

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02012/074040

発行日 平成26年5月19日 (2014.5.19)

(43) 国際公開日 平成24年6月7日 (2012.6.7)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 D 2 4 1 / 2 8 (2 0 0 6 . 0 1)	C 0 7 D 2 4 1 / 2 8 C S P	4 C 0 8 6
A 6 1 K 3 1 / 4 9 6 5 (2 0 0 6 . 0 1)	A 6 1 K 3 1 / 4 9 6 5 Z N A	
A 6 1 P 2 5 / 2 8 (2 0 0 6 . 0 1)	A 6 1 P 2 5 / 2 8	
A 6 1 P 2 5 / 1 6 (2 0 0 6 . 0 1)	A 6 1 P 2 5 / 1 6	
A 6 1 P 2 5 / 1 4 (2 0 0 6 . 0 1)	A 6 1 P 2 5 / 1 4	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 20 頁) 最終頁に続く		

出願番号 特願2012-546927 (P2012-546927)	(71) 出願人 899000057
(21) 国際出願番号 PCT/JP2011/077762	学校法人日本大学
(22) 国際出願日 平成23年12月1日 (2011.12.1)	東京都千代田区九段南四丁目8番24号
(31) 優先権主張番号 特願2010-269512 (P2010-269512)	(74) 代理人 110000084
(32) 優先日 平成22年12月2日 (2010.12.2)	特許業務法人アルガ特許事務所
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)	(74) 代理人 100077562
	弁理士 高野 登志雄
	(74) 代理人 100096736
	弁理士 中嶋 俊夫
	(74) 代理人 100117156
	弁理士 村田 正樹
	(74) 代理人 100111028
	弁理士 山本 博人
	最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ビグアニド誘導体化合物

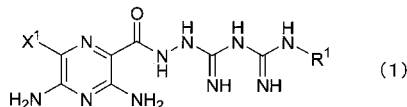
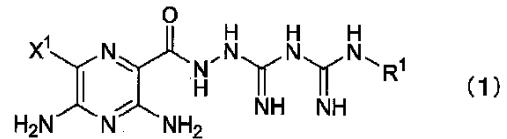
(57) 【要約】

神経変性疾患等に関与しているNMDA受容体及びA S I C 1 aの両者を同時に阻害し、種々の神経系疾患の予防及び治療に有用な新たな化合物を提供する。

(式中、X¹はハロゲン原子を示し、R¹はアルキル基、置換基を有していてもよいアリール基又は置換基を有していてもよいアララルキル基を示す)

で表されるビグアニド誘導体、その塩又はそれらの水和物。

一般式 (1)

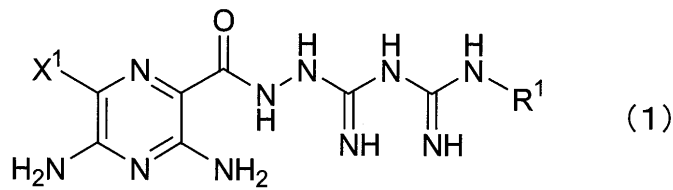


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

一般式 (1)

【化 1】



10

(式中、 X^1 はハロゲン原子を示し、 R^1 はアルキル基、置換基を有していてもよいアリール基又は置換基を有していてもよいアラルキル基を示す)

で表されるピグアニド誘導体、その塩又はそれらの水和物。

【請求項 2】

R^1 が、炭素数 1 ~ 8 のアルキル基；ハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい炭素数 6 ~ 14 のアリール基；又はハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい C_{6-14} アリール - C_{1-4} アルキル基である請求項 1 記載の

20

【請求項 3】

R^1 が、ハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい C_{6-14} アリール - C_{1-4} アルキル基である請求項 1 又は 2 記載のピグアニド誘導体、その塩又はそれらの水和物。

【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項記載の化合物を含有する医薬。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項記載の化合物、及び薬学的に許容される担体を含有する医薬組成物。

30

【請求項 6】

神経変性疾患予防治療薬である請求項 4 又は 5 記載の医薬又は医薬組成物。

【請求項 7】

神経変性疾患が、アルツハイマー病、パーキンソン病又はハンチントン病である請求項 6 記載の医薬又は医薬組成物。

【請求項 8】

神経変性疾患予防治療のための、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項記載の化合物。

【請求項 9】

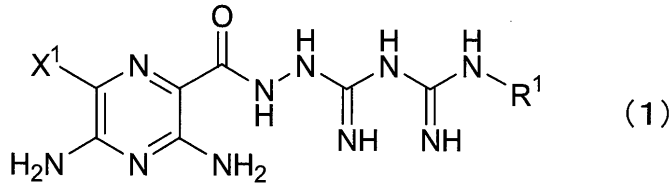
神経変性疾患が、アルツハイマー病、パーキンソン病又はハンチントン病である請求項 8 記載の化合物。

40

【請求項 10】

神経変性疾患予防治療薬製造のための、一般式 (1)

【化 2】



(式中、 X^1 はハロゲン原子を示し、 R^1 はアルキル基、置換基を有していてもよいアリール基又は置換基を有していてもよいアラルキル基を示す)

10

で表されるピグアニド誘導体、その塩又はそれらの水和物の使用。

【請求項 1 1】

R^1 が、炭素数 1 ~ 8 のアルキル基；ハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい炭素数 6 ~ 14 のアリール基；又はハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい C_{6-14} アリール - C_{1-4} アルキル基である請求項 1 0 記載の使用。

【請求項 1 2】

R^1 が、ハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい C_{6-14} アリール - C_{1-4} アルキル基である請求項 1 0 又は 1 1 記載の使用。

