す。

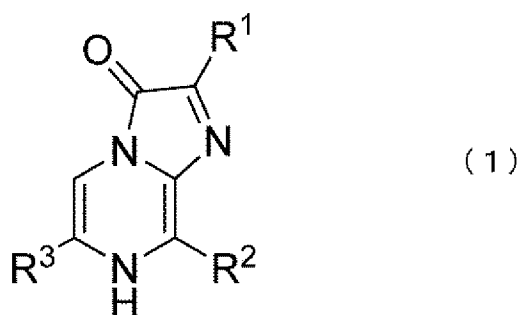
[図3]図3は、天然型ウミホタルルシフェリンと、各種タンパク質との交差反応性を示す。

発明を実施するための形態

[0062] 1. 化合物又はその塩若しくは溶媒和物

本発明の化合物は、下記一般式(1)で表される。本発明の化合物は主骨格としてイミダゾピラジノン環を有し、天然型ウミホタルルシフェリン(Cypridina luciferin)の誘導体を包含する。なお、本明細書において、化学式中の波線部は結合位置を示す。

[0063] [化29]

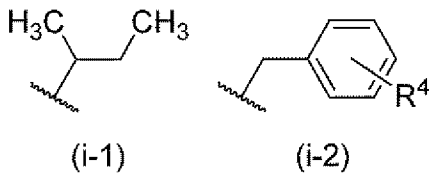


[0064] [式中、

R¹はメチル基又は下記式(i-1)又は(i-2)で表される基のいずれか1種であり；

[0065]

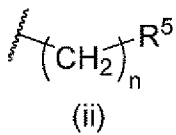
[化30]



[0066] (式中、 R^4 は水素原子、水酸基、フッ素原子、メトキシ基、又はトリフルオロメチル基である。)

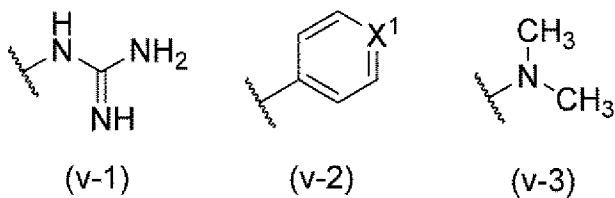
R^2 は水素原子又は下記式 (ii) で表される基のいずれか1種であり；

[0067] [化31]



[0068] (式中、 n は1～5の整数であり、 R^5 は下記式 (v-1)、(v-2) 又は (v-3) で表される基のいずれか1種である。)

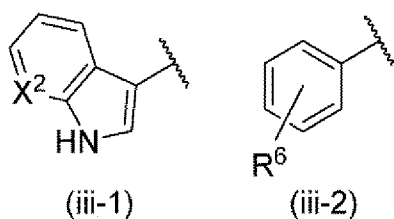
[0069] [化32]



[0070] {式中、 X^1 は窒素原子又はCH基である。}

R^3 は下記式 (iii-1) 又は (iii-2) で表される基のいずれか1種であり；

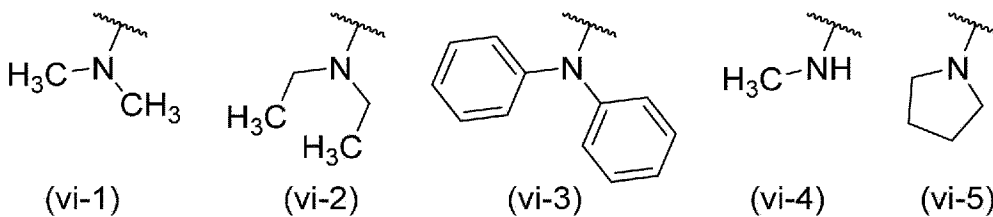
[0071] [化33]



[0072] (式中、 X^2 は窒素原子又はCH基であり、 R^6 は水酸基、メトキシ基、メチル基、トリフルオロメチル基、又は下記式 (vi-1)、(vi-2)、(vi-3)、(vi-4) 若しくは (vi-5) で表される基のいずれか1種である。

)

[0073] [1734]

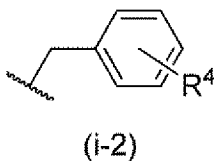


[0074] かつ、

下記 (A-i)、(A-ii)、又は (A-iii) の条件を満たす。

(A-i) 前記 R^1 は下記式 (i-2) で表される基であり、

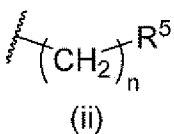
[0075] [1735]



[0076] (式中、 R^4 は前記に同じ。)

かつ、前記 R^2 は下記式 (ii) で表される基である；

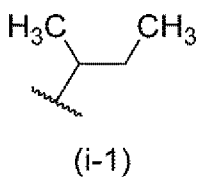
[0077] [化36]



[0078] (式中、 n 及び R^5 は前記に同じ。)

[0079] (A-ii) 前記 R¹は下記式 (i-1) で表される基である (ただし、天然型ウミホタルルシフェリンを除く。) ;

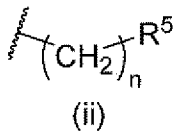
[化37]



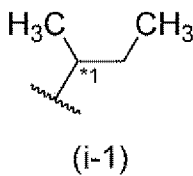
[0080] (A-iii) 前記R¹はメチル基であり、かつ、前記R²は下記式(ii)で表される基である。

[0081]

[化38]

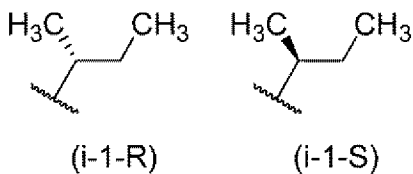
[0082] (式中、 n 及び R^5 は前記に同じ。)[0083] 上記式 (i-1) は、下記に示す不斉炭素 C^{*1} を有する。

[0084] [化39]



[0085] C^{*1} の立体配置は、下記式 (i-1-R) に示す R 配置又は下記式 (i-1-S) のいずれであってもよい。また、一の立体配置単独又はその混合物のいずれであってもよい。R 配置体と S 配置体の混合物としては、それぞれの立体配置を等量含むラセミ体が挙げられる。

[0086] [化40]

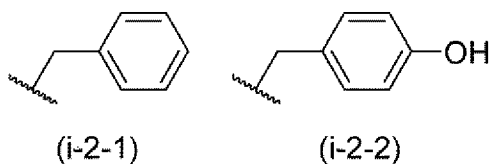


[0087] 上記式 (i-2) において、 R^4 が水酸基、フッ素原子、メトキシ基、又はトリフルオロメチル基である場合、そのベンゼン環骨格への結合位置は、他方のメチレン基に対してオルト位、メタ位及びパラ位のいずれであってもよく、好ましくはパラ位である。

R^4 は、好ましくは水素原子又は水酸基である。

[0088] 上記式 (i-2) で表される基の好ましい態様として、下記式 (i-2-1) 及び (i-2-2) で表される基が挙げられる。

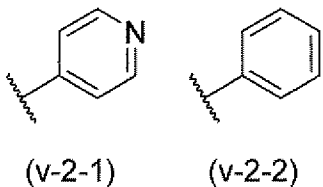
[0089] [化41]



[0090] 上記 n は 1 ～ 5 の整数であり、好ましくは 2 又は 3 である。

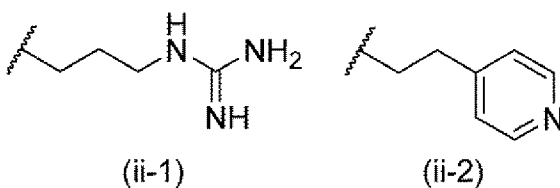
[0091] 上記式 (v-2) で表される基は、下記式 (v-2-1) 又は (v-2-2) で表される基である。

[0092] [化42]



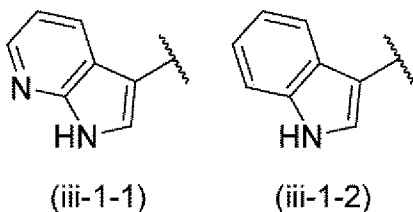
[0093] 上記 R^2 の好ましい態様として、水素原子、又は、下記式 (ii-1) 又は (ii-2) で表される基が挙げられる。

[0094] [化43]



[0095] 上記式 (iii-1) で表される基は、下記式 (iii-1-1) 又は (iii-1-2) で表される基である。

[0096] [化44]

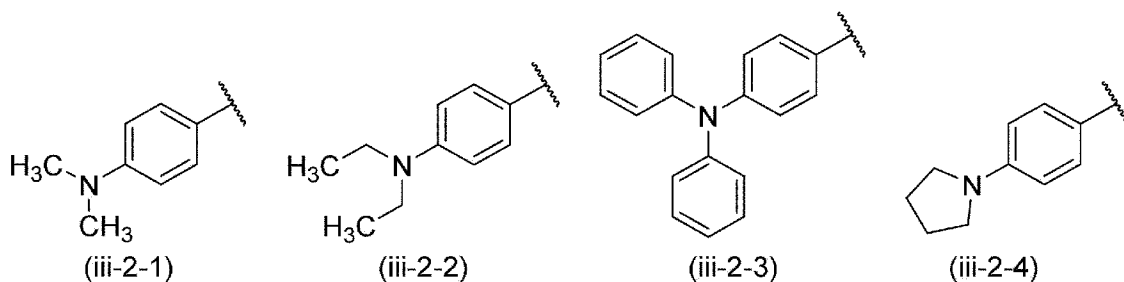


[0097] 上記式 (iii-2) において、 R^6 のベンゼン環骨格への結合位置は、他方のイミダゾピラジノン環に対してオルト位、メタ位及びパラ位のいずれであってもよく、好ましくはパラ位である。

[0098] R^3 の好ましい態様として、上記式 (iii-1-1) 若しくは (iii-1-2)、又は、下記式 (iii-2-1)、(iii-2-2)、(iii-2-3) 若しくは (iii-2-4) で表される基が挙げられる。

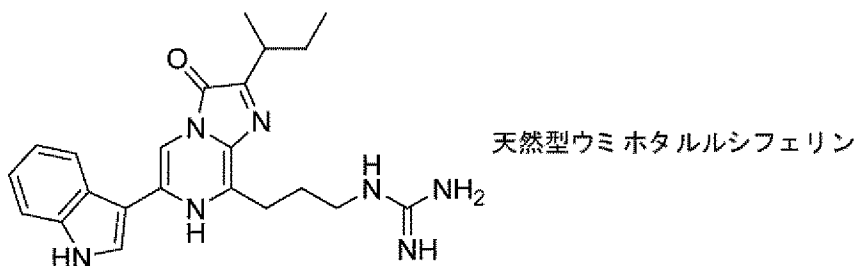
[0099]

[化45]



[0100] 天然型ウミホタルルシフェリンは、下記式で表される化合物であり、条件 (A-ii) を満たす化合物には含まれない。

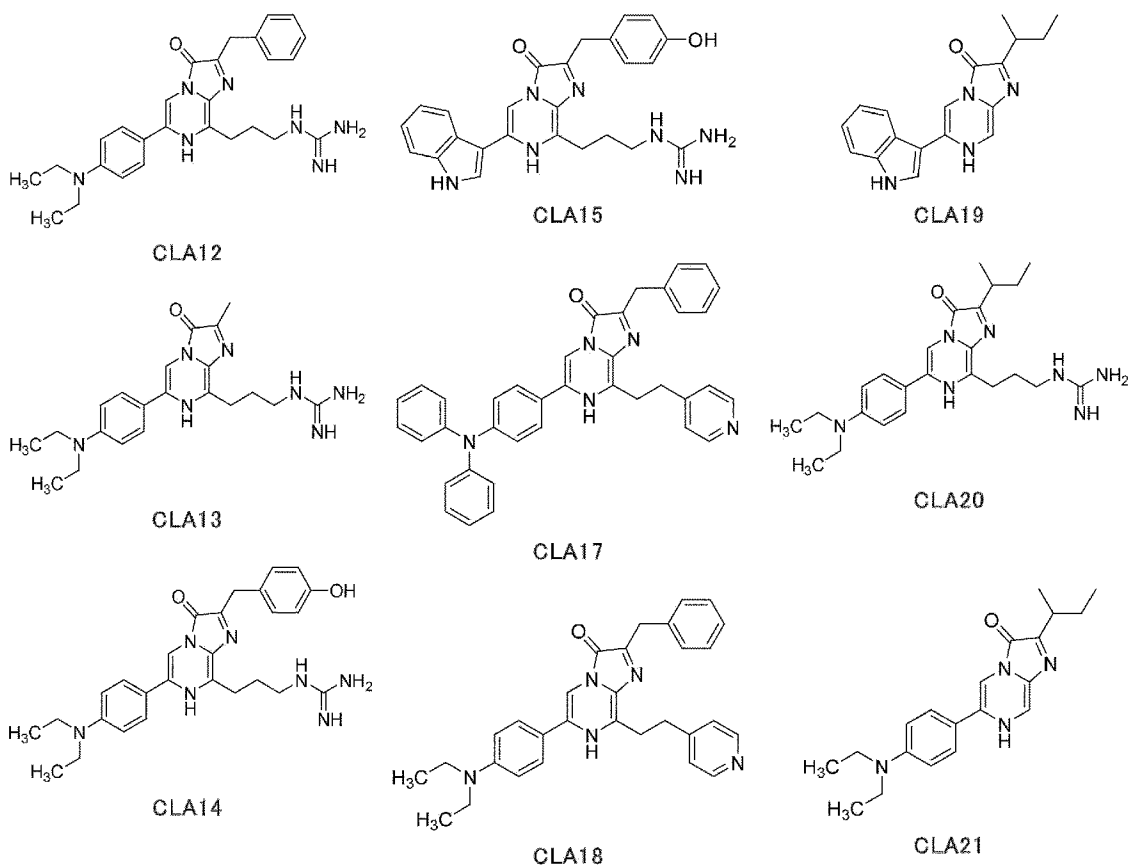
[0101] [化46]



[0102] 上記一般式 (1) で表される化合物の好ましい態様として、下記式のいずれかで表される化合物が挙げられる。

[0103]

[化47]



[0104] 本発明は、上記一般式（１）で表される化合物の塩を包含する。そのような塩としては、特に限定はされない。具体的に、例えば、ハロゲン化水素酸塩（例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、及びヨウ化水素酸塩等）、無機酸塩（例えば、硫酸塩、硝酸塩、過塩素酸塩、リン酸塩、炭酸塩、及び重炭酸塩等）、有機カルボン酸塩（例えば、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、及びクエン酸塩等）、有機スルホン酸塩（例えば、メタンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、トルエンスルホン酸塩、及びカンファースルホン酸塩等）の酸付加塩；第四級アミン塩、アルカリ金属塩（例えば、ナトリウム塩、及びカリウム塩等）、アルカリ土類金属塩（例えば、マグネシウム塩、及びカルシウム塩等）等の塩基付加塩が挙げられる。

本発明は、上記一般式（１）で表される化合物の水和物及び溶媒和物を包含する。当該溶媒和物としては、例えば、エタノールとの溶媒和物等が挙げ

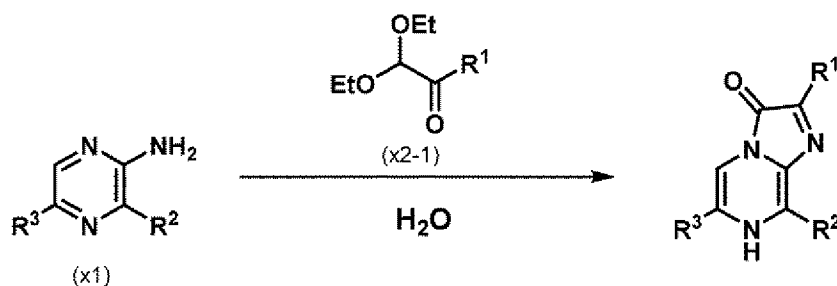
られる。

[0105] (製造方法)

本発明の化合物は、例えば、スキーム 1 又は 2 に示す通り、セレンテラミン誘導体 (x 1) とケトアセタール化合物 (x 2-1) 又はジアセチル化合物 (x 2-2) とを縮合することで製造することができる。

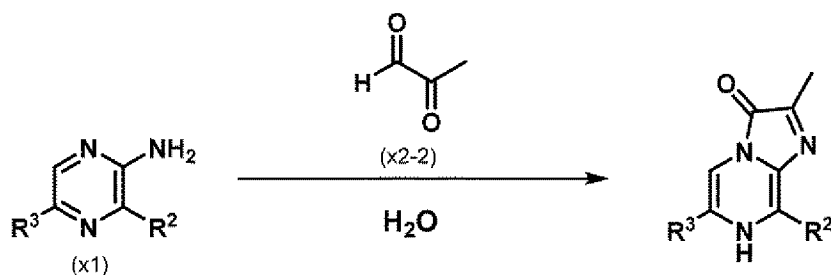
[0106] [化48]

Scheme 1



[0107] [化49]

Scheme 2



[0108] [式中、R¹、R²及びR³は前記に同じ。]

[0109] 反応は、水の存在下、セレンテラミン誘導体 (x 1) 1 モルに対し、ケトアセタール化合物 (x 2-1) 又はメチルグリオキサール (x 2-2) 1 ～ 4 モル程度使用し、酸の存在下に 65 ～ 100℃程度の温度で 1 ～ 5 時間反応させることで有利に進行する。

反応は、溶媒中で行うことにより有利に進行する。溶媒としては、エタノール等が挙げられる。

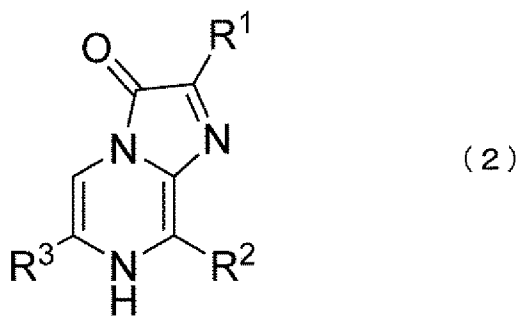
[0110] 本発明の化合物又はその塩若しくは溶媒和物は、例えば SARS 関連コロナウイルスの検出剤として有用であり、後述する SARS 関連コロナウイルスの検出方法における発光基質として好適に使用することができる。

なお、本発明の化合物はウミホタルルシフェリン (Cypridina luciferin) の誘導体であるが、ルシフェリンールシフェラーゼ反応における発光基質として機能しない場合もある。

