

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2012-530896

(P2012-530896A)

(43) 公表日 平成24年12月6日 (2012.12.6)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	G O 1 N 33/50 Z	2 G O 4 5
A 6 1 K 31/343 (2006.01)	A 6 1 K 31/343	2 G O 5 4
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	4 C O 3 7
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	4 C O 7 1
A 6 1 K 31/37 (2006.01)	A 6 1 K 31/37	4 C O 8 4
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 24 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2012-515976 (P2012-515976)
 (86) (22) 出願日 平成22年6月15日 (2010.6.15)
 (85) 翻訳文提出日 平成23年12月12日 (2011.12.12)
 (86) 国際出願番号 PCT/KR2010/003853
 (87) 国際公開番号 W02010/147375
 (87) 国際公開日 平成22年12月23日 (2010.12.23)
 (31) 優先権主張番号 10-2009-0054085
 (32) 優先日 平成21年6月17日 (2009.6.17)
 (33) 優先権主張国 韓国 (KR)

(71) 出願人 511275094
 イノファーマスクリーン、インコーポレイ
 テッド
 I N N O P H A R M A S C R E E N I N
 C.
 大韓民国チュンチョンナム - ド、アサン -
 シ、ペバン - ミョン、セチュル - リ、1 6
 5、ホソ、ユニバーシティー、ナンバー4
 O 4
 (74) 代理人 100117787
 弁理士 勝沼 宏仁
 (74) 代理人 100091487
 弁理士 中村 行孝
 (74) 代理人 100109841
 弁理士 堅田 健史

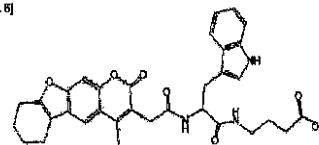
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ベータアミロイドペプチドと V E G F の相互作用を抑制する物質の探索方法およびそれによって探索された阻害剤

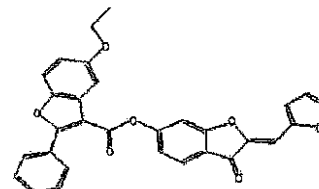
(57) 【要約】

本発明は、ベータアミロイド 1 - 4 2 ペプチドと V E G F 1 6 5 の結合を抑制する物質を探索して発見された化合物に関する発明である。前記本発明によって探索された抑制物質は、アルツハイマー治療物質としての有効性を向上させることができる。

(Fig. 5)



(PS-04001) : 4-[3-(1H-indol-3-yl)-2-[2-(6-methyl-8-oxo-1,2,3,4-tetrahydro-8H-9,11-dioxo-benzo[6]furan-7-yl)-acetylamino]-propionylamino]-butyric acid



(PS-04002) : 5-Ethoxy-2-phenyl-benzofuran-3-carboxylic acid 2-furan-2-ylmethylene-3-oxo-2,3-dihydro-benzofuran-6-ylester

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- a) 化合物ライブラリファイル全体に対して分子ドッキングシミュレーションを行い、蛋白質チップスクリーニングのための出発物質を探索するステップと、
- b) 前記探索された出発物質を血管内皮成長因子 (V E G F) と混合して混合物を製造するステップと、
- c) 前記混合物をベータアミロイド付着蛋白質チップに添加するステップと、及び、
- d) 前記結合程度を分析するステップとを含んでなることを特徴とする、ベータアミロイド抑制剤のスクリーニング方法。

【請求項 2】

前記ドッキング計算のための検索アルゴリズムが、アルファトライアングル方法を用いたことを特徴とする、請求項 1 に記載のベータアミロイド抑制剤のスクリーニング方法。

【請求項 3】

前記結合程度の分析が、血管内皮成長因子に特異的に結合する一次抗体を用いてベータアミロイドに結合した血管内皮成長因子と反応させた後、前記一次抗体に結合可能な蛍光物質が結合された二次抗体を用いて行われることを特徴とする、請求項 1 に記載のベータアミロイド抑制剤のスクリーニング方法。

【請求項 4】

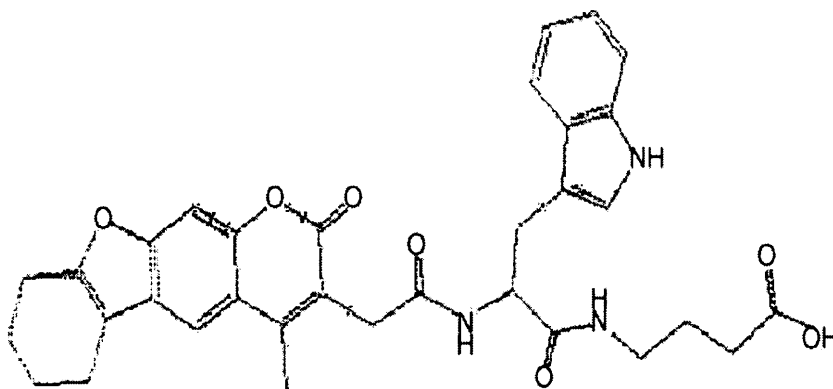
前記蛍光物質が、Cy 3 (グリーン)、Cy 5 (レッド)、F I T C (グリーン)、アレクサ (A l e x a)、ボディピ (B O D I P Y)、ローダミン (R h o d a m i n e)、および Q - ドット (d o t) からなる群より選択された 1 種以上の蛍光物質であることを特徴とする、請求項 3 に記載のベータアミロイド抑制剤のスクリーニング方法。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のスクリーニング方法によって得られた下記の化学式 1 ないし 2 からなる群より選択された 1 種以上の化合物またはその塩を含むことを特徴とする、ベータアミロイド抑制剤。

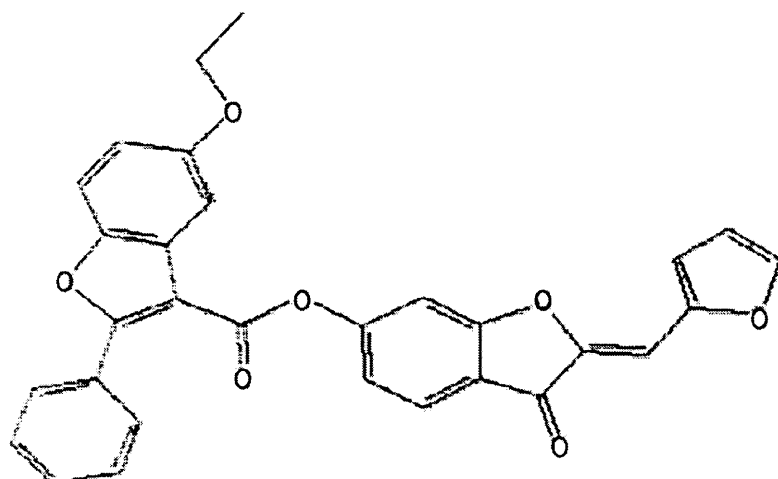
【化 1】

[化学式 1]



