

(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  
2016 年 7 月 28 日(28.07.2016)



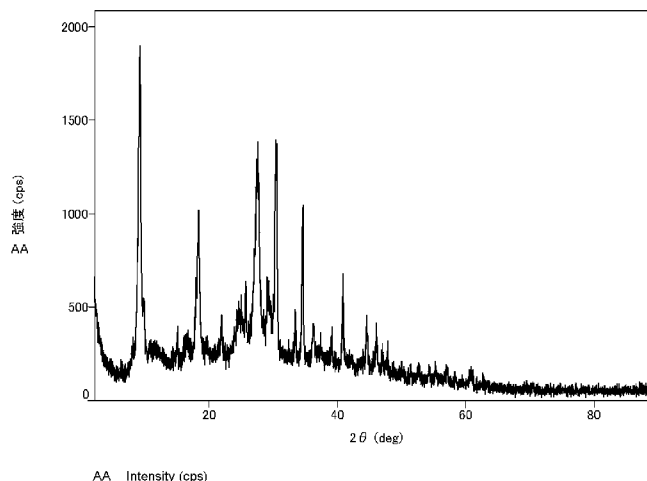
(10) 国際公開番号  
**WO 2016/117242 A1**

- (51) 国際特許分類:  
*C07D 471/04* (2006.01) *A61P 43/00* (2006.01)  
*A61K 31/4745* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2015/085064
- (22) 国際出願日: 2015 年 12 月 15 日(15.12.2015)
- (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 2015-007414 2015 年 1 月 19 日(19.01.2015) JP
- (71) 出願人: 三菱瓦斯化学株式会社(MITSUBISHI GAS CHEMICAL COMPANY, INC.) [JP/JP]; 〒1008324 東京都千代田区丸の内二丁目 5 番 2 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 池本 一人(IKEMOTO, Kazuto); 〒9503112 新潟県新潟市北区太夫浜新割 1 8 2 番地 三菱瓦斯化学株式会社 新潟研究所内 Niigata (JP).
- (74) 代理人: 稲葉 良幸, 外(INABA, Yoshiyuki et al.); 〒1066123 東京都港区六本木 6-1-0-1 六本木ヒルズ森タワー 2 3 階 TMI 総合法律事務所 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, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, 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), ユーロッパ (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:  
— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: HIGH-SOLUBILITY ACETONE ADDUCT OF PYRROLOQUINOLINEQUINONE SALT

(54) 発明の名称: 溶解性の高いアセトン付加ピロロキノリンキノン塩

[図1]



(57) Abstract: An alkali metal salt of 5-hydroxy-4-oxo-5-(2-oxopropyl)-4,5-dihydro-1H-pyrrolo[2,3-f]quinoline-2,7,9-tricarboxylic acid, a process for producing the alkali metal salt, and a cocrystal including the alkali metal salt.

(57) 要約: 5-ヒドロキシ-4-オキソ-5-(2-オキソプロピル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピロロ[2,3-f]キノリン-2,7,9-トリカルボン酸のアルカリ金属塩及びその製造方法、並びに該アルカリ金属塩を含む共結晶。

WO 2016/117242 A1

## 明 細 書

発明の名称： 溶解性の高いアセトン付加ピロロキノリンキノン塩

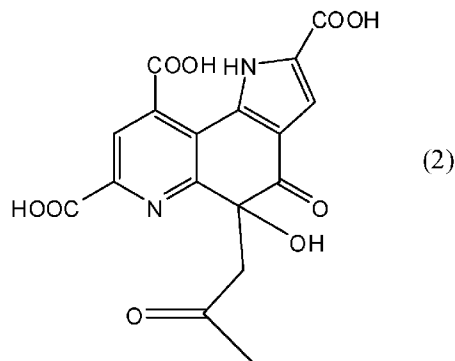
### 技術分野

[0001] 本発明は、5-ヒドロキシ-4-オキソ-5-(2-オキソプロピル)-4,5-ジハイドロ-1H-ピロロ[2,3-f]キノリン-2,7,9-トリカルボン酸のアルカリ金属塩、共結晶およびその製造方法に関する。

### 背景技術

[0002] 5-ヒドロキシ-4-オキソ-5-(2-オキソプロピル)-4,5-ジハイドロ-1H-ピロロ[2,3-f]キノリン-2,7,9-トリカルボン酸（以下、「HOP」ともいう）は、下記式（2）で示される化合物である。

[化1]



[0003] この物質はアセトン付加体ピロロキノリンキノンと呼ばれることがある。HOPの構造はピロロキノリンキノンの構造決定に使われた（例えば、非特許文献1参照）。HOPは白色から黄色の物質である。

### 先行技術文献

#### 非特許文献

[0004] 非特許文献1：Nature, 1979, 280, 843-844

### 発明の概要

#### 発明が解決しようとする課題

[0005] 細胞増殖活性は、培地成分、化粧品、又は医薬品として使用する場合、培

養の生産性を上げる、または肌の新陳代謝を上げるために重要とされる機能である。このような細胞増殖活性を有する物質としては、ピロロキノリンキノン（PQQ）が知られている。

[0006] しかしながら、ピロロキノリンキノンは、水に対する溶解性に乏しく、また変色を伴った変質を生じやすく安定性に乏しいことが問題である。そこで、ピロロキノリンキノンと同等の作用効果が期待でき、かつ、溶解性に優れ、耐変質性、耐変色性に優れる化合物が望まれていた。

[0007] ここで、PQQのアルドール付加物であるHOPは、比較的簡単にピロロキノリンキノンに戻り易いため、ピロロキノリンキノンの発生剤としての使用が期待される。HOP自体は、PQQと同様に水に対する溶解性が低いことが問題であるが、もし、HOP誘導体がピロロキノリンキノンと同等の作用効果を奏し、溶解性に優れ、耐変質性、耐変色性に優れるのであれば、培地成分、化粧品、医薬品等の用途における応用が期待できる。この点、本発明者の検討により、HOPが細胞増殖活性を有することが明らかとなり、また、HOPの方がPQQと比較してより高濃度で用いた場合でも、濃度に対する細胞増殖率の低下が生じにくいことが分かった。さらに、HOPのアルカリ金属塩、HOPのアルカリ金属塩を含む共結晶に関しては、これまでに報告はされていない。特に、HOPはpHの変化で着色しやすいことが本発明者の検討過程で明らかになり、アルカリ金属塩の単離方法は水溶液中でアルカリ金属水酸化物とトリカルボン酸を反応して水分を除去するという単純な方法ではきれいな固体として単離することは困難であるという問題がある。

[0008] 本発明は、上記問題点に鑑みてなされたものであり、溶解度が高く、かつ変色しにくい、新規なHOPのアルカリ金属塩及びその製造方法、並びに、HOPのアルカリ金属塩を含む新規な共結晶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

[0009] 本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討を行った。その結果、HOPは細胞増殖活性を有し、ピロロキノリンキノンよりも還元剤、アミノ

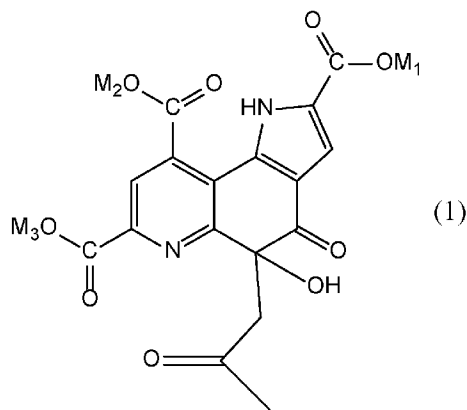
酸等の他の物質との反応性が低く、安定で変質しにくいことを見出した。また、HOPはアルカリ金属塩とすることにより、飛躍的に溶解性が向上すること、並びに、着色が抑制された塩を安定して製造できる方法を見出し、以下に示す項目によって、上記課題を解決できることを見出した。