[0111] 2. SARS 関連コロナウイルスの検出方法

本発明の SARS 関連コロナウイルスの検出方法は、下記一般式 (2) で表される化合物又はその塩若しくは溶媒和物と、被検体から採取された生体試料とを接触させる工程を含む。

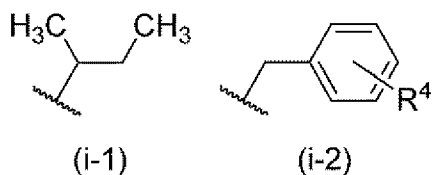
[0112] [化50]



[式中、

R^1 はメチル基又は下記式 (i-1) 又は (i-2) で表される基のいずれか 1 種であり；

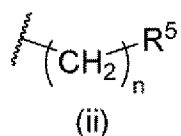
[化51]



[0113] (式中、 R^4 は水素原子、水酸基、フッ素原子、メトキシ基、又はトリフルオロメチル基である。)

R^2 は水素原子又は下記式 (ii) で表される基のいずれか 1 種であり；

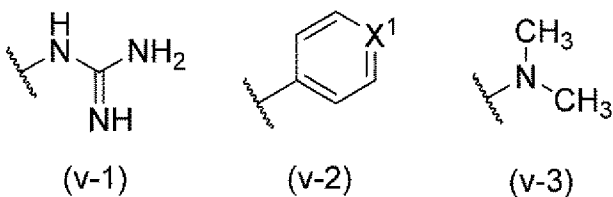
[0114] [化52]



[0115] (式中、 n は 1 ～ 5 の整数であり、 R^5 は下記式 (v-1)、(v-2) 又は

(v-3) で表される基のいずれか 1 種である。)

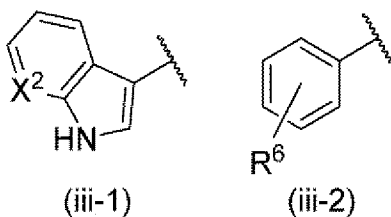
[化53]



[0116] {式中、 X^1 は窒素原子又はC H基である。}

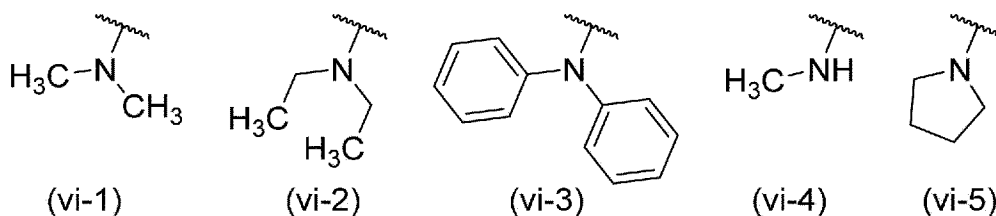
R^3 は下記式 (iii-1) 又は (iii-2) で表される基のいずれか 1 種である。

[0117] [化54]



[0118] (式中、 X^2 は窒素原子又はC H基であり、 R^6 は水酸基、メトキシ基、メチル基、トリフルオロメチル基、又は下記式 (vi-1)、(vi-2)、(vi-3)、(vi-4) 若しくは (vi-5) で表される基のいずれか 1 種である。)

[0119] [化55]



[0120] (化合物等)

本発明のSARS関連コロナウイルスの検出方法は、発光基質として上記一般式(2)で表される化合物又はその塩若しくは溶媒和物を使用する。

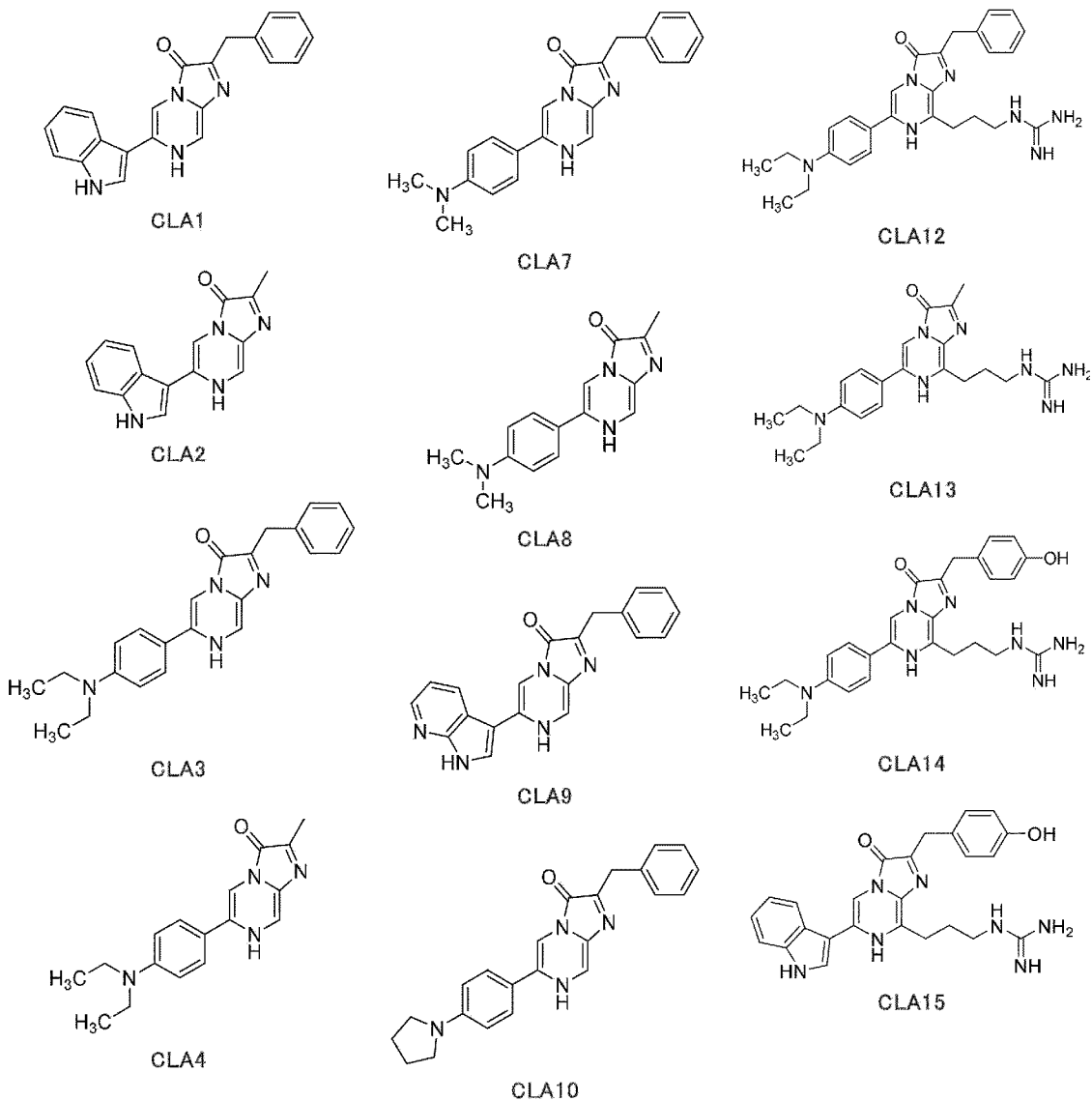
上記一般式(2)で表される化合物において、 R^1 、 R^2 及び R^3 は上記一般式(1)で表される化合物と同じであり、好ましい態様も同じである。

上記一般式(2)で表される化合物は、上記一般式(1)で表される化合

物と同様にして製造することができる。

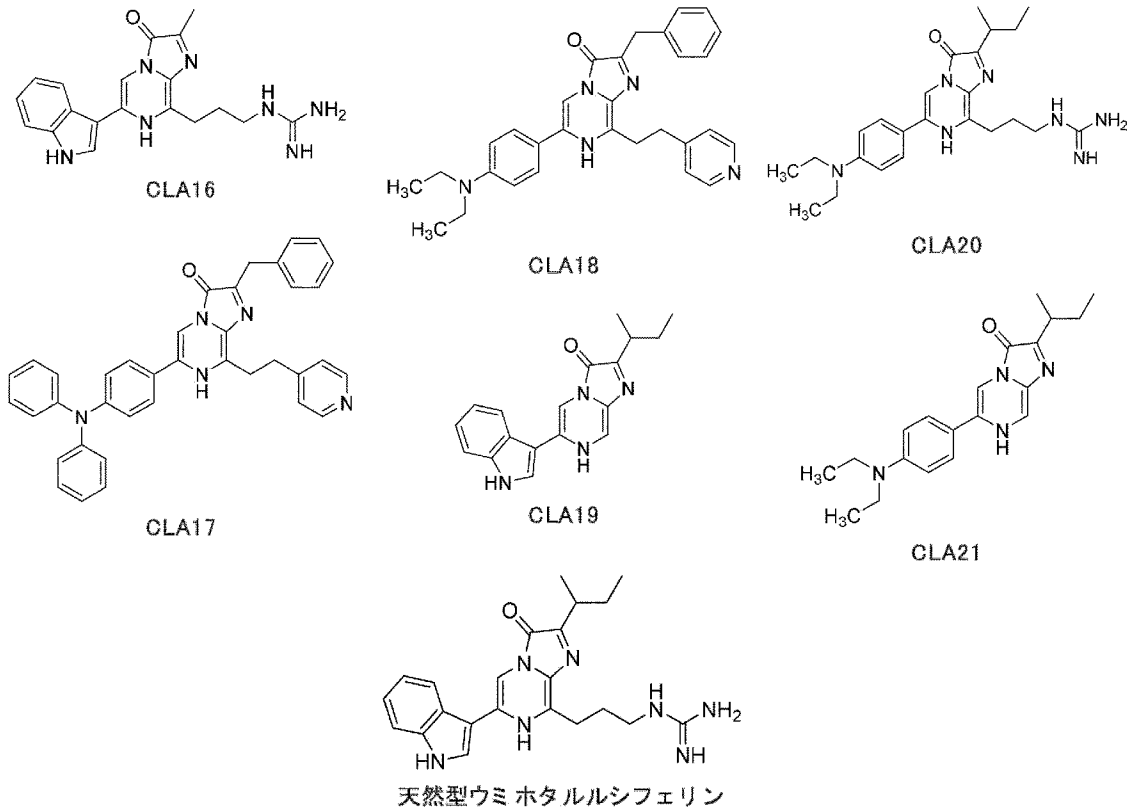
[0121] 上記一般式（２）で表される化合物の好ましい態様として、下記式のいずれかで表される化合物が挙げられる。

[0122] [化56]



[0123]

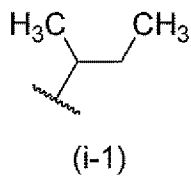
[化57]



[0124] 本発明のSARS関連コロナウイルスの検出方法のより好ましい態様の一つにおいて、上記一般式(2)で表される化合物が、下記条件(B-i)、(B-ii)、及び(B-iii)の少なくとも2つを満たす。

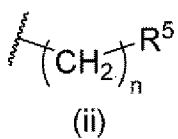
(B-i) 前記R¹は下記式(i-1)で表される基である；

[0125] [化58]



[0126] (B-ii) 前記R²は下記式(ii)で表される基である；

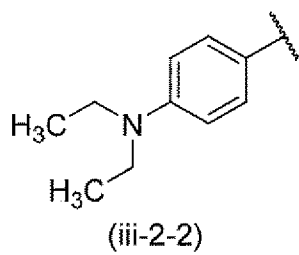
[0127] [化59]



[0128] (式中、n及びR⁵は前記に同じ。)

(B-iii) 前記R³は下記式(iii-2-2)で表される基である。

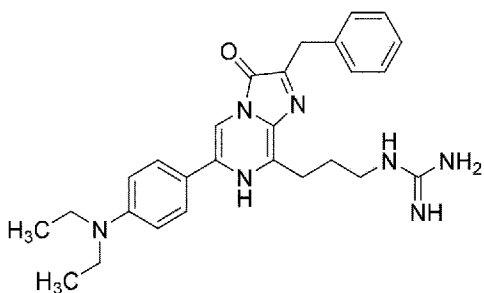
[0129] [化60]



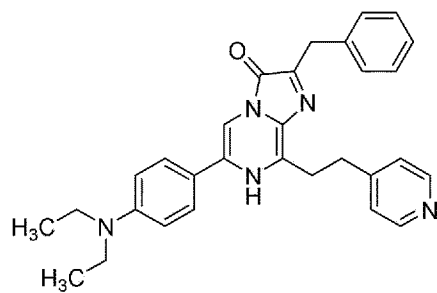
[0130] 上記条件（B－i）、（B－ii）、及び（B－iii）の少なくとも2つを満たす化合物として、下記式のいずれかで表される化合物が挙げられる。

[0131]

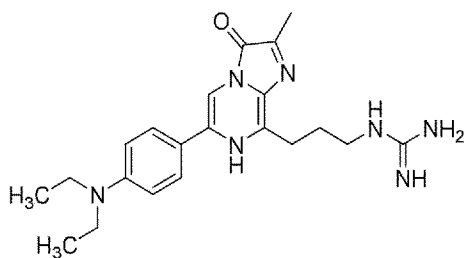
[化61]



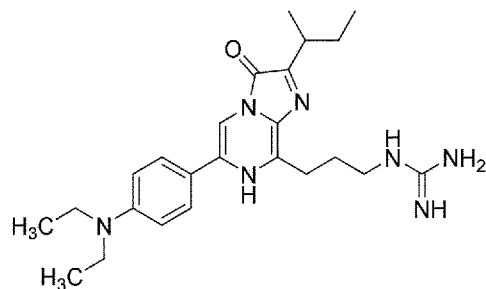
CLA12



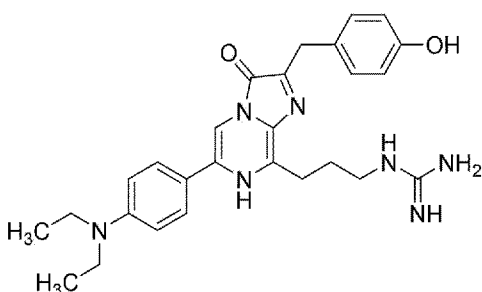
CLA18



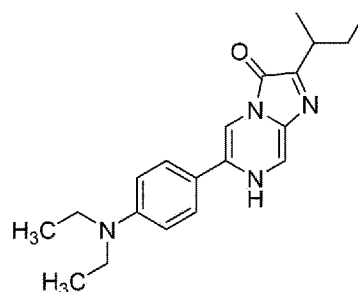
CLA13



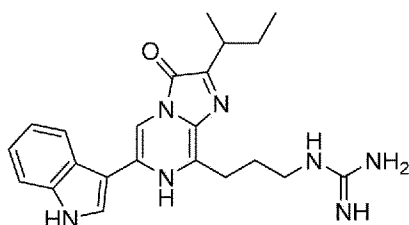
CLA20



CLA14



CLA21



天然型ウミ ホタルルシフェリン

[0132] (SARS関連コロナウイルス)

SARS関連コロナウイルスは、ベータコロナウイルス属に属し、SARSコロナウイルス-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; SARS-CoV-2) 及びSARSコロナウイルス (SARS-CoV) を含む。

SARS-CoV-2は、急性呼吸器疾患 (COVID-19) の原因と

考えられており、COVID-19の世界的流行（パンデミック）を引き起こした。

SARS関連コロナウイルスは、中東呼吸器症候群（MERS、Middle East respiratory syndrome）の原因となるMERSコロナウイルスとは区別される。

[0133] （被検体）

被検体としては、SARS関連コロナウイルスに感染し得る対象であれば特に限定されない。具体的には、ヒト；チンパンジー、他の類人猿及びサル種などの非ヒト霊長類を含めたヒト以外の霊長類；ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギ及びウマなどの家畜；イヌ及びネコなどの家畜哺乳類；並びに、マウス、ラット及びモルモットなどの齧歯動物を含む小動物又は実験用動物を含み、好ましくはヒトである。また、被検体には、成人、幼児、及び新生児も含まれる。

被検体の好ましい態様の一つは、SARS関連コロナウイルスに感染していることが疑われている被検体である。

[0134] （生体試料）

試料として、被検体に由来する生体試料を、SARS関連コロナウイルスが存在し得る試料である限り、使用することができる。具体的には、被検体に由来する細胞、体液試料等が挙げられる。

細胞、生体組織としては、採取が容易である口腔粘膜の細胞、鼻腔粘膜の細胞、表皮当が挙げられる。

体液試料としては、血液由来の試料、リンパ液、尿、汗、唾液、鼻汁、涙等が挙げられる。

[0135] （接触工程）

本発明のSARS関連コロナウイルスの検出方法は、上記一般式（2）で表される化合物又はその塩若しくは溶媒和物と、被検体から採取された生体試料とを接触させる工程を含む。

接触させる条件は、ルシフェリンールシフェラーゼ反応に準じて、反応溶

液のpH及び塩濃度等、反応温度等の反応条件を設定することができる。

[0136] 使用する上記一般式(2)で表される化合物又はその塩若しくは溶媒和物の濃度が特に限定されず、好ましくは5～100 μ M、より好ましくは20～50 μ Mである。上記下限以上であれば、十分な発光反応速度が達成できると考えられるため好ましい。上記上限以下であれば、化合物等の溶解性の観点から好ましい。

[0137] 反応時間は特に限定されず、発光反応が速やかに進行するため、例えば、10秒間～10分間、より好ましくは30秒間～5分間、更に好ましくは1～3分間とすることができる。

[0138] 上記化合物がSARS関連コロナウイルスのスパイクタンパク質と反応し、上記化合物の酸化体が励起状態へと遷移、励起状態から基底状態へ遷移する際に発光が放出すると考えられる。

従って、生体試料中にSARS関連コロナウイルスが存在する場合、接触後に発光が観察される。すなわち、発光が測定される場合に、被検体はSARS関連コロナウイルスに感染していると判定することができる。

[0139] 本発明のSARS関連コロナウイルスの検出方法は、前記接触させる工程の後、発光を測定する工程を更に含むことが好ましい。

発光を測定する工程は、一般的な発光測定装置を用いて行うことができる。発光測定装置としては、ルミノメーター、発光検出手段を備えた顕微鏡、発光撮影装置等が挙げられる。

