

(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
2020年5月7日(07.05.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/090948 A1

(51) 国際特許分類:
C07H 1/06 (2006.01) *C07H 21/02* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2019/042706

(22) 国際出願日: 2019年10月31日(31.10.2019)

(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 2018-206292 2018年11月1日(01.11.2018) JP

(71) 出願人: ヤマサ醤油株式会社 (YAMASA CORPORATION) [JP/JP]; 〒2880056 千葉県銚子市新生町2丁目10番地の1 Chiba (JP).

(72) 発明者: ▲高 ▼松 美沙樹 (TAKAMATSU MISAKE); 〒2880056 千葉県銚子市新生町2丁目10番地の1 ヤマサ醤油株式会社内 Chiba (JP). ▲吉 ▼田 晃 (YOSHIDA KO); 〒2880056 千葉県銚子市新生町2丁目10番地の1 ヤマサ醤油株式会社内 Chiba (JP). 松永万里恵 (MATSUNAGA MARIE); 〒2880056 千葉県銚子市新生町2丁目10番地の1 ヤマサ醤油株式会社内 Chiba (JP). 石毛和也 (ISHIGE KAZUYA); 〒2880056 千葉県銚子市新生町2丁目10番地の1 ヤマサ醤油株式会社内 Chiba (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, 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, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, 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))

(54) Title: CYCLIC-DI-AMP SODIUM SALT CRYSTAL

(54) 発明の名称: C y c l i c - d i - A M P ナトリウム塩結晶

(57) Abstract: A freeze-dried product of cyclic-di-AMP requires special production facilities and, therefore, is not suitable for large-scale production. A free acid crystal of cyclic-di-AMP is unstable under severe conditions at 105°C. Under these circumstances, the present invention addresses the problem of providing a cyclic-di-AMP crystal that can be easily acquired in a large amount and has a high stability under the severe conditions at 105°C. The c-di-AMP sodium salt crystal according to the present invention is extremely stable even under the severe conditions at 105°C. Further, the c-di-AMP sodium salt crystal according to the present invention can be prepared in a large amount by a simple method which comprises adjusting an aqueous c-di-AMP solution to pH 5.2-12.0 and then adding an organic solvent thereto.

(57) 要約: C y c l i c - d i - A M P の凍結乾燥品は、製造に特別な設備を必要とすることから、大量生産に適していない。C y c l i c - d i - A M P の遊離酸結晶は、105°Cの過酷条件下において不安定である。そこで、簡便かつ大量に取得でき、かつ、105°Cの過酷条件下における安定性に優れた C y c l i c - d i - A M P 結晶を提供することを課題とする。本発明の c - d i - A M P ナトリウム塩結晶は、105°Cの過酷条件下においても極めて安定である。また、本発明の c - d i - A M P ナトリウム塩結晶は、c - d i - A M P 水溶液を pH 5.2 ~ 12.0 となるよう調整後、有機溶媒を添加するという簡便な方法によって、大量に調製可能である。

WO 2020/090948 A1

明 細 書

発明の名称 : C y c l i c - d i - A M P ナトリウム塩結晶

技術分野

[0001] 本発明はアジュバントとして有用な物質になりうると考えられる C y c l i c - d i - A M P のナトリウム塩結晶に関するものである。

背景技術

[0002] C y c l i c - d i - A M P (以下「c - d i - A M P」と表記)は細菌のセカンドメッセンジャーとして発見された物質である。近年になって本物質は1型インターフェロンを誘発しうることが報告されるなど医薬品としての利用が期待される(非特許文献1)。これまでにc - d i - A M Pの製造方法としては、化学合成法(非特許文献2、3)およびB a c i l l u s 属やS t r e p t o c o c c u s 属などに由来するジアデニレートシクラーゼを用いた酵素合成法が知られている(非特許文献4、5)。

現在一般的に販売されているc - d i - A M Pは凍結乾燥品であり、また結晶の取得については特許文献1に示す遊離酸結晶についてのみ報告がなされている(特許文献1)。一部には結晶性固体(“c r y s t a l l i n e s o l i d”)として販売されているものも存在するが、不定形で、かつ、押し潰した際には劈開せずに展延するため、市販の結晶性固体は結晶とは言えなかった(図1)。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1 : 国際公開第2015/137469号

非特許文献

[0004] 非特許文献1 : Science, 328, 1703-1705(2010)

非特許文献2 : SYNTHESIS, 24, 4230-4236(2006)

非特許文献3 : Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, 32, 1-16(2013)

非特許文献4 : Molecular Cell, 30, 167-178(2008)

非特許文献5 : Nagoya J. Med. Sci., 73, 49-57(2011)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] c - d i - A M P は凍結乾燥品が一般的に知られているが、凍結乾燥品はその製造過程において凍結乾燥機が必要となり、大量生産のためにスケールアップをするにも自ずと限界がある。そこで凍結乾燥機のような特別な装置を使用することなく、かつ簡便に大量に取得できる結晶取得法の開発が望まれていた。

[0006] また、本発明者らの検討において、既存の c - d i - A M P 遊離酸結晶は過酷条件下、たとえば 1 0 5 ° C 条件下において、安定性が低下するという欠点が見出された。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明者らは、c - d i - A M P の結晶化に関して鋭意研究を重ねた結果、c - d i - A M P のナトリウム塩結晶を初めて取得し、本発明を完成させた。

発明の効果

[0008] 本発明者らの検討で、(1) c - d i - A M P 水溶液に塩基及び／又は酸を添加し、pH を 5 . 2 ~ 1 2 . 0 に調整する工程、(2) c - d i - A M P 水溶液を測定波長 2 5 7 n m における吸光度 OD_{257} を 5 0 0 ~ 2 0 0 0 0 とする工程、(3) c - d i - A M P 水溶液を 3 0 ~ 7 0 ° C まで加熱する工程、(4) c - d i - A M P 水溶液に有機溶媒を添加する工程、(5) c - d i - A M P 水溶液を 1 ~ 3 0 ° C になるまで冷却する工程を経ることで、本発明の c - d i - A M P ナトリウム塩結晶を取得でき、得られた c - d i - A M P ナトリウム塩結晶は、1 0 5 ° C の過酷条件下においても極めて安定であることが明らかとなった。さらに、本発明の c - d i - A M P ナトリウム塩結晶は、既存の c - d i - A M P 遊離酸結晶と比較して、高い溶解性を示した。

[0009] 特に、結晶化のためには（１）工程のpHが重要で、pH5.2未満の酸性条件では、結晶化自体が困難であり、仮に結晶を取得できた場合でも収率が低くなることから、好ましいものではない。それに対し、pHが5.2以上の条件では、ナトリウム塩結晶のみを容易に取得することが可能である。したがって、本発明のc-di-AMPナトリウム塩結晶の製造法は、c-di-AMP塩結晶の大量製造に好適な方法である。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]図1は、市販c-di-AMP結晶性固体を展延した際の外観写真を示す。

[図2]図2は、実施例1で得られたc-di-AMPナトリウム塩結晶 α の結晶写真を示す。

[図3]図3は、実施例1で得られたc-di-AMPナトリウム塩結晶 α のX線回折スペクトルを示す。

[図4]図4は、実施例1で得られたc-di-AMPナトリウム塩結晶 α の赤外線吸収スペクトルを示す。

[図5]図5は、実施例1で得られたc-di-AMPナトリウム塩結晶 α の熱重量測定／示差熱分析結果を示す。

[図6]図6は、実施例2で得られたc-di-AMPナトリウム塩結晶 α の結晶写真を示す。

[図7]図7は、実施例2で得られたc-di-AMPナトリウム塩結晶 α のX線回折スペクトルを示す。

[図8]図8は、実施例2で得られたc-di-AMPナトリウム塩結晶 α の赤外線吸収スペクトルを示す。

[図9]図9は、実施例2で得られたc-di-AMPナトリウム塩結晶 α の熱重量測定／示差熱分析結果を示す。

[図10]図10は、実施例4で得られたc-di-AMPナトリウム塩結晶 β の結晶写真を示す。

[図11]図11は、実施例4で得られたc-di-AMPナトリウム塩結晶 β

のX線回折スペクトルを示す。

[図12]図12は、実施例4で得られたc-di-AMPナトリウム塩結晶βの赤外線吸収スペクトルを示す。

[図13]図13は、実施例4で得られたc-di-AMPナトリウム塩結晶βの熱重量測定／示差熱分析結果を示す。

[図14]図14は、c-di-AMP遊離酸結晶の結晶写真を示す。

[図15]図15は、c-di-AMP遊離酸結晶のX線回折スペクトルを示す。

[図16]図16は、c-di-AMP遊離酸結晶の赤外線吸収スペクトルを示す。

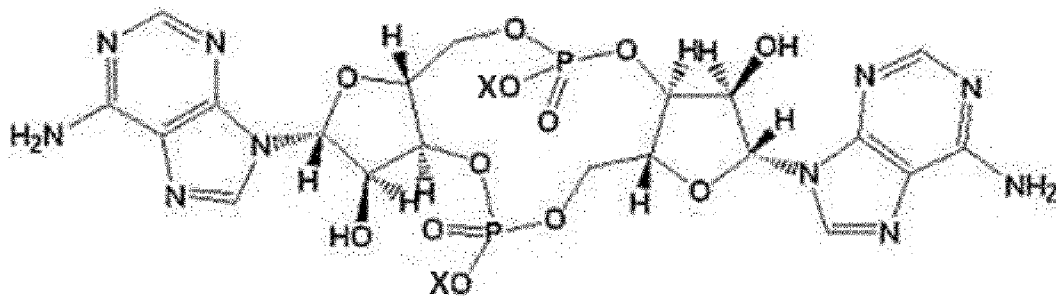
[図17]図17は、c-di-AMP遊離酸結晶の熱重量測定／示差熱分析結果を示す。

[図18]図18は、参考例で得られたc-di-AMP遊離酸結晶、実施例1及び実施例2で得られたナトリウム塩結晶α、及び実施例4で得られたナトリウム塩結晶βの過酷条件（105℃）下での安定性試験結果を示す。

発明を実施するための形態

[0011] 本発明は、下記の構造式で示されるc-di-AMPのナトリウム塩結晶を提供するものである。下記構造式中のXは、水素原子（H）又はナトリウム原子（Na）のいずれかであり、式中にある2つのXのうち少なくとも一方はナトリウム原子である。

[0012] [化1]