[0010] すなわち、本発明は以下のとおりである。

[1]

下記式(1)で示される、アルカリ金属塩。

[化2]



(上記式(1)中、M<sub>1</sub>、M<sub>2</sub>、及びM<sub>3</sub>は、各々独立して、水素又はアルカリ金属を示し、M<sub>1</sub>、M<sub>2</sub>、及びM<sub>3</sub>の1つ以上が、アルカリ金属である。)

[2]

M<sub>1</sub>、M<sub>2</sub>及びM<sub>3</sub>の2つ以上が、アルカリ金属である、

[1]記載のアルカリ金属塩。

[3]

前記アルカリ金属が、ナトリウムである、[1]又は[2]記載のアルカリ金属塩。

[4]

[1]～[3]のいずれか1項に記載のアルカリ金属塩と、

アルカリ金属炭酸水素塩及び／又はアルカリ金属炭酸塩と、を含む、共結晶。

[5]

5-ヒドロキシ-4-オキソ-5-(2-オキソプロピル)-4,5-ジ  
ハイドロ-1H-ピロロ[2,3-f]キノリン-2,7,9-トリカルボ  
ン酸と、アルカリ金属炭酸水素塩及び／又はアルカリ金属炭酸塩と、を溶媒  
中で混合する混合工程を有する、

5-ヒドロキシ-4-オキソ-5-(2-オキソプロピル)-4,5-ジ  
ハイドロ-1H-ピロロ[2,3-f]キノリン-2,7,9-トリカルボ  
ン酸のアルカリ金属塩の製造方法。

[6]

前記溶媒が、水を含む、[5]に記載の製造方法。

[7]

前記溶媒が、有機溶媒を含む、[5]に記載の製造方法。

## 発明の効果

[0011] 本発明により、HOPアルカリ金属塩及びその安定的な製造方法を提供で  
きる。

## 図面の簡単な説明

[0012] [図1]実施例10で得られた結晶の粉末X線回折スペクトル。

[図2]実施例11で得られた結晶の粉末X線回折スペクトル。

[図3]比較例2で得られた粉末の粉末X線回折スペクトル。

## 発明を実施するための形態

[0013] 以下、本発明を実施するための形態（以下、「本実施形態」という。）に  
ついて詳細に説明するが、本発明はこれに限定されるものではなく、その要  
旨を逸脱しない範囲で様々な変形が可能である。

[0014] [アルカリ金属塩]

本実施形態のアルカリ金属塩は、下記式(1)で示される。なお、本願明  
細書において、本実施形態のアルカリ金属塩を「HOPアルカリ金属塩」と  
もいい、 $M_1$ 、 $M_2$ 、及び $M_3$ の全てが水素原子である化合物を「HOPフリー  
体」ともいう。



上であり、より好ましくは2～3モルであり、さらに好ましくは2.5～2.9モルである。HOPアルカリ金属塩1モルに含まれるアルカリ金属のモル数が上記範囲内であることにより、溶解度がより高く、かつ、変色がより抑制される傾向にある。

[0017] アルカリ金属としては、特に限定されないが、好ましくはLi, Na, 及びKであり、より好ましくはNa及びKであり、さらに好ましくはNaである。このようなアルカリ金属を用いることにより、HOPアルカリ金属塩の水に対する溶解度がより向上する傾向にある。特に、Na及びKは、生体内に常態的に存在するイオンであるため、Na及び／又はKを含むHOPアルカリ金属塩は、ヒト用又は動物用の、食品、飼料、医薬品、医薬部外品、及び化粧品等の有効成分としてより安全に用いることができる。

[0018] 特に、HOPアルカリ金属塩のなかでも、HOPトリナトリウム塩、HOPトリカリウム塩、HOPジナトリウム塩、及びHOPジカリウム塩が好ましい。このようなHOPアルカリ金属塩は、水に対する溶解度が高いだけでなく、ヒト用又は動物用の、食品、飼料、医薬品、医薬部外品、及び化粧品等の有効成分としてより安全に用いることができる。

[0019] HOPアルカリ金属塩は、 $-COOM_1$ 基、 $-COOM_2$ 基、 $-COOM_3$ 基、及び $-OH$ 基を有し、 $M_1$ 、 $M_2$ 、及び $M_3$ のうち1つ以上はアルカリ金属であるため、水素イオンが脱離可能な官能基を最大で3つ有する。これら官能基のうち、いずれかの官能基の水素イオンが脱離して、 $-COO^-$ 基又は $-O^-$ 基となっていてよい。なお、水素イオンの脱離状態は、HOPアルカリ金属塩の結晶状態によっても変化する可能性がある。

[0020] また、本実施形態のHOPアルカリ金属塩は、1又は2以上の水分子が水和した含水塩、1又は2以上の溶媒分子が溶媒和した含溶媒塩であってもよい。

[0021] [共結晶]

本実施形態の共結晶（以下、「HOP共結晶」ともいう。）は、上記HOPアルカリ金属塩と、アルカリ金属炭酸水素塩及び／又はアルカリ金属炭酸

塩と、を含む。HOP共結晶は、水に対する溶解度が高く、かつ、HOPアルカリ金属塩と比較して、安定性がより高く、より変色しにくい。そのため、ヒト用又は動物用の、食品、飼料、医薬品、医薬部外品、及び化粧品等の用途において、好適に用いることができる。

[0022] アルカリ金属炭酸水素塩及びアルカリ金属炭酸塩に含まれるアルカリ金属としては、好ましくはLi, Na, 及びKであり、より好ましくはNa及びKであり、さらに好ましくはNaである。このようなアルカリ金属を用いることにより、HOP共結晶の水に対する溶解度がより向上する傾向にある。特に、Na及びKは、生体内に常態的に存在するイオンであるため、Na及び／又はKを含むHOP共結晶は、ヒト用又は動物用の、食品、飼料、医薬品、医薬部外品、及び化粧品等の有効成分としてより安全に用いることができる。

[0023] HOP共結晶中のアルカリ金属炭酸水素塩の含有量は、HOPアルカリ金属塩1モルに対し、好ましくは1～4モルであり、より好ましくは2～3モルである。また、HOP共結晶中のアルカリ金属炭酸塩の含有量は、HOPアルカリ金属塩1モルに対し、好ましくは1～3モルであり、より好ましくは1～2モルであり、さらに好ましくは1～1.5モルである。

[0024] HOPトリアルカリ金属塩に比べ、HOPトリアルカリ金属炭酸水素共結晶は安定で、変色しにくい。そのため、溶解度を高く保ち安定な物質である利点を有している。なお、このHOP共結晶は固体状態では存在するが、水に溶かした場合、炭酸および炭酸水素は炭酸ガスとして抜け、上記HOPアルカリ金属塩とほぼ同じ様に取り扱うことができる。共結晶は水と接触した際に炭酸ガスの発泡が生じ、粉末の液への溶解が促進される点において、炭酸ガスによる生理活性の付与が利点として挙げられる。

[0025] [HOPアルカリ金属塩の製造方法]

本実施形態のHOPアルカリ金属塩の製造方法は、5-ヒドロキシ-4-オキソ-5-(2-オキソプロピル)-4,5-ジハイドロ-1H-ピロロ[2,3-f]キノリン-2,7,9-トリカルボン酸と、アルカリ金属炭