【化 2】

[化学式 2]



10

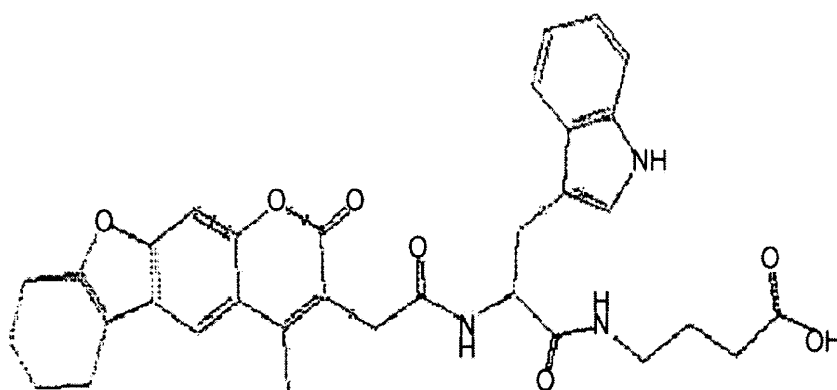
【請求項 6】

下記の化学式 1 ないし 2 からなる群より選択された 1 種以上の化合物またはその塩を含むことを特徴とする、ベータアミロイド抑制剤。

【化 3】

20

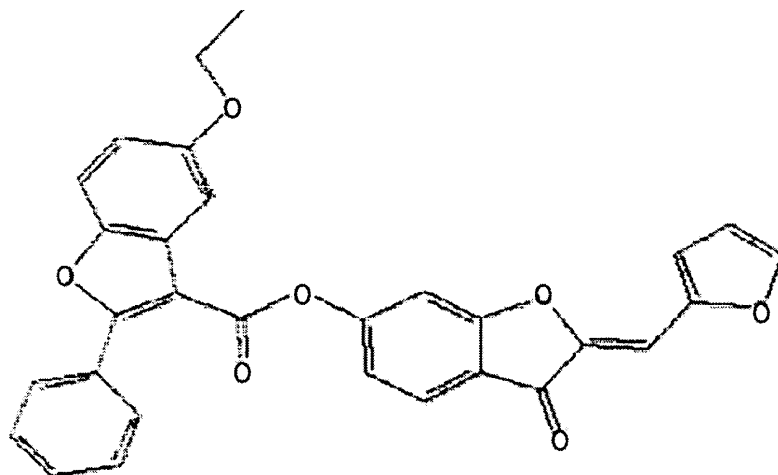
[化学式 1]



30

【化 4】

[化学式 2]



40

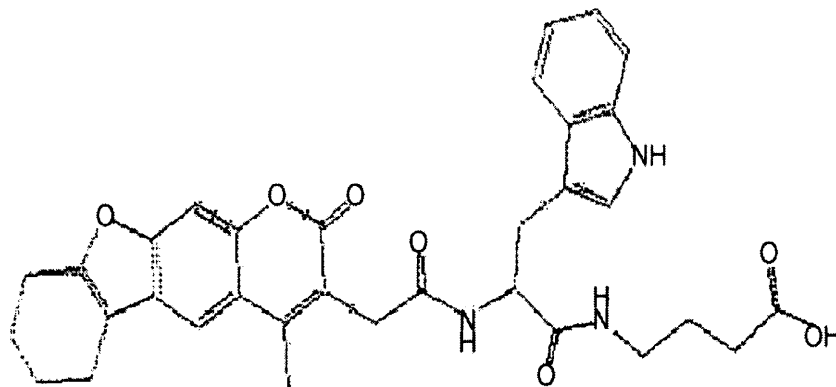
【請求項 7】

50

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載のスクリーニング方法によって得られた下記の化学式 1 ないし 2 からなる群より選択された 1 種以上の化合物またはその塩を有効成分として含むことを特徴とする、アルツハイマー治療または予防用組成物。

【化 5】

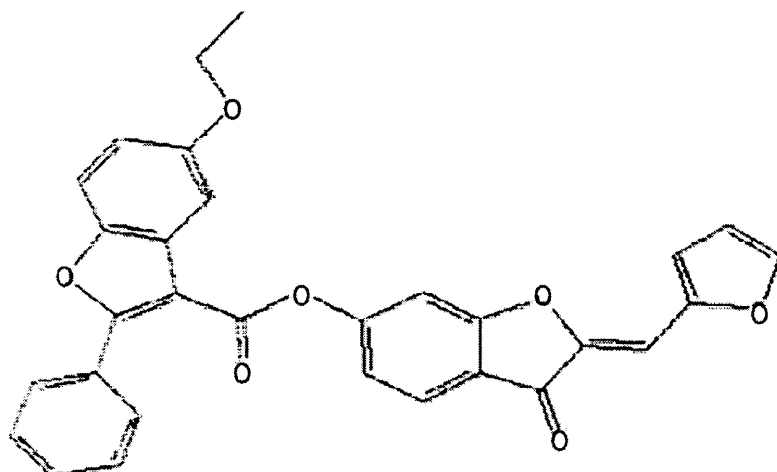
[化学式 1]



10

【化 6】

[化学式 2]



20

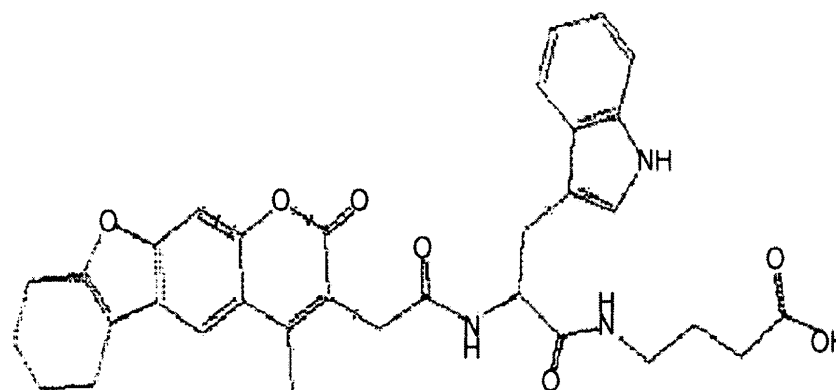
30

【請求項 8】

下記の化学式 1 ないし 2 からなる群より選択された 1 種以上の化合物またはその塩を有効成分として含むことを特徴とする、アルツハイマー治療または予防用組成物。

