

(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
2014年7月3日(03.07.2014)



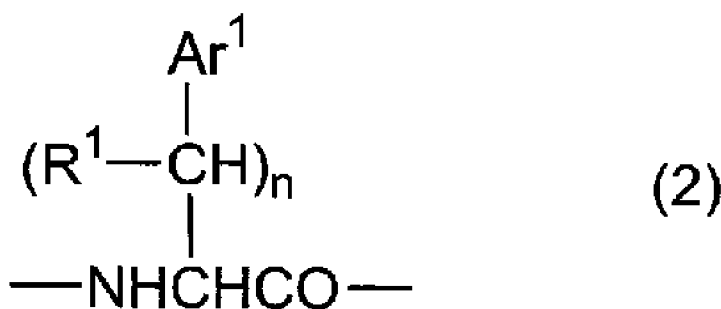
(10) 国際公開番号
WO 2014/103481 A1

- (51) 国際特許分類:
C07K 7/64 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)
 - (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/078259
 - (22) 国際出願日: 2013年10月18日(18.10.2013)
 - (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 2012-284169 2012年12月27日(27.12.2012) JP
特願 2013-061722 2013年3月25日(25.03.2013) JP
 - (71) 出願人: 独立行政法人科学技術振興機構 (THE JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY) [JP/JP]; 〒3320012 埼玉県川口市本町4丁目1番8号 Saitama (JP).
 - (72) 発明者: 金井 求 (KANAI, Motomu); 〒1120015 東京都文京区目白台3-9-2-203 Tokyo (JP). 相馬 洋平 (SOMA, Yohei); 〒1130021 東京都文京区本駒込1-1-27-904 Tokyo (JP). 新井 唯正 (ARAI, Tadamasu); 〒2510012 神奈川県藤沢市村岡東1-7-5-301 Kanagawa (JP). 佐々木 大輔 (SASAKI, Daisuke); 〒1120001 東京都文京区白山2-20-5-308 Tokyo (JP). 小林 由紀 (KOBAYASHI, Yuki); 〒1700001 東京都豊島区西巢鴨1-13-9 Tokyo (JP).
 - (74) 代理人: 特許業務法人アルガ特許事務所 (THE PATENT CORPORATE BODY ARUGA PATENT OFFICE); 〒1030013 東京都中央区日本橋人形町1丁目3番8号 沢の鶴人形町ビル 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, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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, 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:
— 国際調査報告 (条約第21条(3))

[続葉有]

(54) Title: CYCLIC PEPTIDE AND PHARMACEUTICAL PRODUCT CONTAINING SAME

(54) 発明の名称: 環状ペプチド及びこれを含有する医薬



(57) Abstract: Provided is a novel compound which has excellent Aβ aggregation inhibitory activity and is useful as a pharmaceutical product. A cyclic peptide comprising the amino acid sequence represented by formula (1), wherein an α-amino group at the amino terminal and a carboxyl group at the carboxyl terminal of the amino acid sequence are linked with each other by a peptide bond; or a salt of the cyclic peptide. X-Leu-Val-Y1-Y2 (1) (In formula (1), X represents Lys, Arg, His, Ala, Gly, Ser or Thr; and Y1 and Y2 may be the same or different and each represents a group represented by formula (2).) (In formula (2), Ar1 represents an aromatic hydrocarbon group or an aromatic heterocyclic group; R1 represents a hydrogen atom, an alkyl group, a cycloalkyl group, a haloalkyl group, an aromatic hydrocarbon group or an aromatic heterocyclic group; and n represents an integer of 0-2.)

(57) 要約: 優れた Aβ凝集阻害作用を有し、医薬として有用な新たな化合物の提供。次式(1)で表されるアミノ酸配列からなり、該アミノ酸配列のアミノ末端のα-アミノ基とカルボキシル末端のカルボキシル基がペプチド結合で連結された環状ペプチド又はその塩。X-Leu-Val-Y1-Y2 (1) (式(1)中、XはLys、Arg、His、Ala、Gly、Ser又はThrを示し、Y1及びY2は同一又は異なって、式(2) (式(2)中、Ar1は、芳香族炭化水素基又は芳香族複素環式基を示し; R1は、水素原子、アルキル基、シクロアルキル基、ハロアルキル基、芳香族炭化水素基又は芳香族複素環式基を示し; nは0~2の整数を示す。)で表される基を示す。)



WO 2014/103481 A1

- 明細書の別個の部分として表した配列リスト
(規則 5.2(a))

明 細 書

発明の名称：環状ペプチド及びこれを含有する医薬

技術分野

[0001] 本発明は、環状ペプチド及びこれを含有するアルツハイマー病等のアミロイド沈着が関与する疾患の予防又は治療用医薬に関する。

背景技術

[0002] アルツハイマー病は神経細胞の変性、脱落と共に老人斑の形成と神経原線維変化の病理学的特徴を有する神経変性疾患である。アルツハイマー病は記憶、認識、思考、判断等が進行的に損失する認知症状を引き起こし、最終的に死に至らせる。

脳内に沈着した老人斑を構成する主たる蛋白質はアミロイド β ペプチド（ $A\beta$ ）であり、39-43個のアミノ酸から成る。 $A\beta$ は細胞毒性を示し、これによりアルツハイマー病が引き起こされると考えられている（非特許文献1）。細胞から分泌される $A\beta$ は主に40個或いは42個のアミノ酸から成るポリペプチドであり、特に42個から成る $A\beta$ はより凝集性が強く早期に脳内に沈着すること、及び細胞毒性が強いことが知られている（非特許文献2）。従って、 $A\beta$ の凝集を阻害する薬剤は、アルツハイマー病予防治療薬として期待されている。

[0003] $A\beta$ の部分配列であるL-[Lys-Leu-Val-Phe-Phe]は、 $A\beta$ に対して凝集阻害活性を有することが知られている（非特許文献3）。

先行技術文献

非特許文献

[0004] 非特許文献1：J. Hardy, D. J. Selkoe, Science 2002, 297, 353.