酸水素塩及び／又はアルカリ金属炭酸塩と、を溶媒中で混合する混合工程を有する方法であれば、特に限定されない。

[0026] [HOPフリー体の製造工程]

上記工程の説明の前に、HOPフリー体の製造工程について説明する。HOPフリー体の製造方法としては、特に限定されないが、例えば、ピロロキノリンキノン又はその塩をアセトンと混合してアルドール反応させる方法が挙げられる。該アルドール反応は、溶液下、懸濁状態、又はゲル状態のいずれで行ってよいが、水中で行うことが好ましい。

[0027] 反応温度は、好ましくは0～180℃であり、より好ましくは5～130℃である。反応温度が0℃以上であることにより、反応速度がより向上するため、工業的に好ましい。また、反応温度が180℃以下であることにより、必要とされる反応容器の耐圧性が低下し、高耐圧性の高価な加圧容器の使用を省くことができるため、工業的に好ましい。

[0028] 反応系中のピロロキノリンキノンの濃度は、好ましくは0.1～30質量％であり、より好ましくは0.5～25質量％であり、さらに好ましくは1～20質量％である。また、反応系中のアセトンの使用量は、ピロロキノリンキノン1質量部に対して、好ましくは0.3～50質量部であり、より好ましくは0.5～45質量部であり、さらに好ましくは1～40質量部である。

[0029] 上記アルドール反応は、系中のpHを7超過のアルカリ性にするることにより開始し、3日～1週間後に、系中のpHを1～4の酸性にすることでHOPフリー体を析出させつつ、反応を停止することができる。その後、析出したHOPフリー体を濾別することでHOPフリー体を得ることができる。アルカリ性にするための塩基としては、特に限定されないが、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムが挙げられる。また、酸性にするための酸としては、特に限定されないが、例えば、塩酸、硫酸、硝酸、リン酸、過塩素酸、酢酸、クエン酸、シュウ酸、コハク酸、酒石酸等使用できる。

[0030] 上記アルドール反応の進行は系中の色の変化で判定することができる。例

えば、当初、赤系の色であった溶液が、無色又は黄色に変化することでアルドール反応が進行していることが確認できる。その他、より定量的な方法として、液体クロマトグラフィーやペーパークロマトグラフィー等の一般的な分析手法も使用できる。

[0031] また、上記のようにして得られたHOPフリー体は、さらに再結晶やクロマトグラフィー等の通常の方法を用いて精製してもよい。また、上記反応により得られたHOPフリー体を含む水溶液に対して酸を加えてpHを2以下にすることで、より高純度のHOPフリー体を得ることができる。この際使用する酸としては、特に限定されないが、例えば、塩酸、硫酸、硝酸、リン酸、過塩素酸、酢酸、クエン酸、シュウ酸、コハク酸、酒石酸等使用できる。得られるHOPフリー体はアルカリ金属を含んでおらず、HOP塩の原料として使用できる。

[0032] [混合工程]

本実施形態のHOPアルカリ金属塩は、HOPフリー体と、アルカリ金属炭酸塩及び／又はアルカリ金属炭酸水素塩と、を溶媒中で混合した後に、精製して製造することができる。混合温度は、好ましくは0～50℃であり、より好ましくは5～45℃であり、さらに好ましくは10～40℃である。なお、混合工程で用いるHOPフリー体としては、HOPフリー体の製造工程において純度が90%以上となるまで精製したHOPのフリー体を使用することが好ましい。

[0033] HOPアルカリ金属塩は、酸性条件下で溶媒が十分な際には変色し難い傾向にある。そのため、補助的にアルカリ金属水酸化物、アルカリ金属アルコキシドも併せて混合することができる。

[0034] 混合工程において使用する溶媒としては、特に限定されないが、例えば、水、有機溶媒又は水と有機溶媒の混合溶媒が挙げられる。溶媒が水を含むことにより、HOPアルカリ金属塩の収率がより向上する傾向にある。また、溶媒が有機溶媒を含むことにより、後述するHOP共結晶の収率がより向上する傾向にある。HOPアルカリ金属塩の製造方法においては、溶媒に含ま

れる水の含有量は、溶媒 100 質量%に対して、90 質量%以上であり、より好ましくは 95 質量%以上である。

[0035] なお、有機溶媒としては、水溶性有機溶媒が好ましい。水溶性有機溶媒としては、具体的には、アセトン；メタノール、エタノール、イソプロパノール、2-プロパノール等のアルコール類；アセトニトリル；プロピレングリコール等のグリコール類；グリセリン等が挙げられる。

[0036] アルカリ金属塩の置換数は、HOPフリー体とアルカリ金属炭酸塩及び／又はアルカリ金属炭酸水素塩のモル比で制御することができる。例えば、HOPフリー体 1 モルとアルカリ金属炭酸水素塩 2 モルを溶媒中で混合し、減圧して水を除去することで、 $M_1$ 、 $M_2$ 、及び $M_3$ の 2 つがアルカリ金属である HOP アルカリ金属塩を容易に得ることができる。

[0037] 反応後の精製方法としては、特に限定されないが、例えば、溶媒の除去又は再結晶が挙げられる。塩析や水溶性有機溶媒を加え、塩を析出させることもできる。例えば、 $M_1$ 、 $M_2$ 、及び $M_3$ の 3 つがアルカリ金属である HOP アルカリ金属塩の場合、変色しやすいために、低温で精製処理することが好ましい。この場合の精製処理温度は、好ましくは 30℃以下であり、より好ましくは 20℃以下である。

[0038] また、溶媒除去で析出させる際には、HOP アルカリ金属塩又は HOP 共結晶の変色を抑える為に、短時間で行うことが好ましい。

[0039] さらに、変色を防止する観点から、混合工程を水溶媒中に行った後、有機溶媒を加え迅速に HOP アルカリ金属塩を析出させることが好ましい。

[0040] HOP アルカリ金属塩の製造方法において、水中で HOP フリー体とアルカリ金属炭酸塩及び／又はアルカリ金属炭酸水素塩を反応させ、水分を除去する場合、混合工程で使用するアルカリ金属炭酸塩及び／又はアルカリ金属炭酸水素塩のモル数は、HOP フリー体 1 モルに対して、好ましくは 1～3 モルであり、より好ましくは 2～3 モルであり、さらに好ましくは 2～2.9 モルである。アルカリ金属炭酸塩及び／又はアルカリ金属炭酸水素塩のモル数が上記範囲内であることにより、得られる HOP アルカリ金属塩の変色

がより抑制され、水に対する溶解度がより向上する傾向にある。

[0041] また、HOPアルカリ金属塩の製造方法において、水中でHOPフリー体とアルカリ金属炭酸塩及び／又はアルカリ金属炭酸水素塩を反応させ、有機溶媒を添加して析出させる場合、混合工程で使用するアルカリ金属炭酸塩及び／又はアルカリ金属炭酸水素塩のモル数は、HOPフリー体1モルに対して、好ましくは1～3モルであり、低温で処理することを考慮すると2.7～3モルがより好ましい。

[0042] [共結晶の製造方法]

本実施形態の共結晶は、上記HOPアルカリ金属塩の製法において、少なくとも有機溶媒を含む溶媒中で行った場合に得ることができる。有機溶媒としては、上記と同様のものが挙げられる。