[0140] かくして、SARS関連コロナウイルスが検出される。

SARS関連コロナウイルスに感染していると判定された被検体は、他の対象への感染防止策、治療など、必要な措置を取ればよい。

[0141] 3. SARS関連コロナウイルスの検出剤

本発明は、上記一般式(2)で表される化合物又はその塩若しくは溶媒和物を含む検出剤をも提供する。

検出剤は、例えば組成物の形態で提供される。該組成物には、必要に応じて他の成分が含まれていてもよい。他の成分としては、例えば基剤、担体、

溶剤、分散剤、乳化剤、緩衝剤、安定剤、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、増粘剤、保湿剤、着色料、香料、キレート剤等が挙げられる。

また、検出剤は、例えば、SARS関連コロナウイルスの検出用キットの形態でも提供される。該キットには、各種試薬（例えば、反応溶液等）、器具（例えば、生体試料の採取及び保存用器具）等が含まれてもよい。また、キットの使用方法として、本発明のSARS関連コロナウイルスの検出方法を記載した手順書を含んでいてもよい。

実施例

[0142] 以下に、実施例を挙げて本発明をより具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

[0143] 1. 合成例

各試薬は富士フィルム和光純薬株式会社、関東化学株式会社、東京化成工業株式会社、ビーエルディーファーマテック社、又はシグマアルドリッチ社から購入し精製せずにそのまま用いた。

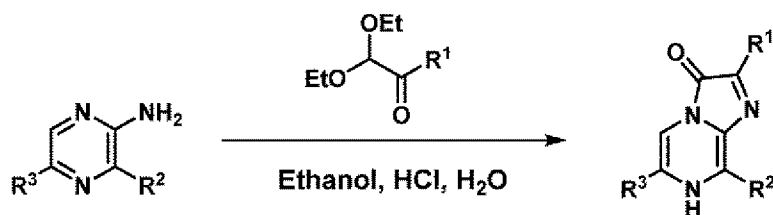
^1H -NMR及び ^{13}C -NMRは、測定装置としてBruker社製Avance III-500を用いた。内部標準としてテトラメチルシラン（TMS, 0 ppm）を用いた。結合定数（J）はHzで示した。略号s, d, t, q, m及びbrはそれぞれ単重線、二重線、三重線、四重線、多重線、及び幅広線を示す。

[0144] 総論

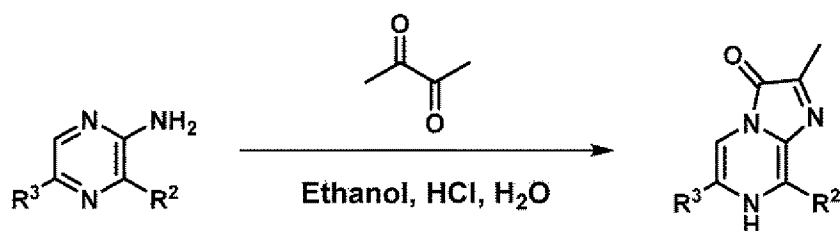
本発明の化合物は、スキーム1又は2に示す通り、セレンテラミン誘導体とケトアセタール化合物又はジアセチルを縮合することで、合成した。

[0145] [化62]

Scheme 1

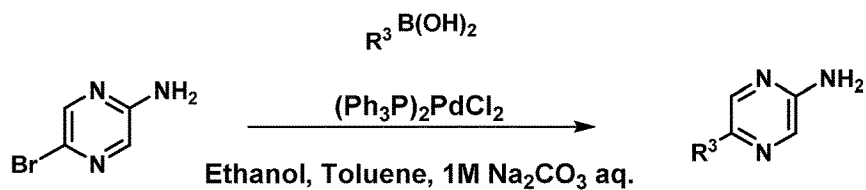


[0146] [化63]

Scheme 2[0147] [式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 は前記に同じ。]

[0148] セレンテラミン誘導体は、下記反応スキーム3～5で合成した。

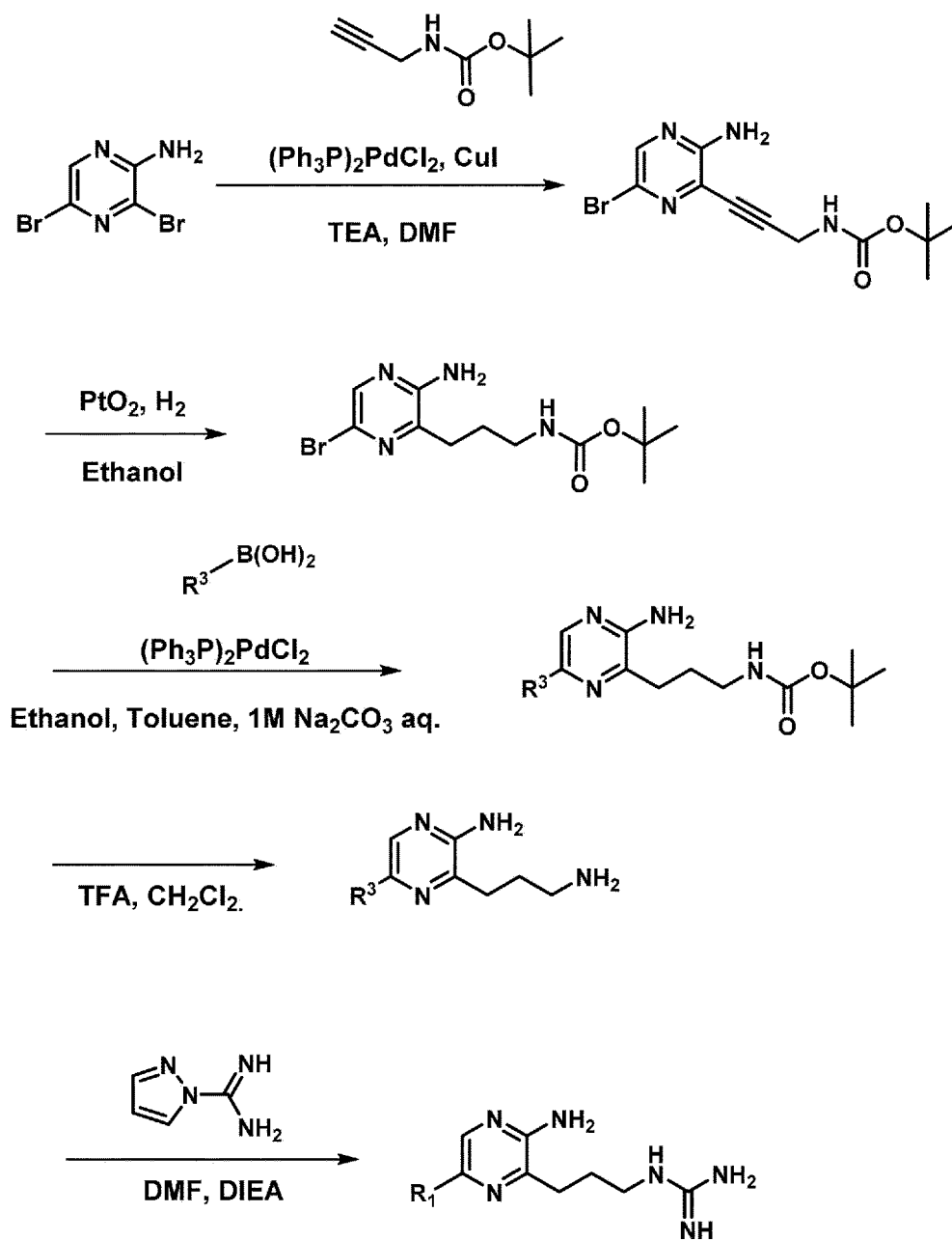
[0149] [化64]

Scheme 3

[0150]

[化65]

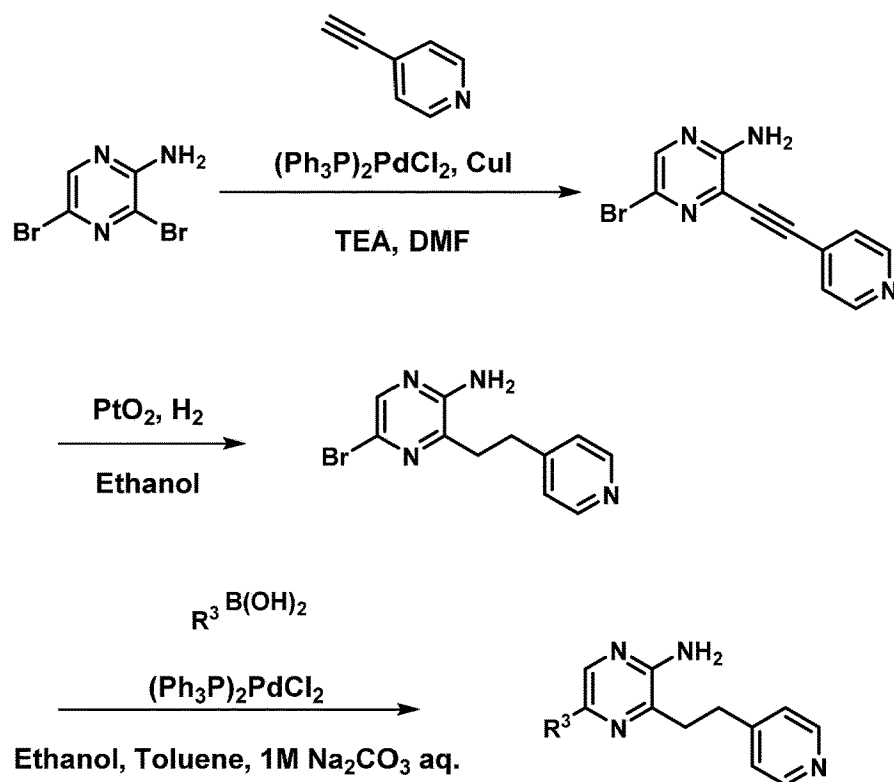
Scheme 4



[0151]

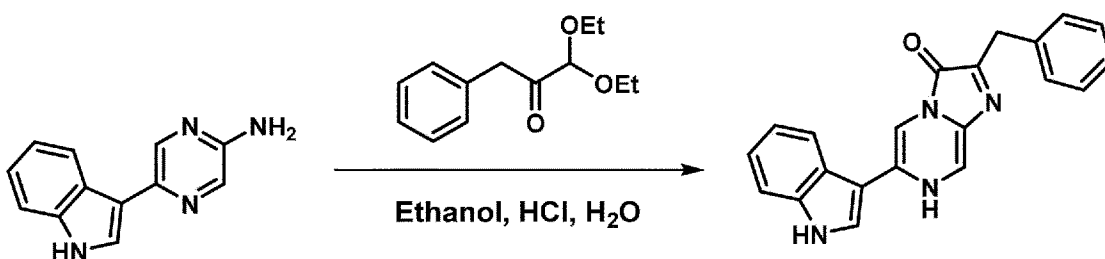
[化66]

Scheme 5

[0152] [式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 は前記に同じ。]

[0153] 合成例1：2-benzyl-6-(1H-indol-3-yl)imidazo[1,2-a]pyrazin-3(7H)-oneの合成 (CLA1)

[0154] [化67]



[0155] アルゴン雰囲気下、5-(1H-インドール-3-イル)ピラジン-2-アミン (40.0 mg, 0.19 mmol, 1 eq.) と 1,1-ジエトキシ-3-フェニルプロパン-2-オン (50.7 mg, 0.22 mmol, 1.2 eq.) をエタノール (3 ml)、超純水 (Milli-Q) (0.

3 m l) に溶解させ、0℃に冷却した。反応溶液を真空脱気し、濃塩酸 (0.1 m l) を加え、80℃で一晩攪拌した。

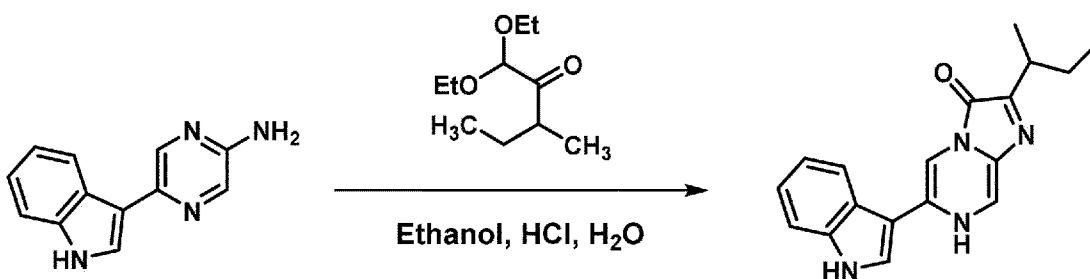
室温まで放冷後、減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー (溶離液: 塩化メチレン/メタノール=20/1) にて精製し、2-ベンジル-6-(1H-インドール-3-イル) イミダゾ [1, 2-a] ピラジン-3 (7H)-オン (CLA1) を得た。(49.8 mg, 77%)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ (ppm) = 7.78 (t, $J=11.8$ Hz, 2H), 7.66 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.34 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 7.18–7.05 (m, 5H), 4.04 (s, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD): δ (ppm) = 35.43, 108.70, 113.93, 120.80, 122.59, 124.64, 126.42, 128.32, 130.39, 130.83, 139.33, 140.45.

[0156] 合成例2: 2-(sec-butyl)-6-(1H-indol-3-yl)imidazo [1, 2-a]pyrazin-3 (7H)-one の合成 (CLA19)

[0157] [化68]



[0158] アルゴン雰囲気下、5-(1H-インドール-3-イル)ピラジン-2-アミン (40.0 mg, 0.19 mmol, 1 eq.) と1,1-ジエトキシ-3-メチルペンタン-2-オン (107 mg, 0.57 mmol, 2 eq.) をエタノール (2 m l)、超純水 (Milli-Q) (0.2 m l) に溶解させ、0℃に冷却した。反応溶液を真空脱気し、濃塩酸 (0.1 m l

)を加え、80℃で4時間攪拌した。

室温まで放冷後、減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー（溶離液：クロロホルム／メタノール＝10／1）にて精製し、2-（sec-ブチル）-6-（1H-インドール-3-イル）イミダゾ[1,2-a]ピラジン-3（7H）-オン（CLA19）を得た。（19.3mg, 33%）

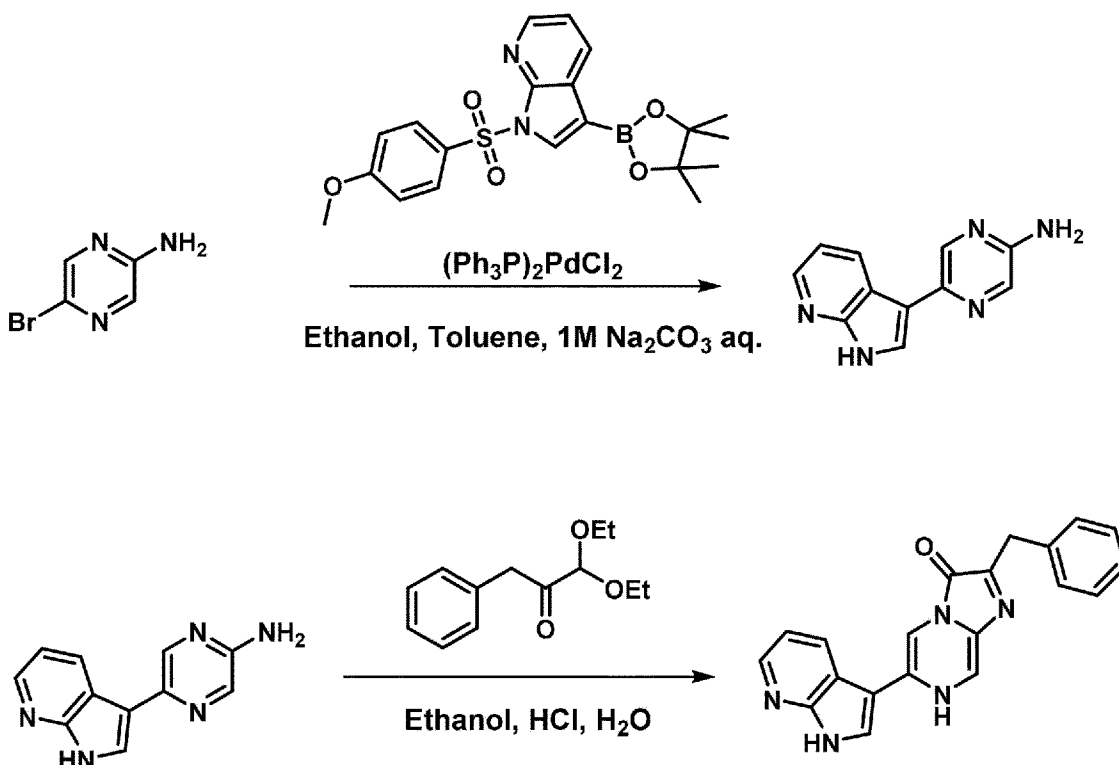
$^1\text{H-NMR}$ （500MHz, CD_3OD ）： δ （ppm）＝7.80（t, $J=5.9\text{Hz}$, 1H）, 7.74（s, 1H）, 7.63（s, 1H）, 7.58（s, 1H）, 7.36（d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H）, 7.15－7.07（m, 2H）, 3.20（quintet, $J=3.2\text{Hz}$, 3H）, 1.24（d, $J=6.9\text{Hz}$, 2H）, 0.81（t, $J=7.4\text{Hz}$, 3H）.

$^{13}\text{C-NMR}$ （125MHz, CD_3OD ）： δ （ppm）＝12.40, 19.02, 29.58, 35.36, 107.18, 113.08, 119.95, 121.72, 123.78, 125.50, 125.62, 138.49.