非特許文献2：J. Biol. Chem., 1995, Vol. 270, p7013

非特許文献3：J. Biol. Chem., 1996, Vol. 271, p8545

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] しかしながら、前記ペптаペチドのAβ凝集阻害活性は極めて弱く、さらに天然型アミノ酸からなるため、代謝安定性の低さが懸念される。

従って、本発明の課題は、優れたAβ凝集阻害作用を有し、医薬として有用な新たな化合物を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0006] そこで本発明者は、前記ペптаペチドに着目し、種々の検討を行った結果、全く意外にも、前記ペптаペチドを環化した環状ペптаペチドが鎖状ペптаペチドに比べて顕著に優れたAβ凝集阻害活性を有し、その一部のアミノ酸を他のアミノ酸に置換した環状ペптаペチドはさらに優れたAβ凝集阻害活性を有し、アルツハイマー病等のアミロイド沈着に起因する種々の疾患の予防治療薬として有用であることを見出し、本発明を完成した。

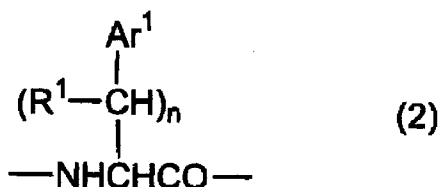
[0007] すなわち、本発明は、次の[1]～[17]を提供するものである。

[0008] [1] 次式(1)で表されるアミノ酸配列からなり、該アミノ酸配列のアミノ末端のα-アミノ基とカルボキシル末端のカルボキシル基がペптаペチド結合で連結された環状ペптаペチド又はその塩。

[0009] X-Leu-Val-Y¹-Y² (1)

[0010] (式(1)中、XはLys、Arg、His、Ala、Gly、Ser又はThrを示し、Y¹及びY²は同一又は異なって、式(2)

[0011] [化1]



[0012] (式(2)中、Ar¹は、芳香族炭化水素基又は芳香族複素環式基(ここで、芳香族炭化水素基及び芳香族複素環式基は、アルキル基、シクロアルキル基、ハロアルキル基、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、アルコキシ基、芳香族炭化水素基、芳香族複素環式基及びアミノ基から選ばれる1～5個の置換基を有していてもよい)を示し; R¹は、水素原子、アルキル基、シクロアルキル

基、ハロアルキル基、芳香族炭化水素基又は芳香族複素環式基（ここで、芳香族炭化水素基及び芳香族複素環式基は、アルキル基、シクロアルキル基、ハロアルキル基、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、アルコキシ基、芳香族炭化水素基、芳香族複素環式基及びアミノ基から選ばれる1～5個の置換基を有していてもよい）を示し；nは0～2の整数を示す。）で表される基を示す。）

[2] Xが、Lys又はAlaである [1] 記載の環状ペプチド又はその塩。

[3] A r¹及びR¹で示される芳香族炭化水素基が、炭素数6～14の芳香族炭化水素基である [1] 又は [2] 記載の環状ペプチド又はその塩。

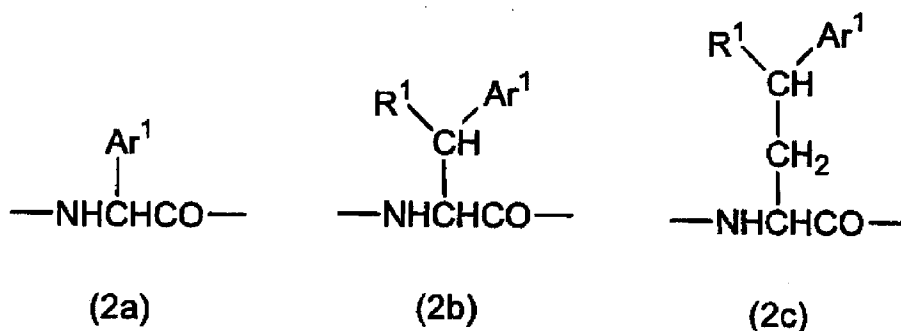
[4] A r¹及びR¹で示される芳香族複素環式基が、窒素原子、酸素原子及び硫黄原子から選ばれるヘテロ原子を1～3個含む総炭素数2～9の芳香族複素環式基である [1] ～ [3] のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩。

[5] A r¹及びR¹で示される芳香族炭化水素基が、フェニル基、ナフチル基及びビフェニル基から選ばれる基である [1] ～ [4] のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩。

[6] A r¹及びR¹で示される芳香族複素環式基が、ピロリル基、フラニル基、チエニル基、イミダゾリル基、オキサゾリル基、チアゾリル基、ピリジル基、ピリミジニル基及びインドリル基から選ばれる基である [1] ～ [5] のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩。

[7] 式 (2) で表される基が、式 (2 a)、(2 b) 又は (2 c)

[0013] [化2]



- [0014] (式(2a)、(2b)、(2c)中、R¹及びA r¹は前記と同じ)で表される基である[1]～[6]のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩。
- [8] [1]～[7]のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩を有効成分とする、アミロイドβペプチド凝集阻害剤。
- [9] [1]～[7]のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩を含有する医薬。
- [10] アルツハイマー病予防治療薬である[9]記載の医薬。
- [11] [1]～[7]のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩及び薬学的に許容される担体を含有する医薬組成物。
- [12] アルツハイマー病予防治療用医薬組成物である[11]記載の医薬組成物。
- [13] 疾患を予防又は治療するための[1]～[7]のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩。
- [14] 疾患が、アルツハイマー病である[13]記載の環状ペプチド又はその塩。
- [15] 医薬製造のための[1]～[7]のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩の使用。
- [16] 医薬が、アルツハイマー病である[15]記載の使用。
- [17] [1]～[7]のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩を投与することを特徴とするアルツハイマー病の予防又は治療方法。

発明の効果

- [0015] 式(1)で表される環状ペプチド又はその塩は、極めて優れたAβ凝集阻害活性を有し、アミロイドの沈着に起因する疾患、例えばアルツハイマー病、ダウン症等の予防治療用医薬として有用である。