[0043] 溶媒には目的とする共結晶に合わせて水が含まれていてもよい。溶媒に含まれる水の含有量は、アルカリ金属炭酸塩及び／又はアルカリ金属炭酸水素塩が溶媒中に完全には溶解せず残るような量であることが好ましく、原料の仕込み量によって最適値は異なる。例えば、溶媒に含まれる水の含有量は、溶媒100質量%に対して、好ましくは10質量%以下であり、より好ましくは7.5質量%以下であり、さらに好ましくは5質量%以下である。水分量が上記範囲内であることにより、共結晶の収率がより向上し、再現性よく、共結晶が得られる傾向にある。

[0044] 以下、具体的な共結晶の製造方法の例を記載する。HOPフリー体、アルカリ金属化合物を、少なくとも有機溶媒を含む溶媒で混合する。HOPフリー体は水に溶解しないが、アルカリ金属化合物を混合することで溶解度が上がり、水に溶解しやすくなる。この時の温度は0～120℃が使用できるが、好ましくは0～50℃である。一般的には温度を上げるほうが溶けやすいが、変質しやすいため低温で混合することが好ましい。混合は攪拌を行う方が均一性の面から好ましい。混合物が完全に溶解することが好ましい。混合物は0.01～96時間に置いた後に、水を除去する。除去は減圧乾燥、スプレードライ、凍結乾燥等使用できる。乾燥した粉末としてHOPの塩を得

ることができる。

[0045] 〔用途〕

本実施形態のHOPアルカリ金属塩及びHOP共結晶は、細胞の増殖促進作用を有している。また、ピロロキノリンキノンの発生剤として使用することができる。そのため、本実施形態のHOPアルカリ金属塩及びHOP共結晶は、ピロロキノリンキノンの機能の抗白内障作用、肝臓疾患予防治療作用、創傷治癒作用、抗アレルギー作用、逆転写酵素阻害作用およびグリオキサラーゼⅠ阻害作用－制癌作用、神経線維再生など多く薬理効果を有する。

[0046] したがって、本実施形態のHOPアルカリ金属塩及びHOP共結晶は、医薬または機能性食品の有効成分とすることができる。即ち、皮膚外用剤、注射剤、経口剤、坐剤等の形態、あるいは、日常食する飲食物、栄養補強食、各種病院食等の形態で提供可能である。なお、これらの形態に適するよう調製する際に使用される添加剤としては、特に限定されない。例えば、液剤としては、特に限定されないが、例えば、水、果糖、ブドウ糖等の糖類、落下生油、大豆油、オリーブ油等の油類、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール等のグリコール類を用いることができる。また、錠剤、カプセル剤、顆粒剤などの固形剤の賦型剤としては、特に限定されないが、例えば、乳糖、ショ糖、マンニット等の糖類が挙げられる。さらに、滑沢剤としては、特に限定されないが、例えば、カオリン、タルク、ステアリン酸マグネシウム等、崩壊剤としてデンプン、アルギン酸ナトリウム、結合剤としてポリビニルアルコール、セルロース、ゼラチン等が挙げられる。また、界面活性剤としては、特に限定されないが、例えば、脂肪酸エステル等が挙げられる。さらに、可塑剤としては、特に限定されないが、例えば、グリセリン等が挙げられる。また、必要に応じて溶解促進剤、充填剤等を加えてもよい。

[0047] 本実施形態のHOPアルカリ金属塩および共結晶は、単独で用いてもよいし、他の素材と組み合わせて用いてもよい。組み合わせ可能な他の素材としては、ビタミンB群、ビタミンCおよびビタミンE等のビタミン類、アミノ

酸類、アスタキサンチン、 $\alpha$ -カロテン、 $\beta$ -カロテン等のカロテノイド類、ドコサヘキサエン酸、エイコサペンタエン酸等の $\omega$ 3脂肪酸類、アラキドン酸等の $\omega$ 6脂肪酸類などが例示されるが、これらに限定されるものではない。

[0048] 本実施形態のHOPアルカリ金属塩は、溶解性が高く、保存安定性に優れたものなので長期貯蔵可能で、医薬や機能性食品の有効成分として好適に使用することができる。

### 実施例

[0049] 以下に実施例及び比較例を用いて本実施形態を更に詳しく説明するが、本実施形態はこれら実施例および比較例のみに限定されるものではない。

[0050] 本実施例は特に断りがない限り、和光純薬製の試薬を用いた。吸光度測定にはUVスペクトルメーター島津製UV1800を使用した。

[0051] LC条件：吸光度検出器で259nmを検出波長とした。40℃、YMC-Pack ODS-A (150mm, 4.6mm) カラムを使用し、30mM酢酸-70mM酢酸アンモニウムを展開液として1mL/minの流速で分析した。装置はLC2010（島津製作所社製）を使用した。

[0052] [参考例1 原料となるHOPフリー体の製造]

PQQジナトリウム（三菱瓦斯化学製BioPQQ）11.2gを水1Lに加え水溶液を調製し、得られた水溶液にNaOHを加え、水溶液のpHを9にした。この水溶液にアセトン200g加えると20分で赤から薄い黄色に変色した。次いで、水溶液に塩酸を加え、水溶液のpHを2.5にした。その後、水溶液中に水分をエバポレートして、水溶液の総量が400gとなるまで濃縮した。濃縮後の水溶液中には黄色い固体が析出していた。これを、さらに減圧乾燥して8.01gの固体を得た。

[0053] (アルカリ金属分析)

上記のようにして得られた固体1mgを1%コリン水1gに溶解させて試験液を得た。得られた試験液をホリバ製ナトリウム電極を使用して室温（25℃）で分析した結果、アルカリ金属イオンは検出されなかった。このことから

、得られた固体が、HOPフリー体であることが確認された。

[0054] [実施例1 HOPジナトリウム製造]

フラスコ内でHOPフリー体0.39gと水20gと炭酸水素ナトリウム0.16gを混合したところ、混合溶液からの発泡が観察された。pH4であった。この混合溶液を23℃で5時間攪拌した後、35℃の水浴にフラスコをつけエバポレーターで200mbarから徐々に圧力を30mbarまで下げ、水を除去して白色の結晶を得た。さらに、得られた結晶を真空乾燥機で一晩乾燥した。ホリバ製ナトリウム電極を用いたアルカリ金属分析、LC2010（島津製作所社製）を用いた液体クロマトグラフ分析（LC分析）から、HOPジナトリウム塩が0.47g得られたことが確認された。

[0055] [実施例2 HOPトリナトリウム製造]

フラスコ内でHOPフリー体0.39gと水2gと炭酸水素ナトリウム0.25gを混合したところ、混合溶液からの発泡が観察された。この混合溶液を超音波に5分かけたところ、混合溶液中の固体成分がすべて溶けた。pH7であった。その後、35℃の水浴にフラスコをつけエバポレーターで200mbarから徐々に圧力を30mbarまで下げ、水を除去して淡黄色の結晶を得た。さらに、得られた結晶を真空乾燥機で一晩乾燥した。ホリバ製ナトリウム電極を用いたアルカリ金属分析、LC2010（島津製作所社製）を用いた液体クロマトグラフ分析（LC分析）から、HOPトリナトリウムが0.50g得られたことが確認された。

[0056] [実施例3 HOP2.5ナトリウム製造]

フラスコ内でHOPフリー体0.78gと水4gと炭酸水素ナトリウム0.42gを混合したところ、混合溶液からの発泡が観察された。この混合溶液を23℃で1時間攪拌したところ、混合溶液中の固体成分がすべて溶けた。pH7であった。その後、35℃の水浴にフラスコをつけエバポレーターで200mbarから徐々に圧力を30mbarまで下げ、水を除去して淡黄色の結晶を得た。さらに、得られた結晶を真空乾燥機で一晩乾燥した。ホリバ製ナトリウム電極を用いたアルカリ金属分析、LC2010（島津製作