20

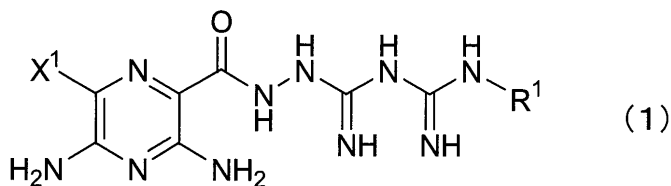
【請求項 1 3】

神経変性疾患が、アルツハイマー病、パーキンソン病又はハンチントン病である請求項 1 2 記載の使用。

【請求項 1 4】

一般式 (1)

【化 3】



30

(式中、 X^1 はハロゲン原子を示し、 R^1 はアルキル基、置換基を有していてもよいアリール基又は置換基を有していてもよいアラルキル基を示す)

で表されるピグアニド誘導体、その塩又はそれらの水和物を投与することを特徴とする、神経変性疾患の予防治療方法。

【請求項 1 5】

40

R^1 が、炭素数 1 ~ 8 のアルキル基；ハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい炭素数 6 ~ 14 のアリール基；又はハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい C_{6-14} アリール - C_{1-4} アルキル基である請求項 1 4 記載の方法。

【請求項 1 6】

R^1 が、ハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい C_{6-14} アリール - C_{1-4} アルキル基である請求項 1 4 又は 1 5 記載の方法。

50

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、アルツハイマー病に代表される神経変性疾患の予防治療薬として有用なピグアニド誘導体化合物に関する。

【背景技術】

【0002】

グルタミン酸は、体内において興奮性の神経伝達物質としても機能しており、脳脊髄損傷、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病などにおける神経変性に基づく精神障害及び運動機能障害に関与している。グルタミン酸の受容体は、N-methyl-D-aspartate（以下、「NMDA」という。）受容体；非NMDA受容体である - amino - 3 - hydroxy - 5 - methyl - 4 - isoxazolepropionic acid（以下「AMPA」という。）受容体及びカイニン酸受容体；代謝共役型受容体に分類され、グルタミン酸又はアスパラギン酸により活性化されてナトリウムイオンやカリウムイオンを細胞内に流入させる。特にNMDA受容体は活性化されるとカルシウムイオンも流入させることが知られており、そのため哺乳動物脳の記憶、学習の形成、神経の発達等に関与するが、一方でNMDA受容体の過剰興奮は細胞内に多量のカルシウムを流入させるために不可逆的な脳の神経細胞の壊死を生じさせ、後遺症として運動障害、知覚障害、異常行動等の障害を引き起こす（非特許文献1～3）。

【0003】

このようにNMDA受容体は種々の神経系疾患に関しており、その阻害剤はこれらの疾患の治療薬として期待されており、メマンチン、大環状化合物やポリアミン化合物が報告されている（特許文献1～3）。

【0004】

一方、酸感受性イオンチャンネル1a（ASIC1a）は、イオンチャンネルの1種であり、これが活性化することで、細胞内にナトリウムが流入し、脱分極化が起こる。細胞膜の脱分極化は、NMDA受容体の活性化を促し、活性化されたNMDA受容体からはナトリウム及びカルシウムが流入する。NMDA受容体を介して流入したカルシウムは、CaMKIIを活性化し、この酵素によりASIC1はリン酸化される。ASIC1はリン酸化されることにより、チャンネル活性が亢進される（非特許文献4～5）。

【0005】

このようにASIC1aは、ナトリウム等のチャンネルの一つであることから、利尿作用、神経変性疾患等に関与しており、その阻害剤であるアミロライドは利尿薬として使用されている他、神経変性疾患に有効であると期待されている（非特許文献6）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】特開2004-262762号公報

【特許文献2】特開2006-206490号公報

【特許文献3】国際公開W02008/059800号公報

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Benveniste, H. ら(1984), J. Neurochem., 43, 1369.

【非特許文献2】Williams K ら(1993), Mol. Pharmacol. 44:851-859.

【非特許文献3】Chris G. Parsons ら(1999), Neuropharmacology 38:85-108.

【非特許文献4】Wemmie A.J. ら (2002), Neuron, 34:463-477.

【非特許文献5】Gao J. ら (2005), Neuron, 48:635-646.

【非特許文献6】Xiong Z.-J. ら (2004), Cell, 118:687-698.

【発明の概要】

10

20

30

40

50

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

しかしながら、前記NMDA受容体阻害剤であるメマンチンやASIC1a阻害薬であるアミロライドの薬理作用は十分なものではなく、より優れたそれぞれの阻害薬の開発が望まれている。一方、NMDA受容体とASIC1aの両者を同時に阻害する薬剤に関する報告は全くない。

従って、本発明は、神経変性疾患等に関与しているNMDA受容体及びASIC1aの両者を同時に阻害し、種々の神経系疾患の予防及び治療に有用な新たな化合物を提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0009】

そこで本発明者は、NMDA受容体とASIC1aの両者を同時に阻害する化合物を探索すべく種々検討を行った結果、ピラジン骨格を有するピグアニド化合物がNMDA受容体及びASIC1aを同時に阻害し、かつ細胞毒性が弱く、アルツハイマー症、パーキンソン病等の神経変性疾患予防治療用の医薬品として有用であることを見出し、本発明を完成した。

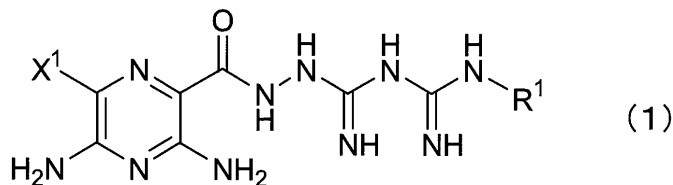
【0010】

すなわち、本発明は、以下の[1]～[16]に係るものである。

[1] 一般式(1)

【0011】

【化1】



【0012】

(式中、X¹はハロゲン原子を示し、R¹はアルキル基、置換基を有していてもよいアリール基又は置換基を有していてもよいアラルキル基を示す)