[0013] 本発明のc-di-AMPのナトリウム塩結晶は、調製時のc-di-AMP水溶液のpHに応じて、2つの形態を取り得る。以下においては、調製

時のpHが6.0～12.0の範囲であるc-di-AMP結晶を結晶 α 、調製時のpHが5.2～6.0の範囲であるものを結晶 β と定義する。

[0014] 本発明のc-di-AMPナトリウム塩結晶 α は、原子吸光光度法で分析すると、ナトリウム含量が6.2～6.8%の範囲内となる。このことから、結晶 α において、c-di-AMP 1分子に対するナトリウム原子の存在量比は2であることが分かる。

[0015] 本発明のc-di-AMPナトリウム塩結晶 α は、柱状結晶として得られる（図2および図6参照）。

[0016] また、本発明のナトリウム塩結晶 α をCu-K α 線を用いた粉末X線回折装置で分析すると、後述実施例に示すように、回折角（ 2θ ）が、10.9、23.9（°）付近に特徴的なピークを示す（図3および図7参照）。

[0017] なお一般に、粉末X線回折における回折角（ 2θ ）は、5%未満の誤差範囲を含む場合があることから、粉末X線回折におけるピークの回折角が完全に一致する結晶のほか、ピークの回折角が5%未満の誤差で一致する結晶も、本発明のナトリウム塩結晶 α に包含される。例えば、粉末X線回折において、回折角（ 2θ ）は、 10.9 ± 0.5 、 23.9 ± 1.2 （°）に特徴的なピークを有する。

[0018] 本発明のナトリウム塩結晶 α は、赤外線吸収スペクトルを測定したとき、3118、1604、1221、1074（ cm^{-1} ）付近に特徴的なピークを有する（図4および図8参照）。

[0019] なお、赤外線吸収スペクトル測定では、一般に2（ cm^{-1} ）未満の誤差範囲を含む場合があることから、上記数値と赤外線吸収スペクトルにおけるピークの位置が完全に一致する結晶のほか、ピークが2 cm^{-1} 未満の誤差で一致する結晶も、本発明のナトリウム塩結晶 α に包含される。例えば、赤外線吸収スペクトルを測定したとき、 3118 ± 1.9 、 1604 ± 1.9 、 1221 ± 1.9 、 1074 ± 1.9 （ cm^{-1} ）に特徴的なピークを有する。

[0020] 本発明のナトリウム塩結晶 α は、熱重量測定／示差熱分析（TG／DTA）装置（昇温速度5℃／分）で分析したとき、255℃付近に吸熱ピークを

有する（図5および図9参照）。

[0021] 本発明のc-d i-AMPナトリウム塩結晶 β は、原子吸光光度法で分析すると、ナトリウム含量が4.7～5.2%の範囲内となる。このことから、結晶 β において、c-d i-AMP 1分子に対するナトリウム原子の存在量比は1.5であることが分かる。

[0022] 本発明のc-d i-AMPナトリウム塩結晶 β は、立方体状結晶として得られる（図10参照）。

[0023] また、本発明のナトリウム塩結晶 β をCu-K α 線を用いた粉末X線回折装置で分析すると、後述実施例に示すように、回折角（ 2θ ）が、9.3、23.6、24.3（°）付近に特徴的なピークを示す（図11参照）。

[0024] なお一般に、粉末X線回折における回折角（ 2θ ）は、5%未満の誤差範囲を含む場合があることから、粉末X線回折におけるピークの回折角が完全に一致する結晶のほか、ピークの回折角が5%未満の誤差で一致する結晶も、本発明のナトリウム塩結晶 β に包含される。例えば、粉末X線回折において、回折角（ 2θ ）は、 9.3 ± 0.5 、 23.6 ± 1.2 、 24.3 ± 1.2 （°）に特徴的なピークを有する。

[0025] 本発明のナトリウム塩結晶 β は、赤外線吸収スペクトルを測定したとき、3119、1606、1222、1074（ cm^{-1} ）付近に特徴的なピークを有する（図12参照）。

[0026] なお、赤外線吸収スペクトル測定では、一般に2（ cm^{-1} ）未満の誤差範囲を含む場合があることから、上記数値と赤外線吸収スペクトルにおけるピークの位置が完全に一致する結晶のほか、ピークが2 cm^{-1} 未満の誤差で一致する結晶も、本発明のナトリウム塩結晶 β に包含される。例えば、赤外線吸収スペクトルを測定したとき、 3119 ± 1.9 、 1606 ± 1.9 、 1222 ± 1.9 、 1074 ± 1.9 （ cm^{-1} ）に特徴的なピークを有する。

[0027] 本発明のナトリウム塩結晶 β は、熱重量測定／示差熱分析（TG／DTA）装置（昇温速度5℃／分）で分析したとき、239℃付近に吸熱ピークを有する（図13参照）。

[0028] 本発明のc-d i-AMPナトリウム塩結晶は、高速液体クロマトグラフィー法にて純度検定したとき、97%以上、より好ましくは99%以上の純度を有する。さらに、本発明のc-d i-AMPナトリウム塩結晶は、既存のc-d i-AMP遊離酸結晶と比較して、高い溶解性を示す。

[0029] 次に、本発明のc-d i-AMPのナトリウム塩結晶の調製法について説明すれば、結晶化に用いるc-d i-AMPは、酵素合成法や化学合成法など公知の方法によって合成すればよい。合成を行うに当たっては既知の方法に従えばよく、たとえば非特許文献2～5に記載の方法を用いることができる。反応後、反応液中に生成したc-d i-AMPは、活性炭や逆相クロマトグラフィーなどにより精製することができる。

[0030] 本発明のナトリウム塩結晶は、c-d i-AMP水溶液をpH5.2～12.0となるよう調整し、有機溶媒を添加することにより、得ることができる。

c-d i-AMP水溶液のpHが5.2～6.0である場合には、取得されるナトリウム塩結晶は結晶 β となり、pHが6.0～12.0である場合には、取得されるナトリウム塩結晶は結晶 α となる。

pHが5.2未満である場合には、高濃度のc-d i-AMP水溶液を調製しようとする水溶液中に沈殿が生じてしまい、純粋なc-d i-AMPナトリウム塩結晶を取得することが困難となる。沈殿の生成を回避するため、c-d i-AMP水溶液の濃度を低濃度とした場合には、c-d i-AMPナトリウム塩結晶が全く取得できず、もしくは極微量しか取得できないために、効率的な結晶の製造ができない。結果として、c-d i-AMP塩結晶を工業上利用可能な水準で大量かつ効率的に調製するためには、pHを5.2以上とすることが必須となる。

[0031] 上記結晶化においては、より高い収率で結晶を得るため、(1)c-d i-AMP水溶液に塩基及び／又は酸を添加し、pHを5.2～12.0に調整する工程、(2)c-d i-AMP水溶液を測定波長257nmにおける吸光度OD₂₅₇を500～20000とする工程、(3)c-d i-AMP水

溶液を30～70℃まで加熱する工程、(4) c-di-AMP水溶液に有機溶媒を添加する工程、(5) c-di-AMP水溶液を1～30℃になるまで冷却する工程、を行うことが好ましい。

[0032] 上記工程(1)におけるc-di-AMP水溶液のpHは、5.2～12.0の範囲内であればc-di-AMPナトリウム塩結晶を取得することができるが、高濃度の水溶液の調製が容易であるという観点から、pHは5.4以上であることが好ましく、5.6以上であることが特に好ましい。さらに、結晶を溶解させた際に水溶液のpHが中性付近となり利便性が高いことから、c-di-AMP水溶液のpHは、好ましくはpH7.0～11.0であり、より好ましくはpH7.0～10.0であり、より好ましくはpH7.0～8.5であり、この場合には有機溶媒を添加することによって結晶 α が取得される。

[0033] 上記工程(1)で使用する酸としては、塩酸、硫酸、硝酸を例示することができるが、これらに限定されない。使用する塩基としては、水酸化ナトリウム、酢酸ナトリウムなどを例示することができるが、これらに限定されない。酸又は塩基を急激に添加することによるアモルファス化や急激な結晶析出を防ぐため、添加はゆっくり行うことが好ましい。

[0034] 上記工程(2)において、c-di-AMP水溶液の測定波長257nmにおける吸光度 OD_{257} は、500以上である場合には有機溶媒の添加によって結晶を取得することができるが、結晶を析出させるために必要な有機溶媒の添加量を低減できることから、1000以上であることがより好ましく、2000以上であることがより好ましく、3000以上であることがより好ましい。一方で、c-di-AMP水溶液が高濃度となる場合には、溶液の粘度が高くなり取扱い性が低下することから、c-di-AMP水溶液の測定波長257nmにおける吸光度 OD_{257} は20000以下であることが好ましく、15000以下であることがより好ましく、10000以下であることがより好ましい。

[0035] 上記工程(3)においては、c-di-AMP水溶液の温度を30～70

℃まで加熱する。工程（５）での冷却時と温度差がある程結晶が析出しやすいため、工程（３）での水溶液の温度は４０℃以上であることがより好ましく、５０℃以上であることがより好ましい。

[0036] 本結晶取得工程に用いる、有機溶媒添加前の *c* - *d* i - AMP 水溶液には、結晶が析出しない範囲内で有機溶媒を含有することもできる。しかし、予期しない結晶析出を防止する観点から、有機溶媒の含有量は３０％（*v* / *v*）以下であることが好ましく、２０％（*v* / *v*）以下であることがより好ましく、１０％（*v* / *v*）以下であることがより好ましく、５％（*v* / *v*）以下であることがより好ましく、有機溶媒を実質的に含まないことがより好ましい。

[0037] 上記工程（４）で使用する有機溶媒としては、メタノール、エタノール等の炭素数６以下のアルコール類、アセトン等のケトン類、ジオキサン等のエーテル類、アセトニトリル等のニトリル類、ジメチルホルムアミド等のアミド類等を例示することができるが、これらに限定されない。特に、入手容易性及び安全性の観点から、炭素数６以下のアルコール類が好ましく、中でもエタノールを用いることが好ましい。

[0038] 上記工程（５）においては、*c* - *d* i - AMP 水溶液を１～３０℃になるまで冷却する。工程（３）での加熱時と温度差がある程結晶が析出しやすいため、工程（５）での水溶液の温度は２０℃以下であることがより好ましく、１０℃以下であることがより好ましい。

[0039] さらに、上記（１）～（５）の工程は順に行うことが好ましいが、適宜連続する工程を同時に行うこともできる。

[0040] 上記製法によって得られた *c* - *d* i - AMP ナトリウム塩結晶は、濾取した後に乾燥させることで、製品とすることができる。乾燥させる際には、減圧乾燥等の方法を適宜利用することができる。

