

(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  
2021年8月19日(19.08.2021)



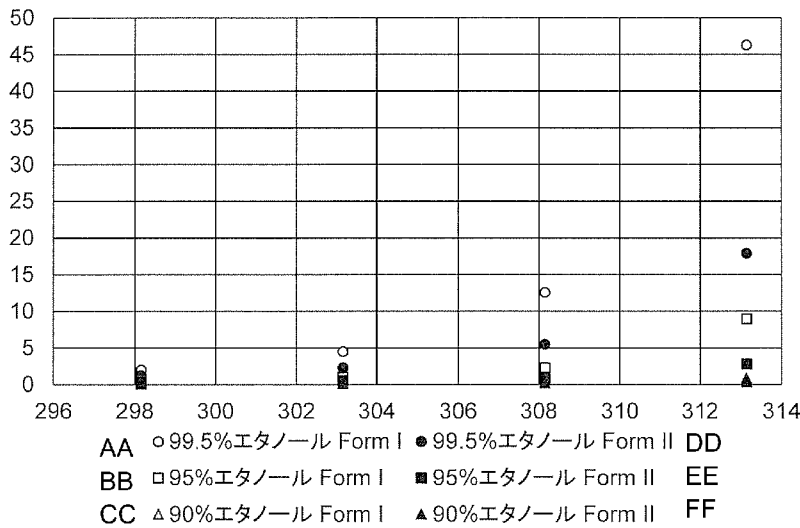
(10) 国際公開番号

WO 2021/161807 A1

- (51) 国際特許分類:  
C07C 41/40 (2006.01) C07C 43/23 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2021/003220
- (22) 国際出願日: 2021年1月29日(29.01.2021)
- (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 2020-021358 2020年2月12日(12.02.2020) JP
- (71) 出願人: 株式会社カネカ (KANEKA CORPORATION) [JP/JP]; 〒5308288 大阪府大阪市北区中之島二丁目3番18号 Osaka (JP).
- (72) 発明者: 北村 志郎 (KITAMURA Shiro); 〒5308288 大阪府大阪市北区中之島二丁目3番18号 株式会社カネカ内 Osaka (JP). 木下 浩一 (KINOSHITA Koichi); 〒5308288 大阪府大阪市北区中之島二丁目3番18号 株式会社カネカ内 Osaka (JP). 植田 尚宏 (UEDA Takahiro); 〒5308288 大阪府大阪市北区中之島二丁目3番18号 株式会社カネカ内 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 特許業務法人平木国際特許事務所 (HIRAKI & ASSOCIATES); 〒1056232 東京都港区愛宕二丁目5-1 愛宕グリーンヒルズ MORIタワー32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,

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING REDUCED COENZYME Q10 FORM II CRYSTALS

(54) 発明の名称: Form II型の還元型補酵素Q10結晶の製造方法



AA 99.5% ethanol Form I  
 BB 95% ethanol Form I  
 CC 90% ethanol Form I  
 DD 99.5% ethanol Form II  
 EE 95% ethanol Form II  
 FF 90% ethanol Form II

(57) Abstract: The present invention provides an efficient production method for obtaining reduced coenzyme Q10 crystals of Form II that is a stable crystalline form. The production method of the present invention comprises a step for adding a Form II crystal as a seed crystal to a liquid mixture containing ethanol and reduced coenzyme Q10 and a step for precipitating Form II crystals, wherein, before the addition of the seed crystal, the concentration  $C_i$  of dissolved reduced coenzyme Q10 is equal to or higher than the saturation concentration of Form II crystals and lower than the saturation concentration of Form I crystals at the temperature  $T_i$  at which the seed crystal is added, and in the step for precipitating the crystals, the temperature  $T_p$  of the liquid mixture is controlled so that the concentration  $C_p$  of dissolved reduced coenzyme Q10 becomes equal to or higher than the



WO 2021/161807 A1

BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, 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, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, 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, 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))

---

saturation concentration of Form II crystals and lower than the saturation concentration of Form I crystals.

(57) 要約 : 本発明は、安定型の結晶形である還元型補酵素Q10のForm II型結晶を得るための効率的な製造方法を提供する。本発明の製造方法は、エタノールと還元型補酵素Q10とを含有する混合液に、Form II型結晶の種晶を添加する工程、及び、Form II型結晶を析出させることを含み、種晶添加前の還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_i$ が、種晶添加時の温度 $T_i$ での、Form II型結晶の飽和濃度以上且つForm I型結晶の飽和濃度未満であり、結晶析出工程が、前記混合液の温度 $T_p$ を、還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_p$ が、Form II型結晶の飽和濃度以上であり且つForm I型結晶の飽和濃度未満となるように調節することを含む。

## 明 細 書

発明の名称：

Form II型の還元型補酵素Q10結晶の製造方法

### 技術分野

[0001] 本発明は、安定性に優れたForm II型の還元型補酵素Q10結晶の製造方法に関する。

### 背景技術

[0002] 補酵素Qは、細菌から哺乳動物まで広く生体に分布する必須成分であり、生体内の細胞中におけるミトコンドリアの電子伝達系構成成分として知られている。補酵素Qは、ミトコンドリア内で酸化と還元を繰り返すことで、電子伝達系における伝達成分としての機能を担っているほか、還元型補酵素Qは抗酸化作用を持つことが知られている。ヒトでは、補酵素Qの側鎖が繰り返し構造を10個持つ補酵素Q10が主成分であり、生体内においては、通常、40～90%程度が還元型として存在している。補酵素Qの生理的作用としては、ミトコンドリア賦活作用によるエネルギー生産の活性化、心機能の活性化、細胞膜の安定化効果、抗酸化作用による細胞の保護効果等が挙げられている。

[0003] 現在製造・販売されている補酵素Q10の多くは酸化型補酵素Q10であるが、近年では、酸化型補酵素Q10に比べて高い経口吸収性を示す還元型補酵素Q10も市場に登場し、用いられるようになってきている。

[0004] 還元型補酵素Q10を得る一般的な方法は既の開示されている（特許文献1）。さらに、還元型補酵素Q10を結晶として得る方法についても、いくつかの方法が知られている。例えば、還元型補酵素Q10をアルコール溶液及び／又はケトン溶液中において晶出させ、結晶を製造する方法（特許文献2）や、還元型補酵素Q10の高濃度液相を貧溶媒中に添加することで結晶化を行う方法（特許文献3）などが報告されている。

[0005] 一方、特許文献4には、還元型補酵素Q10に結晶多形現象が見られるこ

とが記載されており、新たに出現した結晶形（以下、この結晶をForm I I型の還元型補酵素Q10結晶、又は、Form I I型結晶と呼称する）は従来の還元型補酵素Q10（以下、この結晶をForm I型の還元型補酵素Q10結晶、又は、Form I型結晶と呼称する）より非常に安定で、その他の物理特性にも優れていると報告されている。

## 先行技術文献

## 特許文献

- [0006] 特許文献1：特開平10-109933号公報  
特許文献2：WO2003/006409号公報  
特許文献3：特開2003-089669号公報  
特許文献4：WO2012/176842号公報

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

- [0007] 特許文献4には、Form I I型の還元型補酵素Q10結晶の取得方法として、特定の条件で晶析を行う方法が記載されているが、長時間を要する上に回収量が少ない場合があり、必ずしも工業的には最適とはいえない方法である。また、予備検討の結果、晶析時にいったんForm I型結晶が析出すると、その後はForm I I型結晶に優先してForm I型結晶が析出し、Form I I型結晶の回収率が低くなることが分かった。そのため、Form I I型の還元型補酵素Q10結晶を高い回収率で効率的に取得するためには、Form I I型結晶のみを選択的に析出させる必要がある。

そこで本発明は、安定型の結晶形であるForm I I型の還元型補酵素Q10結晶を得るための効率的な製造方法を提供することを目的とする。

### 課題を解決するための手段

- [0008] 本発明者らは、エタノール中では、Form I I型の還元型補酵素Q10結晶の飽和濃度が、Form I型の還元型補酵素Q10結晶の飽和濃度よりも低いことを見出した。そしてこの知見に基づき、以下の方法により、Fo

Form II型の還元型補酵素Q10結晶を効率よく得ることができることを見出した。

(1) エタノールと還元型補酵素Q10とを含有する混合液に、Form II型の還元型補酵素Q10結晶を種晶として添加すること、及び、

前記種晶の添加後の前記混合液中でForm II型の還元型補酵素Q10結晶を析出させることを含み、

前記種晶の添加前の前記混合液中の還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_i$ が、前記種晶を添加する時点での前記混合液の温度 $T_i$ において、Form II型結晶の飽和濃度以上であり且つForm I型結晶の飽和濃度未満であり、