【化 7】

[化学式 1]

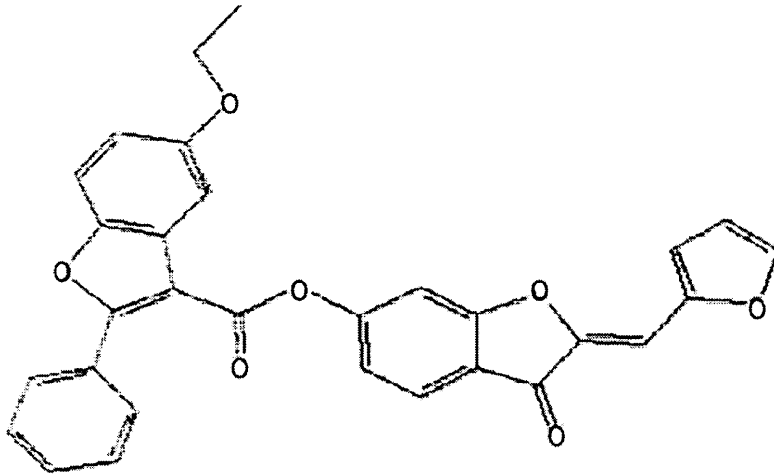


40

50

【化 8】

[化学式 2]



10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ベータアミロイド 1 - 42 ペプチドと VEGF 165 の結合を抑制する物質を探索して発見された化合物に関する発明である。前記本発明によって探索された抑制物質は、アルツハイマー治療物質としての有効性を向上させることができる。

20

【背景技術】

【0002】

痴呆の主な原因となっているアルツハイマー病は、記憶喪失、思考減少、進行性神経退行などの特徴がある。アルツハイマー病の病理学的な特徴としては、神経細胞外に蓄積される老人斑 (senile plaques) と、細胞内に見られる神経原繊維のもつれ (neurofibrillary tangles) を挙げることができる。このような病理学的特徴は、家族性アルツハイマー病 (familial alzheimers disease、FAD) と孤発性アルツハイマー病 (sporadic alzheimers disease、SAD) のすべての場合に現れ、そのうち、老人斑はベータアミロイドという毒性蛋白質が主な構成要素であることが明らかになり、ベータアミロイドの蓄積過多が共通した形状として現れることが報告されている (Parihar M S, Hemnani T., J Clin Neurosci. 2004, Jun; 11 (5): 456 - 67, Selkoe D J., Nature. 1999 Jun 24; 399 (6738 Suppl): A23 - 31)。

30

【0003】

このアミロイドは、β プリーツシート構造 (β - pleated sheet formation) を有してベータアミロイドと呼ばれるようになり、略 39 ~ 43 個のアミノ酸からなり、水溶性ペプチドが β プリーツシート構造を形成すると、繊維体 (fibril) を形成して沈着しやすくなって毒性を形成し、これがアルツハイマー病 (AD) の重要な病因であると考えられている。大きい分子量の前駆蛋白質である APP 695、APP 751、APP 770 が、蛋白質分解酵素による代謝過程によって分解されて生成される代謝産物である。

40

【0004】

APP は、内在性膜蛋白質 (Integral membrane protein) で、アミロイド生成経路 (amyloidogenic pathway) と非アミロイド生成経路 (non - amyloidogenic pathway) の 2 つでその代謝過程が進行する。アミロイド生成経路は、ベータアミロイドが生成されるもので、ベータセクレターゼとガンマセクレターゼという蛋白質分解酵素によってベータアミロイドが形

50

成され、このとき、付随的に細胞外ドメイン (extracellular domain) が切断され、A P P β の形態で細胞外に分泌される。これに対し、非アミロイド生成経路は、正常人に優れて見える経路で、ベータアミロイドが形成されず、アルファセクレターゼという蛋白質分解酵素によってベータアミロイドの 16 / 7 番目の部分が切断され、この切断された細胞外ドメインは、A P P α の形態で細胞外に分泌される。

【0005】

ベータセクレターゼによって切断されたA P Pは、C 9 9と呼ばれる細胞質ドメイン (cytoplasmic domain) と、s A P P β (secreted form of β -secretase derived A P P) と呼ばれるN - 末端ドメイン (N-terminal domain) とに分けられる。C 9 9は、さらにガンマセクレターゼによって4 k D aのベータアミロイドを作り出し、少量に凝集力がよく、神経斑で主に発見される42個のアミノ酸からなるベータアミロイド42である。s A P P β は、その機能はよく知られていないが、90 k D a前後の蛋白質を細胞外に分泌する (S u h Y H , C h e c k l e r F . , P h a r m a c o l R e v 2002 ; 54 : 469 - 525 . , S u h Y H . , J N e u r o c h e m 1997 ; 68 : 1781 - 91 . , S e l k o e D J . , P h y s i o l R e v 2001 ; 81 : 741 - 66) 。

【0006】

ベータアミロイドの配列において、凝集 (aggregation) と神経毒性 (neurotoxicity) の特性が確認された。配列の中間部位であるK L V F F (A β 16 - 20) は、ベータアミロイド間の相互作用に重要である。また、ベータアミロイドの25 - 35番目の部位は、ペプチドに凝集と神経毒性の2つとも寄与するものとされている (Y a n g S P . e t a l . , J N e u r o c h e m . 2005 A p r ; 93 (1) : 118 - 27 .) 。

【0007】

血管内皮成長因子 (vascular endothelial growth factor、V E G F) は、新しい血管の生成に重要な要素の一つである。V E G Fは、ホモ二量体蛋白質で、選択的スプライシング (alternative splicing) によって121、145、165、189、206個のアミノ酸からなる5種の異性体を作られる。最近の研究によれば、V E G F 165は、血管の生成とインビボ (in vivo) における血管透過性、そして、内皮細胞成長への関与と (D i B e n e d e t t o M . , B i o c h i m B i o p h y s A c t a . 2008 A p r ; 1780 (4) : 723 - 32 . E p u b 2008 F e b 7 .) 、向精神性と神経保護因子のような新たな役割が加えられた。