所社製)を用いた液体クロマトグラフ分析(LC分析)から、HOP 2.5ナトリウムが1.00 g得られたことが確認された。

[0057] [実施例4 HOP 2.9ナトリウム製造]

フラスコ内でHOPフリー体0.78 gと水4 gと炭酸水素ナトリウム0.49 gを混合したところ、混合溶液からの発泡が観察された。この混合溶液を23℃で1時間攪拌したところ、混合溶液中の固体成分がすべて溶けた。pH7であった。その後、35℃の水浴にフラスコをつけエバポレーターで200 mbarから徐々に圧力を30 mbarまで下げ、水を除去して淡黄色の結晶を得た。さらに、得られた結晶を真空乾燥機で一晩乾燥した。ホリバ製ナトリウム電極を用いたアルカリ金属分析、LC 2010 (島津製作所社製)を用いた液体クロマトグラフ分析(LC分析)から、HOP 2.9ナトリウムが0.95 g得られたことが確認された。

[0058] [実施例5 有機溶媒沈殿法によるHOPトリナトリウム製造]

フラスコ内でHOPフリー体0.78 gと水4 gと炭酸水素ナトリウム0.50 gを混合したところ、混合溶液からの発泡が観察された。この混合溶液を超音波に5分かけたところ混合溶液中の固体成分がすべて溶けた。メタノール36 mL加え、冷温庫(4℃)に一晩保存すると固体が析出した。固体を遠心分離して取り出し、白色の結晶を得た。さらに、得られた結晶を真空乾燥機で一晩乾燥した。ホリバ製ナトリウム電極を用いたアルカリ金属分析、LC 2010 (島津製作所社製)を用いた液体クロマトグラフ分析(LC分析)から、HOPトリナトリウムが0.41 g得られたことが確認された。

[0059] [実施例6 HOPトリカリウム製造]

フラスコ内でHOPフリー体0.39 gと水2 gと炭酸水素カリウム0.30 gを混合したところ、混合溶液からの発泡が観察された。この混合溶液を23℃で1時間攪拌したところ、混合溶液中の固体成分がすべて溶けた。その後、35℃の水浴にフラスコをつけエバポレーターで200 mbarから徐々に圧力を30 mbarまで下げ、水を除去してグレーの結晶を得た。



さらに、得られた結晶を真空乾燥機で一晩乾燥した。ホリバ製ナトリウム電極を用いたアルカリ金属分析、LC2010（島津製作所社製）を用いた液体クロマトグラフ分析（LC分析）から、HOPトリカリウムが0.55g得られたことが確認された。

[0060] [実施例7 HOPジカリウム製造]

フラスコ内でHOPフリー体0.39gと水10gと炭酸水素カリウム0.20gを混合したところ、混合溶液からの発泡が観察された。この混合溶液を23℃で1時間攪拌したところ、混合溶液中の固体成分がすべて溶けた。その後、35℃の水浴にフラスコをつけエバポレーターで200mbarから徐々に圧力を30mbarまで下げ、水を除去して薄い黄色結晶を得た。さらに、得られた結晶を真空乾燥機で一晩乾燥した。ホリバ製ナトリウム電極を用いたアルカリ金属分析、LC2010（島津製作所社製）を用いた液体クロマトグラフ分析（LC分析）から、HOPジカリウムが0.51g得られたことが確認された。

[0061] [実施例8 HOPトリリチウム製造]

フラスコ内でHOPフリー体0.39gと水2gと炭酸リチウム0.11gを混合したところ、混合溶液からの発泡が観察された。この混合溶液を23℃で1時間攪拌したところ、混合溶液中の固体成分がすべて溶けた。その後、35℃の水浴にフラスコをつけエバポレーターで200mbarから徐々に圧力を30mbarまで下げ、水を除去して薄い黄色結晶を得た。さらに、得られた結晶を真空乾燥機で一晩乾燥した。ホリバ製ナトリウム電極を用いたアルカリ金属分析、LC2010（島津製作所社製）を用いた液体クロマトグラフ分析（LC分析）から、HOPトリカリウムが0.39g得られたことが確認された。

[0062] [実施例9 HOPジリチウム製造]

フラスコ内でHOPフリー体0.39gと水2gと炭酸リチウム0.074gを混合したところ、混合溶液からの発泡が観察された。この混合溶液を23℃で1時間攪拌した。その後、35℃の水浴にフラスコをつけエバポレ

ーターで200 mbarから徐々に圧力を30 mbarまで下げ、水を除去して薄い黄色結晶を得た。さらに、得られた結晶を真空乾燥機で一晩乾燥した。ホリバ製ナトリウム電極を用いたアルカリ金属分析、LC2010（島津製作所社製）を用いた液体クロマトグラフ分析（LC分析）から、HOPジリチウムが0.43 g得られたことが確認された。

[0063] 〔実施例10 HOP炭酸水素トリナトリウム共結晶〕

HOPフリー体0.78 gと炭酸水素ナトリウム0.50 gをエタノール20 mL混合したところ、混合溶液からの発泡は観察されなかった。この混合溶液を23℃で20時間攪拌した。その後、混合溶液中の固体を濾過して白色の結晶1.08 gを得た。さらに、得られた結晶を真空乾燥機で一晩乾燥した。ホリバ製ナトリウム電極を用いたアルカリ金属分析、LC2010（島津製作所社製）を用いた液体クロマトグラフ分析（LC分析）から、ナトリウム／HOPは3であることが確認された。この固体を水に加えると発泡したため、炭酸水素塩が残留していることがわかった。

[0064] 〔実施例11 HOP炭酸水素ジナトリウム共結晶〕

フラスコ内でHOPフリー体0.78 gと炭酸水素ナトリウム0.33 gをエタノール20 mL混合したところ、混合溶液からの発泡は観察されなかった。この混合溶液を23℃で20時間攪拌した。その後、混合溶液中の固体を濾過して白色の結晶0.91 gを得た。さらに、得られた結晶を真空乾燥機で一晩乾燥した。ホリバ製ナトリウム電極を用いたアルカリ金属分析、LC2010（島津製作所社製）を用いた液体クロマトグラフ分析（LC分析）から、ナトリウム／HOPは2であることが確認された。この固体を水に加えると発泡したため、炭酸水素塩が残留していることがわかった。

[0065] 〔比較例1 HOPの水酸化ナトリウムでの中和〕

フラスコ内でHOPフリー体0.39 gを水20 mLと混合した。さらに、Naの添加モル数がHOPフリー体のモル数の3倍となるよう、25%水酸化ナトリウム水溶液を加えた。すると、フラスコ内の混合溶液は、すぐに褐色に変化した。pH7であった。この混合溶液の水分をエバポレーターで除

去すると黒色の固体が得られた。LC2010（島津製作所社製）を用いた液体クロマトグラフ分析（LC分析）から、固体100質量%中に含まれるHOPの含有量は80質量%に減少しており、分解が進んでいることがわかった。この結果より、水酸化ナトリウムを使用した場合には、変色や分解が進行しやすく、HOPの塩が適切に得られていないことが分かった。

[0066] [比較例2 HOPと炭酸水素ナトリウムの乳鉢での混合]