前記結晶を析出させる工程において、前記混合液の温度 $T_p$ を、前記混合液中の還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_p$ が、Form II型結晶の飽和濃度以上であり且つForm I型結晶の飽和濃度未満となるように、調節することを含む、

ことを特徴とする、Form II型の還元型補酵素Q10結晶の製造方法。

(2) エタノールが水を含んでいてもよく、水とエタノールとの総量に対して、エタノール濃度が $Z$  (v/v) %であり、前記 $Z$ は90~100であり、

前記 $C_i$ 及び前記 $C_p$ の単位を重量%、前記 $T_i$ 及び前記 $T_p$ の単位をKとしたとき、

前記 $C_i$ 及び前記 $C_p$ が1.5重量%以上である場合において、

下記の条件

$$(式1) \quad A_{11} \cdot T_i + B_{11} \leq \log C_i < A_1 \cdot T_i + B_1$$

$$(式2) \quad A_{11} \cdot T_p + B_{11} \leq \log C_p < A_1 \cdot T_p + B_1$$

$$(式3) \quad A_1 = 0.0089 \cdot Z - 0.6754$$

$$(式4) \quad B_1 = -2.3607 \cdot Z + 172.70$$

$$(式5) \quad A_{11} = 0.0086 \cdot Z - 0.6844$$

$$(式6) \quad B_{11} = -2.3178 \cdot Z + 178.26$$

を全て満足する、(1)に記載の製造方法。

(3) 前記 $T_i$ が $20^{\circ}\text{C}$ 以上 $43^{\circ}\text{C}$ 以下である、(1)又は(2)に記載の製造方法。

(4) 前記 $T_i$ が $20^{\circ}\text{C}$ 以上 $32^{\circ}\text{C}$ 未満である、(1)又は(2)に記載の製造方法。

(5) 前記 $T_p$ が $5^{\circ}\text{C}$ 以上 $43^{\circ}\text{C}$ 以下である、(1)～(4)のいずれかに記載の製造方法。

(6) 前記結晶を析出させることが、前記 $T_p$ を一定の温度に保持することを含み、(1)～(5)のいずれかに記載の製造方法。

(7) 前記結晶を析出させることが、前記 $T_p$ を経時的に低下させることを含み、(1)～(6)のいずれかに記載の製造方法。

(8) 前記結晶を析出させることが、  
前記 $T_p$ を $20^{\circ}\text{C}$ 以上 $43^{\circ}\text{C}$ 以下の範囲の一定の温度に保持すること、及び  
続いて、前記混合液の温度を $25^{\circ}\text{C}$ 以下であり且つ前記一定の温度未満の  
温度に、 $-15^{\circ}\text{C}/\text{時間}$ 以下の速度で低下させること  
を含む、(1)～(7)のいずれかに記載の製造方法。

本明細書は本願の優先権の基礎となる日本国特許出願番号2020-021358号の開示内容を包含する。

## 発明の効果

[0009] 本発明の方法によれば、Form I型の還元型補酵素Q10結晶を効率よく製造することができる。

## 図面の簡単な説明

[0010] [図1]図1は、 $99.5(v/v)\%$ 、 $95(v/v)\%$ 、 $90(v/v)\%$ の各エタノール濃度の含水エタノール中での、Form I型結晶、及び、Form II型結晶の溶解度を、温度(K)をx軸、還元型補酵素Q10結晶の溶解度(重量%)をy軸としてプロットしたグラフである。

[図2]図2は、 $99.5(v/v)\%$ 含水エタノール中でのForm I型結晶及びForm II型結晶の溶解度を、温度(K)をx軸、還元型補酵素Q10結晶の溶解度(重量%)の自然対数をy軸としてプロットしたグラフであ

る。

[図3]図3は、95 (v/v) %含水エタノール中でのForm I型結晶及びForm II型結晶の溶解度を、温度 (K) をx軸、還元型補酵素Q10結晶の溶解度 (重量%) の自然対数をy軸としてプロットしたグラフである。

[図4]図4は、90 (v/v) %含水エタノール中でのForm I型結晶及びForm II型結晶の溶解度を、温度 (K) をx軸、還元型補酵素Q10結晶の溶解度 (重量%) の自然対数をy軸としてプロットしたグラフである。

[図5]図5は、温度T (K) とForm I型結晶の溶解度 (飽和濃度)  $C_1$  (重量%) との関係式 (式7)  $\log C_1 = A_1 \cdot T + B_1$  における定数  $A_1$  の、エタノール濃度との相関関係を確認するため、エタノール濃度をx軸、 $A_1$  の値をy軸としてプロットしたグラフである。

[図6]図6は、上記式7における定数  $B_1$  の、エタノール濃度との相関関係を確認するため、エタノール濃度をx軸、 $B_1$  の値をy軸としてプロットしたグラフである。

[図7]図7は、温度T (K) とForm II型結晶の溶解度 (飽和濃度)  $C_{II}$  (重量%) との関係式 (式8)  $\log C_{II} = A_{II} \cdot T + B_{II}$  における定数  $A_{II}$  の、エタノール濃度との相関関係を確認するため、エタノール濃度をx軸、 $A_{II}$  の値をy軸としてプロットしたグラフである。

[図8]図8は、上記式8における定数  $B_{II}$  の、エタノール濃度との相関関係を確認するため、エタノール濃度をx軸、 $B_{II}$  の値をy軸としてプロットしたグラフである。

### 発明を実施するための形態

[0011] 以下、本発明を詳細に説明する。

[0012] <還元型補酵素Q10>

本明細書における「還元型補酵素Q10」とは、還元型補酵素Q10を主成分とする限り、その一部に酸化型補酵素Q10を含んでいてもよい。なお、ここで主成分とは、例えば50重量%以上、通常60重量%以上、好ましくは70重量%以上、より好ましくは80重量%以上、さらに好ましくは9

0重量%以上、特に好ましくは95重量%以上、とりわけ98重量%以上含まれていることを意味する。ここで前記割合は、補酵素Q10の総量に対する、還元型補酵素Q10の割合である。

[0013] なお、上述したように、還元型補酵素Q10には、従来から知られているForm I型と、最近になって新たに見出されたForm II型の2種の結晶多形が存在する。具体的には、融点が48℃付近で、粉末エックス線(Cu-K $\alpha$ )回析において、回折角(2 $\theta$ ±0.2°)3.1°、18.7°、19.0°、20.2°、23.0°に特徴的なピークを示す還元型補酵素Q10の結晶形がForm I型であり、融点が52℃付近で、粉末エックス線(Cu-K $\alpha$ )回析において、回折角(2 $\theta$ ±0.2°)11.5°、18.2°、19.3°、22.3°、23.0°、33.3°に特徴的なピークを示す還元型補酵素Q10の結晶形がForm II型である。本明細書においては、示差走査熱量測定(DSC)により、5℃/分の速度で昇温した場合において54±2℃に吸熱ピークを有するか、昇温速度1℃/分において同様に測定をおこなった場合、52±2℃に吸熱ピークを有するか、粉末エックス線(Cu-K $\alpha$ )回析において、回折角(2 $\theta$ ±0.2°)11.5°、18.2°、19.3°、22.3°、23.0°及び33.3°に特徴的なピークを示すか、そのうち1つでも満たす還元型補酵素Q10の結晶を「Form II型の還元型補酵素Q10の結晶」という。もちろん、全ての条件を満たすものであってもかまわない。

[0014] また、本明細書における「結晶性固体」とは、結晶構造を有する部分とともに、結晶構造を有さない非晶質成分をその中に含んだ固体を意味する。

[0015] <エタノール>

本発明者らは、エタノール中では、Form II型結晶の飽和濃度が、Form I型結晶の飽和濃度よりも小さいことを見出し、更に、エタノール中の還元型補酵素Q10の溶存濃度が、Form II型結晶の飽和濃度以上であり且つForm I型結晶の飽和濃度未満となるように、エタノールと還元型補酵素Q10との混合物の温度を調節することで、Form II型結晶

を効率的に析出させることが可能であることを見出した。

[0016] 本発明においてエタノールは、エタノールを主成分とする溶媒であれば良く、水を含む含水エタノールであってもよい。驚くべきことに、同一温度条件では、エタノール中での、Form II型結晶の飽和濃度とForm I型結晶の飽和濃度との差が、エタノール中の含水量が低いほど大きく、Form II型結晶の選択的な析出が容易である。このためエタノールは、水とエタノールとの総量に対して、エタノール濃度は例えば80 (v/v) %以上、90 (v/v) %以上、95 (v/v) %以上が好ましく、また100 (v/v) %以下、99.8 (v/v) %以下、99.5 (v/v) %以下が好ましい。