発明を実施するための形態

- [0016] 本発明の環状ペプチドは、前記式(1)で表されるアミノ酸配列からなり、該アミノ酸配列のアミノ末端のα-アミノ基とカルボキシル末端のカルボ

キシル基がペプチド結合で連結された環状ペプチドである。

本発明の環状ペプチドは、式（１）中の Y^1 及び Y^2 の両方が芳香族アミノ酸残基である点に特徴がある。

[0017] 式（１）中、 X はLys、Arg、His、Ala、Gly、Ser又はThrを示すが、Lys又はAlaが好ましい。

[0018] 式（１）中、 Y^1 及び Y^2 は、同一又は異なって、前記式（２）で表される基を示す。式（２）中、 $A r^1$ は、芳香族炭化水素基又は芳香族複素環式基（ここで、芳香族炭化水素基及び芳香族複素環式基は、アルキル基、シクロアルキル基、ハロアルキル基、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、アルコキシ基、芳香族炭化水素基、芳香族複素環式基及びアミノ基から選ばれる１～５個の置換基を有していてもよい）を示す。また、 R^1 は、水素原子、アルキル基、シクロアルキル基、ハロアルキル基、芳香族炭化水素基又は芳香族複素環式基（ここで、芳香族炭化水素基及び芳香族複素環式基は、アルキル基、シクロアルキル基、ハロアルキル基、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、アルコキシ基、芳香族炭化水素基、芳香族複素環式基及びアミノ基から選ばれる１～５個の置換基を有していてもよい）を示す。

[0019] $A r^1$ 及び R^1 で示される芳香族炭化水素基としては、炭素数６～１４の芳香族炭化水素基が挙げられ、炭素数６～１２の芳香族炭化水素基が好ましい。芳香族炭化水素基の具体例としては、フェニル基、インデニル基、ナフチル基、ビフェニル基等が挙げられ、フェニル基、ナフチル基、ビフェニル基がより好ましい。なお、 $A r^1$ と R^1 の芳香族炭化水素基は、同一でも異なってもよい。

[0020] $A r^1$ 及び R^1 で示される芳香族複素環式基としては、窒素原子、酸素原子及び硫黄原子から選ばれるヘテロ原子を１～３個有する芳香族複素環式基が挙げられ、窒素原子、酸素原子及び硫黄原子から選ばれるヘテロ原子を１～３個有し総炭素数２～９の芳香族複素環式基が好ましい。芳香族複素環式基の具体例としては、ピロリル基、フラニル基、チエニル基、イミダゾリル基、オキサゾリル基、チアゾリル基、トリアジニル基、ピリジル基、ピリミジニ

ル基、インドリル基、ベンズイミダゾリル基等が挙げられ、ピロリル基、フラニル基、チエニル基、イミダゾリル基、オキサゾリル基、チアゾリル基、ピリジル基、ピリミジニル基、インドリル基が好ましく、イミダゾリル基、ピリジル基がさらに好ましい。なお、Ar¹とR¹の芳香族複素環式基は、同一でも異なってもよい。

[0021] 前記芳香族炭化水素基及び前記芳香族複素環式基は、アルキル基、シクロアルキル基、ハロアルキル基、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、アルコキシ基、芳香族炭化水素基、芳香族複素環式基及びアミノ基から選ばれる1～5個の置換基を有していてもよい。ここで、アルキル基としては炭素数1～6のアルキル基が挙げられ、炭素数1～4のアルキル基が好ましい。当該アルキル基の具体例としては、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、イソプロピル基、*n*-ブチル基、イソブチル基、*sec*-ブチル基、*tert*-ブチル基等が挙げられる。シクロアルキル基としては、炭素数3～8のシクロアルキル基が挙げられ、炭素数3～8のシクロアルキル基とは炭素及び水素からなる炭素数が3～8個の一価の環状の飽和炭化水素基を意味し、炭素数3～6のシクロアルキル基が好ましい。当該シクロアルキル基の具体例としては、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基又はシクロヘキシル基が挙げられる。ハロアルキル基としては、1個以上のハロゲン原子で任意の水素が置換された炭素数1～6のアルキル基を意味し、炭素数1～4のハロアルキル基が好ましい。当該ハロアルキル基の具体例としては、フルオロメチル基、ジフルオロメチル基、ジクロロメチル基、トリフルオロメチル基、トリクロロメチル基、2, 2, 2-トリフルオロエチル基又は2, 2, 2-トリクロロエチル基が挙げられる。ハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子が挙げられる。アルコキシ基としては、炭素数1～6のアルコキシ基が挙げられ、炭素数1～4のアルコキシ基が好ましい。当該アルコキシ基の具体例としては、メトキシ基、エトキシ基、プロピルオキシ基、イソプロピルオキシ基等が挙げられる。芳香族炭化水素基としては、炭素数6～14の芳香族炭化水素基が挙げられ、炭素数6～12

の芳香族炭化水素基が好ましい。芳香族炭化水素基の具体例としては、フェニル基、インデニル基、ナフチル基、ビフェニル基等が挙げられ、フェニル基、ナフチル基、ビフェニル基がより好ましい。芳香族複素環式基としては、窒素原子、酸素原子及び硫黄原子から選ばれるヘテロ原子を1～3個有する芳香族複素環式基が挙げられ、窒素原子、酸素原子及び硫黄原子から選ばれるヘテロ原子を1～3個有し総炭素数2～9の芳香族複素環式基が好ましい。芳香族複素環式基の具体例としては、ピロリル基、フラニル基、チエニル基、イミダゾリル基、オキサゾリル基、チアゾリル基、トリアジニル基、ピリジル基、ピリミジニル基、インドリル基、ベンズイミダゾリル基等が挙げられ、ピロリル基、フラニル基、チエニル基、イミダゾリル基、オキサゾリル基、チアゾリル基、ピリジル基、ピリミジニル基、インドリル基が好ましく、イミダゾリル基、ピリジル基がさらに好ましい。これらの置換基は、前記芳香族炭化水素基又は芳香族複素環式基上に1～5個あってもよいが、1又は2個が好ましい。