フラスコ内でHOPフリー体0.78gと炭酸水素ナトリウム0.50gをマグネチックスタラー駆動乳鉢を用いて18時間粉碎混合し、薄い黄色の粉末を得た。この粉末はHOPと炭酸水素ナトリウムの混合物であり、アルカリ金属塩ではなかった。

[0067] [HOPアルカリ金属塩の水溶解度測定（30℃）]

各実施例で作製したHOPアルカリ金属塩100mgに対し、HOPアルカリ金属塩が溶け残る量の水を加えた。その溶液を、30℃で1時間以上静置した。次いで、遠心分離により、上澄み液と溶け残ったHOPアルカリ金属塩を分離した後、上澄みを希釈して360nmの吸光度を測定した。得られた吸光度から溶解度を算出した。その結果を以下の表1に示す。なお、参考例2-1，3-1，4-1として、PQQフリー体、PQQトリナトリウム、及びPQQジナトリウムの飽和溶解度のデータも併記する。

[0068] [表1]

|          | サンプル                | 飽和溶解度<br>(mMol/L) |
|----------|---------------------|-------------------|
| 参考例 1-1  | HOPフリー体             | 2.9               |
| 実施例 1-1  | HOPジナトリウム           | 290               |
| 実施例 2-1  | HOPトリナトリウム          | 860               |
| 実施例 3-1  | HOP2.5ナトリウム         | 780               |
| 実施例 4-1  | HOP2.9ナトリウム         | 890               |
| 実施例 6-1  | HOPトリカリウム           | 1230              |
| 実施例 7-1  | HOPジカリウム            | 450               |
| 実施例 8-1  | HOPトリリチウム           | 730               |
| 実施例 9-1  | HOPジリチウム            | 230               |
| 実施例 10-1 | HOP炭酸水素トリナトリウム（共結晶） | 960               |
| 実施例 11-1 | HOP炭酸水素ジナトリウム（共結晶）  | 230               |
| 参考例 2-1  | PQQフリー体             | 1                 |
| 参考例 3-1  | PQQトリナトリウム          | 35                |
| 参考例 4-1  | PQQジナトリウム           | 7.5               |

[0069] 上記表 1 の結果から、参考例 1-1 と各実施例との対比より、HOP アルカリ金属塩及び HOP 共結晶は水への溶解度が HOP フリー体と比較して非常に大きいことが分かった。特に、実施例 3-1, 4-1 より、HOP アルカリ金属塩の全体を 1 モルとしてみた場合に含まれるアルカリ金属のモル数が 2.5 以上である場合、水への溶解度が高いことがわかった。また、実施例 10-1, 11-1 より、炭酸根を有する共結晶も HOP アルカリ金属塩と同様に水への溶解度が高いことが分かった。また、炭酸根を有する実施例 10-1, 11-1 の共結晶は水を加えた際に発泡が確認されたことから、共結晶内に炭酸根が残留していることも確認された。

[0070] さらに、参考例 2-1, 3-1, 4-1 によれば、HOP と構造が類似する PQQ では、HOP に匹敵するような 100 倍以上の溶解度の向上は認められず、HOP の溶解度の向上効果は、HOP 特有のものと認められる。

[0071] [保存安定性]

各実施例で作製した HOP アルカリ金属塩を、固体の状態で、冷温保存（4℃）および室温保存（23℃）し、1 ヶ月経過した後の変化を目視で確認した。その結果を表 2 に示す。

[0072] [表 2]

|          | サンプル                     | 冷温保存<br>(4℃) | 室温保存<br>(23℃)   |
|----------|--------------------------|--------------|-----------------|
| 参考例 1-2  | HOP フリー体                 | 変化なし         | わずかに赤い結晶<br>が混入 |
| 実施例 1-2  | HOP ジナトリウム               | 変化なし         | 変化なし            |
| 実施例 2-2  | HOP トリナトリウム              | 変化なし         | 茶変              |
| 実施例 3-2  | HOP 2.5 ナトリウム            | 変化なし         | 変化なし            |
| 実施例 4-2  | HOP 2.9 ナトリウム            | 変化なし         | 変化なし            |
| 実施例 6-2  | HOP トリカリウム               | 変化なし         | わずかに茶変          |
| 実施例 7-2  | HOP ジカリウム                | 変化なし         | 変化なし            |
| 実施例 8-2  | HOP トリリチウム               | 変化なし         | わずかに茶変          |
| 実施例 9-2  | HOP ジリチウム                | 変化なし         | 変化なし            |
| 実施例 10-2 | HOP 炭酸水素トリナトリウム（<br>共結晶） | 変化なし         | 変化なし            |
| 実施例 11-2 | HOP 炭酸水素ジナトリウム（共<br>結晶）  | 変化なし         | 変化なし            |

[0073] 上記表2の結果から、HOPアルカリ金属塩及びHOP共結晶はすべて低温保存で安定に取り扱うことが可能であることが分かった。また、ジアルカリ金属塩は、低温保存及び室温保存の双方で安定であることもわかった。さらに、実施例2-2、4-2より、HOPアルカリ金属塩の全体を1モルとしてみた場合に含まれるアルカリ金属のモル数が2.9以下であることにより、室温保存における安定がより向上することが分かった。特に、実施例4-2より、HOPアルカリ金属塩の全体を1モルとしてみた場合に含まれるアルカリ金属のモル数が2.9であるHOPアルカリ金属塩は、溶解度も高いため、多種の用途に使用しやすいことが分かった。また、実施例10-2、11-2より、共結晶は低温保存及び室温保存の双方で非常に安定であった。実施例2-2と、実施例10-2、11-2との対比から、HOPアルカリ金属塩の全体を1モルとしてみた場合に含まれるアルカリ金属のモル数が3であるHOPアルカリ金属塩に比べ、HOPアルカリ金属塩の全体を1モルとしてみた場合に含まれるアルカリ金属のモル数が3であるHOP共結晶の方が室温保存における安定性に優れており、多種の用途に使用しやすいことが分かった。

[0074] [細胞活性試験]

ヒト子宮がん細胞HeLa細胞を、96ウェルに1000個／ウェルなるように撒き、DMEM(インビトロジェン社)+10%FBS培地中で、5%CO<sub>2</sub>濃度、37℃の条件で、インキュベーターで1晩培養した。その後、各実施例で作製したHOPアルカリ金属塩の濃度が4.9mg/L、19.5mg/Lになるように、HOPアルカリ金属塩を培地に加えた。さらに2日間培養を継続した後、ウェルから培地を取り除き、ウェル内を洗い、同仁化学製cell counting kit 8を使用してウェル内の細胞数を測定した。HOPアルカリ金属塩を培地に加えていないときの細胞数を100とした場合の結果を以下の表に示す。

[0075]

[表3]

| 実施例     | サンプル        | 4.9mg/L | 19.5mg/L |
|---------|-------------|---------|----------|
| 参考例 1・3 | HOPフリー体     | 95      | 103      |
| 実施例 1・3 | HOPジナトリウム   | 116     | 130      |
| 実施例 2・3 | HOPトリナトリウム  | 128     | 121      |
| 比較例 1・3 | HOPとNaOH反応物 | 105     | 107      |

[0076] 上記表3の結果から、本実施形態のHOPアルカリ金属塩は細胞の増殖活性が高いことがわかった。また、HOPの分解・変色が進行し、適切に塩が得られない条件下で調整したものは増殖活性が低い。また、溶解した状態でHOPアルカリ金属塩と同挙動を示すと考えられるHOP共結晶においてもHOPアルカリ金属塩と同様の結果が得られると推定される。

[0077] [粉末X線回折]