【0008】

V E G F 121とV E G F 165は、V E G F異性体の大部分を占めており、V E G Fの活性においてもほとんど関与する。V E G F 165は、V E G F 121よりV E G F受容体に対して高い親和度を有し、内皮細胞の分裂においても高い刺激効果を表す。すべてのV E G F異性体は、共通して、110個のアミノ酸からなるN - 末端受容体結合ドメインを有している。これに対し、C - 末端はそうでない。V E G F 165は、ヘパリンが結合可能な55個のアミノ酸からなるヘパリン結合ドメイン (heparin-binding domain、H B D) を有しており、これは、エクソン7および8によってエンコードされている。しかし、V E G F 121は、H B Dを有しておらず、ヘパリンの結合が不可能である。最近の報告によれば、V E G Fはベータアミロイドと相互作用し、ベータアミロイドの細胞毒性に影響を及ぼす。V E G F 165はベータアミロイドと相互作用するのに対し、V E G F 121は、H B Dを有していないため、ベータアミロイドと相互作用をしない。また、V E G F 165がベータアミロイドに結合する核心結合部位がペプチドの25 - 35配列の部位とされている。ベータアミロイドの25 - 35部位は、前述したように、ベータアミロイドに毒性を持たせる。V E G F 165は、ベータアミロイドの凝集とベータアミロイドによって誘導される神経毒性から細胞を保護する (Y a n g

10

20

30

40

50

S P . e t a l . , J N e u r o c h e m . 2 0 0 5 A p r ; 9 3 (1) : 1 1 8 - 2 7) 。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

本発明は、上記の必要性によってなされたものであって、本発明の目的は、ベータアミロイド抑制剤のスクリーニング方法を提供することである。

【0010】

本発明の他の目的は、ベータアミロイド抑制剤を提供することである。

【課題を解決するための手段】

10

【0011】

上記の目的を達成するために、本発明は、a)化合物ライブラリファイル全体に対して分子ドッキングシミュレーションを行い、蛋白質チップスクリーニングのための出発物質を探索するステップと、b)前記探索された出発物質を血管内皮成長因子(VEGF)と混合して混合物を製造するステップと、c)前記混合物をベータアミロイド付着蛋白質チップに添加するステップと、d)前記結合程度を分析するステップとを含むベータアミロイド抑制剤のスクリーニング方法を提供する。

【0012】

本発明の一具体例において、前記ドッキング計算のための検索アルゴリズムは、アルファトライアングル方法を用いたものが好ましいが、これに限定されない。

20

【0013】

また、本発明の一実施例において、前記結合程度の分析は、血管内皮成長因子に特異的に結合する一次抗体を用いてベータアミロイドに結合した血管内皮成長因子と反応させた後、前記一次抗体に結合可能な蛍光物質が結合された二次抗体を用いて行われることが好ましいが、これに限定されず、前記蛍光物質は、Cy3(グリーン)、Cy5(レッド)、FITC(グリーン)、アレクサ(Alexa)、ボディピ(BODIPY)、ローダミン(Rhodamine)、およびQ-ドット(dot)からなる群より選択された1種以上の蛍光物質であることが好ましいが、これらに限定されない。

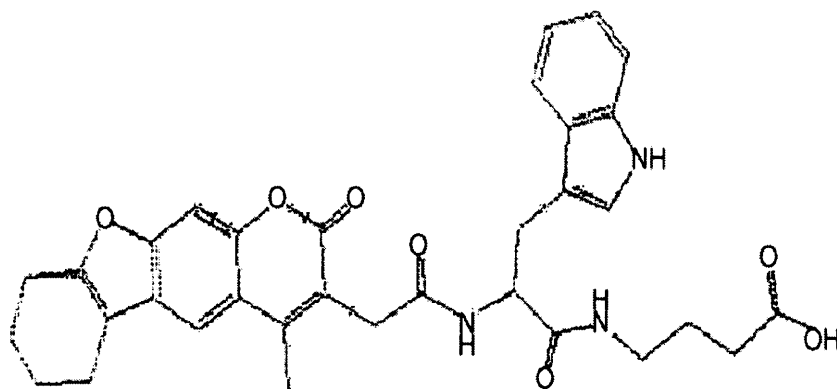
【0014】

さらに、本発明は、前記本発明にかかるスクリーニング方法によって得られた下記の化学式1ないし2からなる群より選択された1種以上の化合物またはその塩を含むベータアミロイド抑制剤を提供する。

30

【化1】

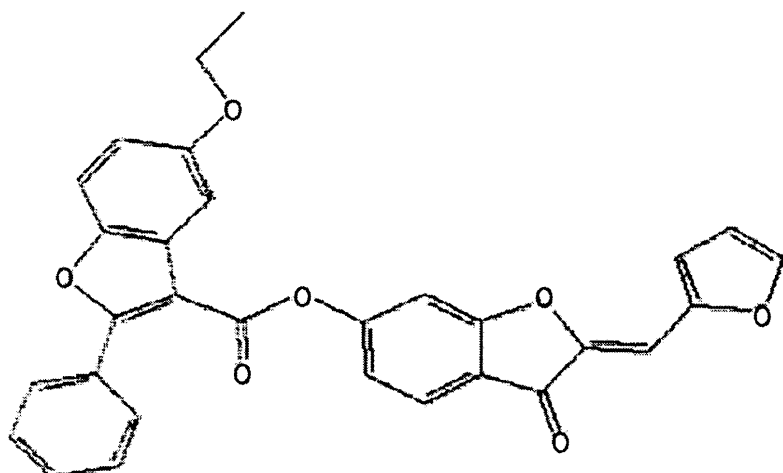
[化学式1]



40

【化 2】

[化学式 2]