[0017] <Form II型の還元型補酵素Q10結晶の製造方法>

本発明の一以上の実施形態に係る、Form II型の還元型補酵素Q10結晶の製造方法は、

エタノールと還元型補酵素Q10とを含有する混合液に、Form II型の還元型補酵素Q10結晶を種晶として添加すること、及び、

前記種晶の添加後の前記混合液中でForm II型の還元型補酵素Q10結晶を析出させることを含み、

前記種晶の添加前の前記混合液中の還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_i$ が、前記種晶を添加する時点での前記混合液の温度 $T_i$ において、Form II型結晶の飽和濃度以上であり且つForm I型結晶の飽和濃度未満であり、

前記結晶を析出させる工程において、前記混合液の温度 $T_p$ を、前記混合液中の還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_p$ が、Form II型結晶の飽和濃度以上であり且つForm I型結晶の飽和濃度未満となるように、調節することを含む、

ことを特徴とする。

[0018] 以下の説明では種晶として添加する工程を「種晶添加工程」、Form II型の還元型補酵素Q10結晶を析出させる工程を「結晶析出工程」と称する場合がある。

- [0019] エタノールと還元型補酵素Q10とを含有する混合液は、エタノールと還元型補酵素Q10を含有していれば特に限定されず、還元型補酵素Q10がエタノールに溶解した均一な溶液であってもよいし、還元型補酵素Q10の一部がエタノールに溶解しているが一部が溶解せずに懸濁したスラリーであっても良いが、好ましくは、還元型補酵素Q10がエタノールに溶解した均一な溶液である。
- [0020] エタノールと還元型補酵素Q10とを含有する混合液に使用される還元型補酵素Q10としては、結晶、非晶状態を問わず、またその結晶多形も問わない。従って、従来公知のForm I型の還元型補酵素Q10を使用することもできる。また、結晶析出においてその純度を高めることが可能なため、不純物を有するものや、未精製・粗精製の還元型補酵素Q10であってもよい。さらに、従来公知の方法によって得られた還元型補酵素Q10の抽出液や、公知の還元方法で酸化型補酵素Q10から得られた還元型補酵素Q10を含有する反応液を、そのまま、あるいは必要に応じて精製及び／又は溶媒置換したものを、前記混合液として使用することもできる。
- [0021] エタノールと還元型補酵素Q10とを含有する混合液は、エタノール（含水エタノールを含む）以外の他の有機溶媒を更に含んでも良いが、溶媒成分全量あたりのエタノールの含有量は好ましくは、95（v/v）%以上、97（v/v）%以上、99（v/v）%以上であり、上限としては100（v/v）%以下が好ましい。最も好ましくは100（v/v）%である。他の有機溶媒としては、エタノール以外のアルコール、炭化水素、脂肪酸エステル及び窒素化合物からなる群より選択される少なくとも1種が例示できる。
- [0022] エタノールと還元型補酵素Q10とを含有する混合液中の、種晶添加前の還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_i$ は、その温度 $T_i$ における、Form II型結晶の飽和濃度以上であり且つForm I型結晶の飽和濃度未満となる濃度であればよい。種晶添加前の還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_i$ は、例えば2重量%以上、好ましく3重量%以上、より好ましくは5重量%以上、より

好ましくは7重量%以上、より好ましくは9重量%以上、より好ましくは10重量%以上であり、例えば50重量%以下、好ましくは45重量%以下、より好ましくは30重量%以下であることができる。

[0023] エタノールと還元型補酵素Q10とを含有する混合液中では、還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_i$ が、種晶を添加する時点での前記混合液の温度 $T_i$ において、Form II型結晶の飽和濃度以上であり且つForm I型結晶の飽和濃度未満であることから、Form II型結晶の飽和又は過飽和溶液であり、Form I型結晶の不飽和溶液である。このような溶液は、エタノールと還元型補酵素Q10とを含有する原料混合物を42℃以上の温度、更に好ましくは70℃以下、特に好ましくは55℃以下の温度、に加熱して還元型補酵素Q10を溶解させること、及び、加熱後の前記溶液を、温度 $T_i$ に冷却して、Form II型結晶の飽和又は過飽和溶液を調製することにより得られる。

[0024] 種晶となるForm II型の還元型補酵素Q10結晶の添加量（種晶添加量）としては、特に限定されないが、種晶の添加前の前記混合液中の還元型補酵素Q10の量に対して0.1重量%以上が好ましく、0.5重量%以上がより好ましく、さらに0.8重量%以上が好ましく、特に1重量%以上が好ましい。上限は特に制限されないが、種晶添加前の前記混合液中の還元型補酵素Q10の量に対して、20重量%以下が好ましく、さらに、4重量%以下が好ましく、特に、2重量%以下が好ましい。なお、種晶に使用される還元型補酵素Q10結晶は、Form II型の還元型補酵素Q10結晶を含む限り、Form I型の還元型補酵素Q10結晶や非晶体を含むものであっても差し支えないが、Form II型の還元型補酵素Q10結晶の純度が高い方が好ましい。種晶としてはForm II型の還元型補酵素Q10結晶が、例えば50重量%以上、好ましくは75重量%以上、さらに好ましくは80重量%以上、より好ましくは90重量%以上のものを使用するのが良い。

[0025] 種晶を添加する時点での前記混合液の温度 $T_i$ は、20℃以上43℃以下の範囲であることが好ましい。温度 $T_i$ が20℃以上である場合、Form II

型結晶の飽和濃度とForm I型結晶の飽和濃度との差が大きく、且つ、Form I型結晶の飽和濃度が高いため、Form II型結晶の選択的な析出に適している。温度 $T_i$ が $43^{\circ}\text{C}$ 以下である場合、結晶形成速度が高い。温度 $T_i$ が、更に好ましくは $25^{\circ}\text{C}$ 以上、更に好ましくは $30^{\circ}\text{C}$ 以上、更に好ましくは $32^{\circ}\text{C}$ 以上、更に好ましくは $35^{\circ}\text{C}$ 以上である場合、Form II型結晶の飽和濃度とForm I型結晶の飽和濃度との差が更に大きく、且つ、Form I型結晶の飽和濃度が高いため、Form II型結晶の選択的な析出が更に容易である。温度 $T_i$ の上限は、より好ましくは $40^{\circ}\text{C}$ 以下である。また、 $T_i$ が $20^{\circ}\text{C}$ 以上 $32^{\circ}\text{C}$ 未満である場合も、好ましい態様の一つである。

[0026] 結晶析出工程は、種晶添加後の前記混合液の温度 $T_p$ を、前記混合液中の還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_p$ が、Form II型結晶の飽和濃度以上であり且つForm I型結晶の飽和濃度未満となるように、調節することを含む。

[0027] 温度 $T_p$ は、その時点での還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_p$ に応じて適宜調節することができる。例えば温度 $T_p$ は $5^{\circ}\text{C}$ 以上 $43^{\circ}\text{C}$ 以下であることができる。結晶析出工程において温度 $T_p$ は一定の温度であってもよいが、結晶の析出に伴い還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_p$ が低下するため、結晶化を促進する目的で前記混合液の温度 $T_p$ を経時的に低下させる冷却晶析を行うことが好ましい。「温度 $T_p$ を経時的に低下させる」とは、温度 $T_p$ を経時的に段階的又は連続的に低下させることを含む。

[0028] 結晶析出工程においては、単位時間当たりの結晶の析出量を制御して、過飽和の形成を制御するのが好ましい。好ましい単位時間当たりの析出量は、例えば、単位時間当たり全析出量の約50%量が析出する速度以下（即ち、最大で50%量/時間）であり、好ましくは、単位時間当たり全析出量の25%量が析出する速度以下（即ち、最大で25%量/時間）である。

[0029] 結晶析出工程の好ましい一例では、温度 $T_p$ を、一定の温度に保持すること、例えば種晶添加時の温度 $T_i$ の好ましい範囲として挙げた温度範囲、例えば $20^{\circ}\text{C}$ 以上 $43^{\circ}\text{C}$ 以下の範囲の一定の温度、に保持することを含む。特に、

温度 $T_p$ を、種晶を添加してから1時間以上、種晶添加時の温度 $T_i$ の好ましい範囲として挙げた温度範囲、例えば20℃以上43℃以下の範囲の一定の温度、に保持することを含むことがより好ましい。前記混合液を前記温度範囲に保持する時間は特に限定されないが1時間以上が好ましく、2時間以上が好ましく、4時間以上がより好ましく、10時間以上が特に好ましい。前記混合液を前記温度範囲に保持する時間の上限は特に限定されないが24時間程度で十分な効果が得られる。なお、一定の温度に保持とは、好ましくは所定温度（設定温度） $\pm 3^\circ\text{C}$ に保持することを意味し、より好ましくは所定温度（設定温度） $\pm 1^\circ\text{C}$ に保持することを意味し、さらに好ましくは所定温度（設定温度） $\pm 0.5^\circ\text{C}$ に保持することを意味する。