株式会社理学の粉末X線装置を使用し、Cu-K $\alpha$  40kV 100mAで測定を行った。その結果を表4、図1、2、3に示す。

[0078] [表4]

|        | サンプル                | 2 $\theta$ (°)               |
|--------|---------------------|------------------------------|
| 実施例 10 | HOP炭酸水素トリナトリウム（共結晶） | 18.4, 27.5, 30.4, 34.6, 40.8 |
| 実施例 11 | HOP炭酸水素ジナトリウム（共結晶）  | 9.2, 18.4, 27.7              |
| 比較例 2  | HOPと炭酸水素ナトリウムを乳鉢で混合 | 30.3, 34.4                   |

[0079] 図1、2、3の結果より、HOPと炭酸水素ナトリウムはアルコール中で混合することで結晶を形成していることがわかった。また、比較例2より、乳鉢で混合したサンプルは一部実施例10と重複するピークが認められるものの他のピークは認められず、全体にブロードなシグナルを示しており、アモルファスを主成分とする物質であった。これら結果より、物理的に混合した場合と異なり、本実施形態のように有機溶媒中で混合することで結晶形成が生じていることが確認された。

[0080] [化学的安定性]

実施例1で作成したHOPジナトリウムとピロロキノリンキノンジナトリウムを試験した。サンプル10mgをテストチューブにいれ、10質量%ア

スコルビン酸水溶液を200  $\mu$ L混合した。その結果、HOPジナトリウムでは色の大きな変化は認められなかった。一方、ピロロキノリンキノンジナトリウムは黒く変色した。この結果から、HOPアルカリ金属塩はピロロキノリンキノン塩と比べて耐変色性に優れることが分かった。また、溶解した状態でHOPアルカリ金属塩と同挙動を示すと考えられるHOP共結晶においてもHOPアルカリ金属塩と同様の結果が得られると推定される。

[0081] 〔錠剤成形〕

実施例1～11で作製したHOPアルカリ金属塩及びHOP共結晶10mgをコメ粉で方いっぱいになるようにつめ、市橋精機株式会社HANDTAB-100(R) 8mM錠剤形を使用して10kNの力をかけることにより、タブレットを作ることができた。このようにHOPアルカリ金属塩及びHOP共結晶は、錠剤成形性に優れ、経口摂取等の用途に好適に用いることができる。

[0082] 〔油との混合〕

実施例1～11で作製したHOPアルカリ金属塩及びHOP共結晶1mgを中佐脂肪酸オイル10mLに混合した。その後、30℃で1日放置したが色などの変化は認められなかった。このようにHOPアルカリ金属塩及びHOP共結晶は、油中での安定性に優れ、化粧品やソフトカプセルに使用する用途の基材等の用途に好適に用いることができる。

[0083] 本出願は、2015年1月19日に日本国特許庁へ出願された日本特許出願（特願2015-007414）に基づくものであり、その内容はここに参照として取り込まれる。

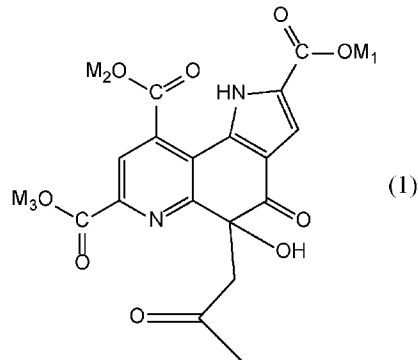
**産業上の利用可能性**

[0084] 本発明のHOPアルカリ金属塩及びHOP共結晶は、溶解度が高く、医薬品、試薬、培地、食品、化粧品、樹脂添加剤分野で 사용할 ことができる。

## 請求の範囲

[請求項1] 下記式（１）で示される、アルカリ金属塩。

[化1]



（上記式（１）中、 $M_1$ 、 $M_2$ 、及び $M_3$ は、各々独立して、水素又はアルカリ金属を示し、 $M_1$ 、 $M_2$ 、及び $M_3$ の１つ以上が、アルカリ金属である。）

[請求項2]  $M_1$ 、 $M_2$ 及び $M_3$ の２つ以上が、アルカリ金属である、請求項１記載のアルカリ金属塩。

[請求項3] 前記アルカリ金属が、ナトリウムである、請求項１又は２記載のアルカリ金属塩。

[請求項4] 請求項１～３のいずれか１項に記載のアルカリ金属塩と、アルカリ金属炭酸水素塩及び／又はアルカリ金属炭酸塩と、を含む、共結晶。

[請求項5] ５－ヒドロキシ－４－オキソ－５－（２－オキソプロピル）－４，５－ジハイドロ－１Ｈ－ピロロ〔２，３－ｆ〕キノリン－２，７，９－トリカルボン酸と、アルカリ金属炭酸水素塩及び／又はアルカリ金属炭酸塩と、を溶媒中で混合する混合工程を有する、

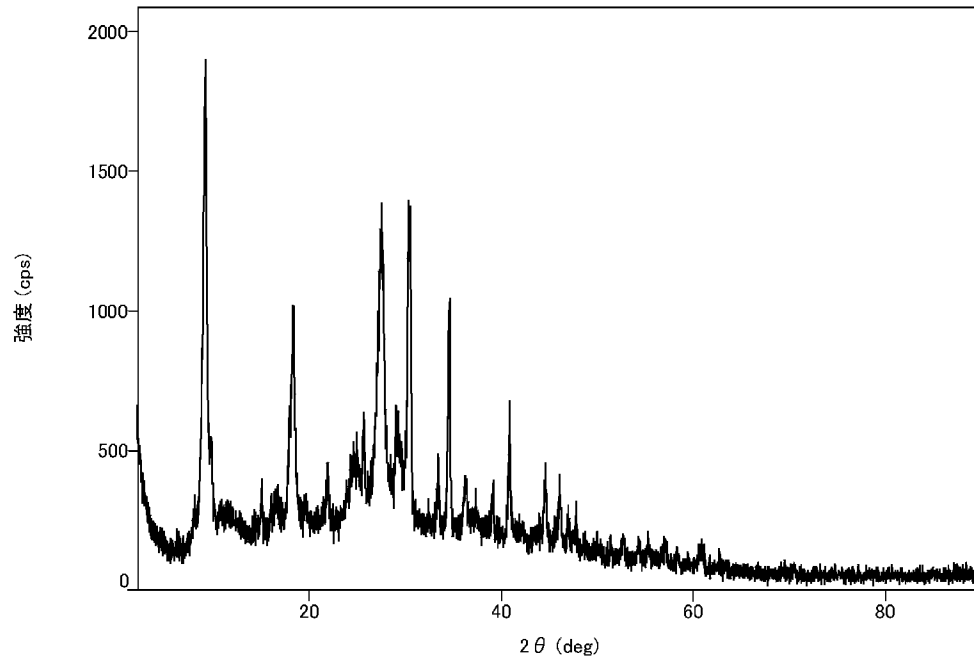
５－ヒドロキシ－４－オキソ－５－（２－オキソプロピル）－４，５－ジハイドロ－１Ｈ－ピロロ〔２，３－ｆ〕キノリン－２，７，９－トリカルボン酸のアルカリ金属塩の製造方法。