で表されるピグアニド誘導体、その塩又はそれらの水和物。

[2] R¹が、炭素数1～8のアルキル基；ハロゲン原子、C₁₋₆アルキル基、C₁₋₆アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及びC₁₋₆ハロゲノアルキル基から選ばれる1～3個が置換していてもよい炭素数6～14のアリール基；又はハロゲン原子、C₁₋₆アルキル基、C₁₋₆アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及びC₁₋₆ハロゲノアルキル基から選ばれる1～3個が置換していてもよいC₆₋₁₄アリール-C₁₋₄アルキル基である[1]記載のピグアニド誘導体、その塩又はそれらの水和物。

[3] R¹が、ハロゲン原子、C₁₋₆アルキル基、C₁₋₆アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及びC₁₋₆ハロゲノアルキル基から選ばれる1～3個が置換していてもよいC₆₋₁₄アリール-C₁₋₄アルキル基である[1]又は[2]記載のピグアニド誘導体、その塩又はそれらの水和物。

[4] [1]～[3]のいずれか1項記載の化合物を含有する医薬。

[5] [1]～[3]のいずれか1項記載の化合物、及び薬学的に許容される担体を含有する医薬組成物。

[6] 神経変性疾患予防治療薬である[4]又は[5]記載の医薬又は医薬組成物。

[7] 神経変性疾患が、アルツハイマー病、パーキンソン病又はハンチントン病である[6]記載の医薬又は医薬組成物。

[8] 神経変性疾患予防治療のための、[1]～[3]のいずれか1項記載の化合物。

[9] 神経変性疾患が、アルツハイマー病、パーキンソン病又はハンチントン病である

10

20

30

40

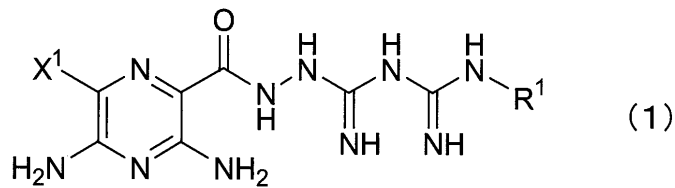
50

[8] 記載の化合物。

[10] 神経変性疾患予防治療薬製造のための、一般式 (1)

【 0 0 1 3 】

【 化 2 】



10

【 0 0 1 4 】

(式中、 X^1 はハロゲン原子を示し、 R^1 はアルキル基、置換基を有していてもよいアリール基又は置換基を有していてもよいアラルキル基を示す)

で表されるピグアニド誘導体、その塩又はそれらの水和物の使用。

[11] R^1 が、炭素数 1 ~ 8 のアルキル基 ; ハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい炭素数 6 ~ 14 のアリール基 ; 又はハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい C_{6-14} アリール - C_{1-4} アルキル基である [1 0]

20

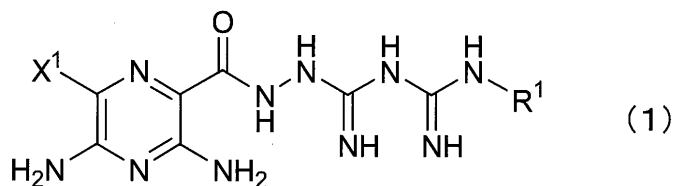
[12] R^1 が、ハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい C_{6-14} アリール - C_{1-4} アルキル基である [1 0] 又は [1 1] 記載の使用。

[13] 神経変性疾患が、アルツハイマー病、パーキンソン病又はハンチントン病である [1 2] 記載の使用。

[14] 一般式 (1)

【 0 0 1 5 】

【 化 3 】



30

【 0 0 1 6 】

(式中、 X^1 はハロゲン原子を示し、 R^1 はアルキル基、置換基を有していてもよいアリール基又は置換基を有していてもよいアラルキル基を示す)

で表されるピグアニド誘導体、その塩又はそれらの水和物を投与することを特徴とする、神経変性疾患の予防治療方法。

40

[15] R^1 が、炭素数 1 ~ 8 のアルキル基 ; ハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい炭素数 6 ~ 14 のアリール基 ; 又はハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい C_{6-14} アリール - C_{1-4} アルキル基である [1 4] 記載の方法。

[16] R^1 が、ハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる 1 ~ 3 個が置換していてもよい C_{6-14} アリール - C_{1-4} アルキル基である [1 4] 又は [1 5] 記載の方法。

50

【発明の効果】

【0017】

本発明化合物(1)は、NMDA受容体及びASIC1aの両者を強力に阻害し、かつ細胞毒性が弱いことから、NMDA受容体又はASIC1aが関与する種々の疾患、例えばアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、脳脊髄損傷、筋萎縮性側索硬化症等の神経変性疾患の予防治療薬として有用である。

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1】アフリカツメガエルを用いたNMDA受容体発現系のスキームを示す。

【発明を実施するための形態】

10

【0019】

本発明化合物は、前記一般式(1)で表されるピグアニド誘導体、その塩又はそれらの水和物である。

一般式(1)中、 X^1 はハロゲン原子を示す。該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、このうち塩素原子が好ましい。

【0020】

R^1 は、アルキル基、置換基を有していてもよいアリール基又は置換基を有していてもよいアラルキル基を示す。該アルキル基としては、炭素数1~8の直鎖又は分岐鎖アルキル基が挙げられ、炭素数1~6の直鎖又は分岐鎖アルキル基がより好ましい。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、*n*-ペンチル基、*n*-ヘキシル基、*n*-オクチル基等が挙げられる。

20

【0021】

置換基を有していてもよいアリール基におけるアリール基としては、 C_{6-14} アリール基が挙げられ、具体的にはフェニル基、ナフチル基、アントラセニル基等が挙げられる。このうち、フェニル基、ナフチル基が好ましく、特にフェニル基が好ましい。