[0022] A^{r1}及びR¹の芳香族炭化水素基、芳香族複素環式基の好ましい具体例としては、フェニル基、ナフチル基、4-フルオロフェニル基等のハロゲノフェニル基、ヒドロキシフェニル基、アミノフェニル基、C₁₋₆アルキルフェニル基、C₃₋₈シクロアルキルフェニル基、C₁₋₄ハロアルキルフェニル基、C₁₋₄アルコキシフェニル基、ビフェニル-4-イル基、ビフェニル-3-イル基、ビフェニル-2-イル基等のビフェニル基、3'-ヒドロキシビフェニル基等のヒドロキシビフェニル基、ピリジルフェニル基、ピリミジニルフェニル基、ピリジル基、ピロリル基、フラニル基、チエニル基、イミダゾリル基、オキサゾリル基、チアゾリル基、インドリル基が挙げられる。

[0023] R¹で示されるアルキル基としては炭素数1～6のアルキル基が挙げられ、炭素数1～4のアルキル基が好ましい。当該アルキル基の具体例としては、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基等が挙げられる。シクロアルキル基としては、炭素数3～8のシクロアルキル基が挙げられ、炭素

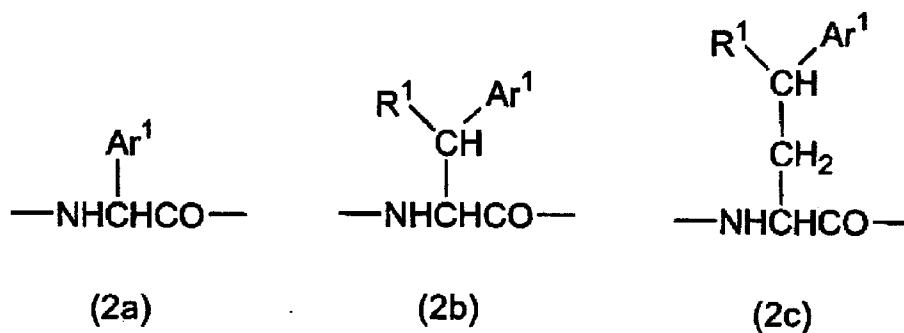
数3～6のシクロアルキル基が好ましく、例えば、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基又はシクロヘキシル基が挙げられる。ハロアルキル基としては、炭素数1～6のハロアルキル基が挙げられ、炭素数1～4のハロアルキル基が好ましく、例えば、フルオロメチル基、ジフルオロメチル基、ジクロロメチル基、トリフルオロメチル基、トリクロロメチル基、2, 2, 2-トリフルオロエチル基又は2, 2, 2-トリクロロエチル基が挙げられる。アルコキシ基としては炭素数1～6のアルコキシ基が挙げられ、例えばメトキシ基、エトキシ基、イソプロピルオキシ基が挙げられる。

[0024] R¹としては、水素原子、前記芳香族炭化水素基又は前記芳香族複素環式基がより好ましい。

[0025] 式(2)中のnは0～2の整数を示すが、1がより好ましい。

[0026] 式(2)で表される基の好ましい例として、次の式(2a)、(2b)又は(2c)

[0027] [化3]



[0028] (式(2a)、(2b)、(2c)中、R¹及びAr¹は前記と同じ)

で表される基を挙げることができる。ここで、式(2b)、(2c)のR¹としては、水素原子、前記芳香族炭化水素基又は前記芳香族複素環式基が好ましい。R¹及びAr¹の芳香族炭化水素基、芳香族複素環式基の具体例としては、フェニル基、ナフチル基、4-フルオロフェニル基等のハロゲンフェニル基、ヒドロキシフェニル基、アミノフェニル基、C₁₋₆アルキルフェニル基、C₃₋₈シクロアルキルフェニル基、C₁₋₄ハロアルキルフェニル基、C₁₋₄アル

コキシフェニル基、ビフェニル-4-イル基、ビフェニル-3-イル基、ビフェニル-2-イル基等のビフェニル基、3'-ヒドロキシビフェニル基等のヒドロキシビフェニル基、ピリジル基、イミダゾリル基、ピリジルーフェニル基、ピリミジニルーフェニル基が挙げられる。

[0029] また、式(1)の環状ペプチドにおいて、さらに好ましい態様としては、式(1a)で表されるアミノ酸配列からなり、該アミノ酸配列のアミノ末端の α -アミノ基とカルボキシル末端のカルボキシル基がペプチド結合で連結された環状ペプチドである。

[0030] X-Leu-Val-Y¹-Phe (1a)

[0031] (式(1a)中、X及びY¹は、前記と同じ)

式(1a)において、XはLys又はAlaが好ましく、Y¹は前記の式(2a)、(2b)又は(2c)であるのが好ましい。

[0032] 式(1)中の各アミノ酸残基は、L体でもD体でもよく、代謝安定性の点からD体が好ましい。また、式(1)の環状ペプチドの塩としては、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、炭酸塩、リン酸塩等の無機酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、コハク酸塩等の有機酸塩等の酸付加塩が挙げられる。

[0033] 式(1)の環状ペプチドの好ましい具体例を挙げる。以下の式において、Phはフェニル基、F-Phはフルオロフェニル基、bi-Phはビフェニル基、Pyはピリジル基、PhEtはフェニルエチル基、NaIはナフチルアラニル基を示す。

cyclo-L-[Lys-Leu-Val-Phe-Phe] (配列番号1)

cyclo-D-[Lys-Leu-Val-Phe-Phe] (配列番号1)

cyclo-D-[Ala-Leu-Val-Phe-Phe] (配列番号2)

cyclo-D-[Lys-Leu-Val-Phe(β Ph)-Phe] (配列番号3)

cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(β, β -FPh)Ala-Phe] (配列番号4)

cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(β, β -Py)Ala-Phe] (配列番号5)

cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-bi-Ph)Ala-Phe] (配列番号6)

cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(3-bi-Ph)Ala-Phe] (配列番号7)

cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(2-bi-Ph)Ala-Phe]	(配列番号8)
cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(1-Nal)-Phe]	(配列番号9)
cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(β -Py)Ala-Phe]	(配列番号10)
cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(2-Py)-Ph)Ala-Phe]	(配列番号11)
cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(Ph)Gly-Phe]	(配列番号12)
cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(Pheth)Gly-Phe]	(配列番号13)
cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-OH)Phe-Phe]	(配列番号14)
cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-NH ₂)Phe-Phe]	(配列番号15)
cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(2-Py)-Ph)Ala-Phe]	(配列番号20)
cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(3-Py)-Ph)Ala-Phe]	(配列番号21)
cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(4-Py)-Ph)Ala-Phe]	(配列番号22)
cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(5-pyrimidine)-Ph)Ala-Phe]	(配列番号23)
cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(3-hydroxyphenyl)-Ph)Ala-Phe]	(配列番号24)