[0030] 冷却晶析を行う場合、種晶添加後に前記混合液の温度 $T_p$ を上記の温度範囲に保持した後に、段階的又は連続的に低下させることが好ましい。温度 $T_p$ の低下速度（冷却速度）は一定であってもよいし、変化させてもよい。

[0031] 冷却晶析を行う場合の冷却速度は特に限定されないが、例えば、1時間あたりの温度低下幅がより好ましくは $1.5^\circ\text{C}$ 以下（＝温度変化速度として $-1.5^\circ\text{C}/\text{時間}$ 以下）、より好ましくは $1.0^\circ\text{C}$ 以下、より好ましくは $0.5^\circ\text{C}$ 以下、より好ましくは $1^\circ\text{C}$ 以上、より好ましくは $2^\circ\text{C}$ 以上となる冷却速度である。冷却晶析を行う場合の一例としては、種晶添加後に前記混合液の温度 $T_p$ を上記の温度範囲に保持した後に、前記混合液の温度を $25^\circ\text{C}$ 以下であり且つ前記一定の温度未満の温度に、 $-1.5^\circ\text{C}/\text{時間}$ 以下の速度で低下させる態様が挙げられる。前記混合液の温度を経時的に低下させる場合の冷却速度は一定であってもよいし、変化するものであってもよい。特に、前記冷却速度が、前記混合液の温度が低下するに従い、連続的又は段階的に冷却速度が増す、すなわち、1時間あたりの温度低下幅が大きくなる実施形態により、前記混合液の温度が低下するに従い液相中の残存量が低下する還元型補酵素Q10を効率よく結晶化することができる。例えば、前記混合液の温度が $25^\circ\text{C}$ に到達するまでは、1時間あたりの温度低下幅が好ましくは $0.5^\circ\text{C}$ 以下、より好ましくは $0.3^\circ\text{C}$ 以下の速度で前記混合液を冷却し、前記混合液を $25^\circ\text{C}$ 未満の

温度に更に冷却する段階では、1時間あたりの温度低下幅が好ましくは6℃以上、より好ましくは8℃以上の速度で前記混合液を冷却することができる。冷却晶析を行う場合の終点到達温度は、好ましくは25℃以下、より好ましくは20℃以下、より好ましくは10℃以下、より好ましくは7℃以下、より好ましくは5℃以下である。前記終点温度の下限は前記混合液の系の固化温度であるが、好ましくは0℃以上、より好ましくは3℃以上である。

[0032] 結晶の析出は、種晶添加後の混合液を強制流動させながら実施するのが好ましい。過飽和の形成を抑制し、スムーズに核化・結晶成長を行うためには、或いは、高品質化の観点から、単位容積当たりの攪拌所要動力として、通常約0.01kW/m<sup>3</sup>以上、好ましくは0.03kW/m<sup>3</sup>以上、より好ましくは0.1kW/m<sup>3</sup>以上、さらに好ましくは0.3kW/m<sup>3</sup>以上の流動を前記混合液に与えるのがよい。上記の強制流動は、通常、攪拌翼の回転により与えられるが、上記流動が得られれば必ずしも攪拌翼を用いる必要はなく、例えば、混合液の循環による方法などを利用してよい。

[0033] 結晶化工程は、前記混合液の温度 $T_p$ を、還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_p$ が、Form II型結晶の飽和濃度以上であり且つForm I型結晶の飽和濃度未満となるように、調節することを含むものであればよい。例えば、種晶添加から、前記混合液に含まれる還元型補酵素Q10の全量のうち好ましくは70重量%以上、より好ましくは80重量%以上、より好ましくは85重量%以上、より好ましくは90重量%以上が結晶として析出するまでの間、或いは、種晶添加から、還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_p$ が1.5重量%以下に到達する前の間、前記混合液の温度 $T_p$ を、前記条件が満たされるように調節した場合は、大部分の還元型補酵素Q10はForm II型結晶として析出しているため、その後は前記条件を逸脱した温度条件となってもよい。

[0034] 本発明者らは驚くべきことに、前記混合液中の、水とエタノールとの総量に対して、エタノール濃度がZ (v/v) %であり、前記Zは90~100であり、前記混合液中の還元型補酵素Q10の溶存濃度Cの単位を重量%、

前記混合液の温度  $T$  の単位を  $K$  としたときに、温度  $T$  ( $K$ ) での  $F o r m I$  型結晶の溶解度 (飽和濃度)  $C_i$  (重量%)、及び、温度  $T$  ( $K$ ) での  $F o r m II$  型結晶の溶解度 (飽和濃度)  $C_{ii}$  (重量%) が、 $A_i$ 、 $B_i$ 、 $A_{ii}$ 、 $B_{ii}$  をそれぞれ定数とするとそれぞれ式 7、式 8 で表すことができることを見出した。

$$(式7) \quad \log C_i = A_i \cdot T + B_i$$

$$(式8) \quad \log C_{ii} = A_{ii} \cdot T + B_{ii}$$

[0035] そして各定数  $A_i$ 、 $B_i$ 、 $A_{ii}$ 、 $B_{ii}$  は、エタノール濃度  $Z$  を変数として、下記の式 3、式 4、式 5、式 6 によりそれぞれ表すことができることを見出した。

$$(式3) \quad A_i = 0.0089 \cdot Z - 0.6754$$

$$(式4) \quad B_i = -2.3607 \cdot Z + 172.70$$

$$(式5) \quad A_{ii} = 0.0086 \cdot Z - 0.6844$$

$$(式6) \quad B_{ii} = -2.3178 \cdot Z + 178.26$$

[0036] このため種晶添加工程において、還元型補酵素  $Q10$  の溶存濃度  $C_i$  及び前記混合液の温度  $T_i$  が下記の式 1 を満たす場合に、還元型補酵素  $Q10$  の溶存濃度  $C_i$  が、 $F o r m II$  型結晶の飽和濃度以上であり且つ  $F o r m I$  型結晶の飽和濃度未満となる。ここで、 $C_i$  の単位を重量%、 $T_i$  の単位を  $K$  とする。なお、式 1 は、 $C_i$  が 1.5 重量%以上である場合に成立することを見出した。

$$(式1) \quad A_{ii} \cdot T_i + B_{ii} \leq \log C_i < A_i \cdot T_i + B_i$$

[0037] 同様に、結晶析出工程において、還元型補酵素  $Q10$  の溶存濃度  $C_p$  及び前記混合液の温度  $T_p$  が下記の式 2 を満たす場合に、還元型補酵素  $Q10$  の溶存濃度  $C_p$  が、 $F o r m II$  型結晶の飽和濃度以上であり且つ  $F o r m I$  型結晶の飽和濃度未満となる。ここで、 $C_p$  の単位を重量%、 $T_p$  の単位を  $K$  とする。式 2 は、 $C_p$  が 1.5 重量%以上である場合に成立することを見出した。本発明の好ましい態様としては、式 1 ~ 式 6 の全てを満足する態様が挙げられる。

$$(式2) \quad A_{11} \cdot T_p + B_{11} \leq \log C_p < A_1 \cdot T_p + B_1$$

[0038] 上記方法によって得られた F o r m I I 型の還元型補酵素 Q 1 0 結晶又は結晶性固体は、例えば、特許文献 2 や 3 に記載されたような従来公知の方法により、固液分離・乾燥の工程を経て回収される。例えば固液分離には加圧ろ過、遠心ろ過などが使用できる。また、乾燥後の結晶や結晶性固体を必要に応じて粉碎、分級（ふるい分け）して回収することもできる。

[0039] 本発明においては、より好ましい態様の一つとして、上記固液分離後の F o r m I I 型の還元型補酵素 Q 1 0 結晶又は結晶性固体の乾燥を、加温下に行うことで F o r m I I 型の還元型補酵素 Q 1 0 結晶の含有割合の向上を図ることもできる。この目的において、乾燥温度としては、4 6 °C 以上が好ましく、4 7 °C 以上がより好ましく、4 9 °C 以上がさらに好ましい。上限としては通常 5 2 °C 以下、好ましくは 5 1 °C 以下である。4 6 °C 未満の場合、乾燥は進むが、F o r m I I 型の還元型補酵素 Q 1 0 結晶の含有割合はほとんど向上しない。また、5 2 °C を超える場合は、乾燥中に還元型補酵素 Q 1 0 結晶が融解してしまうことがある。また上記温度条件で乾燥を行う場合の加温時間も特に限定されないが、4 時間以上が好ましく、1 0 時間以上が好ましく、2 0 時間以上がより好ましい。