[0159] 合成例3：2-benzyl-6-（1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-yl）imidazo[1,2-a]pyrazin-3（7H）-oneの合成（CLA9）

[0160]

[化69]



[0161] (1) アルゴン雰囲気下、5-ブロモピラジン-2-アミン (100.0 mg, 0.57 mmol, 1 eq.) と 1-((4-メトキシフェニル)スルホニル)-3-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2-イル)-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン (261.0 mg, 0.62 mmol, 1.1 eq.) をエタノール (2 ml)、トルエン (16 ml) に溶かし、これに 1M 炭酸ナトリウム水溶液 (6 ml) を加えて室温で攪拌した。反応溶液を真空脱気し、触媒量のテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)を加え、再び真空脱気し、100℃で一晩攪拌した。

室温まで冷却後、セライト濾過によりパラジウム触媒を除去した。得られた残渣を酢酸エチルで抽出し、その後蒸留水及び飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣を絡むクロマトグラフィー (溶離液: ヘキサン/酢酸エチル = 4/1) にて精製し、減圧濃縮した。得られた残渣を 1,4-ジオキサン (4 ml)、メタノール (4 ml) に溶解し、これに 5N 水酸化ナトリウム水溶液 (3 ml) を加え、室温で一晩攪

拌した。反応溶液を酢酸エチルでし、その後蒸留水及び飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をカラムクロマトグラフィー（溶離液：酢酸エチル／メタノール＝9／1）にて精製し、5-（1H-ピロール[2, 3-b]ピリジン-3-イル）ピラジン-2-アミンを得た。（88.0mg, 72%）

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CD_3OD) : δ (ppm) = 8.40 (d, $J=7.7\text{ Hz}$, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.17 (d, $J=4.1\text{ Hz}$, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.10 (q, $J=7.1\text{ Hz}$, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125MHz, CD_3OD) : δ (ppm) = 112.54, 116.24, 118.34, 122.99, 129.77, 132.03, 137.90, 139.16, 142.52, 148.09, 152.62.

[0162] (2) アルゴン雰囲気下、上記(1)で得た5-（1H-ピロール[2, 3-b]ピリジン-3-イル）ピラジン-2-アミン（30.0mg, 0.14mmol, 1eq.）と1, 1-ジエトキシー-3-フェニルプロパン-2-オン（63mg, 0.28mmol, 2eq.）をエタノール（2ml）、milliQ（0.2ml）に溶解させ、0℃に冷却した。反応溶液を真空脱気し、濃塩酸（0.1ml）を加え、80℃で4時間撹拌した。

室温まで放冷後、減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー（溶離液：クロロホルム／メタノール＝4／1）にて精製し、2-ベンジル-6-（1H-ピロロ[2, 3-b]ピリジン-3-イル）イミダゾ[1, 2-a]ピラジン-3（7H）-オン（CLA9）を得た。（31.7mg, 65%）

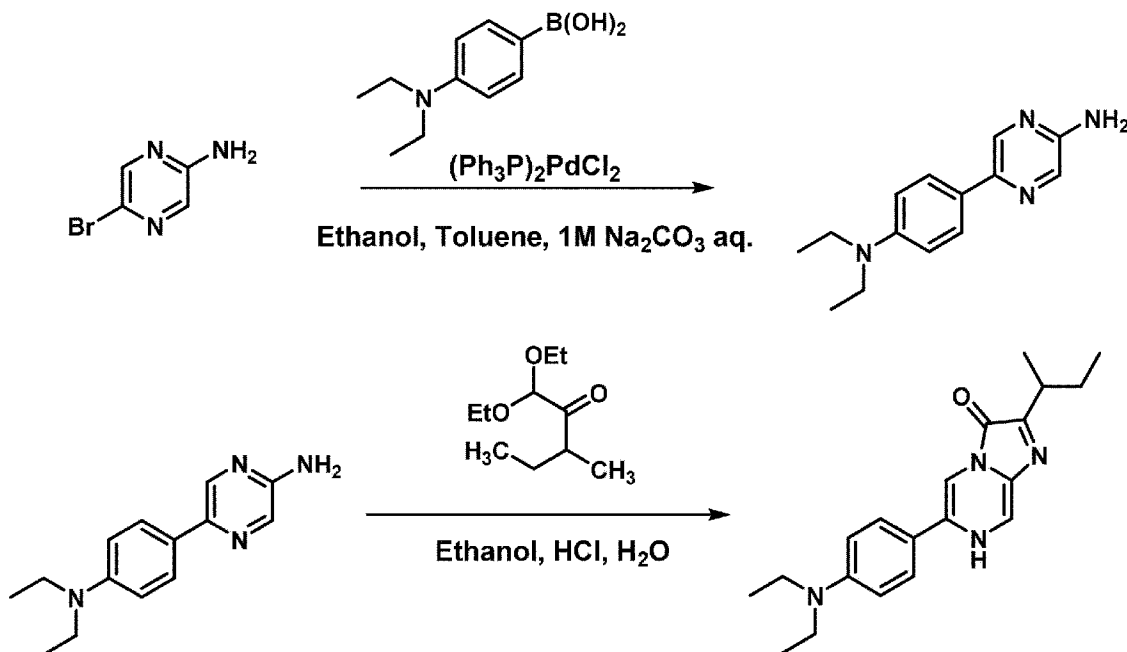
$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CD_3OD) : δ (ppm) = 9.20 (q, $J=3.0\text{ Hz}$, 1H), 9.01 (br, 1H), 8.75 (br, 1H), 8.43 (q, $J=2.2\text{ Hz}$, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.58 (q, $J=4.6\text{ Hz}$, 1H), 7.24-7.14 (m, 5H), 4.

2.0 (s, 2H).

^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD): δ (ppm) = 18.35, 30.84, 58.30, 112.36, 113.56, 118.00, 124.59, 128.29, 128.69, 129.64, 129.74, 130.00, 136.35, 136.57, 137.54, 137.78, 139.70, 140.02, 141.52.

[0163] 合成例4: 2-(sec-butyl)-6-(4-(diethylamino)phenyl)imidazo[1,2-a]pyrazin-3(7H)-oneの合成 (CLA21)

[0164] [化70]



[0165] (1) アルゴン雰囲気下、5-ブロモピラジン-2-アミン (200.0 mg, 1.14 mmol, 1 eq.) と (4-(ジエチルアミノ)フェニル)ボロン酸 (355.0 mg, 1.83 mmol, 1.6 eq.) をエタノール (3.5 ml)、トルエン (24 ml) に溶かし、これに 1M 炭酸ナトリウム水溶液 (9 ml) を加えて室温で攪拌した。反応溶液を真空脱気し、触媒量のテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)を加え、再び真空脱気し、100℃で一晩攪拌した。

室温まで冷却後、セライト濾過によりパラジウム触媒を除去した。得られ

た残渣を酢酸エチルで抽出し、その後蒸留水及び飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をカラムクロマトグラフィー（溶離液：ヘキサン／酢酸エチル＝１／１）にて精製し、５－（４－（ジエチルアミノ）フェニル）ピラジン－２－アミンを得た。（２６１．９ｍｇ，９４％）

$^1\text{H-NMR}$ （５００MHz， CDCl_3 ）： δ （ppm）＝８．３６（d， $J=1.4\text{ Hz}$ ，１H），８．００（d， $J=1.5\text{ Hz}$ ，１H），７．７４（q， $J=3.0\text{ Hz}$ ，２H），６．７４（d， $J=8.7\text{ Hz}$ ，２H），３．３９（q， $J=7.0\text{ Hz}$ ，４H），１．１８（t， $J=7.0\text{ Hz}$ ，６H）．

$^{13}\text{C-NMR}$ （１２５MHz， CDCl_3 ）： δ （ppm）＝１２．６８，４４．５６，１１１．９８，１２４．１６，１２６．８３，１３１．３８，１３７．８６，１４３．９０，１４７．８０，１５２．１４．

[0166]（２）アルゴン雰囲気下、上記（１）で得た５－（４－（ジエチルアミノ）フェニル）ピラジン－２－アミン（４０．０mg，０．１６mmol，１eq．）と１，１－ジエトキシ－３－メチルペンタン－２－オン（９３mg，０．４９mmol，３eq．）をエタノール（２ml）、超純水（Milli-Q）（０．２ml）に溶解させ、０℃に冷却した。反応溶液を真空脱気し、濃塩酸（０．１ml）を加え、８０℃で４時間攪拌した。

室温まで放冷後、減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー（溶離液：クロロホルム／メタノール＝２０／１）にて精製し、２－（sec-ブチル）－６－（４－（ジエチルアミノ）フェニル）イミダゾ[１，２-a]ピラジン－３（７H）－オン（CLA21）を得た。（３８．９mg，７０％）

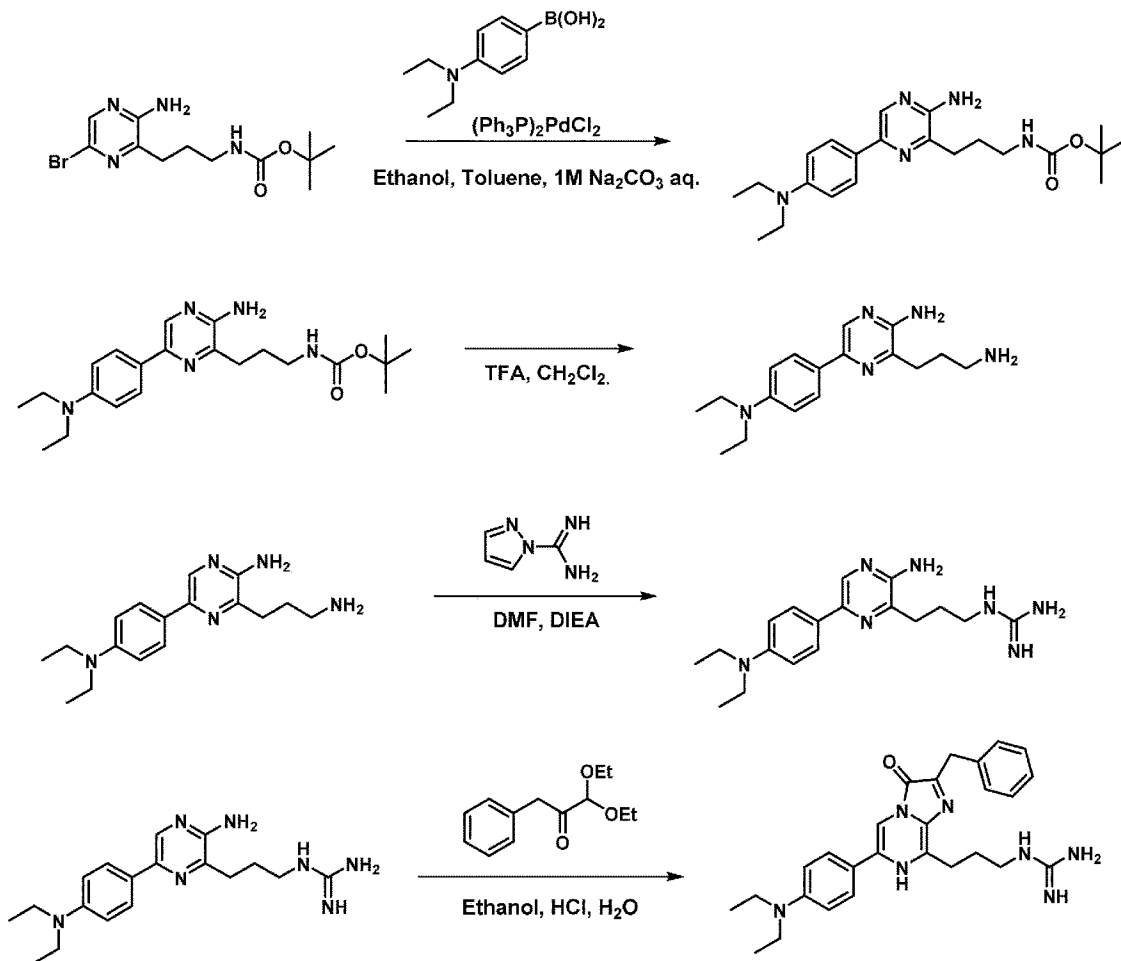
$^1\text{H-NMR}$ （５００MHz， CD_3OD ）： δ （ppm）＝８．９８（s，１H），８．７５（s，１H），８．２３（d， $J=8.6\text{ Hz}$ ，２H），７．７５（d， $J=8.4\text{ Hz}$ ，２H），３．６４（q， $J=7.2\text{ Hz}$ ，４H），１．７７－１．６９（m，２H），１．３３（d， $J=6.9\text{ Hz}$

, 3 H), 1.11 (t, J = 7.2 Hz, 6 H), 0.85 (t, J = 7.3 Hz, 3 H).

^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD): δ (ppm) = 10.78, 12.25, 18.36, 19.46, 29.97, 33.09, 54.66, 58.29, 113.28, 124.32, 129.21, 129.97, 135.74, 137.55, 139.69.

[0167] 合成例5: 1-(3-(2-benzyl-6-(4-(diethylamino)phenyl)-3-oxo-3,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8-yl)propyl)guanidineの合成 (CLA12)

[0168] [化71]



[0169] (1) アルゴン雰囲気下、tert-ブチル(3-(3-アミノ-6-ブromoピラジン-2-yl)プロピル)カルバメート(150.0mg, 0.4

5 mmol, 1 eq.) と (4- (ジエチルアミノ) フェニル) ボロン酸 (122.3 mg, 0.63 mmol, 1.4 eq.) をエタノール (3 ml)、トルエン (24 ml) に溶かし、これに 1 M 炭酸ナトリウム水溶液 (9 ml) を加えて室温で攪拌した。反応溶液を真空脱気し、触媒量のテトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (0) を加え、再び真空脱気し、100℃で一晩攪拌した。

室温まで冷却後、セライト濾過によりパラジウム触媒を除去した。得られた残渣を酢酸エチルで抽出し、その後蒸留水及び飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をカラムクロマトグラフィー (溶離液: ヘキサン/酢酸エチル = 2/3) にて精製し、tert-ブチル (3- (3-アミノ-6- (4- (ジエチルアミノ) フェニル) ピラジン-2-イル) プロピル) カルバメートを得た。(136.9 mg, 75%)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 8.15 (s, 1H), 7.68 (d, $J=8.9$ Hz, 2H), 6.65 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 4.90 (s, 1H), 4.43 (s, 2H), 3.31 (q, $J=3.3$ Hz, 4H), 3.18 (q, $J=6.2$ Hz, 2H), 2.64 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.99 (quintet, $J=6.9$ Hz, 2H), 1.36 (s, 9H), 1.10 (t, $J=7.0$ Hz, 6H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 12.62, 26.38, 28.43, 30.23, 40.24, 44.47, 79.09, 111.89, 124.48, 126.75, 135.34, 140.61, 143.27, 147.66, 150.15, 156.22.

[0170] (2) アルゴン雰囲気下、上記 (1) で得た tert-ブチル (3- (3-アミノ-6- (4- (ジエチルアミノ) フェニル) ピラジン-2-イル) プロピル) カルバメート (135.6 mg, 0.33 mmol) を TFA (1 ml) と塩化メチレン (6 ml) に溶かし、室温で 4 時間攪拌した。反応溶

液を酢酸エチルで抽出し、その後蒸留水及び飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮し、3-(3-アミノプロピル)-5-(4-(ジエチルアミノ)フェニル)ピラジン-2-アミンを得た。それ以上精製せずに次の反応に使用した。

[0171] (3) アルゴン雰囲気下、上記(2)で得た3-(3-アミノプロピル)-5-(4-(ジエチルアミノ)フェニル)ピラジン-2-アミン(375.0 mg, 1.25 mmol, 1 eq.)と1H-ピラゾール-1-カルボキサミジン塩酸塩(369.0 mg, 2.51 mmol, 2 eq.)をDMF(18 ml)に溶かし、これにDIEA(621 mg)を加えて、室温で一晩撹拌した。

エーテルを加えて、沈殿を得たのち、アセトン-エタノール混合溶液(アセトン/エタノール=4/1)(10 ml)で洗浄し、1-(3-(3-アミノ-6-(4-(ジエチルアミノ)フェニル)ピラジン-2-イル)プロピル)グアニジンを得た。(461.6 mg, quant.)

それ以上精製せずに次の反応に使用した。

[0172] (4) アルゴン雰囲気下、上記(3)で得た1-(3-(3-アミノ-6-(4-(ジエチルアミノ)フェニル)ピラジン-2-イル)プロピル)グアニジン(100.0 mg, 0.29 mmol, 1 eq.)と1,1-ジエトキシ-3-フェニルプロパン-2-オン(104.0 mg, 0.46 mmol, 2 eq.)をエタノール(4 ml)、超純水(Milli-Q)(0.4 ml)に溶解させ、0℃に冷却した。

反応溶液を真空脱気し、濃塩酸(0.2 ml)を加え、80℃で4時間撹拌した。室温まで放冷後、減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー(溶離液:エタノール/水=2/1)にて精製し、1-(3-(2-ベンジル-6-(4-(ジエチルアミノ)フェニル)-3-オキソ-3,7-ジヒドロイミダゾ[1,2-a]ピラジン-8-イル)プロピル)グアニジン(CLA12)を得た。(30.4 mg, 22%)

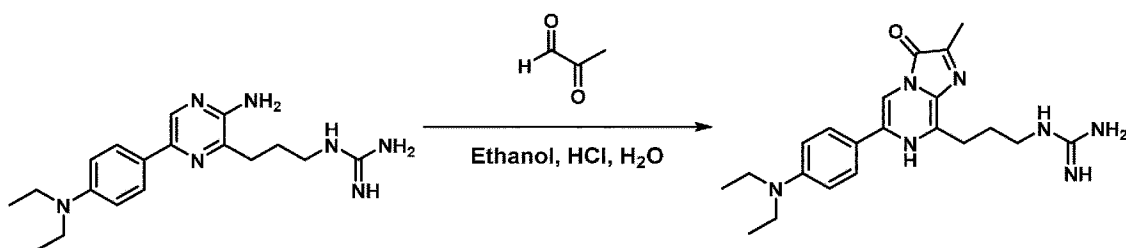
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ (ppm) = 8.97 (s,

1 H), 8.44 (br, 2H), 7.90 (br, 2H), 7.38–7.23 (m, 5H), 4.38 (s, 2H), 3.77 (s, 4H), 3.46 (br, 2H), 2.35 (br, 2H), 1.29–1.17 (m, 9H).

^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD): δ (ppm) = 10.88, 18.33, 26.74, 30.26, 30.87, 41.95, 55.10, 58.28, 112.81, 124.69, 128.18, 128.30, 129.66, 129.94, 130.26, 137.85, 138.51, 138.93, 139.31, 141.12, 149.89, 158.62.