[請求項6] 前記溶媒が、水を含む、請求項５に記載の製造方法。

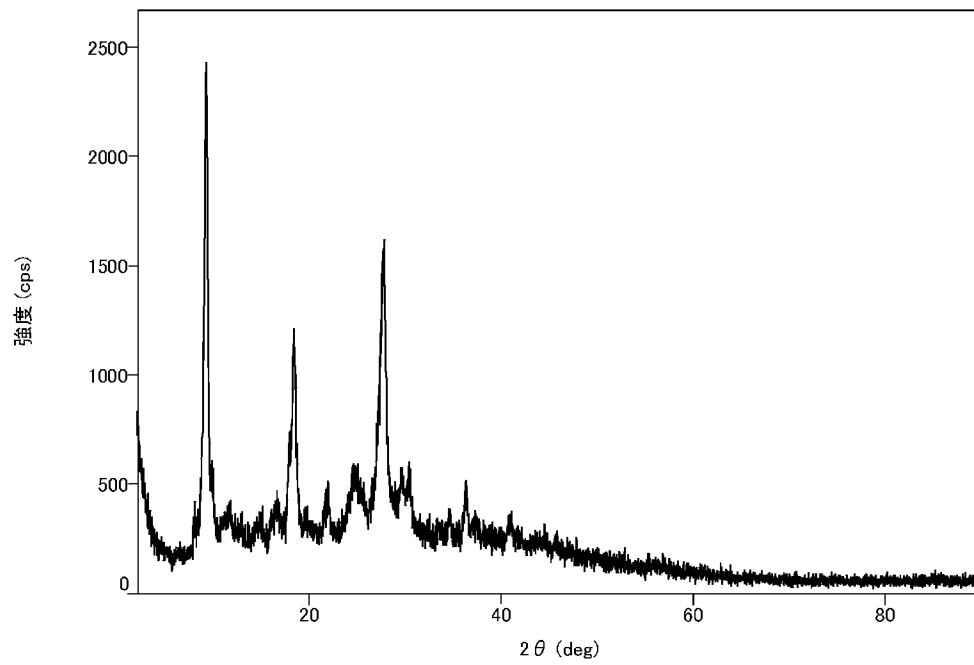
[請求項7] 前記溶媒が、有機溶媒を含む、請求項５に記載の製造方法。



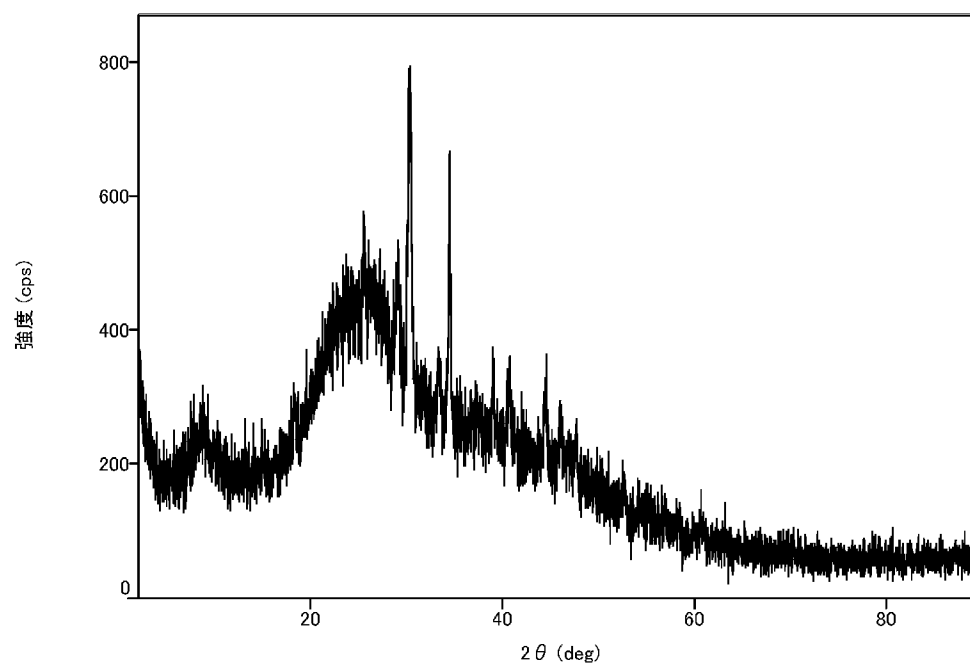
[図1]



[図2]



[図3]



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2015/085064

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D471/04(2006.01)i, A61K31/4745(2006.01)n, A61P43/00(2006.01)n

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)

C07D471/00, A61K31/00, A61P43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

|                           |           |                            |           |
|---------------------------|-----------|----------------------------|-----------|
| Jitsuyo Shinan Koho       | 1922-1996 | Jitsuyo Shinan Toroku Koho | 1996-2016 |
| Kokai Jitsuyo Shinan Koho | 1971-2016 | Toroku Jitsuyo Shinan Koho | 1994-2016 |

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         | JP 6-128259 A (Mitsubishi Gas Chemical Co., Inc.),<br>10 May 1994 (10.05.1994),<br>paragraphs [0007] to [0008]; examples<br>(Family: none)                                                                                  | 1-7                   |
| X         | SALISBURY, S. A. et al., A novel coenzyme from<br>bacterial primary alcohol dehydrogenases,<br>Nature, 1979, 280(5725), p.843-844, page 844,<br>compound I                                                                  | 1-7                   |
| X         | COREY, E. J. et al., Total synthesis of the<br>quinonoid alcohol dehydrogenase coenzyme (1) of<br>methylophilic bacteria, Journal of the<br>American Chemical Society, 1981, 103(18),<br>p.5599-5600, page 5599, compound 9 | 1-7                   |

☒ 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  
03 March 2016 (03.03.16)

Date of mailing of the international search report  
15 March 2016 (15.03.16)

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/JP2015/085064

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                       | Relevant to claim No. |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X         | GAINOR, James A. et al., Total synthesis of methoxatin, the coenzyme of methanol dehydrogenase and glucose dehydrogenase, Journal of Organic Chemistry, 1981, 46(21), p.4317-4319, page 4317, compound 2 | 1-7                   |

## A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int.Cl. C07D471/04(2006.01)i, A61K31/4745(2006.01)n, A61P43/00(2006.01)n

## 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））

Int.Cl. C07D471/00, A61K31/00, A61P43/00

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 | 1971-2016年 |
| 日本国実用新案登録公報 | 1996-2016年 |
| 日本国登録実用新案公報 | 1994-2016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<br>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<br>請求項の番号 |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| X               | JP 6-128259 A（三菱瓦斯化学株式会社）1994.05.10, [0007] - [0008]、実施例（ファミリーなし）                                                                        | 1-7            |
| X               | SALISBURY, S. A. et al., A novel coenzyme from bacterial primary alcohol dehydrogenases, Nature, 1979, 280(5725), p.843-844, 第844頁の化合物 I | 1-7            |

☒ 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。

## \* 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矛盾するものではなく、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

03.03.2016

国際調査報告の発送日

15.03.2016

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（ISA/J P）

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

前田 憲彦

4H

8318

電話番号 03-3581-1101 内線 3443

| C (続き) . 関連すると認められる文献 |                                                                                                                                                                                                              |                |
|-----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| 引用文献の<br>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<br>請求項の番号 |
| X                     | COREY, E. J. et al., Total synthesis of the quinonoid alcohol dehydrogenase coenzyme (1) of methylotrophic bacteria, Journal of the American Chemical Society, 1981, 103(18), p.5599-5600, 第 5 5 9 9 頁の化合物 9 | 1-7            |
| X                     | GAINOR, James A. et al., Total synthesis of methoxatin, the coenzyme of methanol dehydrogenase and glucose dehydrogenase, Journal of Organic Chemistry, 1981, 46(21), p.4317-4319, 第 4 3 1 7 頁の化合物 2         | 1-7            |