[0040] なお、結晶析出工程において既に目的とする F o r m I I 型の還元型補酵素 Q 1 0 結晶の含有割合に達成している場合は上記の限りではなく、例えば 2 5 °C 以上、好ましくは 3 0 °C 以上、より好ましくは 3 5 °C 以上で乾燥を実施すれば良い。

[0041] なお、本発明の方法における各工程、具体的には、上記で説明した種晶添加工程、結晶析出工程、固液分離や乾燥などの回収工程、その他その後の処理工程などは、脱酸素雰囲気下にて実施するのが好ましい。脱酸素雰囲気は、雰囲気の不活性ガスによる置換、減圧、沸騰やこれらを組み合わせることにより達成できる。少なくとも、雰囲気の不活性ガスによる置換、即ち、不活性ガス雰囲気をを用いるのが好適である。上記不活性ガスとしては、例えば、窒素ガス、ヘリウムガス、アルゴンガス、水素ガス、炭酸ガス等を挙げる

ことができ、好ましくは窒素ガスである。

[0042] 得られた還元型補酵素Q10の結晶あるいは結晶性固体中に、Form I型の還元型補酵素Q10結晶が含有されているかどうかやその含有割合は、例えば示差走査型熱量計（DSC）で測定することにより判別が可能である。

[0043] 前述したとおり、Form I型の還元型補酵素Q10結晶は、DSCにより昇温速度1℃/分において測定を行った場合、52±2℃付近に吸熱ピークを示し、Form I型の還元型補酵素Q10結晶は、同条件において、48±1℃付近に吸熱ピークを示す。Form I型の還元型補酵素Q10結晶が、従来のForm I型の還元型補酵素Q10結晶あるいはその結晶性固体と混合された状態であっても、前記52±2℃付近のピークの有無やその吸熱ピークの高さや吸熱量の比によりForm I型の還元型補酵素Q10結晶の存在の有無やその含有割合を判別することができる。本発明の方法によれば、高純度のForm I型の還元型補酵素Q10結晶あるいは結晶性固体を効率的に得ることができる。

## 実施例

[0044] 以下に実施例に基づいて本発明をさらに詳しく説明するが、本発明はこれら実施例のみに限定されるものではない。

[0045] <Form I型の還元型補酵素Q10結晶の比率>

回収した還元型補酵素Q10結晶中のForm I型結晶の比率は、結晶を下記条件によるDSC測定により分析し、得られたForm I型の還元型補酵素Q10結晶の吸熱ピークの高さ（Y差）（以下、I-Y差）およびForm I型の還元型補酵素Q10結晶の吸熱ピークの高さ（Y差）（以下、II-Y差）より、下記の式に基づき、Form I型の還元型補酵素Q10結晶の比率（Form I比率）を算出した。

（DSC測定条件）

装置：SIIナノテクノロジー製 DSC6220

サンプル容器：アルミ製パン&カバー（SSC000C008）

昇温速度：1℃/分

サンプル量：5 ± 2 mg

[0046] [数1]

$$\text{FormII 比率 (\%)} = \frac{(\text{II} - \text{Y 差})}{(\text{I} - \text{Y 差}) + (\text{II} - \text{Y 差})} \times 100$$

[0047] <液相中の還元型補酵素Q10の溶存濃度の測定>

液相中の還元型補酵素Q10の溶存濃度は、下記条件の高速液体クロマトグラフィーにより液相サンプルを分析することにより測定した。

(HPLC条件)

カラム：SYMMETRY C18 (Waters製) 250mm (長さ)  
4.6mm (内径)

移動相：C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH : CH<sub>3</sub>OH = 4 : 3 (v : v)

検出波長：210nm

流速：1ml/min

還元型補酵素Q10の保持時間：9.1min。

[0048] <実験1>

全容積あたりのエタノール濃度が、99.5 (v/v) %、95 (v/v) %、90 (v/v) %の含水エタノール中、298.15K (25℃)、303.15K (30℃)、308.15K (35℃)、313.15K (40℃) の各温度での、Form I型の還元型補酵素Q10結晶 (Form I型結晶)、及び、Form II型の還元型補酵素Q10結晶 (Form II型結晶) の溶解度 (飽和濃度) (重量%) を求めた。

[0049] 溶解度の測定は次の手順で行った。

各含水エタノール約30gにForm I型結晶又はForm II型結晶約10gを入れ、窒素雰囲気下で攪拌し、25℃、30℃、35℃、40℃の各温度で約1時間保持した。それぞれの温度でサンプリングし、素早く濾過し液相サンプルを得た。このサンプルを上記HPLC条件にて分析し、溶解度を算出した。

[0050] 測定結果を表1～3に示す。また、表1～3に示す結果を、温度（K）をx軸、還元型補酵素Q10結晶の溶解度（重量%）をy軸としてプロットしたグラフを図1に示す。

[0051] [表1]

99.5(v/v)%エタノール中の溶解度

温度 (K)	溶解度 (重量%)	
	Form I	Form II
298.15	2.01	1.22
303.15	4.53	2.32
308.15	12.6	5.51
313.15	46.3	17.9

[0052] [表2]

95(v/v)%エタノール中の溶解度

温度 (K)	溶解度 (重量%)	
	Form I	Form II
298.15	0.65	0.37
303.15	1.01	0.52
308.15	2.33	0.86
313.15	8.98	2.81

[0053]

[表3]

## 90(v/v)%エタノール中の溶解度

温度 (K)	溶解度 (重量%)	
	Form I	Form II
298.15	0.13	0.10
303.15	0.18	0.13
308.15	0.29	0.23
313.15	0.88	0.41

[0054] 表1～3及び図1に示すように、いずれの濃度の含水エタノール中でも、Form I型結晶の溶解度はForm II型結晶の溶解度よりも高いこと、並びに、エタノール濃度が高いほど各形態の結晶の溶解度が高いことが確認された。

[0055] そこで、表1、表2、表3に示す、各濃度の含水エタノール中でのForm I型結晶及びForm II型結晶の溶解度を、温度(K)をx軸、還元型補酵素Q10結晶の溶解度(重量%)の自然対数をy軸としてプロットしたグラフをそれぞれ図2、図3、図4に示す。各グラフ中に回帰直線の式と相関係数を示す。相関係数は十分に大きいことから、片対数グラフ上での直線回帰の妥当性が確認された。各濃度の含水エタノール中、温度T(K)でのForm I型結晶の溶解度(飽和濃度) $C_I$ (重量%)、及び、温度T(K)でのForm II型結晶の溶解度(飽和濃度) $C_{II}$ (重量%)は、 $A_I$ 、 $B_I$ 、 $A_{II}$ 、 $B_{II}$ をそれぞれ定数とするとそれぞれ式7、式8で表すことができる。

$$(式7) \quad \log C_I = A_I \cdot T + B_I$$

$$(式8) \quad \log C_{II} = A_{II} \cdot T + B_{II}$$

[0056] 各エタノール濃度での $A_I$ 、 $B_I$ 、 $A_{II}$ 、 $B_{II}$ の値は以下の通り。

[0057]

[表4]

エタノール濃度 (v/v)%	$A_I$	$B_I$	$A_{II}$	$B_{II}$
99.5	0.2087	-61.639	0.1785	-53.137
95	0.1743	-52.609	0.1317	-40.448
90	0.1243	-39.267	0.0961	-31.040

[0058]  $A_I$ 、 $B_I$ 、 $A_{II}$ 、 $B_{II}$ の、エタノール濃度との相関関係を確認するため、エタノール濃度をx軸、各定数の値をy軸としてプロットしたグラフを図5、図6、図7、図8に示す。また回帰直線及び相関係数を各図中に示す。

[0059]  $A_I$ 及び $A_{II}$ は含水エタノールの濃度の変化と正比例し、 $B_I$ 及び $B_{II}$ は含水エタノールの濃度の変化と反比例することが確認された。この結果から、定数 $A_I$ 、 $B_I$ 、 $A_{II}$ 、 $B_{II}$ の値は、エタノール濃度 $Z$ （(v/v)%）とそれぞれ式3、式4、式5、式6で表す関係を有することが確認された。

[0060] <実験2>

容積500mLのセパラブルフラスコ（硼珪酸ガラス製）の内部を窒素置換した後、還元型補酵素Q10を40.0gと99.5%エタノール360gを入れ（還元型補酵素Q10濃度：10wt%）、攪拌翼により攪拌（攪拌所要動力0.1kw/m<sup>3</sup>）しながら42℃まで加温して均一な溶液とした。この溶液を35℃まで冷却した後、Form II型の還元型補酵素Q10結晶を含む還元型補酵素Q10結晶を種晶として0.4g（1wt%）添加した。