10

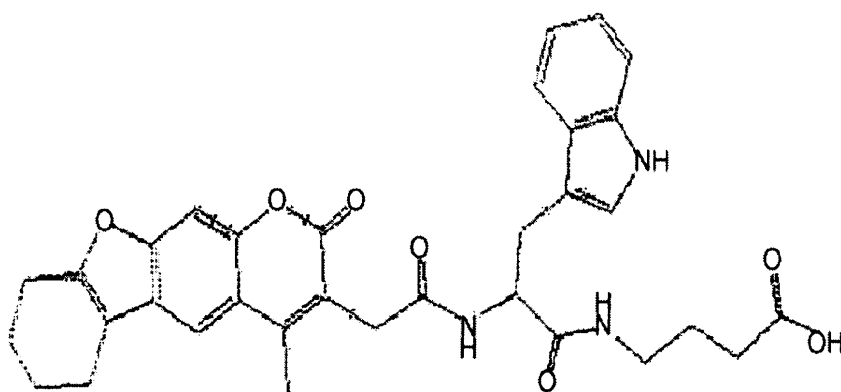
【 0 0 1 5 】

また、本発明は、下記の化学式 1 ないし 2 からなる群より選択された 1 種以上の化合物
またはその塩を含むベータアミロイド抑制剤を提供する。

20

【化 3】

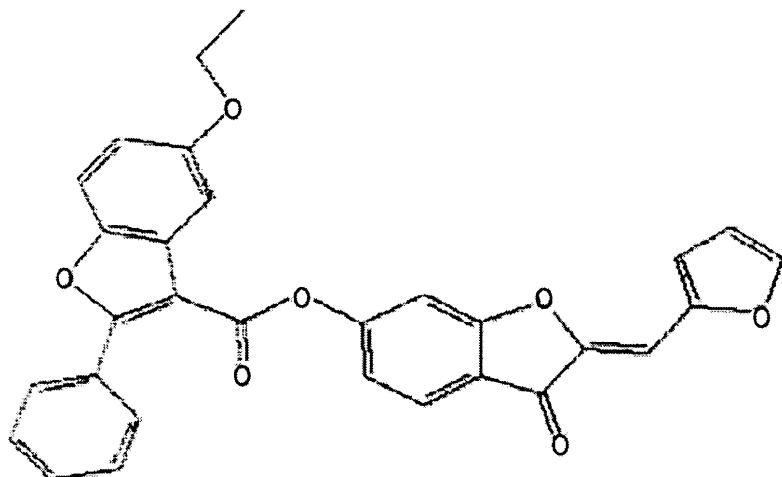
[化学式 1]



30

【化 4】

[化学式 2]



40

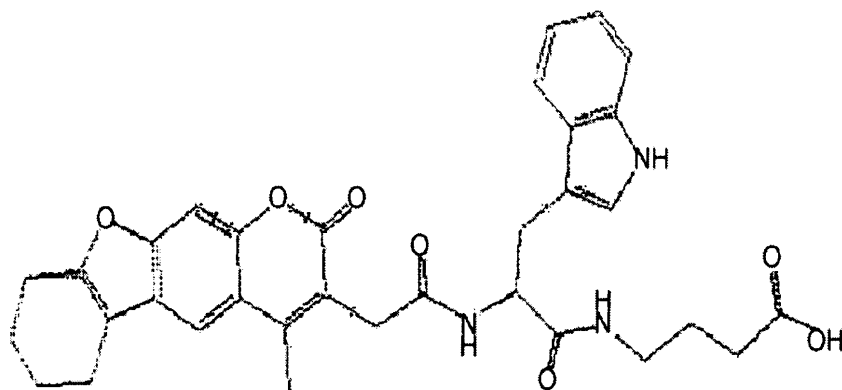
【 0 0 1 6 】

50

さらに、本発明は、本発明にかかるスクリーニング方法によって得られた下記の化学式 1 ないし 2 からなる群より選択された 1 種以上の化合物またはその塩を有効成分として含むアルツハイマー治療または予防用組成物を提供する。

【化 5】

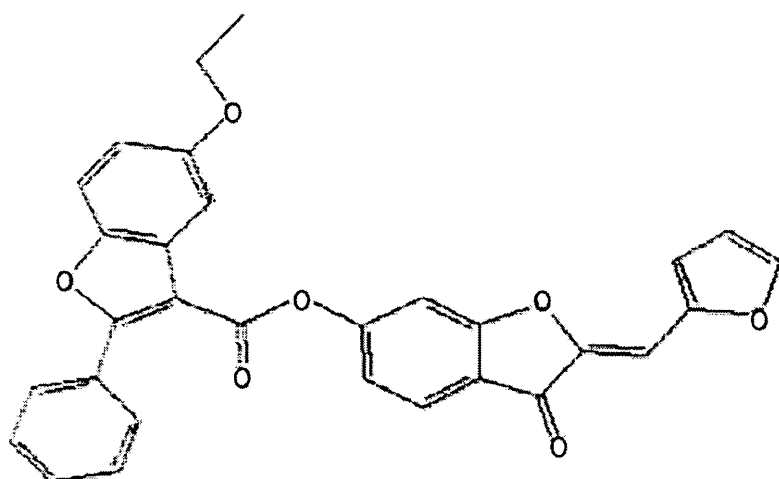
〔化学式 1〕



10

【化 6】

〔化学式 2〕



20

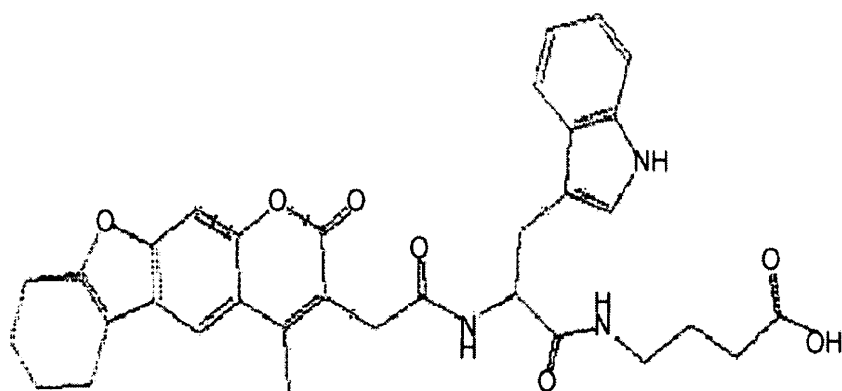
30

【0017】

また、本発明は、下記の化学式 1 ないし 2 からなる群より選択された 1 種以上の化合物またはその塩を有効成分として含むアルツハイマー治療または予防用組成物を提供する。