実施例

[0041] 以下、実施例を示し、本発明を具体的に説明するが、本発明がこれに限定されないのは明らかである。

[0042] (実施例1) pH 8.2におけるc-di-AMPナトリウム塩結晶 α の製造

公知の方法により、酵素的にc-di-AMPを合成し、精製を行った。

精製して得られたOD₂₅₇が4710、pH 8.2のc-di-AMP溶液(102 mL)を40℃に加温した。そこに攪拌しながら、142 mLの99.5% (w/w) エタノールをゆっくり添加したのち、液温が4℃になるまで冷却し、結晶を析出させた。このようにして析出した結晶はバスケット分離機にて濾取し、湿結晶を得た。湿結晶は2時間、30℃で乾燥して、乾燥結晶9.8 gを得た。

[0043] (A) ナトリウム塩の形態分析

原子吸光光度法で分析したところ、本実施例のc-di-AMPナトリウム塩結晶におけるナトリウム含量は、6.4%であった。このことから、c-di-AMP 1分子に対するナトリウム原子の存在量は2.0となり、本実施例のc-di-AMPナトリウム塩結晶 α は、2ナトリウム塩の形態を取っていることが明らかとなった。

[0044] (B) 純度検定

上記実施例1で得られたc-di-AMPナトリウム塩結晶 α の純度を、高速液体クロマトグラフィー法で分析した結果、c-di-AMP純度は100%であった。なお、高速液体クロマトグラフィー法は以下の条件で行った。

(条件)

カラム: Hydrosphere C18 (YMC社製)

溶出液: 0.1 M TEA-P (pH 6.0) + 4.5% ACN

検出法: UV 260 nmによる検出

[0045] (C) 結晶形

本実施例におけるc-di-AMPナトリウム塩結晶 α の写真を図2に示す。図2に示すように、c-di-AMPナトリウム塩結晶 α は柱状の結晶形を示すことが明らかとなった。

[0046] (D) 粉末X線回折

本実施例のc-d i-AMPナトリウム塩結晶 α について、X線回折装置X'Pert PRO MPD (スペクトリス)を用い、下記の測定条件でX線回折スペクトルを測定した。

(測定条件)

ターゲット：Cu

X線管電流：40 mA

X線管電圧：45 kV

走査範囲： $2\theta = 4.0 \sim 40.0^\circ$

前処理：めのう製乳鉢を用いて粉砕

[0047] 図3および表1に示すように、本実施例のc-d i-AMPナトリウム塩結晶 α は、回折角(2θ)が、6.2、10.9、12.6、23.9($^\circ$)付近にピークを示し、特に10.9、23.9($^\circ$)付近に特徴的なピークを示した。

[0048] [表1]

2θ ($^\circ$)	相対強度 (%)
6.2	29.4
10.9	100
12.6	31.1
23.9	81.7

[0049] (E) 赤外線吸収スペクトル

本実施例のc-d i-AMPナトリウム塩結晶 α について、フーリエ変換赤外分光光度計Spectrum One (Perkin Elmer)を用いてATR (Attenuated Total Reflectance、減衰全反射)法によって赤外線吸収スペクトルを測定した。

[0050] 本実施例のc-d i-AMPナトリウム塩結晶 α は、3119、1604、1220、1073 (cm^{-1})付近に特徴的なピークを有していた。これらの結果を図4に示す。

[0051] (F) 示差走査熱量分析

熱重量測定／示差熱分析 (T G / D T A) 装置 (昇温速度 5 °C / 分) で分析したところ、本実施例の c - d i - A M P ナトリウム塩結晶 α は、255 °C 付近に吸熱ピークを有した (図 5)。

[0052] (実施例 2) p H 10.0 における c - d i - A M P ナトリウム塩結晶 α の製造

公知の方法により、酵素的に c - d i - A M P を合成し、精製を行った。

精製して得られた O D₂₅₇ が 6600、p H 10.0 の c - d i - A M P 溶液 (50 mL) を 40 °C に加温した。そこに攪拌しながら、45 mL のエタノールをゆっくり添加したのち、液温が 4 °C になるまで冷却し、結晶を析出させた。このようにして析出した結晶はメンブレンフィルター (3 μ m) にて濾取し、湿結晶を得た。湿結晶は 1 時間半、20 °C で乾燥して、乾燥結晶 7 g を得た。

[0053] (A) ナトリウム塩の形態分析

原子吸光光度法で分析したところ、本実施例の c - d i - A M P ナトリウム塩結晶 α におけるナトリウム含量は、6.6 % であった。このことから、c - d i - A M P 1 分子に対するナトリウム原子の存在量は 2.0 となり、本実施例の c - d i - A M P ナトリウム塩結晶 α は、2 ナトリウム塩の形態を取っていることが明らかとなった。

[0054] (B) 純度検定

上記実施例 2 で得られた c - d i - A M P ナトリウム塩結晶 α の純度を、高速液体クロマトグラフィー法で分析した結果、c - d i - A M P 純度は 100 % であった。なお、高速液体クロマトグラフィー法は以下の条件で行った。

(条件)

カラム : H y d r o s p h e r e C 18 (Y M C 社製)

溶出液 : 0.1 M T E A - P (p H 6.0) + 4.5 % A C N

検出法 : U V 260 nm による検出

[0055] (C) 結晶形

本実施例のc-d i-AMPナトリウム結晶 α の写真を図6に示す。図6に示すように、c-d i-AMPナトリウム塩結晶 α は柱状の結晶形を示すことが明らかとなった。

[0056] (D) 粉末X線回折

本実施例のc-d i-AMPナトリウム塩結晶 α について、X線回折装置X'Pert PRO MPD (スペクトリス)を用い、下記の測定条件でX線回折スペクトルを測定した。

(測定条件)

ターゲット：Cu

X線管電流：40 mA

X線管電圧：45 kV

走査範囲： $2\theta = 4.0 \sim 40.0^\circ$

前処理：めのう製乳鉢を用いて粉砕

[0057] 図7および表2に示すように、本実施例のc-d i-AMPナトリウム塩結晶 α は、回折角(2θ)が、 10.9 、 24.0 ($^\circ$)付近に特徴的なピークを示した。

[0058] [表2]

2θ ($^\circ$)	相対強度 (%)
10.9	75
24.0	100

[0059] (E) 赤外線吸収スペクトル

本実施例のc-d i-AMPナトリウム塩結晶 α について、フーリエ変換赤外分光光度計Spectrum One (Perkin Elmer)を用いてATR (Attenuated Total Reflectance、減衰全反射)法によって赤外線吸収スペクトルを測定した。

[0060] 本実施例のc-d i-AMPナトリウム塩結晶 α は、 3118 、 1604 、 1221 、 1074 (cm^{-1})付近に特徴的なピークを有していた。これら

の結果を図8に示す。

[0061] (F) 示差走査熱量分析

熱重量測定／示差熱分析 (TG／DTA) 装置 (昇温速度 5℃／分) で分析したところ、本実施例の c-d i-AMP ナトリウム塩結晶 α は、255℃付近に吸熱ピークを有した (図9)。

[0062] (実施例3) 低pH領域 (pH 5.0～6.5) における c-d i-AMP ナトリウム塩結晶の取得試験

c-d i-AMP ナトリウム塩結晶を取得できる pH 範囲を決定するために、低pH領域 (pH 5.0～6.5) における結晶の取得試験を実施した。

[0063] 公知の方法により、酵素的に c-d i-AMP を合成し、精製を行った。

精製して得られた c-d i-AMP を用いて、OD₂₅₇ が 2500、pH が 5.0, 5.2, 5.4, 5.6, 5.8, 6.0 又は 6.5 である c-d i-AMP 水溶液を調製した。得られた OD₂₅₇ が 2500 の c-d i-AMP 溶液 (0.2 mL) を 30℃ に加温した。そこに、1 mL の 99.5% (w/w) エタノールをゆっくり添加したのち、密閉して一晩から数日間 30℃ 下で静置し、結晶を析出させた。このようにして析出した結晶はメンブレンフィルターにて濾取し、湿結晶を得た。

[0064] 得られた結果を以下の表3に示す。下記表3中で、「結晶」とあるのは結晶取得可否を表しており、

○：問題なく結晶が取得できた

△：結晶を取得することはできたが、その量は他の pH と比べると少量であった

×：水溶液を調製することができず、結晶を取得できなかったことを表している。

[0065] [表3]

pH	5.0	5.2	5.4	5.6	5.8	6.0	6.5
結晶	×	△	○	○	○	○	○

[0066] 上記表3に示す通り、pH 5.0においてはc-di-AMPの溶解度が低く、そもそもOD₂₅₇が2500のc-di-AMP水溶液を調製することができなかった。希釈することで低濃度のc-di-AMP水溶液は調製できたものの、以降同様の操作を行っても結晶を取得することはできなかった。pH 5.2においては、結晶を取得することはできたが、析出した結晶の量は、5.4以上に比べて少量であった。pH 5.4以上では、問題なく結晶を取得することができた。

[0067] pH 5.4以上6.0未満の範囲で得られたc-di-AMP結晶は、立方体状の外観を示すなどいずれも同様の性状であり、同一の形態であると考えられた。pH 6.0では、結晶として立方体状のものと柱状のものが混在していた。pH 6.0より高いpH領域において得られたc-di-AMP結晶は、柱状の外観を示すなど、実施例1及び2において取得された結晶と同様の性状を示した。以上の結果から、c-di-AMP水溶液のpHが5.2～6.0の範囲である場合には本実施例の形態のc-di-AMP結晶βが取得され、pH 6.0～12.0の範囲である場合にはc-di-AMPナトリウム塩結晶αが取得されることが明らかとなった。

[0068] (実施例4) pH 5.6におけるc-di-AMPナトリウム塩結晶βの製造

公知の方法により、酵素的にc-di-AMPを合成し、精製を行った。

精製して得られたOD₂₅₇が3000、pH 5.6のc-di-AMP溶液(15 mL)を30℃に加温した。そこに攪拌しながら、15 mLのエタノールをゆっくり添加したのち、液温が4℃になるまで冷却し、結晶を析出させた。このようにして析出した結晶はメンブレンフィルターにて濾取し、湿結晶を得た。湿結晶は2時間、25℃で乾燥して、乾燥結晶1.0 gを得た。

[0069] (A) ナトリウム塩の形態分析

原子吸光光度法で分析したところ、本実施例のc-di-AMPナトリウム塩結晶βにおけるナトリウム含量は、5.2%であった。このことから、

c - d i - A M P 1 分子に対するナトリウム原子の存在量は 1 . 5 であることが分かった。

[0070] (B) 純度検定

本実施例で得られた c - d i - A M P ナトリウム塩結晶 β の純度を、高速液体クロマトグラフィー法で分析した結果、c - d i - A M P 純度は 1 0 0 % であった。なお、高速液体クロマトグラフィー法は以下の条件で行った。