[0173] 合成例6: 1-(3-(6-(4-(diethylamino)phenyl)-2-methyl-3-oxo-3,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8-yl)propyl)guanidineの合成 (CLA13)

[0174] [化72]



[0175] 合成例5の(1)～(3)と同様にして1-(3-(3-アミノ-6-(4-(ジエチルアミノ)フェニル)ピラジン-2-イル)プロピル)グアニジンを得た。

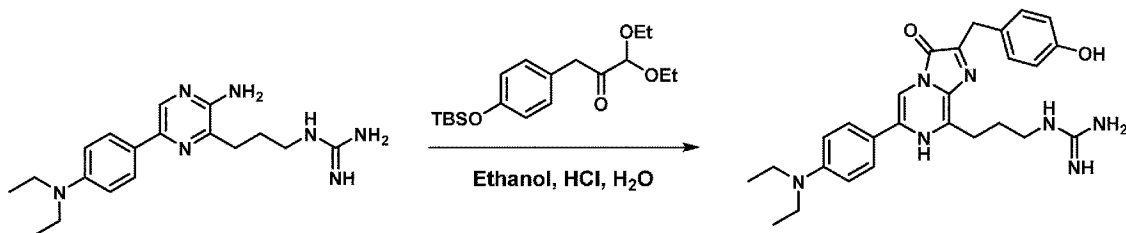
次いで、アルゴン雰囲気下、1-(3-(3-アミノ-6-(4-(ジエチルアミノ)フェニル)ピラジン-2-イル)プロピル)グアニジン (100.0 mg, 0.29 mmol, 1 eq.) とメチルグリオキサール (42.0 mg, 0.58 mmol, 2 eq.) をエタノール (4 ml)、超純水 (Milli-Q) (0.4 ml) に溶解させ、0℃に冷却した。反応溶液を真空脱気し、濃塩酸 (0.2 ml) を加え、80℃で5時間攪拌した。

室温まで放冷後、減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー（溶離液：エタノール／水＝１／４）にて精製し、１－（３－（６－（４－（ジエチルアミノ）フェニル）－２－メチル－３－オキソ－３，７－ジヒドロイミダゾ〔１，２－ａ〕ピラジン－８－イル）プロピル）グアニジン（CLA13）を得た。（２２．１ｍｇ，１９％）

$^1\text{H-NMR}$ （５００MHz， CD_3OD ）： δ （ppm）＝８．７９（s，１H），８．３１（d， J ＝８．５Hz，２H），７．７５（d， J ＝８．３Hz，２H），３．６５（q， J ＝６．６Hz，５H），３．５０（q， J ＝７．０Hz，５H），３．２０（quintet， J ＝１．６Hz，２H），２．４８（s，３H），２．３６－２．２８（m，２H），１．３７（br，２H）．

[0176] 合成例７：１－（３－（６－（４－（diethylamino）phenyl）－２－（４-hydroxybenzyl）－３-oxo-３，７-dihydroimidazo〔１，２-a〕pyrazin-8-yl）propyl）guanidineの合成（CLA14）

[0177] [化73]



[0178] 合成例５の（１）～（３）と同様にして１－（３－（３－アミノ－６－（４－（ジエチルアミノ）フェニル）ピラジン－２－イル）プロピル）グアニジンを得た。

次いで、アルゴン雰囲気下、１－（３－（３－アミノ－６－（４－（ジエチルアミノ）フェニル）ピラジン－２－イル）プロピル）グアニジン（１００．０mg，０．２９mmol，１eq．）と３－（４－（（tert-ブチルジメチルシリル）オキシ）フェニル）－１，１－ジエトキシプロパン－２－オン（１６２．０mg，０．４６mmol，１．６eq．）をエタノー

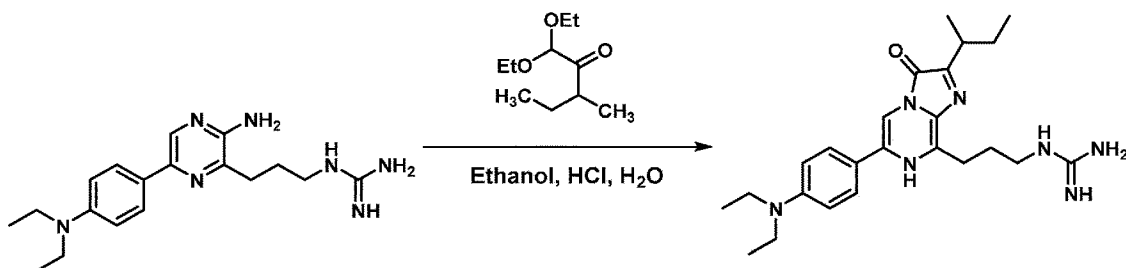
ル (4 ml)、超純水 (Milli-Q) (0.4 ml) に溶解させ、0℃ に冷却した。反応溶液を真空脱気し、濃塩酸 (0.2 ml) を加え、80℃ で4時間撹拌した。

室温まで放冷後、減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー (溶離液 : エタノール/水 = 1/4) にて精製し、1-(3-(6-(4-(ジエチルアミノ)フェニル)-2-(4-ヒドロキシベンジル)-3-オキソ-3,7-ジヒドロイミダゾ[1,2-a]ピラジン-8-イル)プロピル)グアニジン (CLA14) を得た。(41.5 mg, 29%)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) : δ (ppm) = 8.81 (s, 1H), 8.31 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 7.77 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 7.07 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 6.64 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 4.13 (s, 2H), 3.64 (br, 5H), 3.50 (q, $J = 7.0$ Hz, 5H), 3.26 (br, 2H), 3.20 (quintet, $J = 1.5$ Hz, 2H), 2.21 (br, 2H).

[0179] 合成例8 : 1-(3-(2-(sec-butyl)-6-(4-(diethylamino)phenyl)-3-oxo-3,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8-yl)propyl)guanidineの合成 (CLA20)

[0180] [化74]



[0181] 合成例5の(1)～(3)と同様にして1-(3-(3-アミノ-6-(4-(ジエチルアミノ)フェニル)ピラジン-2-イル)プロピル)グアニジンを得た。

次いで、アルゴン雰囲気下、1-(3-(3-アミノ-6-(4-(ジエ

チルアミノ) フェニル) ピラジン-2-イル) プロピル) グアニジン (100.0 mg, 0.29 mmol, 1 eq.) と 1,1-ジエトキシ-3-メチルペンタン-2-オン (110.0 mg, 0.58 mmol, 2 eq.) をエタノール (4 ml)、超純水 (Milli-Q) (0.4 ml) に溶解させ、0℃に冷却した。反応溶液を真空脱気し、濃塩酸 (0.2 ml) を加え、80℃で4時間攪拌した。

室温まで放冷後、減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー (溶離液: エタノール/水=1/4) にて精製し、1-(3-(2-(sec-ブチル)-6-(4-(ジエチルアミノ) フェニル)-3-オキソ-3,7-ジヒドロイミダゾ [1,2-a] ピラジン-8-イル) プロピル) グアニジン (CLA20) を得た。(61.2 mg, 47%)

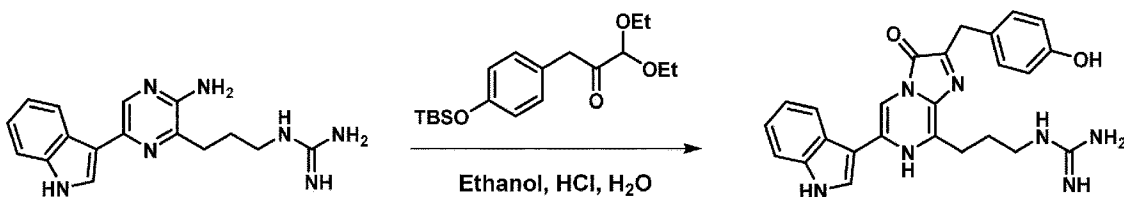
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ (ppm) = 8.96 (s, 1H), 8.45 (d, $J=6.3$ Hz, 2H), 7.93 (d, $J=5.5$ Hz, 2H), 3.77 (br, 4H), 3.50 (br, 4H), 2.37 (s, 2H), 1.98–1.87 (m, 2H), 1.51 (d, $J=6.6$ Hz, 3H), 1.23 (br, 6H), 0.98 (d, $J=6.8$ Hz, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD): δ (ppm) = 10.78, 12.50, 19.64, 26.80, 29.86, 30.97, 32.92, 41.87, 49.84, 54.96, 112.43, 124.65, 127.02, 128.29, 130.08, 137.53, 138.54, 139.29, 141.22, 149.84, 158.64.

[0182] 合成例9: 1-(3-(2-(4-hydroxybenzyl)-6-(1H-indol-3-yl)-3-oxo-3,7-dihydroimidazo [1,2-a] pyrazin-8-yl) propyl) guanidineの合成 (CLA15)

[0183]

[化75]



[0184] アルゴン雰囲気下、1-(3-(3-アミノ-6-(1H-インドール-3-イル)ピラジン-2-イル)プロピル)グアニジン (100.0 mg, 0.32 mmol, 1 eq.) と 3-(4-(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)フェニル)-1,1-ジエトキシプロパン-2-オン (182.0 mg, 0.51 mmol, 1.6 eq.) をエタノール (4 ml)、超純水 (Milli-Q) (0.4 ml) に溶解させ、0℃に冷却した。反応溶液を真空脱気し、濃塩酸 (0.2 ml) を加え、80℃で4時間撹拌した。

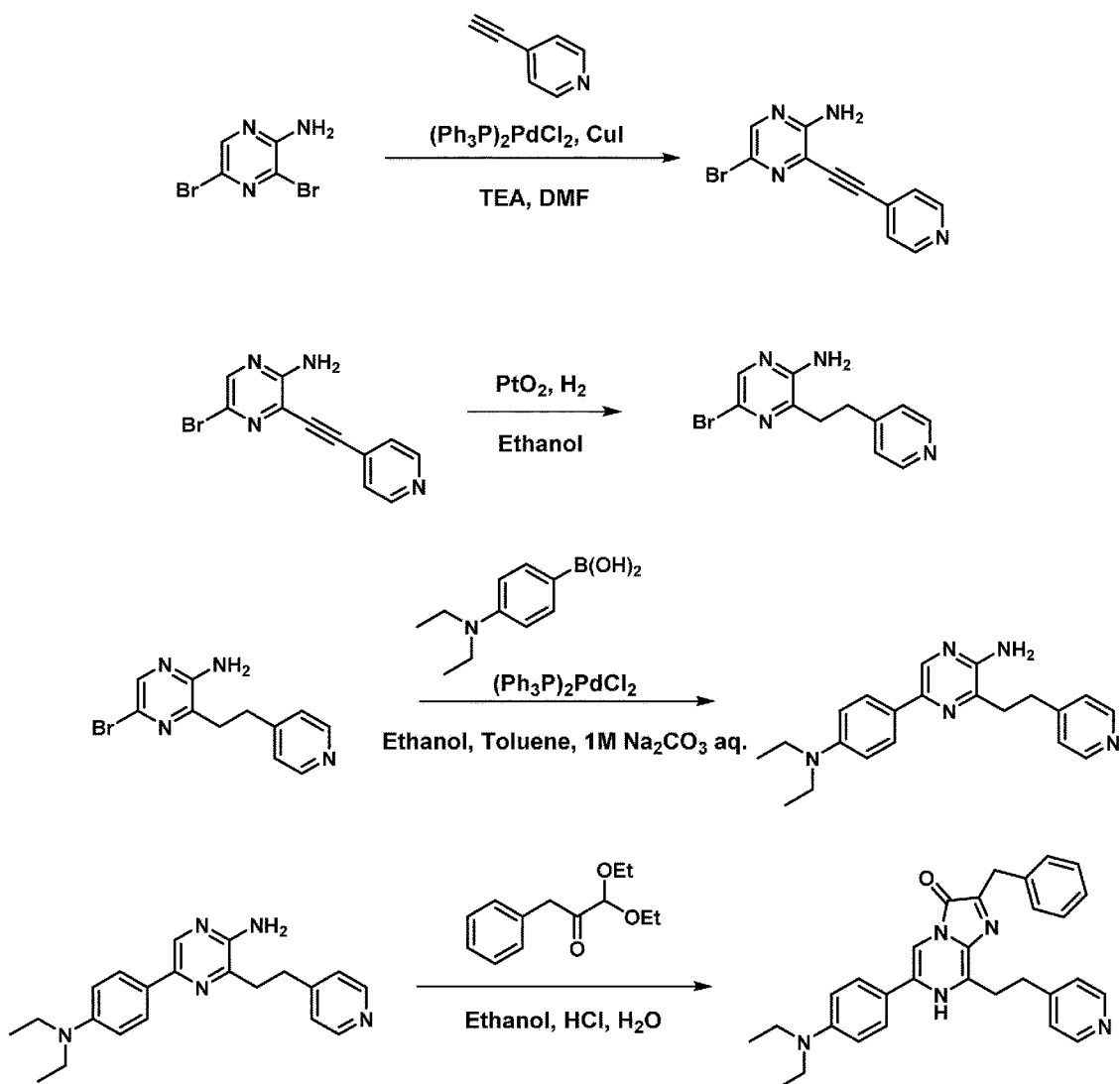
室温まで放冷後、減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー (溶離液: エタノール/水=1/2) にて精製し、1-(3-(2-(4-ヒドロキシベンジル)-6-(1H-インドール-3-イル)-3-オキソ-3,7-ジヒドロイミダゾ [1, 2-a] ピラジン-8-イル) プロピル) グアニジン (CLA15) を得た。 (45.3 mg, 30%)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD): δ (ppm) = 7.73 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.52 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.00 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 6.72–6.63 (m, 4H), 3.50 (q, $J=7.0$ Hz, 2H), 3.27 (t, $J=6.5$ Hz, 2H), 2.82 (br, 2H), 1.98 (br, 2H).

[0185] 合成例10: 2-benzyl-6-(4-(diethylamino)phenyl)-8-(2-(pyridin-4-yl)ethyl)imidazo [1, 2-a] pyrazin-3(7H)-one (CLA18)

[0186]

[化76]



[0187] (1) アルゴン雰囲気下、3, 5-ジブロモピラジニン-2-アミン (100.0 mg, 3.95 mmol, 1 eq.) と 4-エチニルピリジン (448.5 mg, 4.34 mmol, 1.1 eq.) を DMF (30 ml) に溶かし、これに TEA (15 ml) を加えて室温で攪拌した。反応溶液を真空脱気し、触媒量のテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)及び塩化銅を加え、再び真空脱気し、 120°C で40分間攪拌した。

室温まで冷却後、セライト濾過により触媒を除去した。得られた残渣を酢酸エチルで抽出し、その後蒸留水及び飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をカラムクロマトグラフィー(溶離液: 酢酸エチル/メタノール=10/1)にて精製し、5-ブromo-3-

ピリジン-4-イルエチニル) ピラジン-2-アミンを得た。(748 mg, 68%)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD , CDCl_3) : δ (ppm) = 8.50 (q, $J=2.0$ Hz, 2H), 7.99 (s, 1H), 7.48 (q, $J=2.0$ Hz, 2H), 4.41 (s, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD , CDCl_3) : δ (ppm) = 7.70, 93.00, 122.39, 124.66, 125.99, 130.52, 144.99, 149.17, 155.18.

[0188] (2) アルゴン雰囲気下、上記(1)で得た5-ブロモ-3-(ピリジン-4-イルエチニル)ピラジン-2-アミン(720 mg, 2.61 mmol)をエタノール(25 ml)に溶かし、触媒量の酸化白金を加え、反応溶液を真空脱気した後に、室温で一晩撹拌した。セライト濾過により触媒を除去した。得られた残渣をカラムクロマトグラフィー(溶離液: 酢酸エチル/メタノール=10/1)にて精製し、5-ブロモ-3-(2-(ピリジン-4-イル)エチル)ピラジン-2-アミンを得た。(470 mg, 64%)

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 8.42 (q, $J=1.9$ Hz, 2H), 7.91 (s, 1H), 7.09 (q, $J=1.9$ Hz, 2H), 4.52 (s, 2H), 3.06 (t, $J=7.8$ Hz, 2H), 2.81 (t, $J=7.8$ Hz, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) : δ (ppm) = 31.47, 33.32, 124.02, 126.77, 141.40, 142.17, 149.96, 150.15, 151.66.