【化 7】

〔化学式 1〕

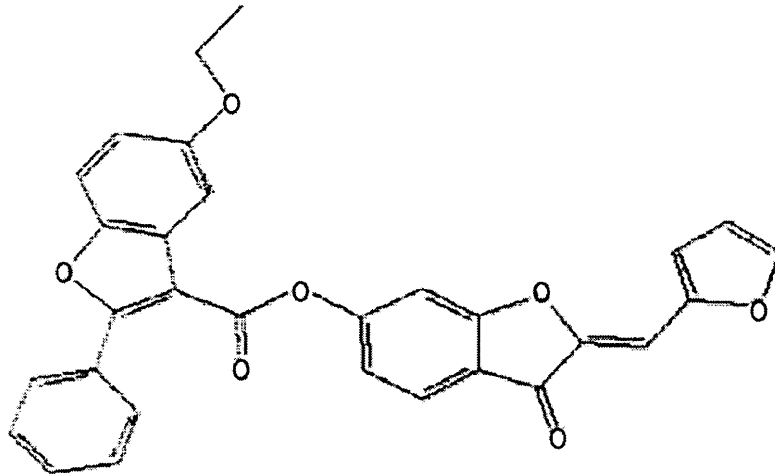


40

50

【化 8】

[化学式 2]



10

【0018】

化学式 1 または 2 の化合物およびその薬学的に許容可能な塩を、例えば、薬学製剤の形態で薬剤として使用することができる。前記薬学製剤を経口に、例えば、錠剤、コーティングされた錠剤、糖衣錠、硬質および軟質ゼラチンカプセル、溶液、乳化液または懸濁液の形態で投与することができる。しかし、前記投与をさらに直腸によって、例えば、座薬の形態で、非経口的に、例えば、注射液の形態で行うことができる。

20

【0019】

化学式 1 または 2 の化合物を、薬学製剤の製造のために、薬学的に不活性である無機または有機担体とともに加工することができる。例えば、錠剤、コーティングされた錠剤、糖衣錠、および硬質ゼラチンカプセルに対する担体として、ラクトース、トウモロコシ澱粉またはその誘導体、滑石、ステアリン酸またはその塩などを使用することができる。軟質ゼラチンカプセルに好適な担体は、例えば、植物性オイル、ワックス、脂肪、半固体および液体ポリオールなどである。しかし、有効物質の性質によって、大体、軟質ゼラチンカプセルの場合には担体が必要でない。溶液およびシロップの製造に好適な担体は、例えば、水、ポリオール、グリセロール、植物性オイルなどである。座薬に好適な担体は、例えば、天然または硬化オイル、ワックス、脂肪、半液体または液体ポリオールなどである。

30

【0020】

前記薬学製剤はさらに、保存剤、可溶化剤、安定剤、湿潤剤、乳化剤、甘味剤、着色剤、香料、滲透圧変化用塩、緩衝剤、マスキング剤または酸化防止剤を含むことができる。前記製剤はまた、さらに他の治療学的に貴重な物質を含むことができる。

【0021】

化学式 1 または 2 の化合物またはその薬学的に許容可能な塩および治療学的に不活性である担体を含む薬剤がまた、1 種以上の化学式 1 または 2 の化合物および / または薬学的に許容可能な酸付加塩、および場合によっては、1 種以上の他の治療学的に貴重な物質を、1 種以上の治療学的に不塩活性である担体とともに、生薬投与形態で作ることを含むその製造方法と同様に、本発明の目的である。

40

【0022】

本発明にかかり、化学式 1 または 2 の化合物だけでなく、その薬学的に許容可能な塩は、疾病、例えば、アルツハイマー病の抑制剤または予防に有用である。

【0023】

容量を広範囲な限界内で変化させることができ、もちろん、各々の特定の場合に個別の要件によって調節しなければならない。経口投与の場合、成人容量を 1 日に約 0.01 ないし約 1000 の化学式 1 または 2 の化合物、あるいはそれ相応の量の薬学的に許容可能

50

な塩に変化させることができる。前記 1 日の容量を単一容量としてまたは分割容量として投与することができ、さらに、前記上限は、使用が指示されたことが明らかになる場合も超過可能である。

【 0 0 2 4 】

製剤を製造して容器内に充填させて密封する工程は、通常の抗菌および無菌の条件下に行う。

【 0 0 2 5 】

本発明の化合物は、当業界に周知の通常の方法によって製造できる。

【 0 0 2 6 】

以下、本発明を説明する。

10

【 0 0 2 7 】

本発明は、ベータアミロイド 1 - 4 2 ペプチドと V E G F の相互作用抑制剤に関する発明である。

【 0 0 2 8 】

ベータアミロイド 1 - 4 2 (A β はアルツハイマー病 (A D) の発病に最も有力な物質で、水溶性のアミロイドがベータプリーツシート構造 (β p l e a t e d s h e e t f o r m a t i o n) を形成すると、繊維体 (f i b r i l) を形成して沈着しやすくなって毒性を形成し、神経細胞死に関与するようになる。ここで、V E G F 1 6 5 の H B D は、ベータアミロイドが毒性を示すのに関与する部位である 2 5 - 3 5 に結合して、A β 毒性を減少させる。ベータアミロイドと V E G F 1 6 5 の結合を抑制する H B D と類似の化合物は、アルツハイマー病の治療剤および医薬品の原料として開発できる。ベータアミロイドと V E G F 1 6 5 の抑制剤をスクリーニングするために、数万個の化合物を迅速かつ容易にスクリーニングする方法が必要になった。仮想探索方法と蛋白質チップを用いて探索された物質は、ベータアミロイドと V E G F 1 6 5 の結合抑制剤として開発できる。

20

【発明の効果】

【 0 0 2 9 】

ベータアミロイドと V E G F 1 6 5 の結合を抑制する物質として、V E G F 1 6 5 の H B D と結合して V E G F 1 6 5 - ベータアミロイドの相互作用を阻害することにより、神経細胞において V E G F 1 6 5 がフリーになり、V E G F 1 6 5 が向精神性と神経保護因子として作用できるように補助する。

30

【図面の簡単な説明】

【 0 0 3 0 】

【図 1】仮想探索に用いられた方法を整理したものである。

【図 2】ベータアミロイド 1 - 4 2 ペプチドと V E G F 1 6 5 の相互作用による濃度別の結合力を確認した実験結果である。

【図 3】実施例 1 によって探索された天然物由来の化合物ライブラリからベータアミロイド 1 - 4 2 ペプチドと V E G F 1 6 5 の相互作用を抑制した結果である。

【図 4】実施例 3 で行った一次スクリーニングの結果から得られた化合物を対象として、ベータアミロイドと V E G F 1 6 5 との結合を競争的に抑制する化合物の濃度依存的抑制能力を実験した結果として、I C ₅₀ (最大抑制濃度の 5 0 % の抑制濃度) 値を示したものである。