(条件)

カラム : Y M C - T r i a r t C 1 8 (Y M C 社製)

溶出液 : 0 . 1 M T E A - P (p H 6 . 0) + 4 . 5 % A C N

検出法 : U V 2 6 0 n m による検出

[0071] (C) 結晶形

本実施例における c - d i - A M P ナトリウム塩結晶 β の写真を図 1 0 に示す。図 1 0 に示すように、c - d i - A M P ナトリウム塩結晶 β は、立方体状の結晶形を示すことが明らかとなった。

[0072] (D) 粉末 X 線回折

本実施例の c - d i - A M P ナトリウム塩結晶について、X 線回折装置 X ' P e r t P R O M P D (スペクトリス) を用い、下記の測定条件で X 線回折スペクトルを測定した。

(測定条件)

ターゲット : C u

X 線管電流 : 4 0 m A

X 線管電圧 : 4 5 k V

走査範囲 : $2 \theta = 4 . 0 \sim 4 0 . 0 ^{\circ}$

前処理 : めのう製乳鉢を用いて粉碎

[0073] 図 1 1 および表 4 に示すように、本実施例の c - d i - A M P ナトリウム塩結晶 β は、回折角 (2θ) が、9 . 3、2 3 . 6、2 4 . 3 ($^{\circ}$) 付近にピークを示した。

[0074]

[表4]

2 θ (°)	相対強度 (%)
9.3	34.7
23.6	100
24.3	36.6

[0075] (E) 赤外線吸収スペクトル

本実施例のc-d i-AMPナトリウム塩結晶 β について、フーリエ変換赤外分光光度計Spectrum One (Perkin Elmer)を用いてATR (Attenuated Total Reflectance、減衰全反射)法によって赤外線吸収スペクトルを測定した。

[0076] 本実施例のc-d i-AMPナトリウム塩結晶 β は、3119、1606、1222、1074 (cm⁻¹)付近に特徴的なピークを有していた。これらの結果を図12に示す。

[0077] (F) 示差走査熱量分析

熱重量測定／示差熱分析 (TG／DTA) 装置 (昇温速度5℃/分) で分析したところ、本実施例のc-d i-AMPナトリウム塩結晶 β は、239℃付近に吸熱ピークを有した (図13)。

[0078] (参考例) c-d i-AMP遊離酸結晶の製造

公知の方法により、酵素的にc-d i-AMPを合成し、精製を行った。

精製して得られたc-d i-AMP溶液から、特許文献1に記載の方法によってc-d i-AMP遊離酸結晶を取得した。すなわち、OD₂₅₇が114のc-d i-AMP溶液 (980 mL) を50℃に加温した。そこに、2 N HClを少しずつ添加し、pH 1.8まで調製し、液温が4℃になるまで冷却して結晶を析出させた。このようにして析出した結晶はガラスフィルター (G3) にて濾取し、湿結晶を得た。湿結晶は1時間、20℃で乾燥して、乾燥結晶2.8 gを得た。

[0079] (A) 純度検定

上記参考例で得られたc-d i-AMP遊離酸結晶の純度を、高速液体ク

ロマトグラフィー法で分析した結果、c-d i-AMP純度は100%であった。なお、高速液体クロマトグラフィー法は以下の条件で行った。

(条件)

カラム: Hydrosphere C18 (YMC社製)

溶出液: 0.1 M TEA-P (pH 6.0) + 4.5% ACN

検出法: UV 260 nmによる検出

[0080] (B) 結晶形

c-d i-AMP遊離酸結晶の代表的な写真を図14に示す。c-d i-AMP遊離酸結晶は、針状の結晶形を示す。

[0081] (C) 粉末X線回折

c-d i-AMP遊離酸結晶について、X線回折装置X'Pert PRO MPD (スペクトリス) を用いて、下記の測定条件でX線回折スペクトルを測定した。

(測定条件)

ターゲット: Cu

X線管電流: 40 mA

X線管電圧: 45 kV

走査範囲: $2\theta = 4.0 \sim 40.0^\circ$

前処理: めのう製乳鉢を用いて粉砕

[0082] 図15および表5に示すように、特許文献1に記載のc-d i-AMP遊離酸結晶は、回折角(2θ)が、9.2、10.2、10.9、11.1、13.7、15.2、19.0、20.6、22.4、23.1、24.3、26.6、26.8($^\circ$)付近に特徴的なピークを示した。

[0083]

[表5]

2 θ (°)	相対強度 (%)
9.2	41.9
10.2	28.5
10.9	32.1
11.1	27.9
13.7	23.5
15.2	100
19	59.2
20.6	46.4
22.4	26.8
23.1	21.7
24.3	23.5
26.6	25.6
26.8	38.9

[0084] (D) 赤外線吸収スペクトル

c-di-AMP遊離酸結晶を、フーリエ変換赤外分光光度計 Spectrum One (Perkin Elmer) を用いてATR (Attenuated Total Reflectance、減衰全反射) 法によって赤外線吸収スペクトルを測定した結果について、特許文献1に記載がある。

[0085] 特許文献1に記載のc-di-AMP遊離酸結晶は、3087、1686、1604、1504、1473、1415、1328、1213 (cm⁻¹) 付近に特徴的なピークを有していた。これらの結果を図16に示す。

[0086] (E) 示差走査熱量分析

特許文献1に記載のc-di-AMP遊離酸結晶は、熱重量測定／示差熱分析 (TG／DTA) 装置 (昇温速度5℃／分) で分析すると、193℃付近に吸熱ピークを有した (図17)。

[0087] (実施例4) 105℃条件下における取得結晶の安定性試験

上記実施例1、実施例2、実施例4及び参考例にて得られた結晶を、105℃条件下で静置した。そこから経時的に結晶を回収し、水溶液を調製し、高速液体クロマトグラフィー法で結晶の純度を分析した。得られた結果を図

18および表6に示す。

[0088] [表6]

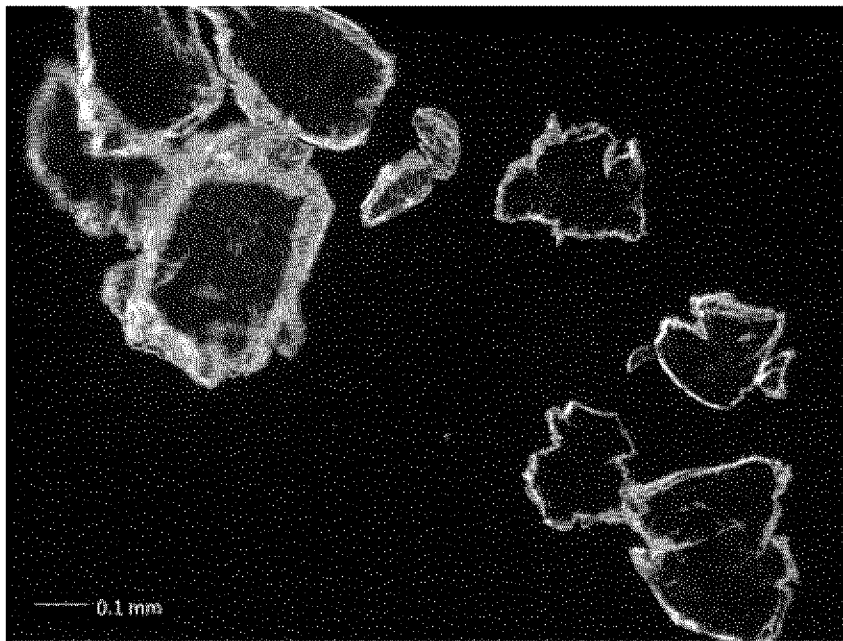
	0	1	2	3	4	5	(日)
実施例1	100.00	98.75	97.98	97.98	97.87	97.15	
実施例2	100.00	99.02	98.73	98.63	99.02	98.09	
実施例4	100.00	99.65	99.35	99.14	99.09	98.93	
参考例	100.00	91.81	88.82	86.46	86.31	85.42	(%)

表6に示す通り、本発明に属するc-d i-AMPナトリウム塩結晶は、既存のc-d i-AMP遊離酸結晶と比べて、105℃という過酷条件下においても安定性に優れていることが分かった。さらに、既存のc-d i-AMP遊離酸結晶を溶解させる際には攪拌操作が必要であったのに対し、本発明のc-d i-AMPナトリウム塩結晶は迅速に溶解した。このことから、本発明のc-d i-AMPナトリウム塩結晶は、既存のc-d i-AMP遊離酸結晶と比較して、高い溶解性を示すことが明らかとなった。

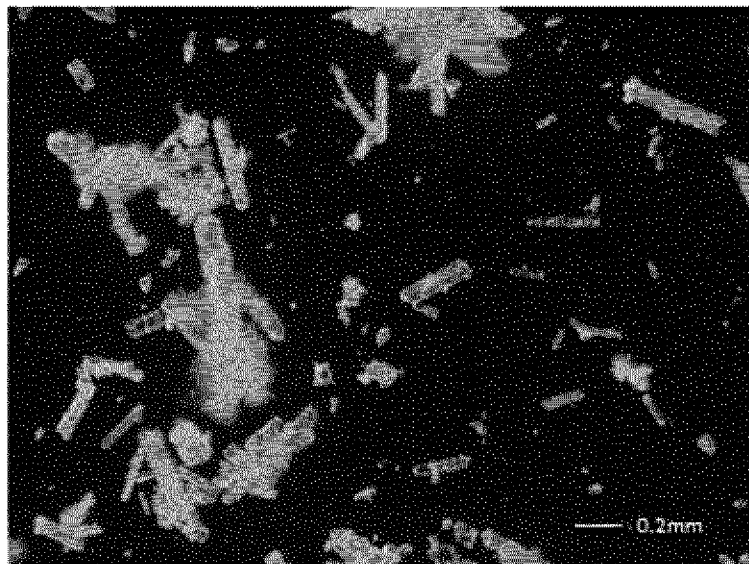
請求の範囲

- [請求項1] *Cycli c-d i-AMP* ナトリウム塩結晶。
- [請求項2] *Cu-K α* 線を用いた粉末X線回折の回折角 (2θ) として、 10.9 ± 0.5 、 23.9 ± 1.2 ($^{\circ}$) に特徴的なピークを有することを特徴とする、*Cycli c-d i-AMP* ナトリウム塩結晶 α 。
- [請求項3] *Cu-K α* 線を用いた粉末X線回折の回折角 (2θ) として、 9.3 ± 0.5 、 23.6 ± 1.2 、 24.3 ± 1.2 ($^{\circ}$) に特徴的なピークを有することを特徴とする、*Cycli c-d i-AMP* ナトリウム塩結晶 β 。
- [請求項4] *Cycli c-d i-AMP* 水溶液のpHを5.2～12.0に調整し、有機溶媒を添加し、析出する結晶を取得する工程からなる、請求項1から3のいずれか一項に記載の*Cycli c-d i-AMP* ナトリウム塩結晶の製造法。
- [請求項5] (1) *c-d i-AMP* 水溶液に塩基及び／又は酸を添加し、pHを5.2～12.0に調整する工程、
(2) *c-d i-AMP* 水溶液を測定波長257nmにおける吸光度 OD_{257} を500～20000とする工程、
(3) *c-d i-AMP* 水溶液を30～70℃まで加熱する工程、
(4) *c-d i-AMP* 水溶液に有機溶媒を添加する工程、
(5) *c-d i-AMP* 水溶液を1～30℃になるまで冷却する工程を含むことを特徴とする、請求項3に記載の*Cycli c-d i-AMP* ナトリウム塩結晶の製造法。