【0022】

該アリール基に置換し得る基としては、ハロゲン原子、アルキル基、アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及びハロゲノアルキル基から選ばれる1~3個が挙げられ、このうちハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる1~3個が好ましい。ここで、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。アルキル基としては、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、*n*-ペンチル基等が挙げられる。アルコキシ基としては、メトキシ基、エトキシ基、*n*-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。ハロゲノアルキル基としては、クロルメチル基、トリフルオロメチル基、トリフルオロエチル基等が挙げられる。

30

【0023】

置換基を有していてもよいアラルキル基におけるアラルキル基としては、 C_{6-14} アリール- C_{1-4} アルキル基が挙げられ、フェニル- C_{1-4} アルキル基、ナフチル- C_{1-4} アルキル基等が好ましい。具体的には、ベンジル基、フェネチル基、フェニルプロピル基、フェニルブチル基等が挙げられる。

40

【0024】

該アラルキル基に置換し得る基としては、ハロゲン原子、アルキル基、アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及びハロゲノアルキル基から選ばれる1~3個が挙げられ、このうちハロゲン原子、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及び C_{1-6} ハロゲノアルキル基から選ばれる1~3個が好ましい。ここで、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。アルキル基としては、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、*n*-ペンチル基等が挙げられる。アルコキシ

50

基としては、メトキシ基、エトキシ基、*n*-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。ハロゲノアルキル基としては、クロルメチル基、トリフルオロメチル基、トリフルオロエチル基等が挙げられる。

【0025】

R¹で示される置換基を有していてもよいアリアル基の好ましい例としては、ハロゲン原子、C₁₋₆アルキル基、C₁₋₆アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及びC₁₋₆ハロゲノアルキル基から選ばれる1~3個が置換していてもよいフェニル基又はナフチル基が挙げられ、さらには、ハロゲン原子、メチル基、メトキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及びトリフルオロメチル基から選ばれる1~3個が置換していてもよいフェニル基又はナフチル基が好ましい。

10

【0026】

R¹で示される置換基を有していてもよいアラルキル基の好ましい例としては、ハロゲン原子、C₁₋₆アルキル基、C₁₋₆アルコキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及びC₁₋₆ハロゲノアルキル基から選ばれる1~3個が置換していてもよいフェニル-C₁₋₄アルキル基又はナフチル-C₁₋₄アルキル基が挙げられ、さらには、ハロゲン原子、メチル基、メトキシ基、ニトロ基、ヒドロキシ基及びトリフルオロメチル基から選ばれる1~3個が置換していてもよいフェニル-C₁₋₄アルキル基又はナフチル-C₁₋₄アルキル基が好ましい。

【0027】

本発明化合物(1)の塩としては、薬学的に許容される塩であればよく、硫酸、硝酸、炭酸、重炭酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸などの無機酸との塩；酢酸、マレイン酸、乳酸、酒石酸、トリフルオロ酢酸などの有機カルボン酸との塩；メタンスルホン酸、ヒドロキシメタンスルホン酸、ヒドロキシエタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、トルエンスルホン酸、タウリン酸などの有機スルホン酸との塩が挙げられる。

20

【0028】

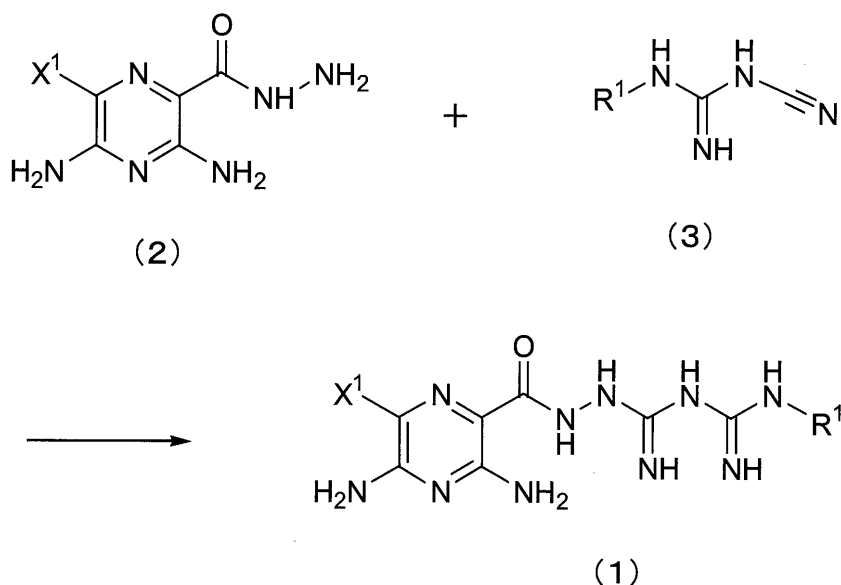
本発明化合物(1)又はその塩の水和物も、本発明に含まれる。

【0029】

本発明化合物(1)は、例えば次の反応式に従って、製造することができる。

【0030】

【化4】



30

40

【0031】

(式中、X¹及びR¹は前記と同じ)

【0032】

すなわち、ピラジンカルボヒドラジド(2)にシアノグアニジン類(3)を反応させる

50

ことにより、本発明のピグアニド誘導体(1)を製造することができる。

【0033】

原料化合物であるシアノグアニジン類(3)は、アミン[R^1-NH_2]にジシアナミド[$NH(CN)_2$]を反応させることにより得ることができる(GB599722(A)、US5534565、EP0161841(B))。

【0034】

ピラジンカルボヒドラジド(2)とシアノグアニジン類(3)との反応は、酸の存在下に行うのが好ましい。用いる酸としては、塩酸、硫酸等が挙げられる。反応は、エタノール等のアルコール溶媒等の有機溶媒中で行うのが好ましい。反応温度は室温から溶媒の還流温度で行うことができる。