[0061] 種晶添加後の混合液を35℃で15時間保持し結晶を析出させた。その後、混合液を、-2℃/時間の一定の冷却速度で5時間かけて25℃まで冷却し、続いて、-10℃/時間の一定の冷却速度で1.5時間かけて10℃まで冷却して、結晶を更に析出させた。10℃に到達後に混合液をろ過して固液分離し、得られた結晶を35℃で10時間減圧乾燥することでForm I型の還元型補酵素Q10結晶（Form II比率：100%、回収率97

%)を得た。

[0062] 本実験では、混合液の液相を、種晶添加直前（0時間後）、種晶添加から3時間後、6時間後、9時間後、12時間後、15時間後（ここまでは35℃）、17.5時間後（30℃）、20時間後（25℃）、20.5時間後（20℃）、21.5時間後（10℃）にサンプル採取し、液相サンプル中に溶解する還元型補酵素Q10の溶存濃度C（wt%）を高速液体クロマトグラフィーにより測定した。測定結果を表5に示す。また、測定された溶存濃度Cの自然対数 $\text{Log}C$ も表5に示す。

[0063] 更に、エタノール濃度99.5（v/v）%を式3、式4、式5、式6のZに代入して定数 $A_I$ 、 $B_I$ 、 $A_{II}$ 、 $B_{II}$ の値を求めた。これらの定数を用いて上記式7及び式8に従い、表5に示す各温度（単位をケルビンに変換）での、Form I型結晶の飽和濃度 $C_I$ （重量%）の対数 $\text{Log}C_I$ 、Form II型結晶の飽和濃度 $C_{II}$ （重量%）の対数 $\text{Log}C_{II}$ を求めた。

[0064] [表5]

晶析時間 (h)	温度 (°C)	還元型補酵素 Q10 溶存濃度 C (重量%)	LogC	LogC <sub>I</sub>	LogC <sub>II</sub>
0	35	10.0	2.303	2.568	0.425
3	35	9.9	2.293	2.568	0.425
6	35	9.6	2.262	2.568	0.425
9	35	9.2	2.219	2.568	0.425
12	35	8.5	2.140	2.568	0.425
15	35	7.2	1.974	2.568	0.425
17.5	30	3.1	1.131	1.517	-0.432
20	25	1.5	0.405	0.467	-1.288
20.5	20	0.8	-0.223	-0.584	-2.145
21.5	10	0.3	-1.204	-2.686	-3.858

[0065] 35℃での種結晶添加時及び温度を35℃に保持したのち25℃まで冷却した晶析時間20時間までは、液相中の還元型補酵素Q10の溶存濃度Cは、Form II型結晶の飽和濃度 $C_{II}$ 以上であり且つForm I型結晶の飽和濃度 $C_I$ 未満であった。晶析時間20.5時間（20℃）及び21.5時間

(10℃)では、溶存濃度CはForm I型結晶の飽和濃度C<sub>1</sub>を上回ったが、晶析時間20時間の時点で液相中の還元型補酵素Q10の溶存濃度Cは1.5重量%まで低減していた。種結晶添加時に溶存していた大部分の還元型補酵素Q10の結晶析出が、液相中の溶存濃度Cが、Form II型結晶の飽和濃度C<sub>11</sub>以上且つForm I型結晶の飽和濃度C<sub>1</sub>未満となる条件で行われたため、Form II比率100%の結晶を得ることができた。

[0066] 本明細書で引用した全ての刊行物、特許及び特許出願はそのまま引用により本明細書に組み入れられるものとする。

## 請求の範囲

[請求項1] エタノールと還元型補酵素Q10とを含有する混合液に、Form II型の還元型補酵素Q10結晶を種晶として添加すること、及び、前記種晶の添加後の前記混合液中でForm II型の還元型補酵素Q10結晶を析出させることを含み、

前記種晶の添加前の前記混合液中の還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_i$ が、前記種晶を添加する時点での前記混合液の温度 $T_i$ において、Form II型結晶の飽和濃度以上であり且つForm I型結晶の飽和濃度未満であり、

前記結晶を析出させる工程において、前記混合液の温度 $T_p$ を、前記混合液中の還元型補酵素Q10の溶存濃度 $C_p$ が、Form II型結晶の飽和濃度以上であり且つForm I型結晶の飽和濃度未満となるように、調節することを含み、

ことを特徴とする、Form II型の還元型補酵素Q10結晶の製造方法。

[請求項2] エタノールが水を含んでいてもよく、水とエタノールとの総量に対して、エタノール濃度が $Z$  (v/v) %であり、前記 $Z$ は90~100であり、

前記 $C_i$ 及び前記 $C_p$ の単位を重量%、前記 $T_i$ 及び前記 $T_p$ の単位を $K$ としたとき、

前記 $C_i$ 及び前記 $C_p$ が1.5重量%以上である場合において、

下記の条件

$$(式1) \quad A_{11} \cdot T_i + B_{11} \leq \log C_i < A_1 \cdot T_i + B_1$$

$$(式2) \quad A_{11} \cdot T_p + B_{11} \leq \log C_p < A_1 \cdot T_p + B_1$$

$$(式3) \quad A_1 = 0.0089 \cdot Z - 0.6754$$

$$(式4) \quad B_1 = -2.3607 \cdot Z + 172.70$$

$$(式5) \quad A_{11} = 0.0086 \cdot Z - 0.6844$$

$$(式6) \quad B_{11} = -2.3178 \cdot Z + 178.26$$

を全て満足する、請求項1に記載の製造方法。

[請求項3] 前記 $T_i$ が $20^{\circ}\text{C}$ 以上 $43^{\circ}\text{C}$ 以下である、請求項1又は2に記載の製造方法。

[請求項4] 前記 $T_i$ が $20^{\circ}\text{C}$ 以上 $32^{\circ}\text{C}$ 未満である、請求項1又は2に記載の製造方法。

[請求項5] 前記 $T_p$ が $5^{\circ}\text{C}$ 以上 $43^{\circ}\text{C}$ 以下である、請求項1～4のいずれか1項に記載の製造方法。

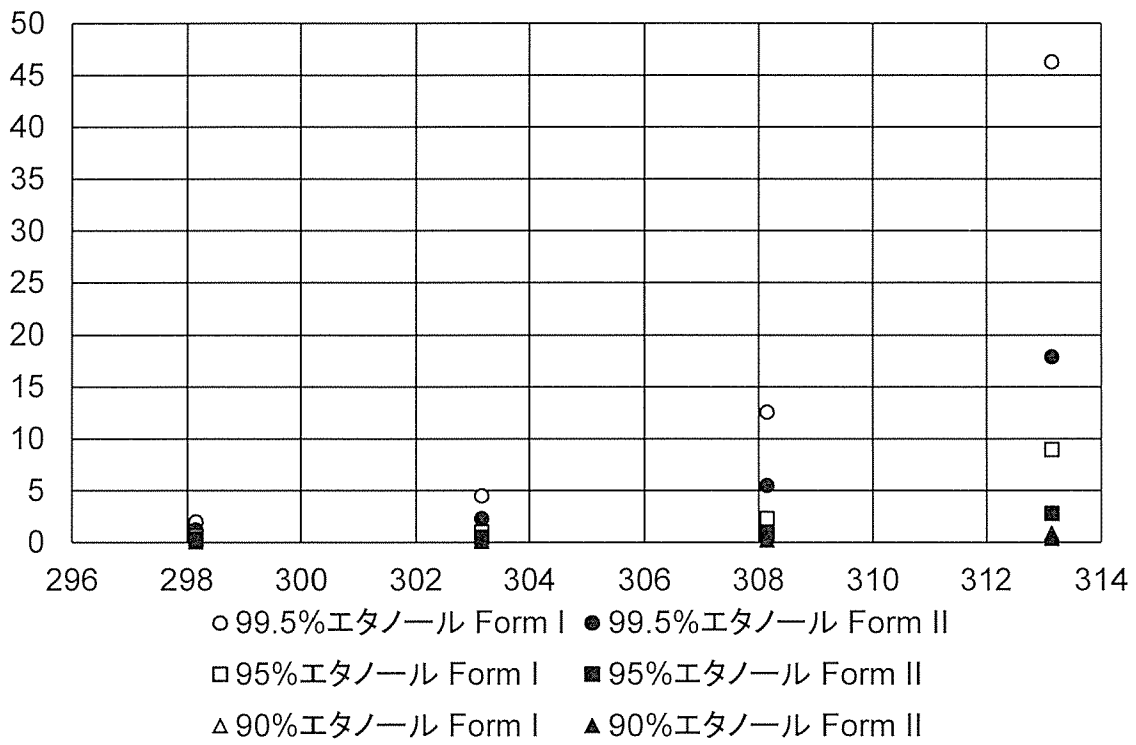
[請求項6] 前記結晶を析出させることが、前記 $T_p$ を一定の温度に保持することを含む、請求項1～5のいずれか1項に記載の製造方法。