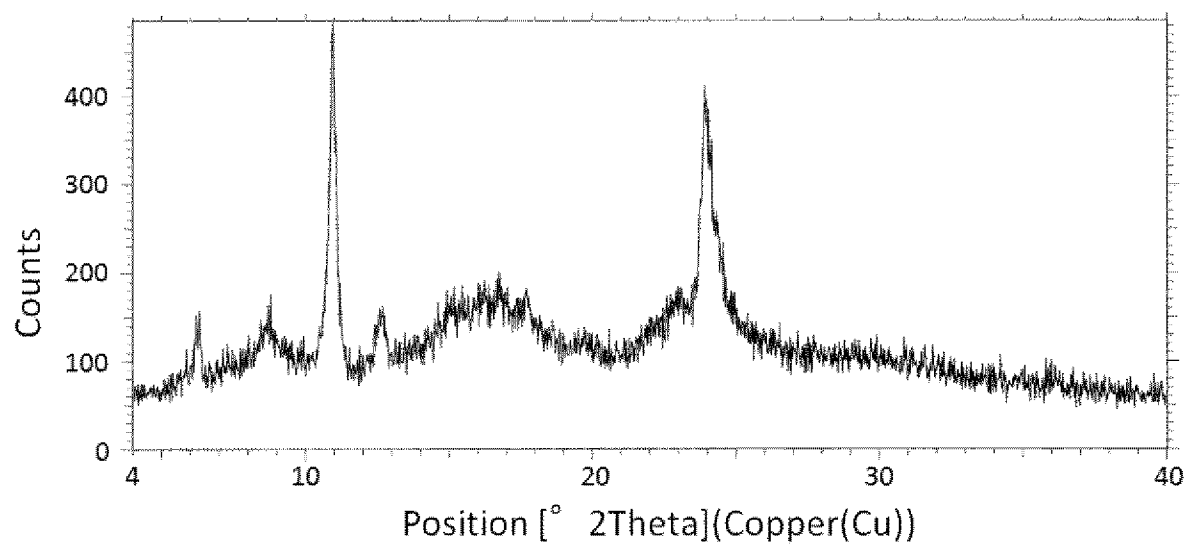
[図1]



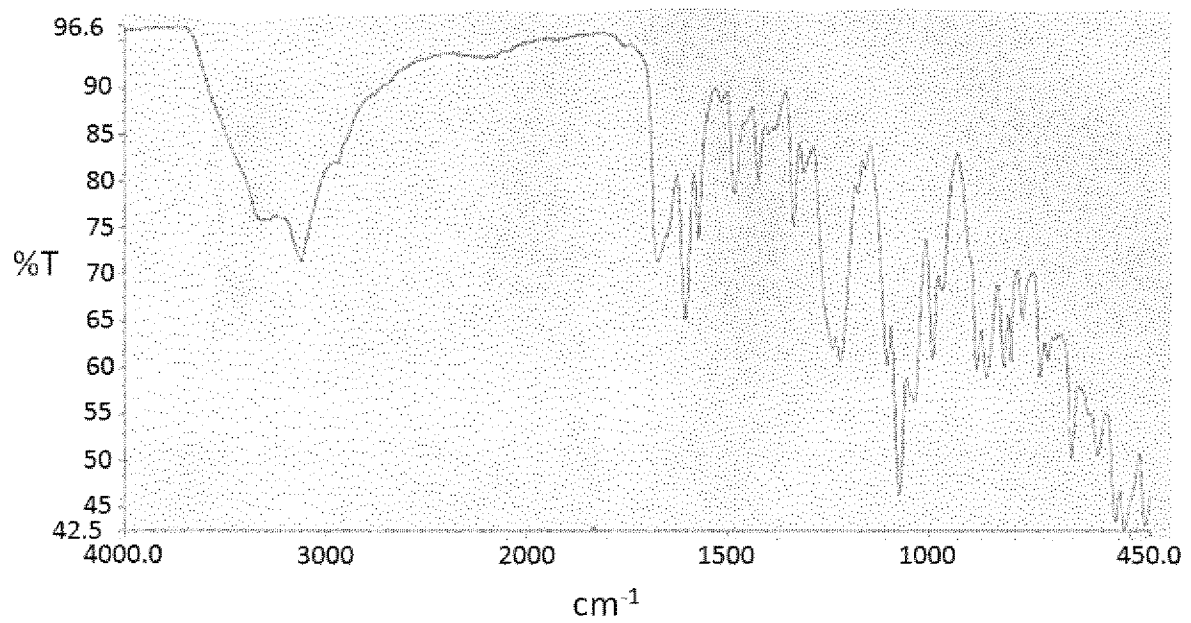
[図2]



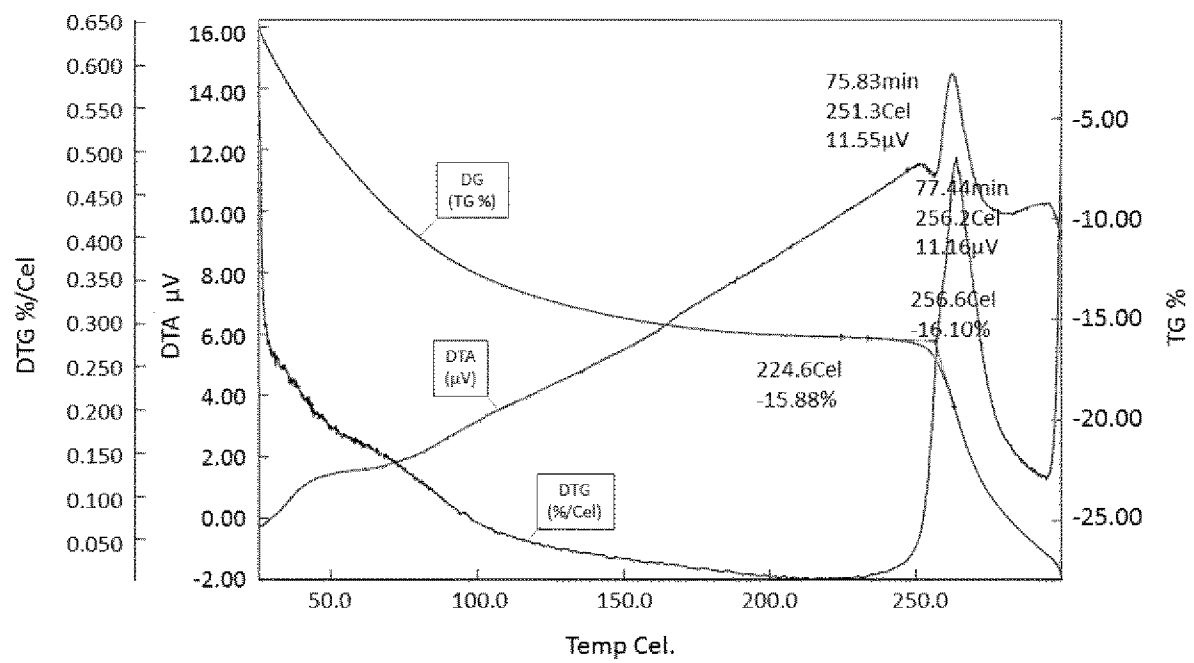
[図3]



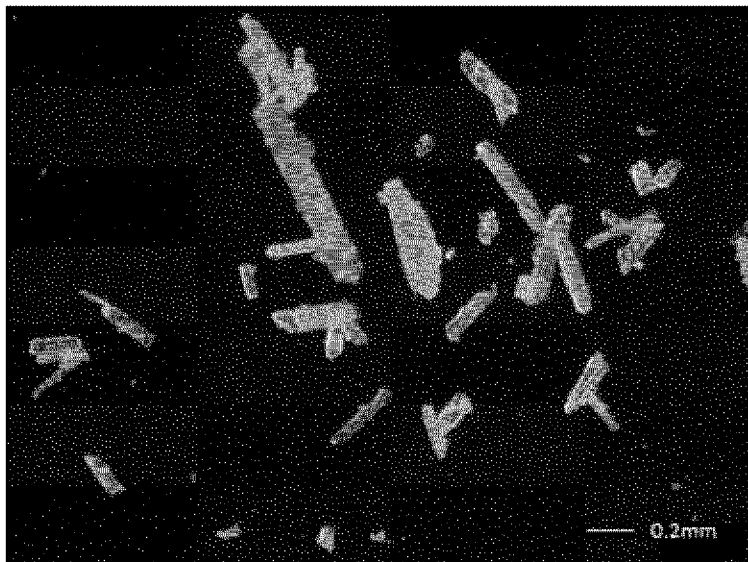
[図4]