40

【図 5】ベータアミロイドと V E G F 1 6 5 の相互作用を抑制する物質の化学的構造とその名称である。

【図 6】P C 1 2 細胞と S H - S Y 5 Y 細胞において、ベータアミロイドの毒性を確認した結果である。

【図 7】S H - S Y 5 Y 細胞において、A l z h e m e d T M と I P S - 0 4 0 0 1 によってベータアミロイド毒性の減少を確認した結果である。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 3 1 】

50

以下、非限定的な実施例を参照して本発明をより詳細に説明する。ただし、下記の実施例は本発明を説明するための目的として記載されたものであって、本発明の範囲は、下記の実施例によって制限されるものとして解釈されない。

【0032】

実施例1：ベータアミロイドとVEGF165の結合を妨げる物質の仮想探索

仮想スクリーニングのために用いられたソフトウェアは、Chemical Computing Group社製のMOE (Molecular Operating Environment) プログラムと、Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC) 製のGOLD 4.0.1プログラムである。探索方法は、分子ドッキングシミュレーションを利用した。具体的な方法は、次のとおりである。まず、40,000個のライブラリ化合物ファイル全体に対して一次分子ドッキングシミュレーションを行った。ターゲットレセプター蛋白質は、VEGFモデルのうち、プロテインデータバンク (PDB) の1KMX構造を使用した。ドッキング計算のための検索アルゴリズムは、アルファトライアングル (alpha triangle) 方法を用いて、各リガンド化合物あたり最大500,000回の構造変化エネルギー計算を行った。この方法は、分子の3つのポイントを三角形に形状化し、レセプター蛋白質の他のトライアングルとのマッチングの有無を判断してドッキングするアルゴリズムを用いる。スコアリング方法は、Londond G法を用いて、リガンドあたり最大10個のポーズを計算した。MOEで支援するスコアリング方法は、Londond G、Affinity d G、Alpha HBの3つがあり、本計算に用いられたLondond Gは、下記のとおりである。

10

20

【数1】

$$\Delta G = C + E_{flex} + \sum_{H-bonds} C_{HB} f_{HB} + \sum_{M-Hg} C_M f_M + \sum_{atoms} \Delta D_i$$

【0033】

Londond G関数は、結合による回転/変換エントロピー (rotational / translation entropy) の変化、リガンドの結合によるフレキシビリティエネルギーの減少、水素結合エネルギー、金属イオンライゲーション (ligation)、脱溶媒和エネルギー (desolvation energy) の差などがパラメータとして用いられる。

30

【0034】

40,000個の化合物に対する一次ドッキングシミュレーションの結果、結合力に優れた10,000個の化合物を選別して、二次ドッキングシミュレーションを行った。二次ドッキングシミュレーションでは、GOLDプログラムを利用して、Slowオプションを用いて演算を行った。GOLDプログラムでは、スコアリング関数として、Gold Score、ChemScore、ASP Scoreの3つのオプションを支援するが、二次ドッキングシミュレーションではGold Scoreを用いた。10,000個の化合物に対するドッキングシミュレーションおよびエネルギーの最小化結果スコアであるLondond G値が最も高い140個の化合物を選んで、蛋白質チップスクリーニングのための出発物質として提案した (表1)。表1は、仮想スクリーニングの結果、結合力に最も優れた140個の化合物の一連番号を明示した表である。

40

【表 1】

No.	ID	No.	ID	No.	ID	No.	ID	No.	ID	No.	ID	No.	ID
1	39787	21	50933	41	21243	61	69740	81	60844	101	42910	121	38768
2	61741	22	49565	42	37322	62	69522	82	65980	102	40269	122	39720
3	50368	23	62003	43	31455	63	6618	83	37589	103	54134	123	37799
4	370	24	38344	44	28186	64	65595	84	65539	104	66060	124	50049
5	1115	25	37479	45	68021	65	49816	85	9796	105	51288	125	31168
6	50337	26	11871	46	38414	66	62241	86	67794	106	52867	126	61260
7	65681	27	39862	47	47309	67	42520	87	67720	107	37897	127	37615
8	2197	28	44053	48	67525	68	41834	88	6218	108	1280	128	65841
9	68318	29	65760	49	40256	69	60353	89	67464	109	41400	129	18414
10	59803	30	70301	50	39912	70	42258	90	64496	110	68153	130	68191
11	11801	31	43520	51	68314	71	68182	91	35103	111	10487	131	66301
12	44662	32	61095	52	66940	72	11989	92	40362	112	40071	132	65123
13	66500	33	41845	53	38415	73	55735	93	66410	113	40528	133	55891
14	63891	34	66085	54	69868	74	4156	94	65440	114	61365	134	52047
15	59013	35	67797	55	39957	75	67961	95	5087	115	51230	135	21725
16	57714	36	39663	56	39075	76	68161	96	52620	116	20842	136	70254
17	37987	37	40948	57	69319	77	39693	97	3884	117	40996	137	38166
18	56949	38	40632	58	38245	78	56474	98	67312	118	34042	138	65730
19	63766	39	69183	59	38352	79	37996	99	36531	119	49921	139	41881
20	47947	40	38006	60	68274	80	39922	100	38864	120	36640	140	61083

10

20

30

40

50

【 0 0 3 5 】

表 1 は、仮想探索に用いられた方法を整理したものである。

【 0 0 3 6 】

実施例 2：基板へのベータアミロイドの固定化

蛋白質を固定する基板として、ProteoChipTM (Proteogen Inc.、韓国、ソウル)を用いた。基板上にシート紙を付着してウェルチップを作った。30%のグリセロール溶液を含むリン酸緩衝生理食塩水(phosphate-buffered saline; PBS)に、ベータアミロイド(Bachem AG、Bubendorf、Switzerland)を50 µg/mlで希釈して、各ウェルに添加し、30%湿度インキュベータ(humidity incubator)で一晩中反応させた後、結合して残留するベータアミロイドは、0.05%のツイン20を含むリン酸緩衝生理食塩水(0.05%のPBST)で洗浄した後、窒素ガスで乾燥し、高速大量探索を行った。