[請求項7] 前記結晶を析出させることが、前記 $T_p$ を経時的に低下させることを含む、請求項1～6のいずれか1項に記載の製造方法。

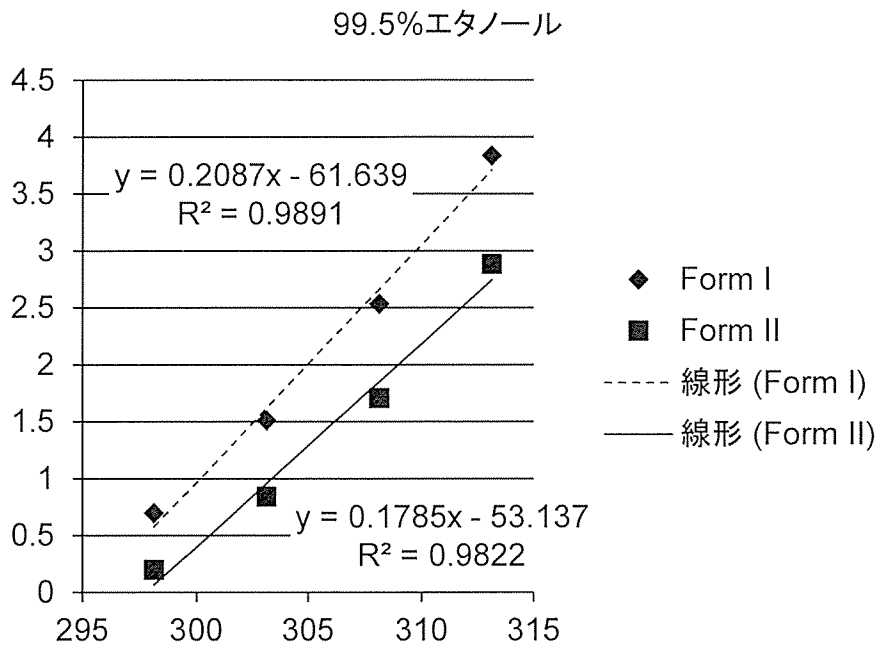
[請求項8] 前記結晶を析出させることが、  
前記 $T_p$ を $20^{\circ}\text{C}$ 以上 $43^{\circ}\text{C}$ 以下の範囲の一定の温度に保持すること、及び

続いて、前記混合液の温度を $25^{\circ}\text{C}$ 以下であり且つ前記一定の温度未満の温度に、 $-15^{\circ}\text{C}/\text{時間}$ 以下の速度で低下させること  
を含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の製造方法。

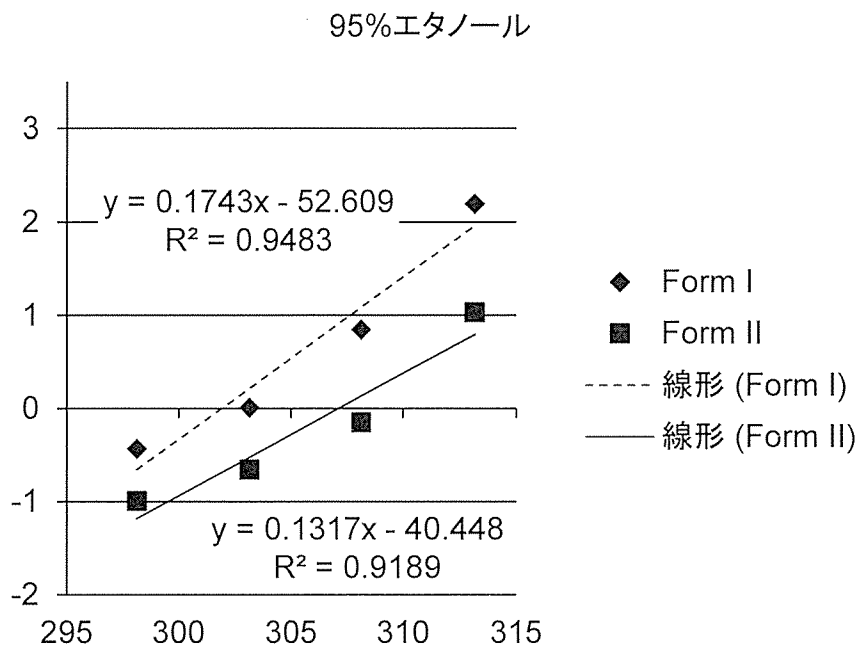
[図1]



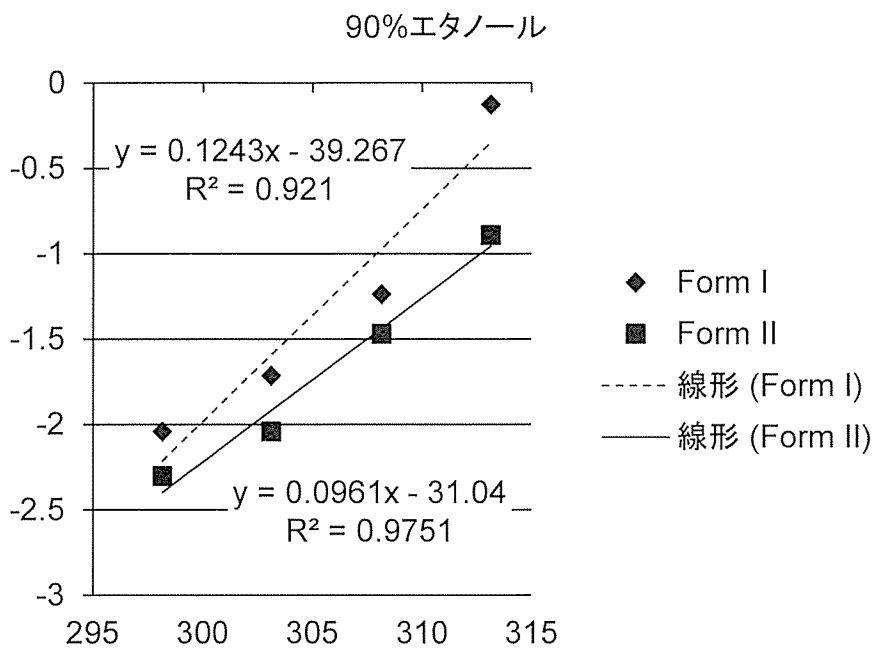
[図2]



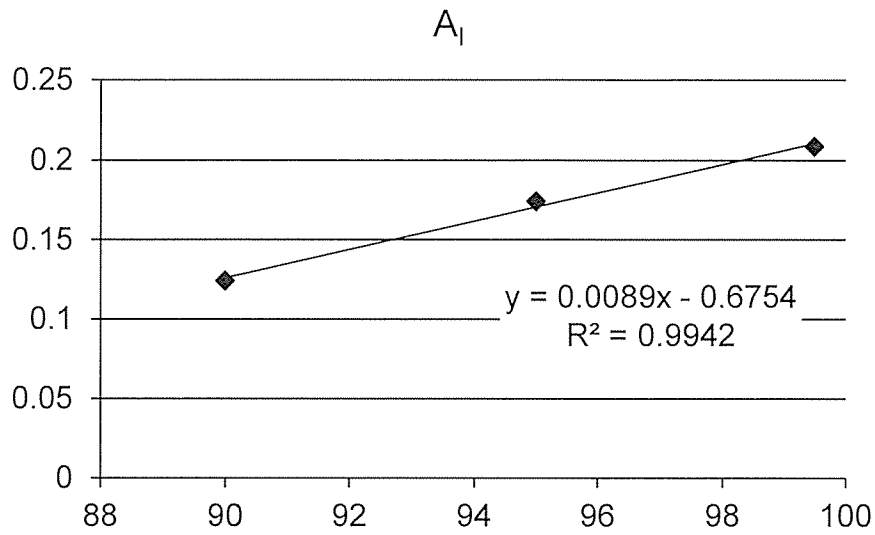
[図3]



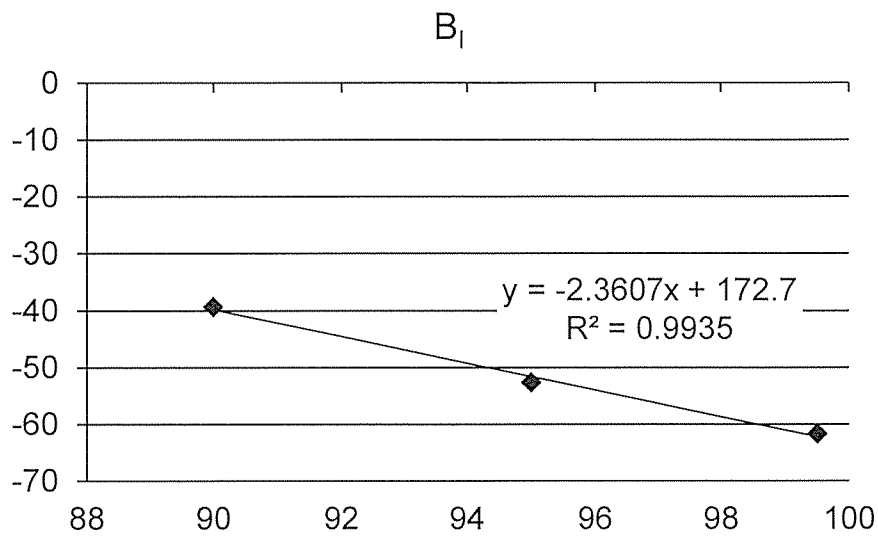
[図4]