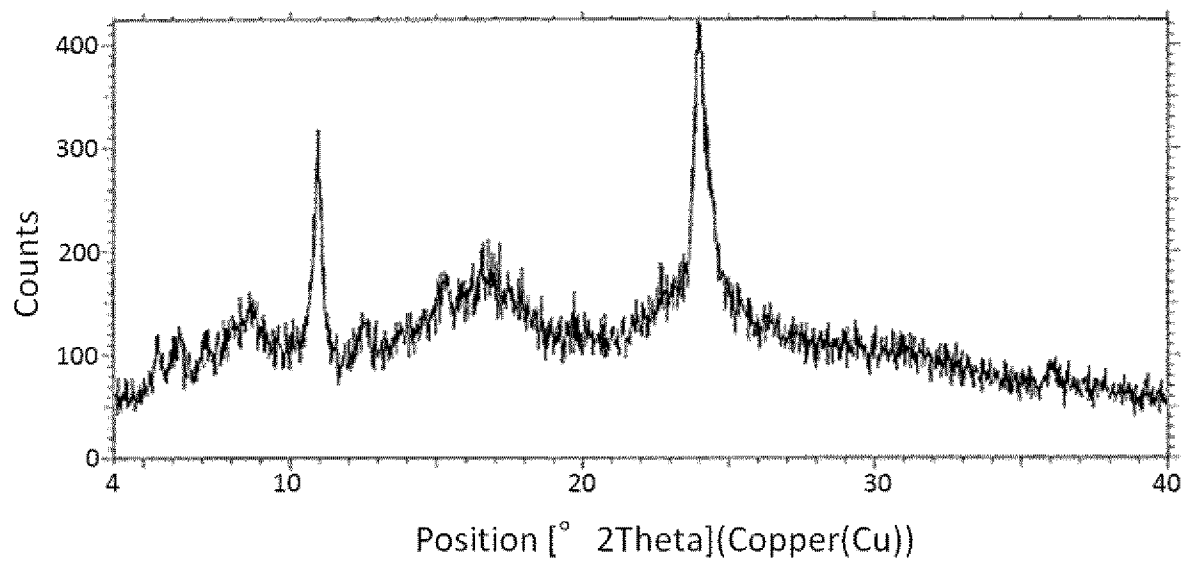
[図5]



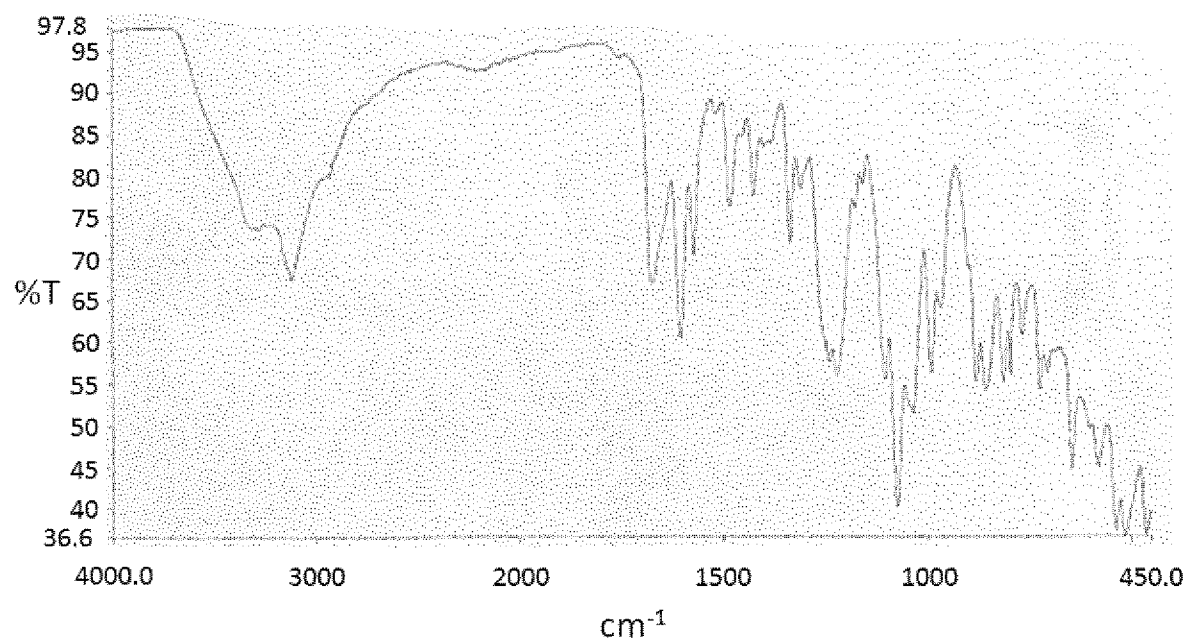
[図6]



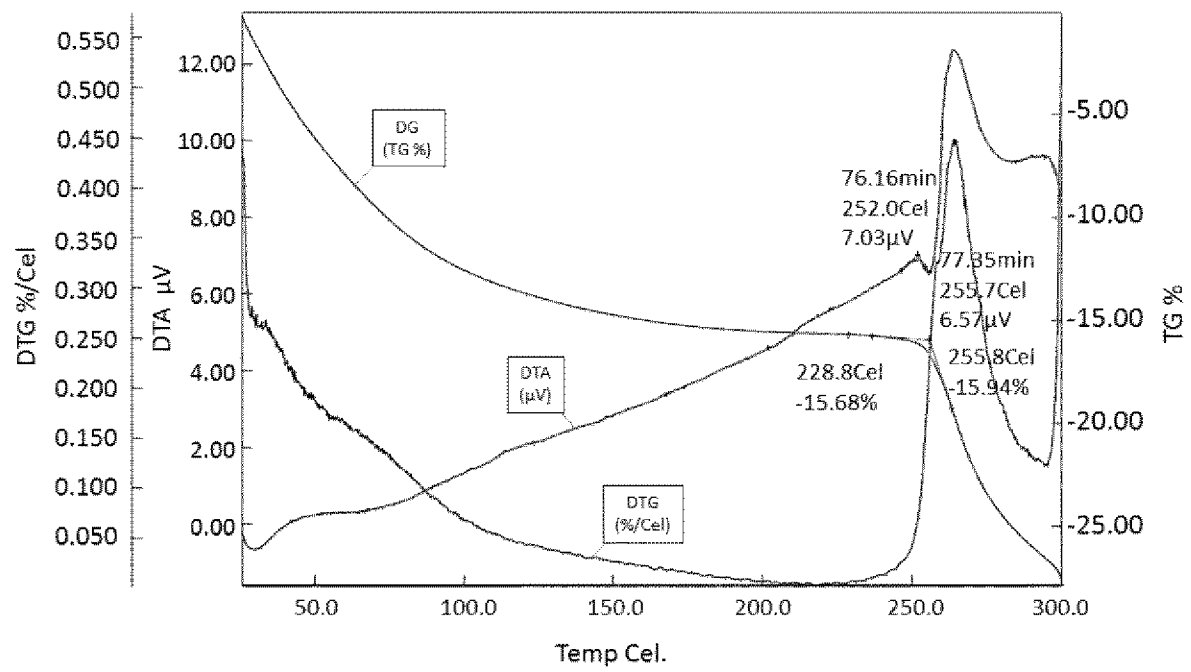
[図7]



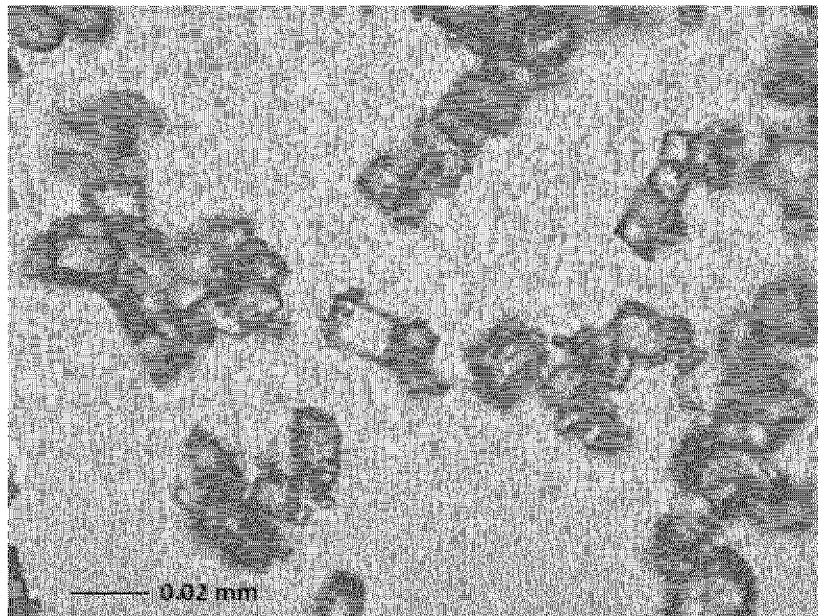
[図8]



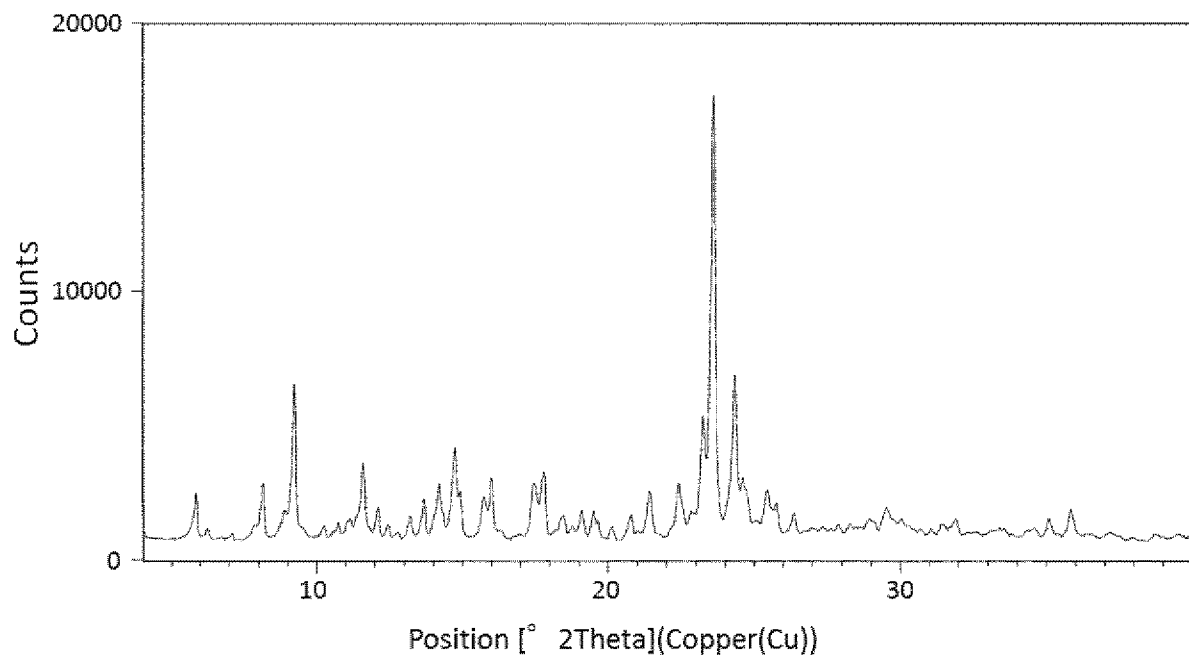
[図9]