[0034] 本発明の環状ペプチド(1)は、通常の有機合成化学的ペプチド合成法によって製造することができる。有機合成化学的ペプチド合成法は、一般的な官能基の保護、カルボキシル基の活性化、ペプチド結合の形成、保護基の脱保護の手段によって行われる。

[0035] 本発明の環状ペプチド又はその塩は、後記実施例に示すように強力なA β 凝集阻害活性を有し、代謝安定性が高いため、A β 凝集阻害剤として、またヒトを含む動物のアミロイド沈着、A β 凝集が関与する疾患、例えばアルツハイマー病、ダウン症等の予防治療薬として有用である。

[0036] 本発明の環状ペプチドを人体用の医薬として使用する場合、投与量は成人1日当たり1mg~1g、好ましくは10mgから300mgの範囲である。

[0037] 本発明の環状ペプチドを含有する医薬組成物は投与法に応じ適当な製剤を選択し、薬学的に許容される担体を用いて各種製剤の調製法にて調製できる。本発明環状ペプチドを主剤とする医薬組成物の剤形としては例えば錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤や、液剤、シロップ剤、エリキシル剤、油性ないし水性の懸濁液等を経口用製剤として例示できる。

[0038] 注射剤としては製剤中に安定剤、防腐剤、溶解補助剤を使用することもあり、これらの補助剤を含むこともある溶液を容器に収納後、凍結乾燥等によって固形製剤として用時調製の製剤としてもよい。また一回投与量を一の容器に収納してもよく、また多投与量を一の容器に収納してもよい。

[0039] また外用製剤として液剤、懸濁液、乳濁液、軟膏、ゲル、クリーム、ローション、スプレー、貼付剤等を例示できる。

[0040] 固形製剤としては本発明環状ペプチドとともに薬学上許容されている添加物を含み、例えば充填剤類や増量剤類、結合剤類、崩壊剤類、溶解促進剤類、湿潤剤類、潤滑剤類等を必要に応じて選択して混合し、製剤化することができる。

液体製剤としては溶液、懸濁液、乳液剤等を挙げることができるが添加剤として懸濁化剤、乳化剤等を含むこともある。

実施例

[0041] 以下、本発明を実施例を挙げて具体的に説明するが、本発明の範囲は下記実施例に限定されることはない。

[0042] 製造例 1

反応容器に 2-chlorotriethyl chloride resin (400mg)、Fmoc-Phe-OH (232.4mg, 0.6mmol)、1,2-dichloroethane (3mL) および N,N-diisopropylethylamine (420 μ L, 2.4mmol) を順次加え、1時間反応させた。DMF で洗浄後、methanol (400 μ L) および N,N-diisopropylethylamine (278 μ L, 1.5mmol) を加え、20分間振盪した。DMF、DMF-H₂O (1:1) および methanol で十分洗浄した後、真空ポンプで樹脂を乾燥させ、piperidine 処理により切断された Fmoc 発光団量からアミノ酸の置換率を求めた (0.33mmol)。

得られた Fmoc-Phe-O-resin (0.034mmol) に対し、N,N'-Diisopropylcarbodiimide (13.2 μ

L, 0.085 mmol) および 1-hydroxybenzotriazole (13.0 mg, 0.085 mmol) 存在下、Fmocアミノ酸 (0.085 mmol) を縮合し、続いて 20% piperidine/DMF による Fmoc 基除去を行った。本サイクルを繰り返し、保護ペプチド樹脂を構築した。得られた保護ペプチド樹脂全量に対し triisopropylsilane-H₂O-trifluoroacetic acid (2.5:2.5:95) 中で 60 分間攪拌し、濃縮、Et₂O による再沈殿を経て白色固体を得た (5.8 mg)。この粗ペプチドを O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium hexafluorophosphate (HATU, 5.0 mg, 1.3 μmol) および N,N-diisopropylethylamine (4.6 μL, 2.6 μmol) 存在下、DMF (13 mL) 中で 15 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出・brine 洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮した。得られた残渣に対し 20% piperidine/DMF (2 mL) を加え、室温で 5 時間攪拌した。反応混合物に水を加え、酢酸エチルで抽出・brine 洗浄し、硫酸ナトリウムによる乾燥後、濃縮した。得られた残渣を preparative scale HPLC (0.1% aqueous TFA-CH₃CN system) により精製し、凍結乾燥を経て白色無晶形の化合物 1 (cyclo-L-[Lys-Leu-Val-Phe-Phe]) を得た (0.31 mg)。

収率: 1.4%; MALDI-MS (TOF): M_{calc}: 634.3; M+H_{found}: 635.1; 逆相 ODS カラムにおける保持時間 = 24.1 min (column: YMC-Pack ODS-AM (4.6 × 150 mm)、0-100% CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0043] 製造例 2 (化合物 2: cyclo-D-[Lys-Leu-Val-Phe-Phe])

化合物 1 と類似の方法により合成した。収率: 5.2%; MALDI-MS (TOF): M_{calc}: 634.3; M+H_{found}: 635.4; 逆相 ODS カラムにおける保持時間 = 24.1 min (column: YMC-Pack OD

S-AM (4.6 × 150 mm), 0-100% CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0044] 製造例3 (化合物3 : cyclo-D-[Ala-Leu-Val-Phe-Phe])

化合物1と類似の方法により合成した。収率 : 1.3% ; MALDI-MS (TOF) : M_{calc} : 577.3 ; $M+H_{found}$: 578.2 ; 逆相ODSカラムにおける保持時間 = 27.1 min (column : YMC-Pack ODS-AM (4.6 × 150 mm), 0-100% CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0045] 製造例4 (化合物4 : cyclo-D-[Lys-Ala-Val-Phe-Phe])