【0035】

反応終了後は、洗浄、再結晶、カラムクロマトグラフィー等の手段により、本発明化合物(1)を単離、精製することができる。

【0036】

NMDA受容体とASIC1aとが相互に関連していることは最近判明してきたことであるが、この両者を同時に阻害する化合物を探索することによって神経系疾患の予防治療薬を開発しようとした報告はない。これに対し、本発明化合物(1)は、後記実施例に示すように、NMDA受容体及びASIC1aの両者を強く阻害し、かつ細胞毒性も弱い。従って、本発明化合物(1)は、NMDA受容体又はASIC1aが関与する疾患、例えばアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、脳脊髄損傷、筋萎縮性側索硬化症等の神経変性疾患の予防治療薬として有用である。

【0037】

本発明化合物(1)は、そのまま医薬として用いることもできるが、薬学的に許容される担体とともに医薬組成物として用いることもできる。そのような医薬組成物の形態としては、錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、トローチ剤、シロップ剤、液剤、乳剤、懸濁剤等の経口投与用製剤；注射剤；坐剤；吸入剤；経皮吸収剤；点眼剤；眼軟膏等の製剤が挙げられる。

【0038】

固体製剤とする場合は、添加剤、たとえば、ショ糖、乳糖、セルロース糖、D-マンニトール、マルチトール、デキストラン、デンプン類、寒天、アルギネート類、キチン類、キトサン類、ペクチン類、トランガム類、アラビアゴム類、ゼラチン類、コラーゲン類、カゼイン、アルブミン、リン酸カルシウム、ソルビトール、グリシン、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、グリセリン、ポリエチレングリコール、炭酸水素ナトリウム、ステアリン酸マグネシウム、タルク等が用いられる。さらに、錠剤は必要に応じて通常の削皮を施した錠剤、たとえば糖衣錠、腸溶性コーティング錠、フィルムコーティング錠あるいは二層錠、多層錠とすることができる。

【0039】

半固体製剤とする場合は、動植物性油脂(オリーブ油、トウモロコシ油、ヒマシ油等)、鉱物性油脂(ワセリン、白色ワセリン、固形パラフィン等)、ロウ類(ホホバ油、カルナバロウ、ミツロウ等)、部分合成もしくは全合成グリセリン脂肪酸エステル(ラウリル酸、ミリスチン酸、パルミチン酸等)等が用いられる。

【0040】

液体製剤とする場合は、添加剤、たとえば塩化ナトリウム、グルコース、ソルビトール、グリセリン、オリーブ油、プロピレングリコール、エチルアルコール等が挙げられる。特に注射剤とする場合は、無菌の水溶液、たとえば生理食塩水、等張液、油性液、たとえばゴマ油、大豆油が用いられる。また、必要により適当な懸濁化剤、たとえばカルボキシメチルセルロースナトリウム、非イオン性界面活性剤、溶解補助剤、たとえば安息香酸ベンジル、ベンジルアルコール等を併用してもよい。

【0041】

10

20

30

40

50

これらの製剤の有効成分の量は製剤の0.1～100重量%であり、適当には1～50重量%である。投与量は患者の症状、体重、年齢等により変わりうるが、通常経口投与の場合、本発明化合物(1)として成人一日当たり1～500mg程度であり、これを一回又は数回に分けて投与するのが好ましい。

【実施例】

【0042】

実施例1

3,5-ジアミノ-6-クロロピラジン-2-カルボヒドラジド(101mg、0.5mmol)、1-[(2-フェニルエチル)]-3-シアノグアニジン(94mg、0.5mmol)、エタノール(2mL)及び5NHCl(0.1mL、0.5mmol)の混合物を18時間攪拌加熱還流した。冷却後、濾過して沈殿物を除去し、濾液を減圧濃縮した。残渣にメタノール(2mL)及び5M NaOMeのメタノール溶液(0.2mL)を加えてアルカリ性にした。混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、CHCl₃;メタノール:25%NH₄OH(100:40:4)で溶出し、1-(3,5-ジアミノ-6-クロロピラジンアミド)-5-[2-(フェニルエチル)ピグアニド(化合物1)]を黄色アモルファス粉末を得た(120mg、収率62%)。

10

【0043】

¹H-NMR(500MHz, DMSO-d₆+ D₂O) : 2.81(2H, t, J=7.5Hz), 3.38(2H, t, J=7.5Hz), 7.22(2H, t, J=6.9Hz), 7.27-7.31(3H, m).

¹³C-NMR(125MHz DMSO-d₆) : 36.59, 43.44, 114.42, 118.32, 127.35, 129.56, 130.03, 140.80, 153.81, 155.36, 158.23, 161.60, 163.42.

20

HR-FAB-MS m/z: 391.1510[M+H]⁺(Calcd for C₁₅H₂₀³⁵ClN₁₀O:391.1509), 393.1478[M+H]⁺(Calcd for C₁₅H₂₀³⁷ClN₁₀O:393.1480).

【0044】

実施例2

1-[(2-フェニルエチル)]-3-シアノグアニジンの代わりに、1-[2-(4-クロロフェニル)エチル]-3-シアノグアニジンを用いて、実施例1と同様にして、1-(3,5-ジアミノ-6-クロロピラジンアミド)-5-[2-(4-クロロフェニル)エチル]ピグアニド(化合物2)を黄色アモルファス粉末として得た(86mg、収率40%)。

30

【0045】

¹H-NMR(500MHz, DMSO-d₆+ D₂O) : 2.80(2H, t, J=7.5Hz), 3.36(2H, t, J=7.5Hz), 7.30(2H, br s), 7.34(2H, d, J=8.0Hz).

¹³C-NMR(125MHz, DMSO-d₆) : 35.73, 43.27, 113.99, 118.54, 129.47, 131.95, 132.03, 139.73, 154.00, 155.50, 158.39, 161.92, 164.51.