[0189] (3) アルゴン雰囲気下、上記(2)で得た5-ブロモ-3-(2-(ピリジン-4-イル)エチル)ピラジン-2-アミン(200.0 mg, 0.71 mmol, 1 eq.)と(4-(ジエチルアミノ)フェニル)ボロン酸(193.0 mg, 0.85 mmol, 1.2 eq.)をエタノール(3 ml)、トルエン(20 ml)に溶かし、これに1M炭酸ナトリウム水溶液(8 ml)を加えて室温で撹拌した。反応溶液を真空脱気し、触媒量のテトラキ

ス（トリフェニルホスフィン）パラジウム（0）を加え、再び真空脱気し、100℃で5時間撹拌した。

室温まで冷却後、セライト濾過によりパラジウム触媒を除去した。得られた残渣を酢酸エチルで抽出し、その後蒸留水及び飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をカラムクロマトグラフィー（溶離液：酢酸エチル／メタノール＝10／1）にて精製し、5-（4-（ジエチルアミノ）フェニル）-3-（2-（ピリジン-4-イル）エチル）ピラジン-2-アミンを得た。（224 mg, 90%）

[0190] （4）アルゴン雰囲気下、上記（3）で得た5-（4-（ジエチルアミノ）フェニル）-3-（2-（ピリジン-4-イル）エチル）ピラジン-2-アミン（60.0 mg, 0.17 mmol, 1 eq.）と1,1-ジエトキシ-3-フェニルプロパン-2-オン（76.0 mg, 0.34 mmol, 2 eq.）をエタノール（4 ml）、milliQ（0.4 ml）に溶解させ、0℃に冷却した。反応溶液を真空脱気し、濃塩酸（0.2 ml）を加え、80℃で4時間撹拌した。

室温まで放冷後、減圧濃縮し、残渣をクロマトグラフィー（溶離液：クロロホルム／メタノール＝5／1）にて精製し、2-ベンジル-6-（4-（ジエチルアミノ）フェニル）-8-（2-（ピリジン-4-イル）エチル）イミダゾ[1,2-a]ピラジン-3（7H）-オン（CLA18）を得た。（71.2 mg, 86%）

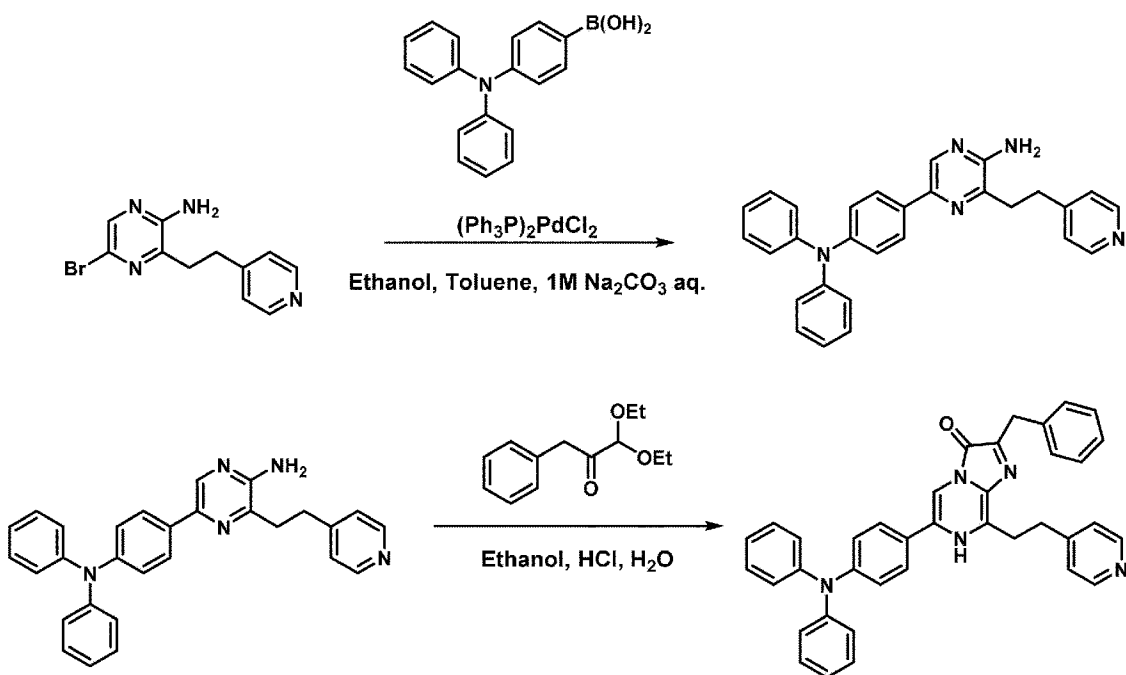
$^1\text{H-NMR}$ （500 MHz, CD_3OD ）： δ （ppm）＝8.65（d, $J=5.8\text{ Hz}$, 2H）, 8.62（s, 1H）, 8.14（d, $J=8.7\text{ Hz}$, 2H）, 8.06（d, $J=5.6\text{ Hz}$, 2H）, 7.73（br, 2H）, 7.22-7.07（m, 5H）, 4.17（s, 2H）, 3.67-3.59（m, 8H）, 1.09（t, $J=7.1\text{ Hz}$, 6H）.

$^{13}\text{C-NMR}$ （125 MHz, CD_3OD ）： δ （ppm）＝10.84, 18.38, 30.89, 31.99, 33.18, 49.84, 54.49, 58.28, 112.05, 124.10, 127.84, 127.96

, 128.79, 129.57, 129.76, 129.78, 137.70, 138.53, 139.64, 142.11, 147.37, 164.77.

[0191] 合成例11: 2-benzyl-6-(4-(diphenylamino)phenyl)-8-(2-(pyridin-4-yl)ethyl)imidazo[1,2-a]pyrazin-3(7H)-oneの合成 (CLA17)

[0192] [化77]



[0193] (1) アルゴン雰囲気下、5-ブromo-3-(2-(ピリジン-4-イル)エチル)ピラジン-2-アミン (200.0mg, 0.71mmol, 1eq.) と (4-(ジフェニルアミノ)フェニル)ボロン酸 (245.0mg, 0.85mmol, 1.2eq.) をエタノール (3ml)、トルエン (20ml) に溶かし、これに1M炭酸ナトリウム水溶液 (8ml) を加えて室温で撹拌した。反応溶液を真空脱気し、触媒量のテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)を加え、再び真空脱気し、100℃で4時間撹拌した。

室温まで冷却後、セライト濾過によりパラジウム触媒を除去した。得られ

た残渣を酢酸エチルで抽出し、その後蒸留水及び飽和食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮した。得られた残渣をカラムクロマトグラフィー（溶離液：酢酸エチル／メタノール＝１０／１）にて精製し、５－（４－（ジフェニルアミノ）フェニル）－３－（２－（ピリジン－４－イル）エチル）ピラジン－２－アミンを得た。（３０２ｍｇ，９５％）

[0194] （２）アルゴン雰囲気下、上記（１）で得た５－（４－（ジフェニルアミノ）フェニル）－３－（２－（ピリジン－４－イル）エチル）ピラジン－２－アミン（６０．０ｍｇ，０．１３ｍｍｏｌ，１ｅｑ．）と１，１－ジエトキシ－３－フェニルプロパン－２－オン（６０．０ｍｇ，０．２７ｍｍｏｌ，２ｅｑ．）をエタノール（４ｍｌ）、ｍｉｌｌｉＱ（０．４ｍｌ）に溶解させ、０℃に冷却した。反応溶液を真空脱気し、濃塩酸（０．２ｍｌ）を加え、８０℃で４時間撹拌した。

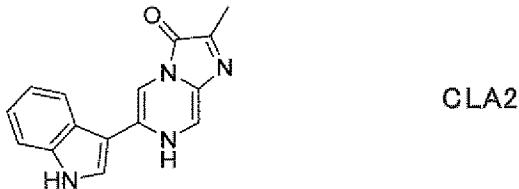
室温まで放冷後、減圧濃縮し、残渣をクロマトグラフィー（溶離液：クロロホルム／メタノール＝１０／１）にて精製し、２－ベンジル－６－（４－（ジフェニルアミノ）フェニル）－８－（２－（ピリジン－４－イル）エチル）イミダゾ［１，２－ａ］ピラジン－３（７Ｈ）－オン（ＣＬＡ１７）を得た。（４２．１ｍｇ，５４％）

$^1\text{H-NMR}$ （５００ＭＨｚ， CD_3OD ）： δ （ｐｐｍ）＝８．６２（ｄ， $J=6.4\text{ Hz}$ ，２Ｈ），８．４２（ｓ，１Ｈ），８．０２（ｄ， $J=6.2\text{ Hz}$ ，２Ｈ），７．７０（ｄ， $J=8.4\text{ Hz}$ ，２Ｈ），７．２４－６．９４（ｍ，１７Ｈ），４．１８（ｓ，２Ｈ），３．６４（ｔ， $J=6.8\text{ Hz}$ ，２Ｈ），３．５７（ｔ， $J=6.9\text{ Hz}$ ，２Ｈ）．

$^{13}\text{C-NMR}$ （１２５ＭＨｚ， CD_3OD ）： δ （ｐｐｍ）＝１８．３６，３０．６７，３１．９２，３３．１０，４９．８２，５８．２９，１１０．０７，１２３．１９，１２５．０５，１２６．３０，１２７．７３，１２８．１０，１２８．４１，１２８．６３，１２８．７８，１２９．６０，１２９．８７，１３０．６１，１３８．１７，１４２．０７，１４７．０１，１４８．４６，１５０．８６，１６４．７２．

[0195] 合成例 12 : 6-(1H-indol-3-yl)-2-methylimidazo[1,2-a]pyrazin-3(7H)-one の合成 (CLA2)

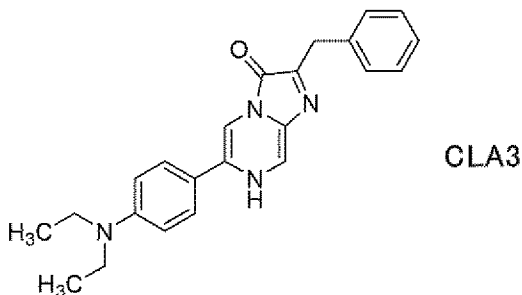
[0196] [化78]



[0197] 目的化合物を文献 : Photochem. Photobiol. Sci., 2008, 7, 197-207. の記載に従い合成した。

[0198] 合成例 13 : 2-benzyl-6-(4-(diethylamino)phenyl)imidazo[1,2-a]pyrazin-3(7H)-one の合成 (CLA3)

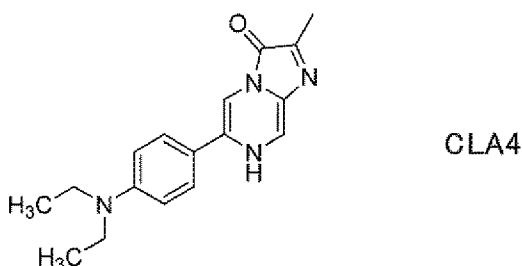
[0199] [化79]



[0200] 目的化合物を国際公開第 2021/187531 号の記載に従い合成した。

[0201] 合成例 14 : 6-(4-(diethylamino)phenyl)-2-methylimidazo[1,2-a]pyrazin-3(7H)-one の合成 (CLA4)

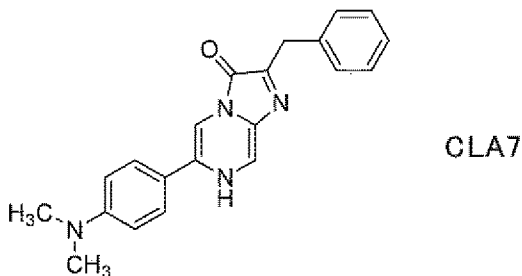
[0202] [化80]



[0203] 目的化合物を国際公開第2021/187531号の記載に従い合成した。

[0204] 合成例15: 2-benzyl-6-(4-(dimethylamino)phenyl)imidazo[1,2-a]pyrazin-3(7H)-oneの合成 (CLA7)

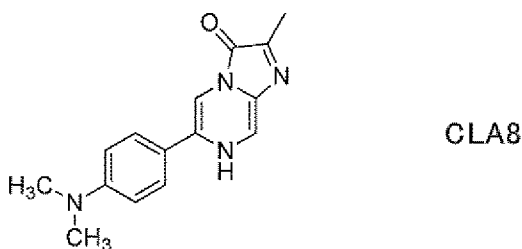
[0205] [化81]



[0206] 目的化合物を国際公開第2021/187531号の記載に従い合成した。

[0207] 合成例16: 6-(4-(dimethylamino)phenyl)-2-methylimidazo[1,2-a]pyrazin-3(7H)-oneの合成 (CLA8)

[0208] [化82]

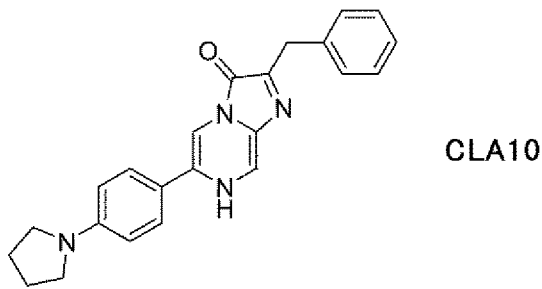


[0209] 目的化合物を国際公開第2021/187531号の記載に従い合成した。

[0210] 合成例17: 2-benzyl-6-(4-(pyrrolidin-1-yl)phenyl)imidazo[1,2-a]pyrazin-3(7H)-oneの合成 (CLA10)

[0211]

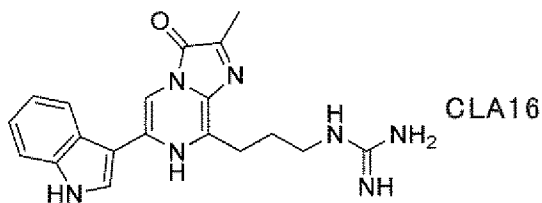
[化83]



[0212] 目的化合物を国際公開第2021/187531号の記載に従い合成した。

[0213] 合成例18: 1-(3-(6-(4-(diethylamino)phenyl)-2-methyl-3-oxo-3,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8-yl)propyl)guanidineの合成 (CLA16)

[0214] [化84]



[0215] 目的化合物を特開2012-95649号公報の記載に従い合成した。

[0216] 2. 実施例1

天然型ウミホタルルシフェリン (ATTO株式会社製、品番351205) 及び合成例で得たウミホタルルシフェリン誘導体と、SARS-CoV-2 ウイルス由来スパイクタンパク質とを反応させ、発光を測定した。

[0217] (測定条件)

5 μ Lのタンパク質溶液 (936 μ g/mL) と45 μ Lのルシフェリン-バッファー溶液 (表1に示すルシフェリン20 μ M, 20mM HEPES, pH7.4) を96ウェルプレート (1/2 Area Optical Plate-96, PerkinElmer社製) で混合後、直ちに発光プレートリーダー (GloMax Explorer Multimode Microplate Reader, Promega社製) を用いて1

分間シグナルを測定し、発光強度 (Luminescence) ($[RLU / min]$) を求めた。 ($n=3$)

[0218] タンパク質溶液として、SARS-CoV-2 ウイルス由来スパイクタンパク質 (株式会社エムエステクノシステムズ製、Trimeric SARS-CoV-2 Spike Protein, Full-length, BSV-COV-PR-34 ; 精製タンパク質の溶液) を使用した。なお、コロナウイルスのスパイクタンパク質は、通常ウイルスエンベローブ上で膜結合型の三量体を形成することが知られており、三量体を使用した。

対照タンパク質溶液としてヒト血清由来 IgA (富士フイルム和光純薬株式会社製、品番 306-51123) の溶液を使用し、signal-to-noise ratio (S/N 比) を算出した。結果を表 1 に示す。

[0219] [表1]

化合物	S/N比
Cypridina Luciferin	28.1
CLA1	6.63
CLA2	5.81
CLA3	6.77
CLA4	6.87
CLA7	5.15
CLA8	4.04
CLA9	4.05
CLA10	6.76
CLA12	6.33
CLA13	5.12
CLA14	8.22
CLA15	15.9
CLA16	6.81
CLA17	1.95
CLA18	4.46
CLA19	6.78
CLA20	10.6
CLA21	7.06

[0220] 3. 実施例 2

SARS-CoV-2 ウイルスのスパイクタンパク質における天然型ウミホタルルシフェリン発光反応場を特定するために、天然型ウミホタルルシフ

エリンのスパイクタンパク質における発光反応場を特定するために、SARS-CoV-2スパイクタンパク質全長に加えて、これら各ドメインと天然型ウミホタルルシフェリンの発光活性を検討した。

SARSコロナウイルススパイクタンパク質は、S1、S2及び受容体結合ドメイン(RBD)と3つのドメインに分けられる。タンパク質試料として、下記を使用した。全てSino Biological社製であり、いずれも単量体である。また、凍結乾燥状態で提供される。

SARS-CoV2 Spike S1+S2 (品番40589-V08H04)

SARS-CoV2 Spike S1 (品番40591-V08)

SARS-CoV2 Spike S2 (品番40590-V08H1)

SARS-CoV2 Spike RBD (品番40592-V08H)

SARS-CoV2 Spike RBD (Y453F) (品番40592-V08H80)

SARS-CoV2 Spike RBD (N501Y) (品番40592-V08H82)

[0221] また、SARS関連コロナウイルスであるSARSコロナウイルス(SARS-CoV)のスパイクタンパク質、並びに、SARS関連コロナウイルス以外のコロナウイルスであるMERSコロナウイルス(MERS-CoV)及びヒトコロナウイルス(HCoV)のスパイクタンパク質と天然型ウミホタルルシフェリンの発光活性を検討した。単量体タンパク質試料として、下記を使用した。全てSino Biological社製であり、いずれも単量体である。また、凍結乾燥状態で提供される。

SARS-CoV Spike S1 (品番40150-V05H1)

MERS-CoV Spike S1 (品番HPLC-40069-V08H)

HCoV-HKU1 Spike S1 (品番40021-V08H)

HCoV-NL63 Spike S1 (品番40600-V08H)

HCoV-229E Spike S1 (品番40601-V08H)

HCoV-OC43 Spike S1 (品番40607-V08H1)

[0222] 凍結乾燥したタンパク質を、10mM PBS (pH7.4) に溶解し、タンパク質溶液とした。

対照として、タンパク質試料に替えて溶媒のみ (Buffer) についても測定を行った。

測定条件は、以下の通りとした。

(測定条件)

5 μ L のタンパク質溶液 (図に示すタンパク質720 μ M) と45 μ L のルシフェリン-バッファー溶液 (天然型ウミホタルルシフェリン20 μ M, PBS $\times$ 1) を96ウェルプレート (1/2 Area Optical Plate-96, PerkinElmer社製) で混合後、直ちに発光プレートリーダー (GloMax Explorer Multimode Microplate Reader, Promega社製) を用いて1分間シグナルを測定し、発光強度 (Luminescence) ([RLU/min]) を求めた。 (n=4)

なお、反応溶液中のタンパク質の終濃度は72 μ g/mLであった。

結果を図1 (i) 及び (ii) に示す。

[0223] さらに、その他のタンパク質試料として、ヒト血清由来IgA (IgA; 富士フイルム和光純薬株式会社製, 306-51123) を使用して、SARSコロナウイルススパイクタンパク質 (Monomer spike; SARS-CoV2 Spike S1+S2 (品番40589-V08H04)) と比較した。

凍結乾燥したタンパク質を、10mM PBS (pH7.4) に溶解し、タンパク質溶液とした。

対照として、タンパク質試料に替えて溶媒のみ (Buffer) についても測定を行った。

測定条件は、以下の通りとした。

(測定条件)

5 μ L のタンパク質溶液 (図に示すタンパク質 100 μ g/mL) と 45 μ L のルシフェリン-バッファー溶液 (天然型ウミホタルルシフェリン 20 μ M, PBS×1) を 96 ウェルプレート (1/2 Area Optical Plate-96, PerkinElmer 社製) で混合後、直ちに発光プレートリーダー (GloMax Explorer Multimode Microplate Reader, Promega 社製) を用いて 1 分間シグナルを測定した。(n=4)

なお、反応溶液中のタンパク質の終濃度は 10 μ g/mL であった。

結果を図 2 (i) に示す。

[0224] 結果、天然型ウミホタルルシフェリンは S1 及び S2 にて発光反応を起こす一方で、RBD ドメインでは全く反応しない事が分かった (図 1 (i))。

また、異なる種のコロナウイルスの発光活性を調べた結果、天然型ウミホタルルシフェリンは、SARS-CoV-2 及び SARS-CoV のスパイクタンパク質に反応するものの、MERS-CoV に反応しなかった (図 1 (ii))。この結果より、天然型ウミホタルルシフェリンは、コロナウイルスの中でも SARS 関連コロナウイルスを特異的に検出することができることが明らかとなった。