化合物1と類似の方法により合成した。収率 : 1.8% ; MALDI-MS (TOF) : M_{calc} : 592.3 ; $M+H_{found}$: 593.1 ; 逆相ODSカラムにおける保持時間 = 21.4 min (column : YMC-Pack ODS-AM (4.6 × 150 mm), 0-100% CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0046] 製造例5 (化合物5 : cyclo-D-[Lys-Leu-Ala-Phe-Phe])

化合物1と類似の方法により合成した。収率 : 2.5% ; MALDI-MS (TOF) : M_{calc} : 606.4 ; $M+H_{found}$: 607.1 ; 逆相ODSカラムにおける保持時間 = 21.5 min (column : YMC-Pack ODS-AM (4.6 × 150 mm), 0-100% CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0047] 製造例6 (化合物6 : cyclo-D-[Lys-Leu-Val-Ala-Phe])

化合物1と類似の方法により合成した。収率 : 0.4% ; MALDI-MS (TOF) : M_{calc} : 558.4 ; $M+H_{found}$: 558.7 ; 逆相ODSカラムにおける保持時間 = 19.8 min (column : YMC-Pack ODS-AM (4.6 × 150 mm), 0-100% CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0048] 製造例7 (化合物7 : cyclo-D-[Lys-Leu-Val-Phe-Ala])

化合物1と類似の方法により合成した。収率 : 2.2% ; MALDI-MS

S (TOF) : M_{calc} : 558.4 ; $M+H_{\text{found}}$: 558.7 ; 逆相ODSカラムにおける保持時間 = 20.9min (column : YMC-Pack ODS-AM (4.6 × 150mm), 0-100%CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0049] 製造例 8 (化合物 8 : cyclo-D-[Lys-Leu-Val-Phe(β Ph)-Phe])

化合物 1 と類似の方法により合成した。収率 : 10.9% ; MALDI-MS (TOF) : M_{calc} : 710.4 ; $M+H_{\text{found}}$: 711.4 ; 逆相ODSカラムにおける保持時間 = 25.8min (column : YMC-Pack ODS-AM (4.6 × 150mm), 0-100%CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0050] 製造例 9 (化合物 9 : cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-bi-Ph)Ala-Phe])

化合物 1 と類似の方法により合成した。収率 : 1.9% ; MALDI-MS (TOF) : M_{calc} : 710.4 ; $M+H_{\text{found}}$: 711.3 ; 逆相ODSカラムにおける保持時間 = 27.0min (column : YMC-Pack ODS-AM (4.6 × 150mm), 0-100%CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0051] 製造例 10 (化合物 10 : cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(3-bi-Ph)Ala-Phe])

化合物 1 と類似の方法により合成した。収率 : 2.7% ; MALDI-MS (TOF) : M_{calc} : 710.4 ; $M+H_{\text{found}}$: 711.3 ; 逆相ODSカラムにおける保持時間 = 26.9min (column : YMC-Pack ODS-AM (4.6 × 150mm), 0-100%CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0052] 製造例 11 (化合物 11 : cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(2-bi-Ph)Ala-Phe])

化合物 1 と類似の方法により合成した。収率 : 3.0% ; MALDI-MS (TOF) : M_{calc} : 710.4 ; $M+H_{\text{found}}$: 711.2 ; 逆相ODSカラムにおける保持時間 = 26.5min (column : YMC-Pack ODS-AM (4.6 × 150mm), 0-100%CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0053] 製造例 1 2 (化合物 1 2 : cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(1-Nal)-Phe])

化合物 1 と類似の方法により合成した。収率 : 2 1 % ; MALDI-MS (TOF) : M_{calc} : 684.4 ; $M+Na_{found}$: 707.5 ; 逆相 ODS カラムにおける保持時間 = 25.9 min (column : YMC-Pack ODS-AM (4.6 × 150 mm), 0-100% CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0054] 製造例 1 3 (化合物 1 3 : cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(2-Py)-Ph)Ala-Phe])

化合物 1 と類似の方法により合成した。収率 : 2.2 % ; MALDI-MS (TOF) : M_{calc} : 711.4 ; $M+H_{found}$: 712.1 ; 逆相 ODS カラムにおける保持時間 = 19.9 min (column : YMC-Pack ODS-AM (4.6 × 150 mm), 0-100% CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0055] 製造例 1 4 (化合物 1 4 : cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(3-Py)-Ph)Ala-Phe])

化合物 1 と類似の方法により合成した。収率 : 1.3 % ; MALDI-MS (TOF) : M_{calc} : 711.4 ; $M+H_{found}$: 712.1 ; 逆相 ODS カラムにおける保持時間 = 19.8 min (column : YMC-Pack ODS-AM (4.6 × 150 mm), 0-100% CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0056] 製造例 1 5 (化合物 1 5 : cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(4-Py)-Ph)Ala-Phe])

化合物 1 と類似の方法により合成した。収率 : 2.2 % ; MALDI-MS (TOF) : M_{calc} : 711.4 ; $M+H_{found}$: 712.3 ; 逆相 ODS カラムにおける保持時間 = 19.7 min (column : YMC-Pack ODS-AM (4.6 × 150 mm), 0-100% CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0057] 製造例 1 6 (化合物 1 6 : cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(5-pyrimidine)-Ph)Ala-Phe])

化合物 1 と類似の方法により合成した。収率 : 0.4 % ; MALDI-MS (TOF) : M_{calc} : 712.4 ; $M+H_{found}$: 713.6 ; 逆相 ODS カラ

ムにおける保持時間=22.5min (column: YMC-Pack ODS-AM (4.6×150mm), 0-100%CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0058] 製造例17 (化合物17: cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(3-phenol)-Ph)Ala-Phe])

化合物1と類似の方法により合成した。収率: 1.6%; MALDI-MS (TOF): M_{calc} : 726.4; $M+H_{found}$: 727.5; 逆相ODSカラムにおける保持時間=24.0min (column: YMC-Pack ODS-AM (4.6×150mm), 0-100%CH₃CN in 0.1% aqueous TFA)

[0059] 試験例1 (Aβ凝集阻害試験)