HRMS(FAB) m/z: Calcd for C₁₅H₁₉³⁵Cl₂N₁₀O:425.1119(M+1). Found: 425.1116(M+1)⁺. Calcd for C₁₅H₁₉³⁵Cl³⁷ClN₁₀O:427.1090(M+1). Found: 427.1094(M+1)⁺. Calcd for C₁₅H₁₉³⁷Cl₂N₁₀O:429.1060(M+1). Found: 429.1107(M+1)⁺.

【0046】

実施例3

1-[(2-フェニルエチル)]-3-シアノグアニジンの代わりに、1-[2-(3,4-ジクロロフェニル)エチル]-3-シアノグアニジンを用いて、実施例1と同様にして、1-(3,5-ジアミノ-6-クロロピラジンアミド)-5-[2-(3,4-ジクロロフェニル)エチル]ピグアニド(化合物3)を黄色アモルファス粉末として得た(144mg、収率63%)。

40

【0047】

¹H-NMR(500MHz, DMSO-d₆+ D₂O) : 2.83(2H, t, J=7.2Hz), 3.38(2H, t, J=7.2Hz), 7.27(1H, br s), 7.53(2H, br s).

¹³C-NMR(125MHz DMSO-d₆) : 35.45, 42.98, 113.97, 118.48, 129.99, 130.62, 131.61, 132.06, 132.14, 142.10, 153.96, 155.47, 158.38, 161.57, 164.28.

50

HR-FAB-MS m/z: 459.0735[M+H]⁺ (Calcd for C₁₅H₁₈³⁵Cl₃N₁₀O: 459.0729), 461.0736[M+H]⁺ (Calcd for C₁₅H₁₈³⁵Cl₂³⁷ClN₁₀O: 461.0700), 463.0711[M+H]⁺ (Calcd for C₁₅H₁₈³⁵Cl³⁷Cl₂N₁₀O: 463.0671), 465.0660[M+H]⁺ (Calcd for C₁₅H₁₈³⁷Cl₃N₁₀O: 465.0641).

【 0 0 4 8 】

実施例 4

1 - [(2 - フェニルエチル)] - 3 - シアノグアニジンの代わりに、1 - [3 - (4 - クロロフェニル) プロピル] - 3 - シアノグアニジンを用いて、実施例 1 と同様にして、1 - (3 , 5 - ジアミノ - 6 - クロロピラジニアミド) - 5 - [3 - (4 - クロロフェニル) プロピル] ビグアニド (化合物 4) を黄色アモルファス粉末として得た (1 3 5 m g 、 収率 6 1 %) 。

【 0 0 4 9 】

IR (KBr) cm⁻¹: 3471, 3318, 3197, 2935, 1604, 1544, 1498, 1427, 1243.

¹H-NMR (DMSO-d₆+ D₂O, 500MHz,) : 1.76 (2H, quintet, J=7.5 Hz), 2.61 (2H, t, J=7.5 Hz), 3.13 (2H, t, J=7.5 Hz), 3.11 (2H, t, J=6.9 Hz), 7.25 (2H, d, J=7.5 Hz), 7.32 (2H, d, J=7.5 Hz).

¹³C-NMR(DMSO-d₆, 125 MHz) : 32.0, 32.98, 41.31, 114.13, 118.42, 129.46, 131.48, 131.60, 142.01, 153.91, 155.43, 158.61, 161.76, 164.10.

HR-FAB-MS m/z: 439.1276 [M+H]⁺ (Calcd for C₁₆H₂₁³⁵Cl₂N₁₀O: 439.1276),

441.1244 [M+H]⁺ (Calcd for C₁₆H₂₁³⁵Cl³⁷ClN₁₀O: 441.1246), 443.1284 [M+H]⁺ (Calcd for C₁₆H₂₁³⁷Cl₂N₁₀O: 443.1217).

【 0 0 5 0 】

実施例 5

1 - [(2 - フェニルエチル)] - 3 - シアノグアニジンの代わりに、1 - [2 - (3 - トリフルオロメチルフェニル) エチル] - 3 - シアノグアニジンを用いて、実施例 1 と同様にして、1 - (3 , 5 - ジアミノ - 6 - クロロピラジニアミド) - 5 - [2 - (3 - トリフルオロメチルフェニル) エチル] ビグアニド (化合物 5) を黄色アモルファス粉末として得た (1 3 5 m g 、 収率 5 9 %) 。

【 0 0 5 1 】

IR (KBr) cm⁻¹: 3324, 3205, 1612, 1546, 1504, 1425, 1328, 1241.

¹H-NMR (DMSO-d₆ +D₂O, 500MHz,) : 2.90 (2H, t, J=7.5 Hz), 3.39 (2H, t, J=7.5 Hz), 7.53-7.64 (4H, m).

¹³C-NMR(DMSO-d₆, 125MHz) : 36.36, 40.96, 115.02, 118.05, (124.09, 124.12 or 124.1, d, J_{C-F}=3.8Hz), (124.56, 126.73, 128.89, 129.94 or 127.81, q, J_{C-F}=271.0Hz), (126.59, 126.62 or 126.0, d, J_{C-F}=3.8Hz), (129.94, 130.18, 130.43, 130.68 or 130.30, q, J_{C-F}=31.27Hz), 130.58, 134.36, 142.49, 153.64, 155.20, 157.98, 161.39, 162.56.

HR-FAB-MS m/z: 459.1382 [M+H]⁺ (Calcd for C₁₆H₁₉³⁵ClF₃N₁₀O: 459.1383), 461.1371 [M+H]⁺ (Calcd for C₁₆H₁₉³⁷ClN₁₀O: 461.1353).