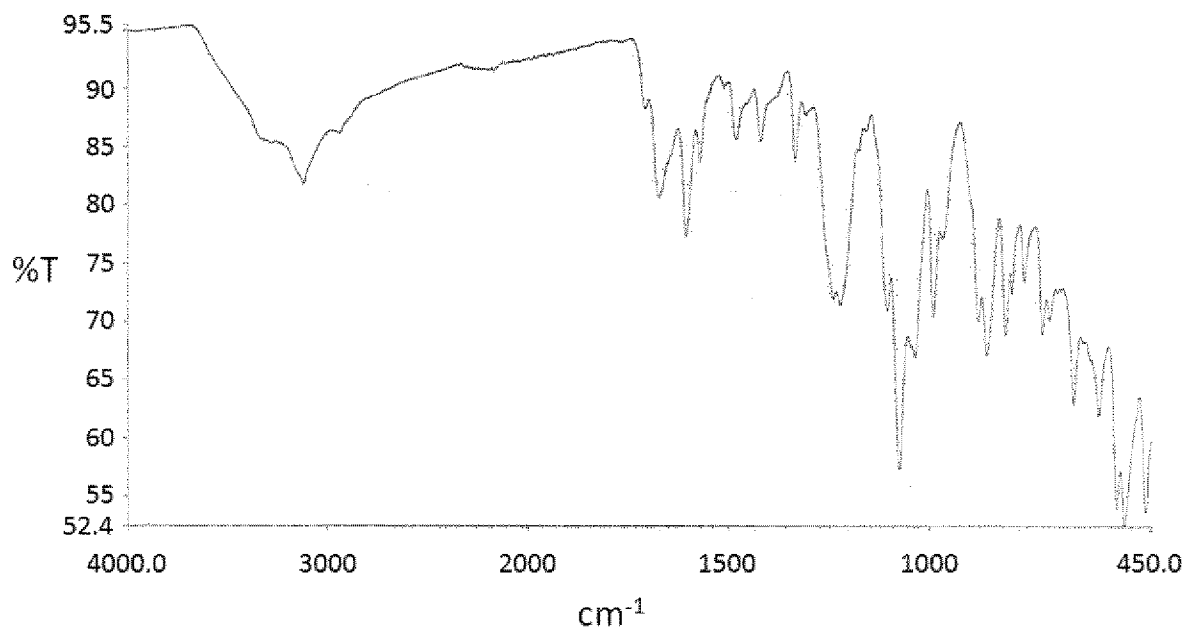
[図10]



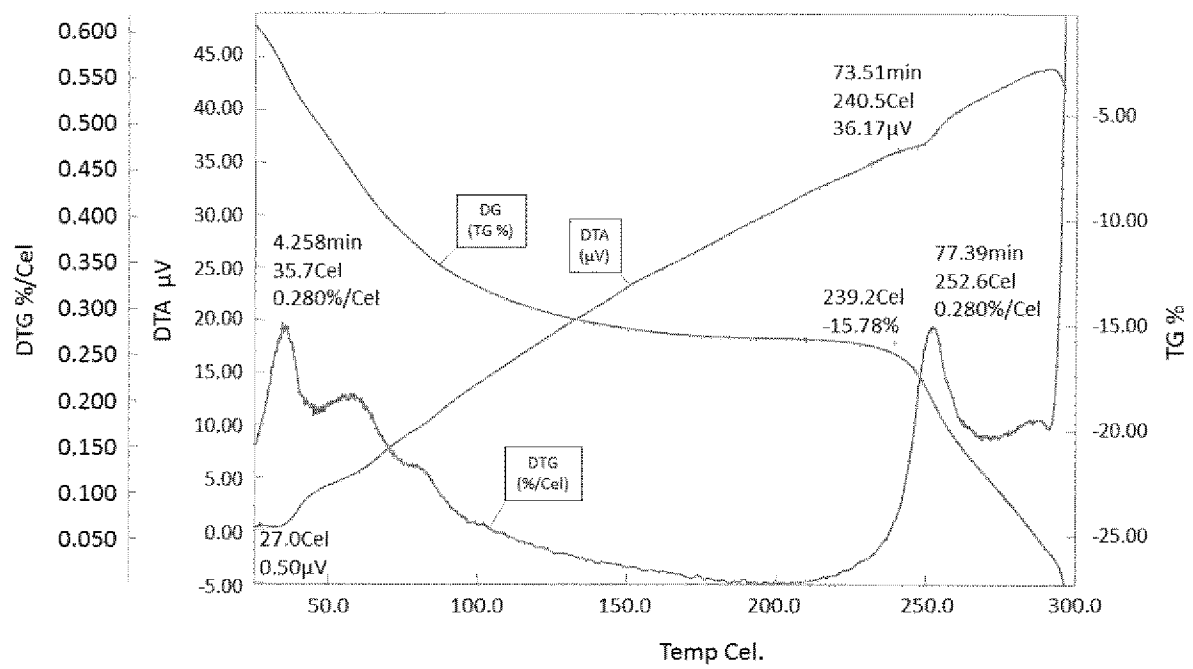
[図11]



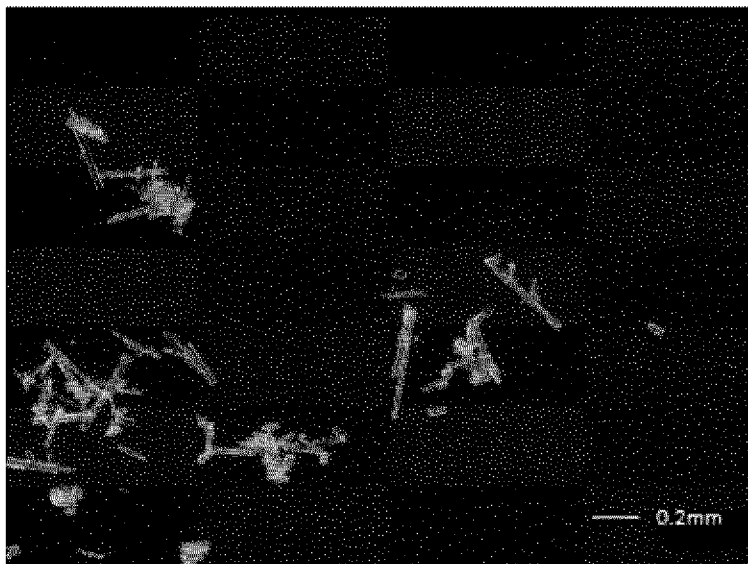
[図12]



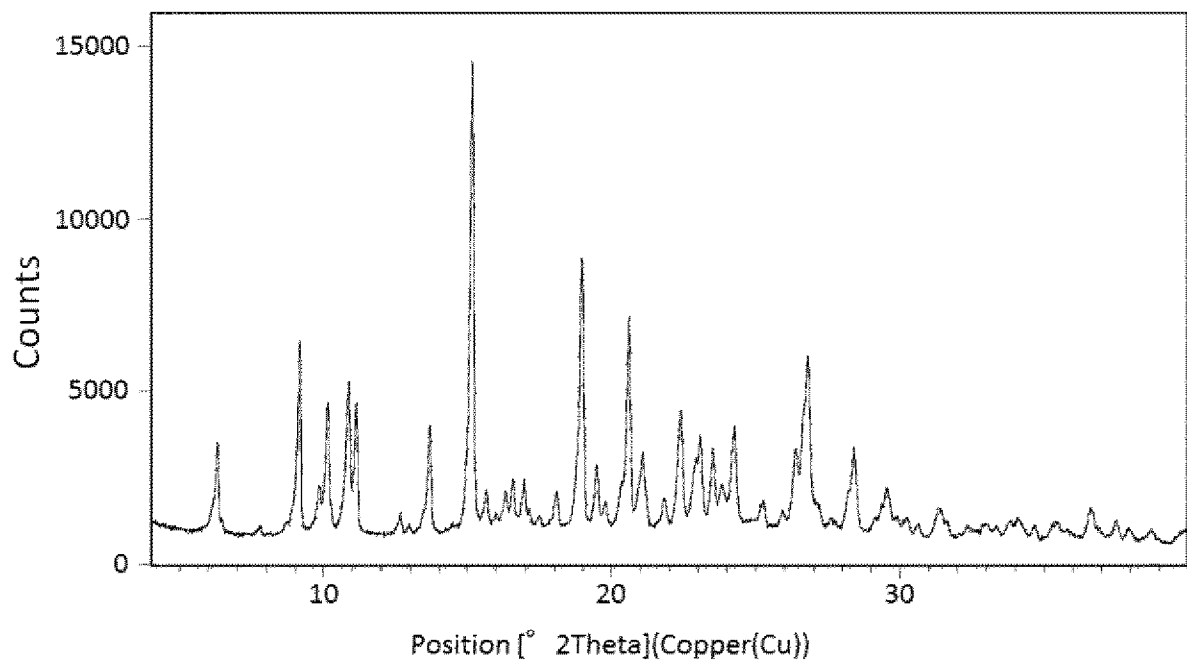
[図13]



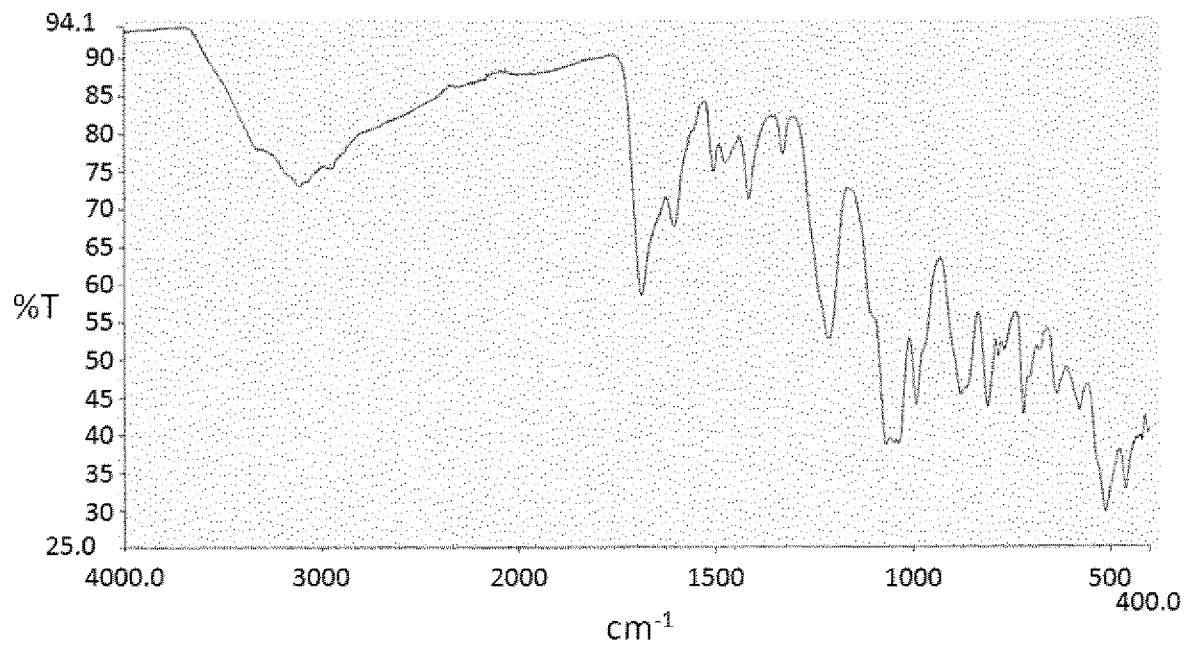
[図14]