AβのO-アシルイソペプチド(10μM)を含む0.1Mリン酸緩衝液(pH7.4, 50μL)中に、凝集阻害ペプチド溶液(DMSO溶液)を加え(阻害剤終濃度30μM, 1%DMSO)、37℃で任意の時間インキュベート後、反応液の一部(10μL)を、チオフラビンT溶液(50μMチオフラビンT, 10μL)と50mM glycine-NaOHバッファー(pH8.5, 396μL)の混合溶液に加え、直ちに混合しチオフラビンTの蛍光強度を測定した。蛍光強度測定において励起波長として440nm、蛍光波長として480nmを用いた。

[0060] 得られた結果を、コントロールに用いたDMSO溶液の活性を100としたときの凝集阻害比として表1に示した。

[0061]

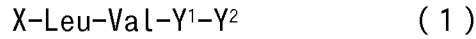
[表1]

化合物	構造	凝集阻害比 (値が低いほど 阻害活性が強い)
コントロール	DMSO (control)	100
鎖状化合物(既知)	L-[Lys-Leu-Val-Phe-Phe] (配列番号1)	107
1	cyclo-L-[Lys-Leu-Val-Phe-Phe] (配列番号1)	63
2	cyclo-D-[Lys-Leu-Val-Phe-Phe] (配列番号1)	65
3	cyclo-D-[Ala-Leu-Val-Phe-Phe] (配列番号2)	66
4	cyclo-D-[Lys-Ala-Val-Phe-Phe] (配列番号15)	88
5	cyclo-D-[Lys-Leu-Ala-Phe-Phe] (配列番号16)	82
6	cyclo-D-[Lys-Leu-Val-Ala-Phe] (配列番号17)	106
7	cyclo-D-[Lys-Leu-Val-Phe-Ala] (配列番号18)	104
8	cyclo-D-[Lys-Leu-Val-Phe(β Ph)-Phe] (配列番号3)	28
9	cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-bi-Ph)Ala-Phe] (配列番号6)	21
10	cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(3-bi-Ph)Ala-Phe] (配列番号7)	23
11	cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(2-bi-Ph)Ala-Phe] (配列番号8)	19
12	cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(1-Nal)-Phe] (配列番号9)	13
13	cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(2-Py)-Ph)Ala-Phe] (配列番号20)	81
14	cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(3-Py)-Ph)Ala-Phe] (配列番号21)	49
15	cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(4-Py)-Ph)Ala-Phe] (配列番号22)	57
16	cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(5-pyrimidine)-Ph)Ala-Phe] (配列番号23)	90
17	cyclo-D-[Lys-Leu-Val-(4-(3-hydroxyphenyl)-Ph)Ala-Phe] (配列番号24)	39

[0062] その結果、化合物1、2、3及び8～17が鎖状化合物に比べて強いA β 凝集阻害活性を示すことがわかった。特に化合物8～12のA β 凝集阻害活性は顕著に高かった。

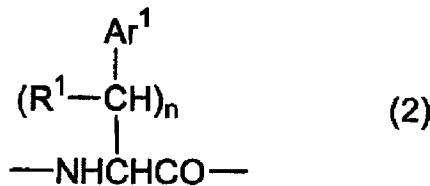
請求の範囲

[請求項1] 次式(1)で表されるアミノ酸配列からなり、該アミノ酸配列のアミノ末端の α -アミノ基とカルボキシル末端のカルボキシル基がペプチド結合で連結された環状ペプチド又はその塩。



(式(1)中、XはLys、Arg、His、Ala、Gly、Ser又はThrを示し、 Y^1 及び Y^2 は同一又は異なって、式(2)

[化1]



(式(2)中、 Ar^1 は、芳香族炭化水素基又は芳香族複素環式基(ここで、芳香族炭化水素基及び芳香族複素環式基は、アルキル基、シクロアルキル基、ハロアルキル基、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、アルコキシ基、芳香族炭化水素基、芳香族複素環式基及びアミノ基から選ばれる1~5個の置換基を有してもよい)を示し; R^1 は、水素原子、アルキル基、シクロアルキル基、ハロアルキル基、芳香族炭化水素基又は芳香族複素環式基(ここで、芳香族炭化水素基及び芳香族複素環式基は、アルキル基、シクロアルキル基、ハロアルキル基、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、アルコキシ基、芳香族炭化水素基、芳香族複素環式基及びアミノ基から選ばれる1~5個の置換基を有してもよい)を示し; n は0~2の整数を示す。)で表される基を示す。)

[請求項2] Xが、Lys又はAlaである請求項1記載の環状ペプチド又はその塩。

[請求項3] Ar^1 及び R^1 で示される芳香族炭化水素基が、炭素数6~14の芳香族炭化水素基である請求項1又は2記載の環状ペプチド又はその塩。

。

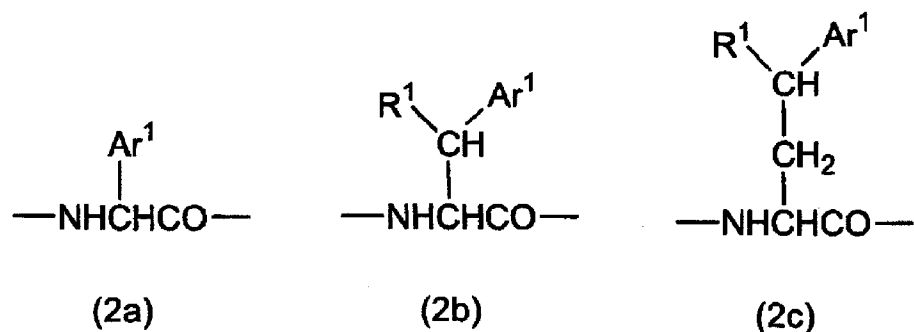
[請求項4] $A r^1$ 及び R^1 で示される芳香族複素環式基が、窒素原子、酸素原子及び硫黄原子から選ばれるヘテロ原子を1～3個含む総炭素数2～9の芳香族複素環式基である請求項1～3のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩。