【 0 0 5 2 】

実施例 6 ~ 2 7

実施例 1 ~ 5 と同様にして、表 1 に示す化合物を得た。

【 0 0 5 3 】

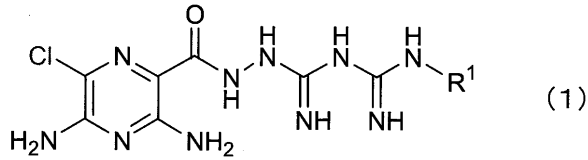
10

20

30

40

【表 1】



実施例	R ¹	実施例	R ¹
1		15	
2		16	
3		17	n-hexyl
4		18	n-butyl
5		19	
6		20	
7		21	
8		22	
9		23	
10	n-hexyl	24	
11		25	n-pentyl
12		26	
13		27	
14	n-octyl		

10

20

30

40

【0054】

試験例 1

本発明化合物がNMDA受容体に及ぼす影響を二電極膜電位固定法 (Voltage Clamp法) により測定した。

(1) NMDA受容体を発現させたアフリカツメガエルの卵母細胞の準備

卵母細胞の発現試験例のスキームを図1に示す。この方法は、益子らの方法 (Masu

50

ko T. et al., *Mol. Pharmacol.*, 55: 957 - 969 (1999); Masuko T. et al., *Neurosci. Lett.*, 371: 30 - 33 (2004); Masuko T. et al., *Chem. Pharm. Bull.*, 53(4): 444 - 447 (2005)) に従って行うことができる。卵母細胞には、NMDA受容体のNR1サブユニット及びNR2サブユニットのcRNAを1:5の割合(NR1が0.1 - 4 ng、NR2が0.5 - 20 ng)で注入し、NMDA受容体を発現した卵母細胞を得た。

(2) この卵母細胞を培地(96 mM NaCl, 2 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 1.8 mM CaCl₂, 5 mM Na-HEPES, 2.5 mMピルビン酸ナトリウム、50 mg/mL ゲンタマイシン、pH = 7.5) 中で1~3日間19 で培養した。

測定日には、卵母細胞中にK⁺-BAPTAを注入した後、記録用バッファー(96 mM NaCl, 2 mM KCl, 1.8 mM BaCl₂, 10 mM Na-HEPES, pH = 7.5)を用いて後述の二電極膜電位固定法により受容体の活性を測定した。

尚、NR1には1種類、NR2にはNR2A~NR2Dの4種類の遺伝子が存在し、NMDA受容体にはNR1/NR2A, NR1/NR2B, NR1/NR2C, NR1/NR2Dのサブタイプがあるが、脳内においてはNR1/NR2Aが最も広く発現していると考えられているため、以下の試験では、NR1/NR2Aに対する活性阻害効果を測定した。

【0055】

(3) 二電極膜電位固定法

二電極膜電位固定法は、益子らの方法(Masuko T. et al., *Neurosci. Lett.*, 371: 30 - 33 (2004)) に従った。二電極電位固定用増幅器CEZ-1250(日本光電)を用いて卵母細胞の膜全体を通過する電流を測定した。電極に3Mの塩化カリウムを満たし、抵抗は0.4 - 4 M とした。また、測定の際は、NMDA受容体のアゴニストとしてグルタミン酸とグリシンを添加した。

(4) 上記方法により得られた卵母細胞に、種々の濃度の化合物を添加し、固定電位をV_h = -70 mV(静止膜電位)とし、NR1/NR2Aに対する活性阻害効果を測定した。

(5) 対照化合物としてメマンチン及びアミロライドを使用して、同様に測定した。例数4~5の卵母細胞から得た値の平均値±S.E.M.を測定値とし、これらの結果から求められたIC₅₀の値を表2に示す。

【0056】

試験例2

本発明化合物がASIC1aに及ぼす影響を二電極膜電位固定法(Voltage Clamp法)により測定した。

【0057】

(1) ASIC1aを発現させたアフリカツメガエルの卵母細胞の準備

HEK293細胞からRNeasy Protect Mini Kit(QIAGEN)を用いて、total RNAを調製した。次に、High Fidelity RNA PCR kit(TAKARA)を用いて、first strand cDNAを合成し、このfirst strand cDNAを鋳型としてPCR法を行った。PCRのプライマーはsense; ATGGAAGTGAAGGCCGAGGAG(配列番号1)とantisense; TCAGCAGGTAAAGTCTCGAACGT(配列番号2)を用い、反応条件は、95 30秒、55 30秒、72 90秒を1サイクルとし、30サイクル行った。PCR産物はPCR2.1ベクターに挿入させ、さらにpcDNA3.1(-)ベクターにサブクローニングした。BamHI酵素で直鎖化されたASIC1aプラスミドからmMessage mMachine Kits(Ambion)を用いて、capped cRNAを合成した。ASIC1aをコードするcapped cRNAを卵母細胞に10 ngずつ注入し、培地(96 mM NaCl, 2 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 1.8 mM CaCl₂, 5 mM Na-HEPES,

10

20

30

40

50

2.5 mMピルビン酸ナトリウム、50 mg/mLゲンタマイシン、pH = 7.5) 中で19で2~3日間インキュベーションした。

(2) ASIC1aの活性測定は標準的な細胞外溶液(96 mM NaCl, 2 mM KCl, 1.8 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 10 mM MES or 5 mM Na-HEPES)を用い、pH = 7.5からpH = 6.0に変化させることにより誘発された電流量を二電極膜電位固定法により測定した。

(3) 試験例1と同様にして、例数4~5の卵母細胞を用いて得られた結果からIC₅₀を求めた。その結果を表2に示す。

【0058】

試験例3

SH-SY5Yを用いて細胞毒性試験を行った。この試験においても対照化合物としてメマンチン及びアミロライドを使用した。

SH-SY5Y神経芽細胞腫細胞系をAmerican Type Culture Collectionより購入した。細胞は、ペニシリン(100 U/mL)、ストレプトマイシン(100 U/mL)、及び非働化ウシ胎児血清(Gibco)を加えた培地で培養した。細胞は37のCO₂インキュベーター内に維持され、空気95%とCO₂ 5%の条件に保たれた。