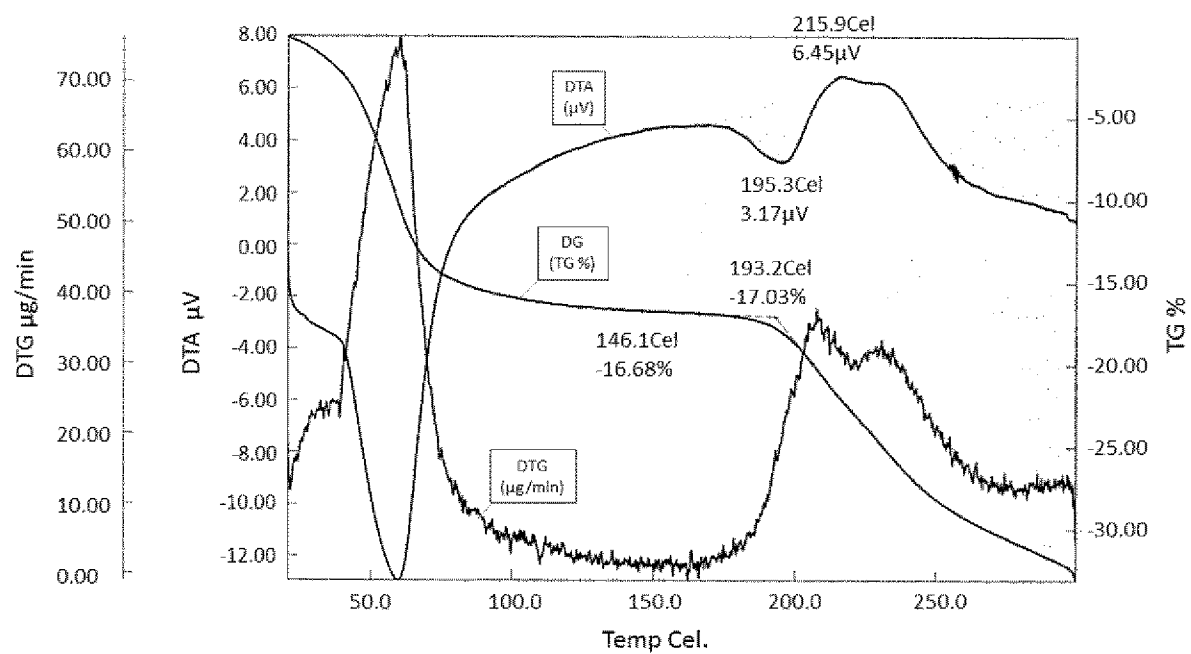
[図15]



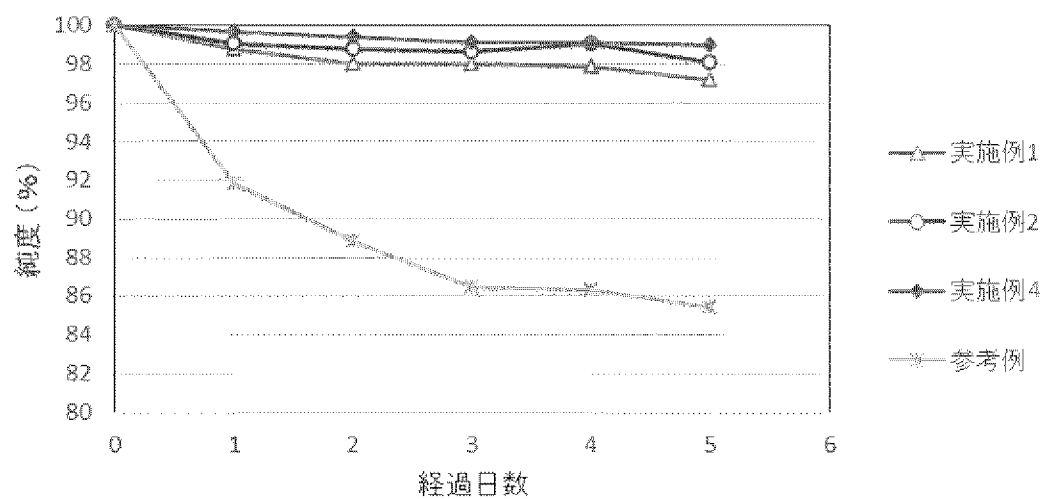
[図16]



[図17]



[図18]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/042706

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07H 1/06 (2006.01) i; C07H 21/02 (2006.01) i
FI: C07H21/02 CSP; C07H/06

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)

C07H1/06; C07H21/02

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	1971-2020
Registered utility model specifications of Japan	1996-2020
Published registered utility model applications of Japan	1994-2020

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.
Y	WO 2015/137469 A1 (YAMASA CORPORATION) 17.09.2015 (2015-09-17), reference examples, etc.	1-5
Y	生活工学研究, 2002, 4, 310-317, pp. 310-311, etc. (Journal of human environmental engineering)	1-5
Y	医薬審発第 568 号, 2001, 3.3.1.C, etc. non-official translation (Pharmaceutical Investigation No. 568)	1-5

☒ 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

"I" 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
08 January 2020 (08.01.2020)

Date of mailing of the international search report
21 January 2020 (21.01.2020)

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/JP2019/042706

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	PHARM STAGE, 2007, 6, 48-53, page 48, etc.	1-5
Y	PHARM STAGE, 2007, 6, 20-25, page 20, etc.	1-5
Y	有機合成化学協会誌, 2007, 65, 907-913, page 907, etc. (Journal of Synthetic Organic Chemistry, Japan)	1-5
Y	PHARMACEUTICAL RESEARCH, 1995, 12, 945-954, page 946, etc.	1-5
Y	JP 2003-519698 A (TRANSFORM PHARMACEUTICALS INC.) 24.06.2003 (2003-06-24), paragraph [0012] and later, etc.	1-5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2019/042706

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
---	------------------	---------------	------------------

WO 2015/137469 A1 17 Sep. 2015

US 2017/0096439 A1
reference examples,
etc.

WO 2015/137469 A1

EP 3118207 A4

KR 10-2016-0119236 A

CN 106061989 A

CN 110256507 A

JP 2003-519698 A 24 Jun. 2003

JP 2003-509657 A

US 2002/0048610 A1

entire text

JP 2002-541442 A

US 2002/0098518 A1

US 2002/0177167 A1

US 2003/0059837 A1

US 2003/0123057 A1

US 2003/0138940 A1

US 2003/0162226 A1

US 2005/0130220 A1

US 2005/0191614 A1

US 2006/0141533 A1

US 2007/0020662 A1

US 2007/0021929 A1

US 2003/0106492 A1

WO 2001/051919 A2

WO 2002/044730 A1

WO 2002/077772 A2

WO 2002/093297 A2

WO 2003/023409 A2

WO 2001/009391 A1

WO 2000/059627 A1

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C07H 1/06(2006.01)i; C07H 21/02(2006.01)i FI: C07H21/02 CSP; C07H1/06														
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）） C07H1/06; C07H21/02														
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>1971-2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2020年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2020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	1971-2020年	日本国実用新案登録公報	1996-2020年	日本国登録実用新案公報	1994-2020年				
日本国実用新案公報	1922-1996年													
日本国公開実用新案公報	1971-2020年													
日本国実用新案登録公報	1996-2020年													
日本国登録実用新案公報	1994-2020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												
Y	WO 2015/137469 A1（ヤマサ醤油株式会社）17.09.2015（2015-09-17） 参考例など	1-5												
Y	生活工学研究, 2002, 4, 310-317 310～311頁等	1-5												
Y	医薬審発第568号, 2001 3.3.1.c等	1-5												
Y	PHARM STAGE, 2007, 6, 48-53 48頁等	1-5												
Y	PHARM STAGE, 2007, 6, 20-25 20頁等	1-5												
Y	有機合成化学協会誌, 2007, 65, 907-913 907頁等	1-5												
Y	PHARMACEUTICAL RESEARCH, 1995, 12, 945-954 946頁等	1-5												
☒ 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</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</td> </tr> <tr> <td>“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</td> <td>“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</td> </tr> <tr> <td>“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</td> <td>“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</td> </tr> <tr> <td>“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）</td> <td>“&” 同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td></td> </tr> <tr> <td>“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></td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリー	“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	“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	“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	“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	“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	“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）	“&” 同一パテントファミリー文献	“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	
* 引用文献のカテゴリー	“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													
“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	“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													
“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	“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													
“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）	“&” 同一パテントファミリー文献													
“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														
国際調査を完了した日 08.01.2020	国際調査報告の発送日 21.01.2020													
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） 早川 裕之 4P 4500 電話番号 03-3581-1101 内線 3492													

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2003-519698 A (トランスフォーム ファーマスーティカルズ, インコーポレイ テッド) 24.06.2003 (2003 - 06 - 24) 段落 [0 0 1 2] 以降等	1-5

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/JP2019/042706

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
WO	2015/137469	A1	17.09.2015	US	2017/0096439	A1	
				参考例など			
				WO	2015/137469	A1	
				EP	3118207	A4	
				KR	10-2016-0119236	A	
				CN	106061989	A	
				CN	110256507	A	
JP	2003-519698	A	24.06.2003	JP	2003-509657	A	
				US	2002/0048610	A1	
				全文			
				JP	2002-541442	A	
				US	2002/0098518	A1	
				US	2002/0177167	A1	
				US	2003/0059837	A1	
				US	2003/0123057	A1	
				US	2003/0138940	A1	
				US	2003/0162226	A1	
				US	2005/0130220	A1	
				US	2005/0191614	A1	
				US	2006/0141533	A1	
				US	2007/0020662	A1	
				US	2007/0021929	A1	
				US	2003/0106492	A1	
				WO	2001/051919	A2	
				WO	2002/044730	A1	
				WO	2002/077772	A2	
				WO	2002/093297	A2	
				WO	2003/023409	A2	
				WO	2001/009391	A1	
				WO	2000/059627	A1	