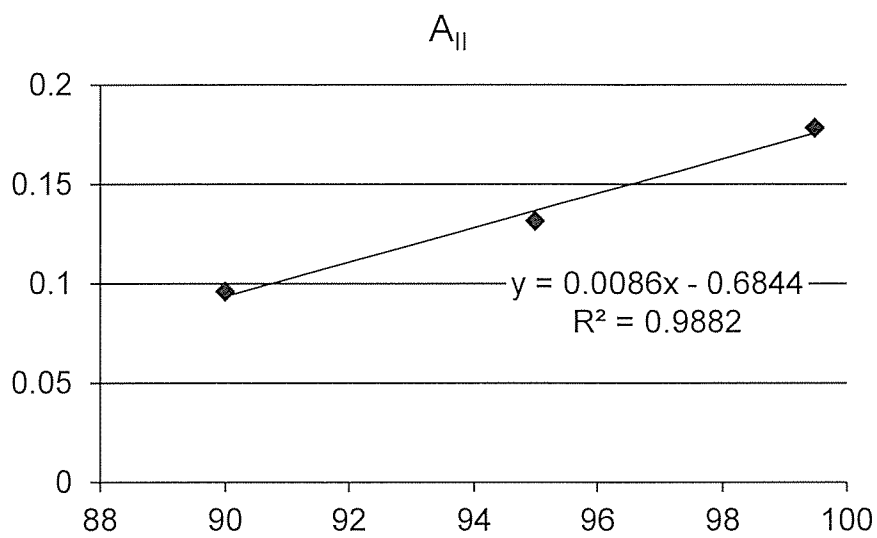
[図5]



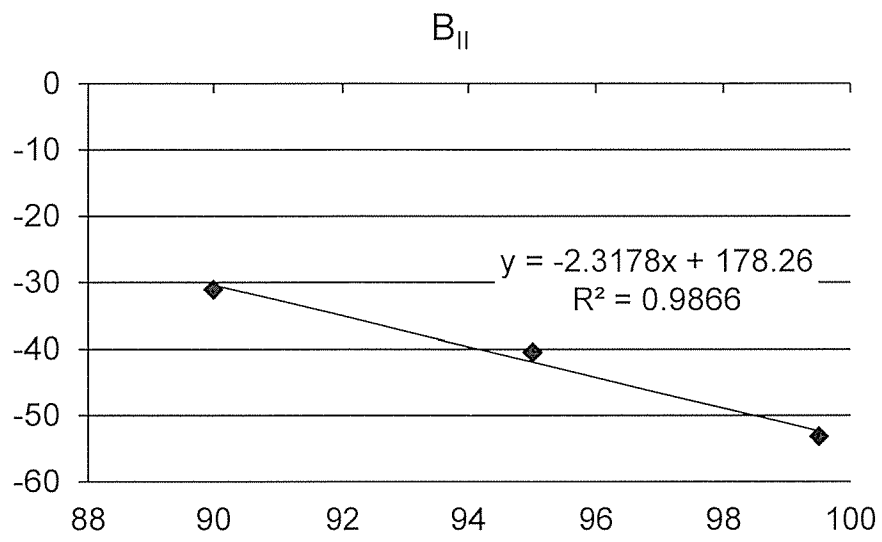
[図6]



[図7]



[図8]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/003220

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> Int.Cl. C07C41/40 (2006.01) i, C07C43/23 (2006.01) i FI: C07C41/40, C07C43/23 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl. C07C41/40, C07C43/23 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 1971-2021 Registered utility model specifications of Japan 1996-2021 Published registered utility model applications of Japan 1994-2021 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAPLUS/REGISTRY (STN)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2012/176842 A1 (KANEKA CORPORATION) 27 December 2012 (2012-12-27), claims, examples 1, 3	1-8
Y	平山令明編著, 有機化合物結晶作製ハンドブック-原理とノウハウ-, 丸善株式会社, 25 July 2008, pp. 17-23, 37-40, 45-51, 57-65, pp. 37-40, 3.1 溶液からの結晶化, pp. 57-65, 医薬品結晶化法, 4.2 結晶多形, (edited by HIRAYAMA, Noriaki, MARUZEN CO., LTD.), non-official translation (The handbook for production of organic compound crystals: Principle and know-how, 3.1 Crystallization from solution, Pharmaceutical crystallization method, 4.2 Crystal polypoid)	1-8
Y	米持悦生, 医薬品結晶多形と溶解性の話, 薬剤学, 2004, vol. 64, no. 1, pp. 50-52, p. 50, left column, p. 51, left column, 1. 3 from the bottom to p. 52, left column, 1. 4 from the bottom, (YONEMOCHI, Etsuo, Journal of Pharmaceutical Science and Technology, Japan), non-official translation (The topics of pharmaceutical crystal poly form and solubility)	1-8
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/> 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 17 February 2021	Date of mailing of the international search report 02 March 2021	
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer  Telephone No.	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/003220

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	公益社団法人 日本化学会, 化学便覧 応用化学編, 第7版, 30 January 2014, pp. 269, 270, p. 269, 270, 4.4.3 晶 析, (THE CHEMICAL SOCIETY OF JAPAN, Handbook of Chemistry: Applied Chemistry, 7th edition), non- official translation (4.4.3 Crystallization)	1-8
A		1-8
P, X	WO 2009/057611 A1 (KANEKA CORPORATION) 07 May 2009 (2009-05-07), entire text, all drawings	1-3, 5-8
	WO 2020/045571 A1 (KANEKA CORPORATION) 05 March 2020 (2020-03-05), entire text, all drawings	

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/JP2021/003220

WO 2012/176842 A1	27 December 2012	US 2014/0120073 A1	claims, examples 1, 3
		EP 2725004 A1	
		CN 103635452 A	
		KR 10-2014-0061350 A	
WO 2009/057611 A1	07 May 2009	(Family: none)	
WO 2020/045571 A1	05 March 2020	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C07C 41/40(2006.01)i; C07C 43/23(2006.01)i FI: C07C41/40; C07C43/23 Z		
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）） C07C41/40; C07C43/23 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2021年 日本国実用新案登録公報 1996-2021年 日本国登録実用新案公報 1994-2021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） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CPlus/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
Y	WO 2012/176842 A1 (株式会社カネカ) 27.12.2012 (2012-12-27) 特許請求の範囲、実施例1、実施例3	1-8
Y	平山令明編著, 有機化合物結晶作製ハンドブック-原理とノウハウ-, 丸善株式会社, 2008.07.25, pp.17-23, 37-40, 45-51, 57-65 第37頁~第40頁 3. 1 溶液からの結晶化、第57頁~第65頁 医薬品結晶化法、 4. 2 結晶多形	1-8
Y	米持悦生, 医薬品結晶多形と溶解性の話, 薬剤学, 2004, Vol.64, No.1, pp.50-52 第50頁左欄、第51頁左欄下から第3行目~第52頁左欄下から第4行目	1-8
Y	公益社団法人 日本化学会, 化学便覧 応用化学編, 第7版, 2014.01.30, pp.269-270 第269頁~第270頁 4.4.3 晶析	1-8
A	WO 2009/057611 A1 (株式会社カネカ) 07.05.2009 (2009-05-07) 全文, 全図	1-8
P, X	WO 2020/045571 A1 (株式会社カネカ) 05.03.2020 (2020-03-05) 全文, 全図	1-3, 5-8
<input 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。		
* 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	国際調査報告の発送日	
17.02.2021	02.03.2021	
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）  高森 ひとみ 4H 1778  電話番号 03-3581-1101 内線 3443	

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/JP2021/003220

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO	2012/176842	A1	27.12.2012	US 2014/0120073 A1 特許請求の範囲、実施例 1、実施例3	
				EP 2725004 A1	
				CN 103635452 A	
				KR 10-2014-0061350 A	
WO	2009/057611	A1	07.05.2009	(ファミリーなし)	
WO	2020/045571	A1	05.03.2020	(ファミリーなし)	