アラマーブルーアッセイ

未分化SH-SY5Y細胞にさまざまな濃度の化合物1、2、3を24時間暴露した。アラマーブルーのストック溶液は96穴のウエルプレートに移され、最終アッセイボリュームが100 µL/wellとなるようにし、アラマーブルーの最終濃度を10%とした。6時間後、還元されたアラマーブルーを波長570 nmで測定した。生存率(%)は、薬物無添加の細胞のミトコンドリアの呼吸活性を100%とし、化合物1、2、3を24時間暴露した細胞の呼吸活性を相対値で表した。呼吸活性が50%になったときの化合物1、2、3の濃度をIC₅₀とし、表2に示す。

【0059】

【表2】

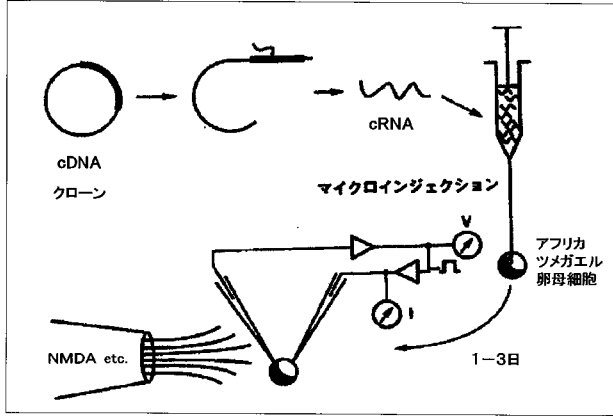
化合物	IC ₅₀		
	ASIC1a	NR1/NR2A	細胞毒性
アミロライド	18 µM	117 µM	563 µM
メマンチン	no effect	0.88 µM	146 µM
化合物1	4.7 µM	3.5 µM	2679 µM
化合物2	0.49 µM	0.23 µM	978 µM
化合物3	0.21 µM	0.30 µM	277 µM

【0060】

また、前記実施例4~27の化合物は、30 µM濃度でASIC1a及びNR1/NR2Aに対する阻害活性を有することが確認された。

表2から明らかなように、本発明化合物は、アミロライド及びメマンチンに比べて強力にNMDA受容体及びASIC1aを阻害した。またその細胞毒性は、弱かった。

【 図 1 】



【 配列表 】

2012074040000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/077762

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07D241/28(2006.01)i, A61K31/4965(2006.01)i, A61P25/14(2006.01)i, A61P25/16(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) C07D241/28, A61K31/4965, A61P25/14, A61P25/16, 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 1996-2011 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2011 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2011		
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.
A	JP 2008-222603 A (Riken, Japan), 25 September 2008 (25.09.2008), entire text & US 2008/0242680 A1 & EP 1967192 A1	1-13
A	WO 2008/124496 A1 (PARION SCIENCES, INC.), 16 October 2008 (16.10.2008), entire text (Family: none)	1-13
A	WO 2008/059800 A1 (Nihon University), 22 May 2008 (22.05.2008), entire text & US 2010/0063322 A1 & EP 2096106 A1	1-13
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 16 December, 2011 (16.12.11)		Date of mailing of the international search report 27 December, 2011 (27.12.11)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/077762

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.: 14-16
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The inventions set forth in claims 14 to 16 involve "methods for treatment of the human body or animal body by surgery or therapy".
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.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2011/077762									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C07D241/28(2006.01)i, A61K31/4965(2006.01)i, A61P25/14(2006.01)i, A61P25/16(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. C07D241/28, A61K31/4965, A61P25/14, A61P25/16, 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 <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>1971-2011年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2011年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2011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	1971-2011年	日本国実用新案登録公報	1996-2011年	日本国登録実用新案公報	1994-2011年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2011年										
日本国実用新案登録公報	1996-2011年										
日本国登録実用新案公報	1994-2011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									
A	JP 2008-222603 A (独立行政法人理化学研究所) 2008.09.25, 全文 & US 2008/0242680 A1 & EP 1967192 A1	1-13									
A	WO 2008/124496 A1 (PARION SCIENCES, INC.) 2008.10.16, 全文 (ファミリーなし)	1-13									
A	WO 2008/059800 A1 (学校法人日本大学) 2008.05.22, 全文 & US 2010/0063322 A1 & EP 2096106 A1	1-13									
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。											
* 引用文献のカテゴリー		の日の後に公表された文献									
「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		「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									
「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		「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									
「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)		「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									
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」同一パテントファミリー文献									
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願											
国際調査を完了した日 16.12.2011		国際調査報告の発送日 27.12.2011									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 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) 富永 保	4 P 4866								
		電話番号 03-3581-1101	内線 3492								

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2011/077762

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 (PCT17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 14-16 は、この国際調査機関が調査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14～16に係る発明は「手術又は治療による人体又は動物の体の処置方法」を包含するものである。
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。

様式PCT/ISA/210 (第1ページの続葉(2)) (2009年7月)

フロントページの続き

(51) Int. Cl. F I テーマコード (参考)
A 6 1 P 25/00 (2006.01) A 6 1 P 25/00

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, T
 J, TM), EP(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, R
 O, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA,
 BB, BG, BH, 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, H
 U, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, 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, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
 UZ, VC, VN

(72) 発明者 三宅 宗晴
 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号 学校法人日本大学内

(72) 発明者 草間 貞
 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号 学校法人日本大学内

(72) 発明者 益子 崇
 東京都千代田区九段南四丁目 8 番 2 4 号 学校法人日本大学内

F ターム (参考) 4C086 AA01 AA02 AA03 BC48 MA01 MA04 NA14 ZA01 ZA02 ZA16

(注) この公表は、国際事務局 (W I P O) により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に
 係る日本語特許出願 (日本語実用新案登録出願) の国際公開の効果は、特許法第 1 8 4 条の 1 0 第 1 項 (実用新案法
 第 4 8 条の 1 3 第 2 項) により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。