さらに、天然型ウミホタルルシフェリンは、唾液等の生体試料に多量に含まれる免疫グロブリンタンパク質 IgA とも発光反応を起こさないことが分かった (図 2 (i))。

[0225] 4. 実施例 3

ウイルススパイクタンパク質の濃度と、天然型ウミホタルルシフェリンの発光強度の相関を検証した。

タンパク質溶液として、SARS-CoV-2 ウイルス由来スパイクタンパク質の三量体 (株式会社エムエステクノシステムズ製、Trimeric SARS-CoV-2 Spike Protein, Full-length)

g t h, B S V - C O V - P R - 3 4) を使用し、濃度を変更した以外は実施例 1 と同様に測定した。

結果を図 2 (ii) に示す。

天然型ウミホタルルシフェリンの発光強度は、ウイルススパイクタンパク質の濃度に依存することが明らかとなった。

[0226] 5. 実施例 4

タンパク質試料として各種タンパク質を使用し、天然型ウミホタルルシフェリンと S A R S コロナウイルスのスパイクタンパク質とが特異的に発光反応を起こすことを検証した。

タンパク質試料として、下記を使用した。

S A R S - C o V - 2 ウイルス由来スパイクタンパク質の三量体 (3 - m e r ; 株式会社エムエステクノシステムズ製、T r i m e r i c S A R S - C o V - 2 S p i k e P r o t e i n , F u l l - l e n g t h , 品番 B S V - C O V - P R - 3 4)

α -アミラーゼ (α -a m y l a s e ; 富士フイルム和光純薬株式会社製、品番 0 1 7 - 2 6 3 7 1)

ラクトフェリン, ヒト (L a c t f e r r i n ; S i g m a - A l d r i c h 社製, 品番 L 4 0 4 0)

リゾチーム, ヒト, 組換え体 (植物発現) (L y s o z y m e ; 富士フイルム和光純薬株式会社製、品番 1 8 1 - 0 2 0 6 3)

ムチン, ブタ胃由来 (M u c i n ; 富士フイルム和光純薬株式会社製、品番 1 3 7 - 0 9 1 6 2)

上皮細胞成長因子 (E G F), ヒト, 組換え体 (E G F ; 富士フイルム和光純薬株式会社製、品番 0 5 9 - 0 7 8 7 3)

I g A ヒト血清由来 (I g A ; 富士フイルム和光純薬株式会社製、品番 3 0 6 - 5 1 1 2 3)

(測定条件)

5 μ L のタンパク質溶液 (1 0 0 μ g / m L) と 4 5 μ L のルシフェリン

ーバッファー溶液（天然型ウミホタルルシフェリン $20\mu\text{M}$, PBS $\times 1$ ）を96ウェルプレート（1/2 Area Optical Plate-96, PerkinElmer社製）で混合後、直ちに発光プレートリーダー（GloMax Explorer Multimode Microplate Reader, Promega社製）を用いて1分間シグナルを測定した。（ $n=4$ ）

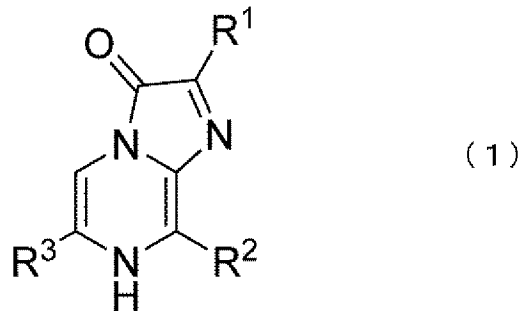
結果を図4に示す。

[0227] 天然型ウミホタルルシフェリンは、上記の各種タンパク質とは発光反応を起こさなかった。

請求の範囲

[請求項1] 下記一般式（1）で表される化合物又はその塩若しくは溶媒和物。

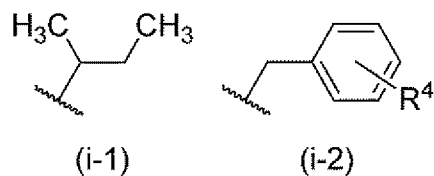
[化1]



[式中、

R¹はメチル基又は下記式（i-1）又は（i-2）で表される基のいずれか1種であり；

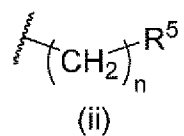
[化2]



（式中、R⁴は水素原子、水酸基、フッ素原子、メトキシ基、又はトリフルオロメチル基である。）

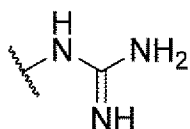
R²は水素原子又は下記式（ii）で表される基のいずれか1種であり；

[化3]

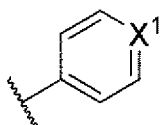


（式中、nは1～5の整数であり、R⁵は下記式（v-1）、（v-2）又は（v-3）で表される基のいずれか1種である。）

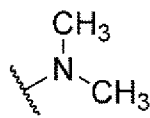
[化4]



(v-1)



(v-2)

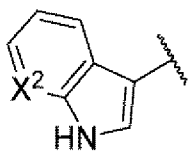


(v-3)

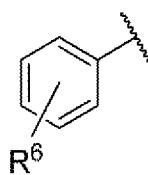
{式中、 X^1 は窒素原子又はCH基である。}

R^3 は下記式 (iii-1) 又は (iii-2) で表される基のいずれか1種であり；

[化5]



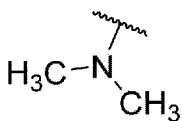
(iii-1)



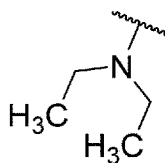
(iii-2)

(式中、 X^2 は窒素原子又はCH基であり、 R^6 は水酸基、メトキシ基、メチル基、トリフルオロメチル基、又は下記式 (vi-1)、(vi-2)、(vi-3)、(vi-4) 若しくは (vi-5) で表される基のいずれか1種である。)

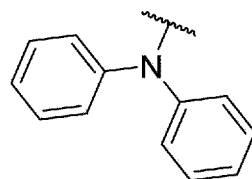
[化6]



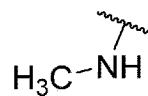
(vi-1)



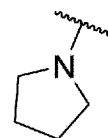
(vi-2)



(vi-3)



(vi-4)



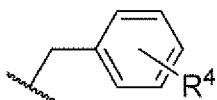
(vi-5)

かつ、

下記 (A-i)、(A-ii)、又は (A-iii) の条件を満たす。

(A-i) 前記 R^1 は下記式 (i-2) で表される基であり、

[化7]

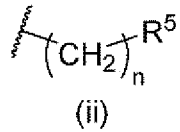


(i-2)

(式中、 R^4 は前記に同じ。)

かつ、前記 R^2 は下記式(ii)で表される基である；

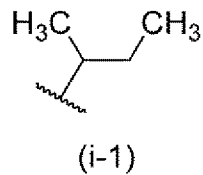
[化8]



(式中、 n 及び R^5 は前記に同じ。)

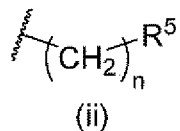
(A-ii) 前記 R^1 は下記式(i-1)で表される基である(ただし、天然型ウミホタルルシフェリンを除く。)；

[化9]



(A-iii) 前記 R^1 はメチル基であり、かつ、前記 R^2 は下記式(ii)で表される基である。

[化10]

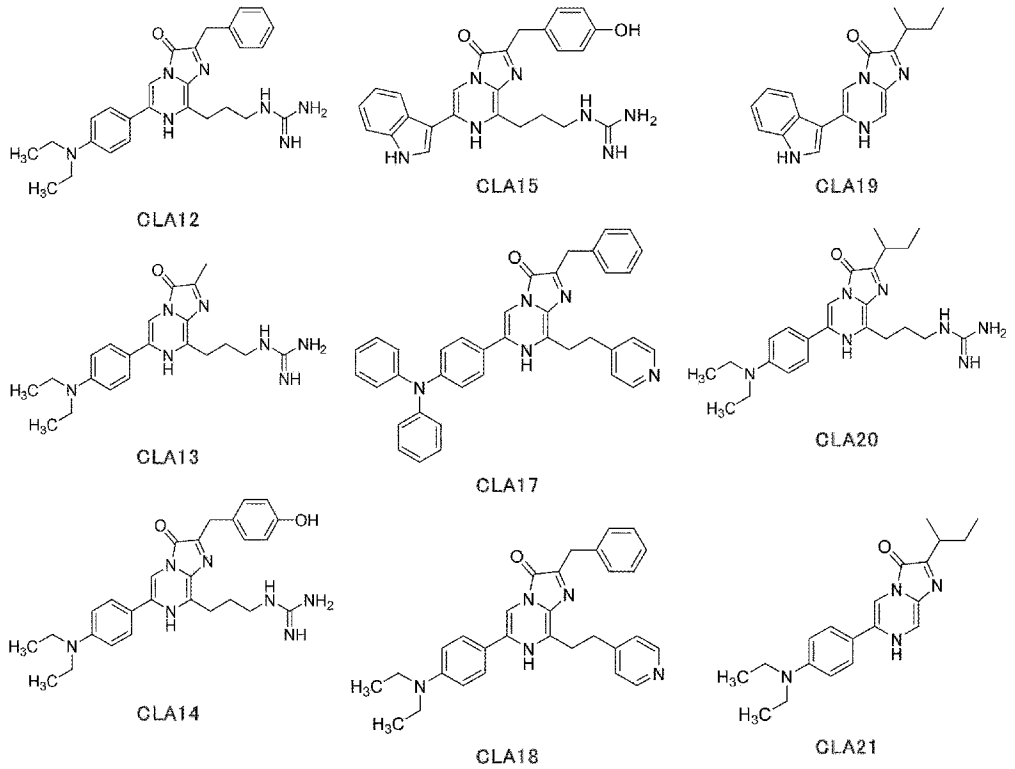


(式中、 n 及び R^5 は前記に同じ。)]

[請求項2]

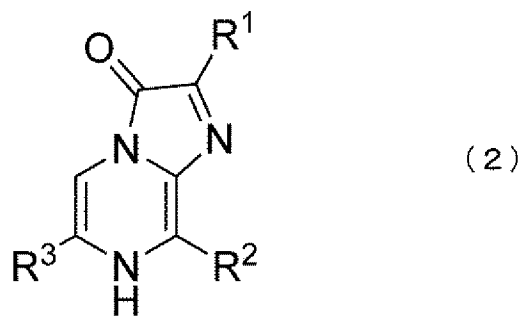
前記一般式(1)で表される化合物が下記式のいずれかで表される化合物である、請求項1に記載の化合物又はその塩若しくは溶媒和物。

[化11]



[請求項3] 下記一般式（2）で表される化合物又はその塩若しくは溶媒和物と、被検体から採取された生体試料とを接触させる工程を含む、SARS関連コロナウイルスの検出方法。

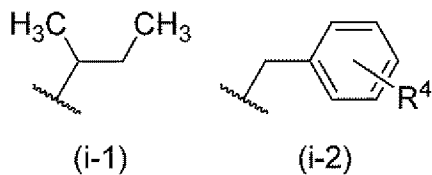
[化12]



[式中、

R¹はメチル基又は下記式（i-1）又は（i-2）で表される基のいずれか1種であり；

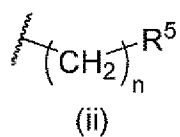
[化13]



(式中、 R^4 は水素原子、水酸基、フッ素原子、メトキシ基、又はトリフルオロメチル基である。)

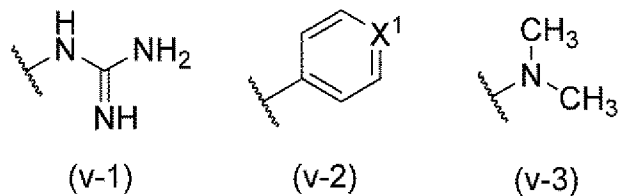
R^2 は水素原子又は下記式 (ii) で表される基のいずれか1種であり；

[化14]



(式中、 n は1～5の整数であり、 R^5 は下記式 (v-1)、(v-2) 又は (v-3) で表される基のいずれか1種である。)

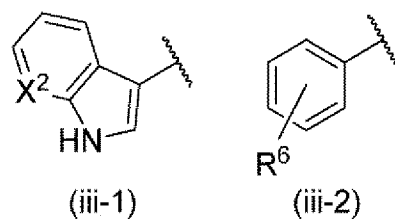
[化15]



{式中、 X^1 は窒素原子又はCH基である。}

R^3 は下記式 (iii-1) 又は (iii-2) で表される基のいずれか1種である。

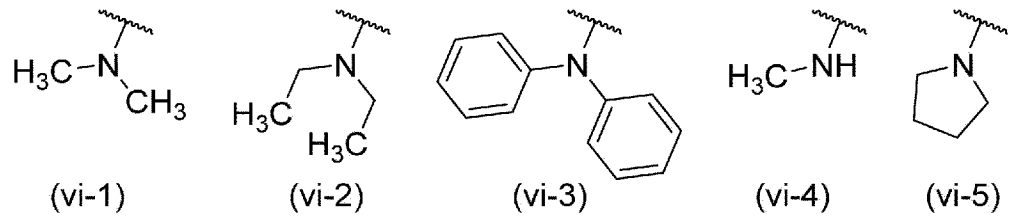
[化16]



(式中、 X^2 は窒素原子又はCH基であり、 R^6 は水酸基、メトキシ基、メチル基、トリフルオロメチル基、又は下記式 (vi-1)、(vi

－ 2)、(vi－ 3)、(vi－ 4) 若しくは (vi－ 5) で表される基のいずれか 1 種である。)]

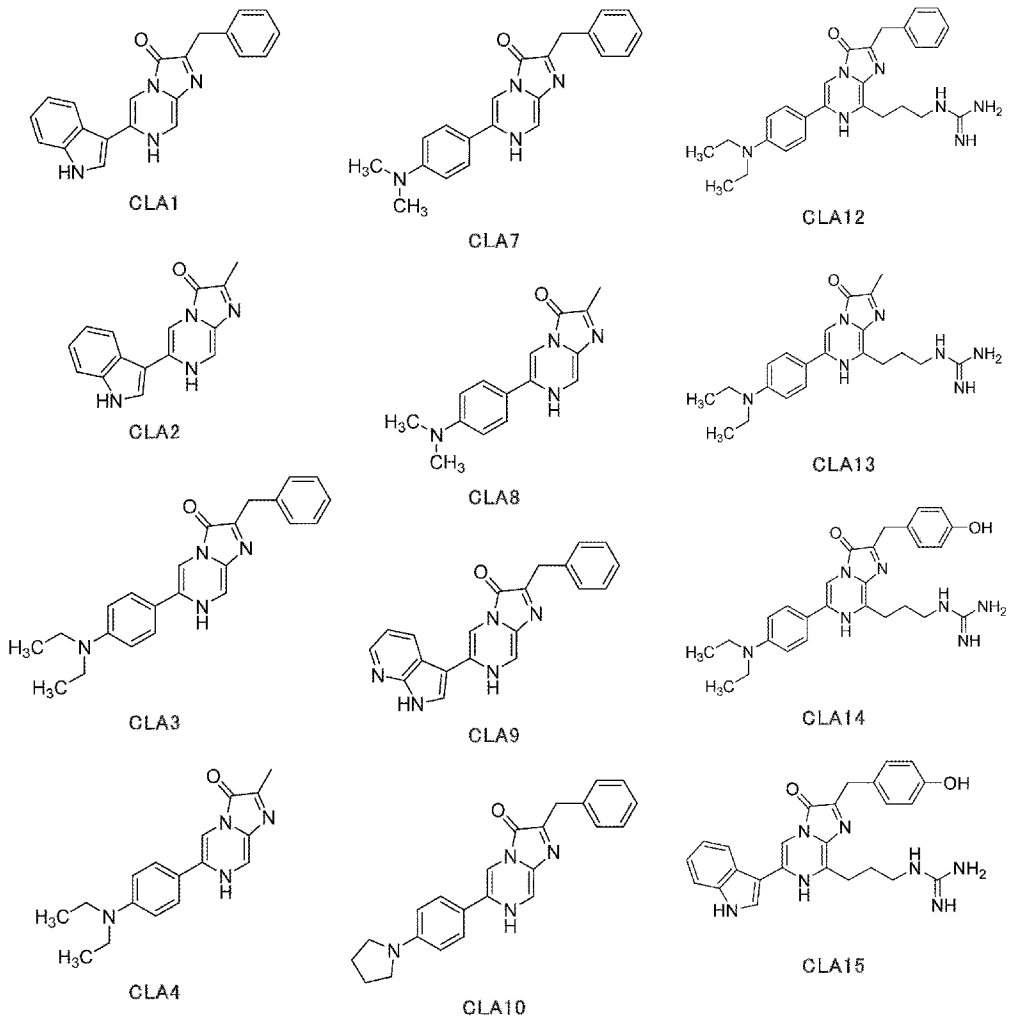
[化17]



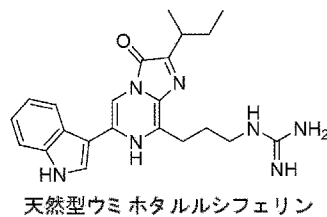
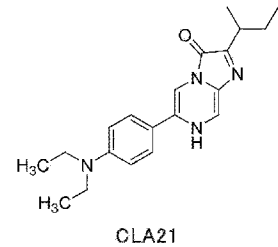
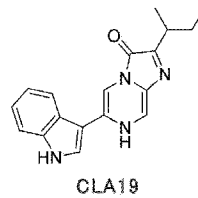
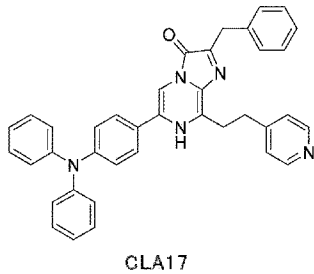
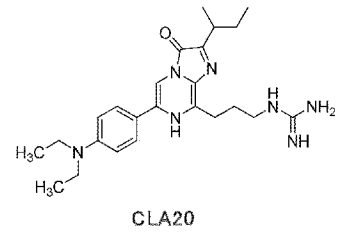
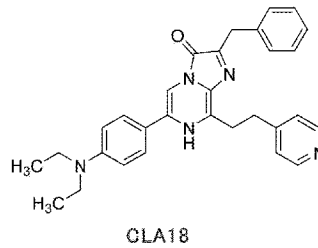
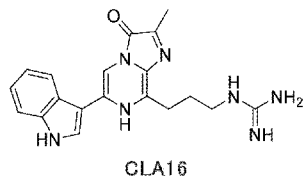
[請求項4]