[請求項5] $A r^1$ 及び R^1 で示される芳香族炭化水素基が、フェニル基、ナフチル基、ハロゲノフェニル基、ヒドロキシフェニル基、アミノフェニル基、 C_{1-6} アルキルフェニル基、 C_{3-8} シクロアルキルフェニル基、 C_{1-4} ハロアルキルフェニル基、 C_{1-4} アルコキシフェニル基、ビフェニル基、ヒドロキシビフェニル基、ピリミジニルフェニル基及びピリジニルフェニル基から選ばれる基である請求項1～4のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩。

[請求項6] $A r^1$ 及び R^1 で示される芳香族複素環式基が、ピロリル基、フラニル基、チエニル基、イミダゾリル基、オキサゾリル基、チアゾリル基、インドリル基及びピリジリル基から選ばれる基である請求項1～5のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩。

[請求項7] 式(2)で表される基が、式(2a)、(2b)又は(2c)

[化2]



(式(2a)、(2b)、(2c)中、 R^1 及び $A r^1$ は前記と同じ)で表される基である請求項1～6のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩。

[請求項8] 請求項1～7のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩を有効成

分とする、アミロイドβペプチド凝集阻害剤。

- [請求項9] 請求項1～7のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩を含有する医薬。
- [請求項10] アルツハイマー病予防治療薬である請求項9記載の医薬。
- [請求項11] 請求項1～7のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩及び薬学的に許容される担体を含有する医薬組成物。
- [請求項12] アルツハイマー病予防治療用医薬組成物である請求項11記載の医薬組成物。
- [請求項13] 疾患を予防又は治療するための請求項1～7のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩。
- [請求項14] 疾患が、アルツハイマー病である請求項13記載の環状ペプチド又はその塩。
- [請求項15] 医薬製造のための請求項1～7のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩の使用。
- [請求項16] 医薬が、アルツハイマー病である請求項15記載の使用。
- [請求項17] 請求項1～7のいずれかに記載の環状ペプチド又はその塩を投与することを特徴とするアルツハイマー病の予防又は治療方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/078259

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 C07K7/64(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i, A61P25/28(2006.01)i

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)
 C07K7/64, A61K38/00, A61P25/28

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	1996-2013
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2013	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2013

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
 CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamIII), UniProt/GeneSeq, PubMed

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 1997/021728 A1 (KAROLINSKA INNOVATIONS AB), 19 June 1997 (19.06.1997), fig. 2 & US 2002/0094957 A1 & US 2004/0157781 A1 & US 6331440 B1 & EP 866805 A	1-16
A	JP 2003-503312 A (Neurochem, Inc.), 28 January 2003 (28.01.2003), claim 7 & US 2006/0199771 A1 & US 7060670 B1 & EP 1173480 A & WO 2000/068263 A2	1-16
A	JP 2003-532656 A (Newrochem, Inc.), 05 November 2003 (05.11.2003), paragraph [0030] & US 2003/0003141 A1 & US 2008/0317834 A1 & EP 1251837 A & WO 2001/085093 A2	1-16

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

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 29 November, 2013 (29.11.13)	Date of mailing of the international search report 10 December, 2013 (10.12.13)
---	--

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/078259

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 11-514333 A (Praecis Pharmaceuticals, Inc.), 07 December 1999 (07.12.1999), claim 16 & US 5817626 A & US 5854215 A & US 5854204 A & US 6303567 B1 & US 6319498 B1 & US 2002/0098173 A1 & US 2004/0005307 A1 & US 2011/0009343 A1 & EP 815134 A & EP 929574 A & EP 1586584 A1 & WO 1996/028471 A1	1-16
A	WO 2002/074931 A2 (UNIVERSITY OF CHICAGO), 26 September 2002 (26.09.2002), table 1 & US 2003/0130484 A1	1-16
A	US 6022859 A (KIESSLING, LL., et. al.), 08 February 2000 (08.02.2000), table 1 (Family: none)	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/078259

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 17
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 17 pertains to a method for treatment of the human body by therapy and thus relates to a subject matter on which this International Searching Authority is not required to carry out a search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

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

Remark on Protest

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

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
 Int.Cl. C07K7/64(2006.01)i, A61K38/00(2006.01)i, A61P25/28(2006.01)i

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. C07K7/64, A61K38/00, A61P25/28

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 1971-2013年
 日本国実用新案登録公報 1996-2013年
 日本国登録実用新案公報 1994-2013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/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN), JSTplus/JMEDplus/JST7580(JDreamIII), UniProt/GeneSeq, PubMed

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
A	WO 1997/021728 A1 (KAROLINSKA INNOVATIONS AB) 1997.06.19, 図 2 & US 2002/0094957 A1 & US 2004/0157781 A1 & US 6331440 B1 & EP 866805 A	1-16

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 29.11.2013	国際調査報告の発送日 10.12.2013
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) 福澤 洋光 電話番号 03-3581-1101 内線 3448

4B 3963

C (続き) . 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
A	JP 2003-503312 A (ニューロシエム インコーポレイテッド) 2003.01.28, 請求項 7 & US 2006/0199771 A1 & US 7060670 B1 & EP 1173480 A & WO 2000/068263 A2	1 - 1 6
A	JP 2003-532656 A (ニューロケム インコーポレーティッド) 2003.11.05, 【0030】段落 & US 2003/0003141 A1 & US 2008/0317834 A1 & EP 1251837 A & WO 2001/085093 A2	1 - 1 6
A	JP 11-514333 A (プレシス ファーマシューティカルズ インコーポレイテ ッド) 1999.12.07, 請求項 1 6 & US 5817626 A & US 5854215 A & US 5854204 A & US 6303567 B1 & US 6319498 B1 & US 2002/0098173 A1 & US 2004/0005307 A1 & US 2011/0009343 A1 & EP 815134 A & EP 929574 A & EP 1586584 A1 & WO 1996/028471 A1	1 - 1 6
A	WO 2002/074931 A2 (UNIVERSITY OF CHICAGO) 2002.09.26, 表 1 & US 2003/0130484 A1	1 - 1 6
A	US 6022859 A (KIESSLING, LL., et. al.) 2000.02.08, 表 1 (ファミリーなし)	1 - 1 6

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求項 17 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
請求項17は、治療による人体の処置方法に関するものであり、PCT 第17条(2)(a)(i)及びPCT 規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってPCT 規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

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

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

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

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