前記一般式 (2) で表される化合物が下記式のいずれかで表される化合物である、請求項 3 に記載の SARS 関連コロナウイルスの検出方法。

[化18]



[化19]

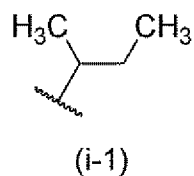


[請求項5]

前記一般式（2）で表される化合物が、下記条件（B-i）、（B-ii）、及び（B-iii）の少なくとも2つを満たす、請求項3に記載のSARS関連コロナウイルスの検出方法。

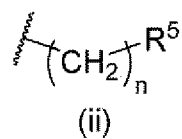
（B-i） 前記R¹は下記式（i-1）で表される基である；

[化20]



（B-ii） 前記R²は下記式（ii）で表される基である；

[化21]

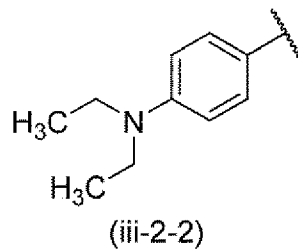


（式中、n及びR⁵は前記に同じ。）

（B-iii） 前記R³は下記式（iii-2-2）で表される基である

。

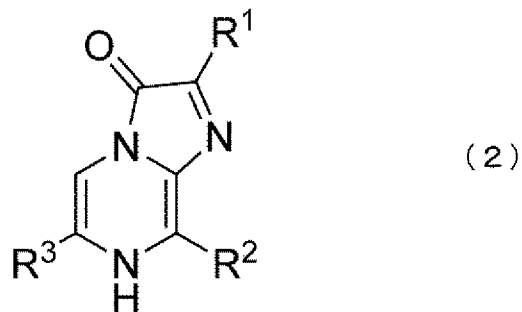
[化22]



[請求項6] 前記接触させる工程の後、発光を測定する工程を更に含む、請求項3に記載のSARS関連コロナウイルスの検出方法。

[請求項7] 下記一般式(2)で表される化合物又はその塩若しくは溶媒和物を含む、SARS関連コロナウイルスの検出剤。

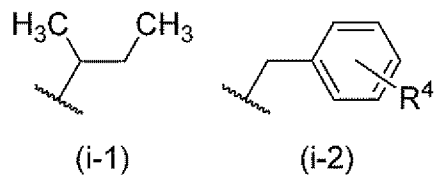
[化23]



[式中、

R¹はメチル基又は下記式：

[化24]

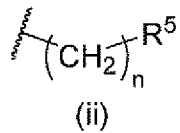


(式中、R⁴は水素原子、水酸基、フッ素原子、メトキシ基、又はトリフルオロメチル基である。)

で表される基のいずれか1種であり；

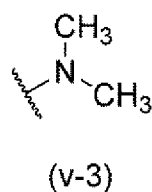
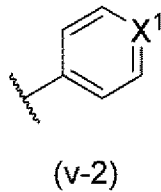
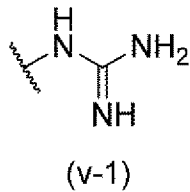
R²は水素原子又は下記式：

[化25]



(式中、 n は 1 ～ 5 の整数であり、 R^5 は下記式：

[化26]

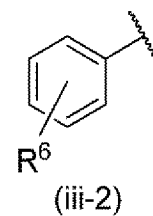
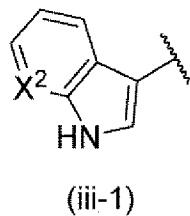


{ 式中、 X^1 は窒素原子又は C H 基である。 } で表される基のいずれか 1 種である。)

で表される基のいずれか 1 種であり；

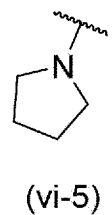
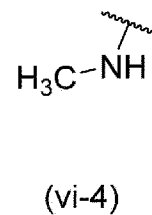
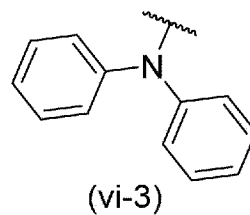
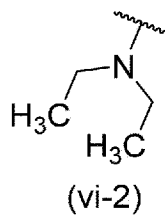
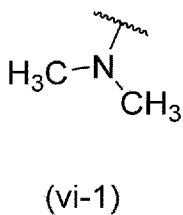
R^3 は下記式：

[化27]

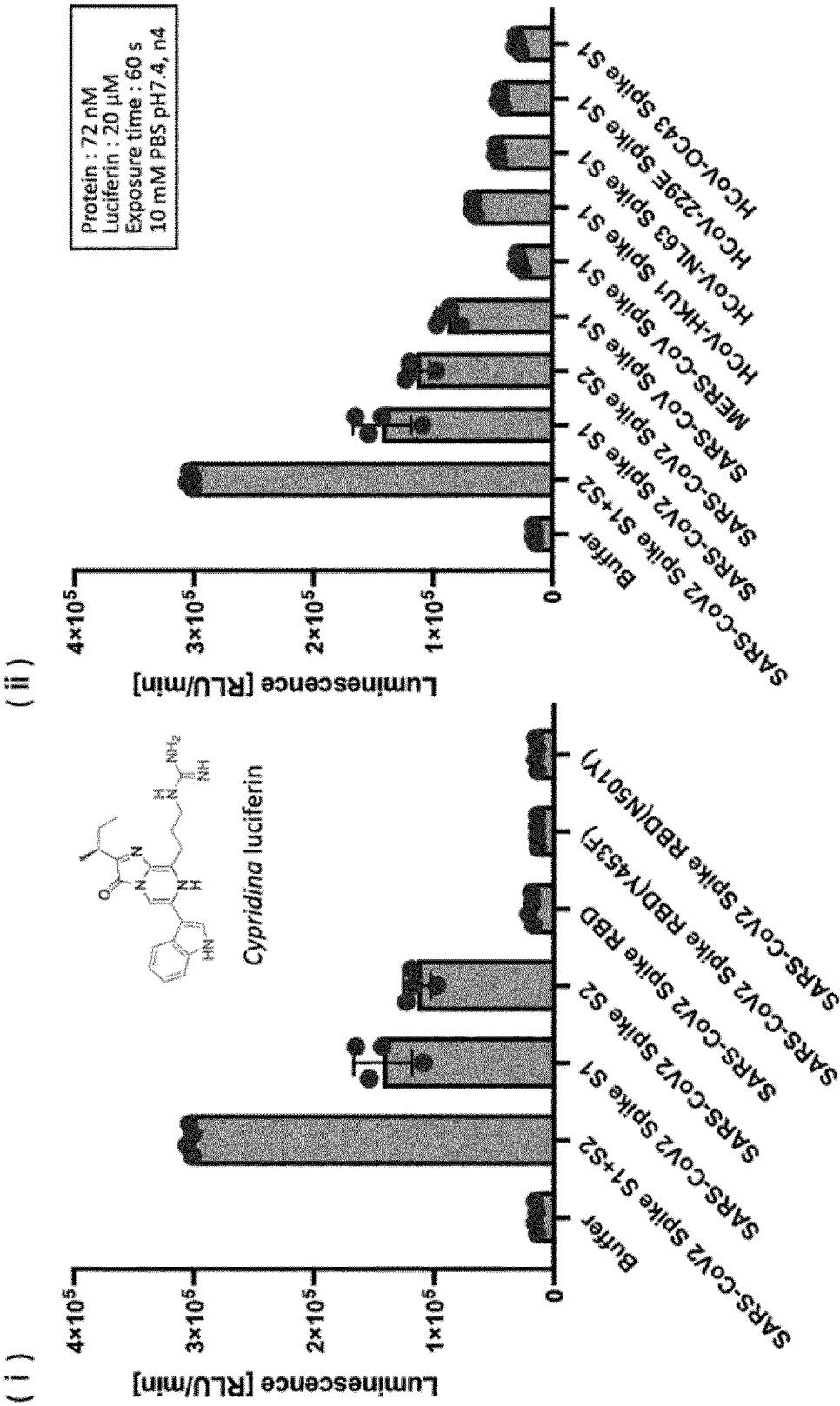


(式中、 X^2 は窒素原子又は C H 基であり、 R^6 は水酸基、メトキシ基、メチル基、トリフルオロメチル基、又は下記式 (vi-1)、(vi-2)、(vi-3)、(vi-4) 若しくは (vi-5) で表される基のいずれか 1 種である。)]

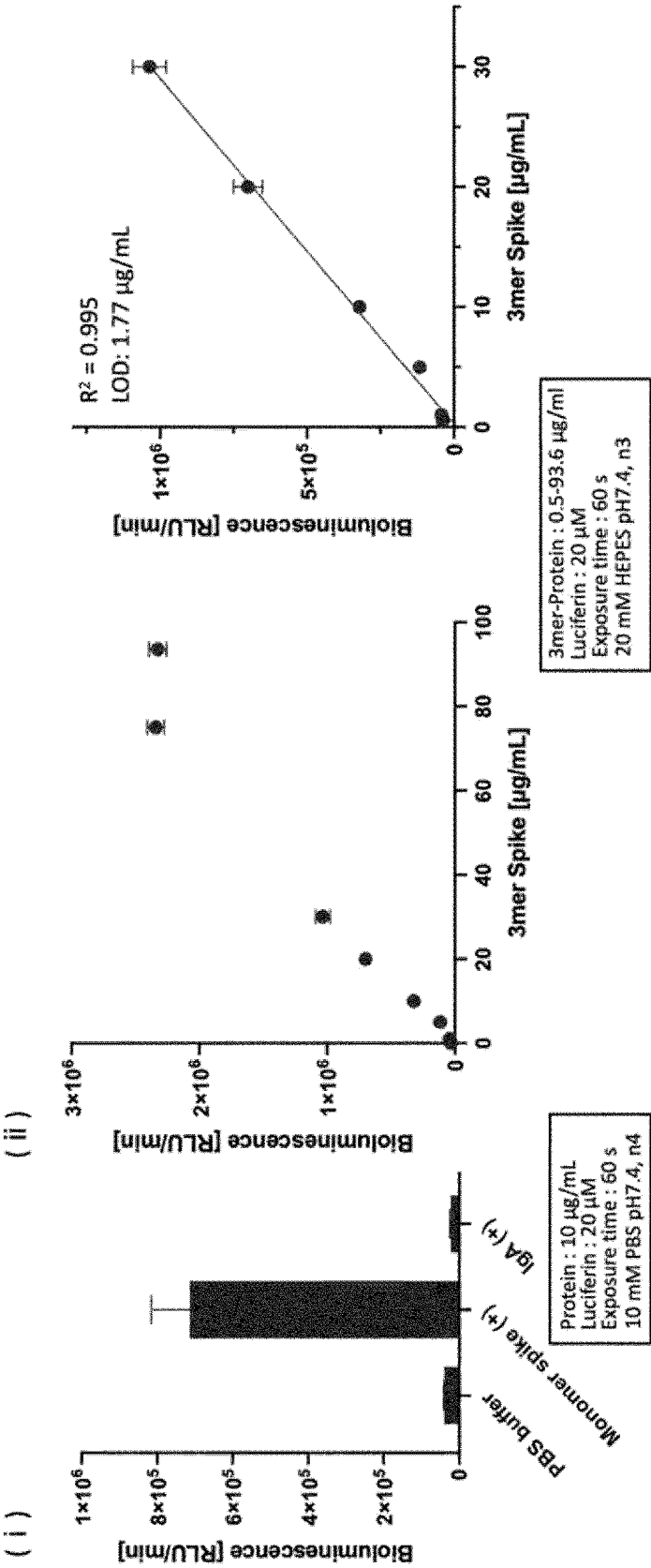
[化28]

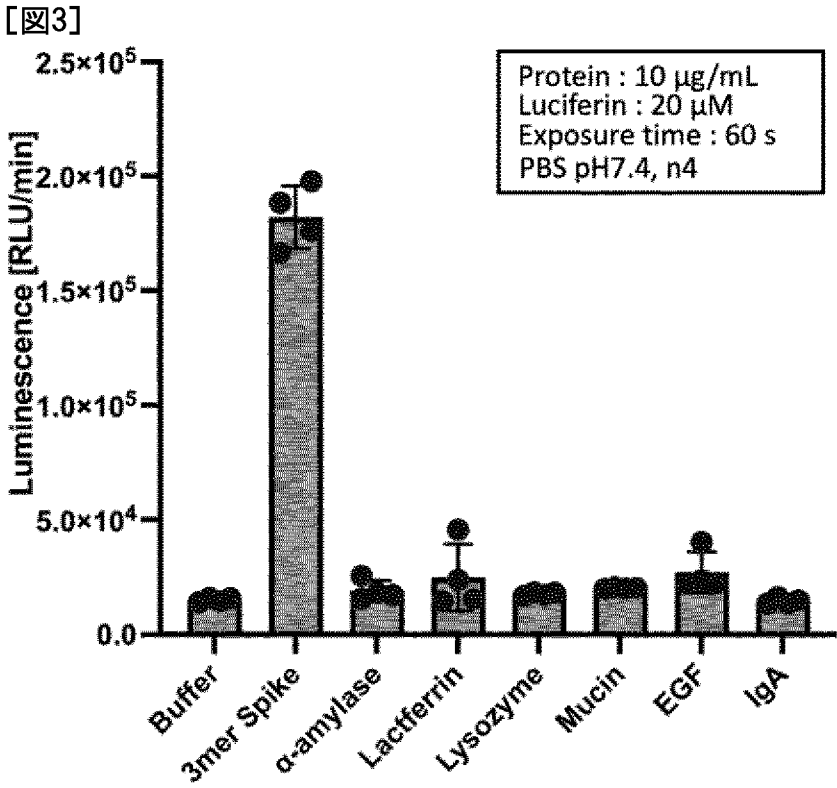


[1]



[2]





INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2023/026063

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**C07D 487/04**(2006.01)i; **C12Q 1/04**(2006.01)i; **G01N 21/76**(2006.01)i; **G01N 33/52**(2006.01)i

FI: C07D487/04 144; G01N33/52 C; C12Q1/04; G01N21/76; C07D487/04 CSP

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D487/04; C12Q1/04; G01N21/76; G01N33/52

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	NISHIHARA, R. et al. Bioconjugate Chem. 2020, vol. 31, pp. 2679-2684, Supplementary information	1
A	particularly, Supplementary information, fig. S1	2-7
X	JP 2012-95649 A (NATIONAL INST. OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE & TECHNOLOGY) 24 May 2012 (2012-05-24)	1
A	examples 7, 8	2-7
X	JP 2018-165265 A (UNIV. OF ELECTRO-COMMUNICATIONS) 25 October 2018 (2018-10-25)	1
A	paragraph [0040]	2-7

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

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 September 2023

Date of mailing of the international search report

26 September 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/JP2023/026063

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	戸谷 義明, 海ホタル生物発光の化学, 日本農芸化学会誌, 1992, vol. 66, no. 4, pp. 742-747, (TOYA, Yoshiaki. Chemistry of Vargula (formerly Cypridina) Bioluminescence. Nippon Nogeikagaku Kaishi.)	1
A	fig. 1	2-7

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

Claim 1 is a "compound represented by general formula (1) or a salt or solvate thereof".

However, as apparent from the fact that general formula (1) includes coelenterazine which is a known compound, general formula (1) does not have a special technical feature and thus lacks unity of the invention.

Consequently, the claims are classified into at least the following two inventions.

(1) Claim 1 other than nine compounds set forth in claim 2

(2) Claim 2 and claims 3-7

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2023/026063

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)
JP	2012-95649	A	24 May 2012	US	2009/0136974	A1
				examples 7, 8		
				US	2011/0287459	A1
				WO	2007/034952	A1
				EP	1930332	A1
				EP	2940020	A1
				CN	101273041	A
				CN	102532143	A
JP	2018-165265	A	25 October 2018	(Family: none)		

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C07D 487/04(2006.01)i; C12Q 1/04(2006.01)i; G01N 21/76(2006.01)i; G01N 33/52(2006.01)i FI: C07D487/04 144; G01N33/52 C; C12Q1/04; G01N21/76; C07D487/04 CSP										
B. 調査を行った分野										
調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） C07D487/04; C12Q1/04; G01N21/76; G01N33/52										
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										
<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>			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									
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） CAplus/REGISTRY (STN)										
C. 関連すると認められる文献										
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号								
X	NISHIHARA, R. et al., Bioconjugate Chem., 2020, Vol.31, pp.2679-2684, Supplementary Information 特に、Supplementary InformationのFigure.S1	1								
A		2-7								
X	JP 2012-95649 A（独立行政法人産業技術総合研究所）24.05.2012（2012 - 05 - 24） 実施例 7、8	1								
A		2-7								
X	JP 2018-165265 A（国立大学法人電気通信大学）25.10.2018（2018 - 10 - 25） [0040]	1								
A		2-7								
X	戸谷 義明, 海ホタル生物発光の化学, 日本農芸化学会誌, 1992, Vol.66, No.4, pp.742-747 Fig.1	1								
A		2-7								
☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。										
<table border="0"> <tr> <td> * 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 </td> <td> “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 </td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献	“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と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						
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献	“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と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									
国際調査を完了した日 13.09.2023		国際調査報告の発送日 26.09.2023								
名称及びあて先 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		権限のある職員（特許庁審査官） 松澤 優子 4P 3036 電話番号 03-3581-1101 内線 3492								

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第 1 ページの 3 の続き）

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

請求項 1 は、「一般式（1）で表される化合物又はその塩若しくは溶媒和物。」である。

しかしながら、一般式（1）は、周知の化合物であるセレンテラジンを含むことから明らか
なとおり、特別な技術的特徴を有さず、単一性は存在しない。

したがって、請求の範囲は、少なくとも以下の 2 の発明に区分される。

- （1）請求項 2 に記載された 9 化合物以外の請求項 1
- （2）請求項 2、請求項 3－7

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

追加調査手数料の異議の
申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

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/JP2023/026063

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP	2012-95649	A	24.05.2012	US 2009/0136974 A1	
				Example7, 8	
				US 2011/0287459 A1	
				WO 2007/034952 A1	
				EP 1930332 A1	
				EP 2940020 A1	
				CN 101273041 A	
JP	2018-165265	A	25.10.2018	CN 102532143 A	
				(ファミリーなし)	