【 0 0 3 7 】

実施例 3：ライブラリからベータアミロイドとVEGF165の相互作用抑制物質の高速大量探索

3-1) ベータアミロイドとVEGF165の相互作用

ベータアミロイドとVEGF165の相互作用を調べるために、実施例2で製造したベータアミロイド付着蛋白質チップを、2時間、3%のBSAでブロッキングし、洗浄溶液(0.05%のPBST)で2回洗浄し、窒素ガスを用いて乾燥した。その後、前記ベータアミロイドマイクロアレイヤーに、500 µg/mlから3.9 µg/ml範囲の濃度のVEGF165(R&D System、Inc.、Minneapolis、MN USA)を、30%のグリセロール溶液を含むリン酸緩衝生理食塩水(phosphate-buffered saline; PBS)で希釈させ、各ウェルに入れて、30

、湿度インキュベータで1時間反応させた後、ベータアミロイドと結合しないVEGF 165をウォッシング溶液で2回洗浄し、窒素ガスを用いて乾燥した。その後、30℃、湿度インキュベータで、1時間、VEGF 165に特異的に結合するVEGF 165抗体（一次抗体）を用いてベータアミロイドに結合したVEGF 165に反応させ、結合しない一次抗体をウォッシング溶液で2回洗浄後、洗浄し、窒素ガスを用いて乾燥した。その後、一次抗体に結合可能なCy5蛍光物質（Cy-5；Amersham Pharmacia Biotech社製、Uppsala Sweden）が結合された抗体（二次抗体）を、30℃、湿度インキュベータで30分間反応させた。結合しない二次抗体は、ウォッシング溶液で2回洗浄し、窒素ガスで乾燥した後、蛍光スキャナでスキャンした。

【0038】

図2は、ベータアミロイド1-42ペプチドとVEGF 165の相互作用を示す蛍光スキャンイメージ（図2の左側）と、ベータアミロイド1-42ペプチドとVEGF 165の相互作用の容量-反応曲線を示すグラフ（図2の右側）である。具体的には、前記図2は、前記ベータアミロイドに結合したVEGF 165の相対的蛍光強度と、VEGF 165と結合した一次抗体をCy-5蛍光標識された二次抗体の濃度のログ間の関係を測定して示したグラフである。

【0039】

前記図2において、VEGF 165は、ベータアミロイドと結合して一次抗体と結合し、この一次抗体をCy5標識された二次抗体と作用しやすいことがわかった。中でも、約125 µg/ml以上において、VEGF 165は飽和反応が現れはじめた。これにより、前記ベータアミロイド1-42ペプチド付着チップが前記ベータアミロイド1-42ペプチドとVEGF 165の結合抑制剤の探索のために有効で適切であることがわかった。

【0040】

3-2) VEGF 165とライブラリの混合溶液の製造

ベータアミロイドとVEGF 165の結合抑制剤反応実験のために、VEGF 165を、実施例1で得られた天然物由来の化合物（50 µM）130個とVEGF 165（50 µg/ml）とを混合して混合溶液を製造した。30%のグリセロール溶液を含むリン酸緩衝生理食塩水（phosphate-buffered saline；PBS）に希釈させて使用した。

【0041】

3-3) ベータアミロイドとVEGF 165の結合抑制物質の一次スクリーニング

実施例2で製造したベータアミロイド付着蛋白質チップを、2時間、3%のBSAでブロッキングし、0.05%のPBSTで2回洗浄後、窒素ガスを用いて乾燥した。その後、実施例3-2で製造した各々のライブラリ130個（50 µMの単一濃度）とVEGF 165を含む混合溶液を、各ウェルに入れて、30℃、湿度インキュベータで1時間反応させた。洗浄溶液で洗浄した後、窒素を用いて乾燥し、一次抗体を各ウェルに入れた後、30℃、湿度インキュベータで1時間反応させた後、洗浄溶液で洗浄後、窒素ガスを用いて乾燥した。その後、二次抗体を各ウェルに添加し、30℃、湿度インキュベータで30分間反応させ、洗浄溶液で洗浄した後、窒素ガスで乾燥し、蛍光レーザスキャナを用いて結合程度を相対的蛍光強度で分析することにより、ライブラリの抑制能力を測定した。その結果、多数のライブラリで相対的に低い蛍光強度を示し、この化合物がベータアミロイド1-42ペプチド-VEGF 165の結合反応を効果的に抑制することを証明した（図3）。

【0042】

図3は、蛋白質チップシステムにおいて、ライブラリからベータアミロイド1-42ペプチドとVEGF 165の相互作用を抑制する化合物をスクリーニングした結果である。

【0043】

前記実験において、ポジティブ（positive）対照群は、ライブラリを添加しない混合溶液を使用し、ネガティブ（negative）対照群は、ヘパリンが添加された混合溶液を使用した。ヘパリンは、VEGF 165のHBDに結合し、VEGF 165が

10

20

30

40

50

ベータアミロイドに結合するのを抑制する役割を果たすことができる。

【0044】

図3において、蛍光の強度は虹色で表現される。本来、赤色または青色のように一色で結果が出るが、この場合、蛍光強度が識別されにくく、機器のソフトウェアがこれを蛍光強度に応じて色に変化を与えるようになっている。

【0045】

通常、蛍光強度が最も強い場合、白色から赤色、橙色、黄色、緑色、青色の順に蛍光強度を表現するようになる。図3の結果をみると、VEGF165のみ反応させたのは、色が白色または赤色でベータアミロイド1-42ペプチドとVEGF165が結合されていることがわかる。ヘパリンを使用して実験したものの場合、ベータアミロイド1-42ペプチドとVEGF165の相互作用を抑制し、ベータアミロイド1-42ペプチドにVEGF165が結合されず、蛍光が最も低い青色で表れている。

10

【0046】

ライブラリのうち、一部の化合物がベータアミロイド1-42ペプチドとVEGF165の相互作用を抑制し、ベータアミロイド1-42ペプチドにVEGF165が結合されず、蛍光の低い青色または緑色で表れている。したがって、この特定の化合物は、ベータアミロイド1-42ペプチドとVEGF165の結合を阻害する物質であることを証明するものである(図3)。

【0047】

3-4) ベータアミロイドとVEGF165の結合抑制剤の二次スクリーニング

20

実施例3-3で利用した方法を用いて、実施例3-3の一次スクリーニング過程で発見された抑制剤について、濃度別に100μMから2倍度に希釈して1μMまで処理し、50μg/mlの濃度に固定されたベータアミロイドと、50μg/ml濃度のVEGF165の結合を抑制するIC₅₀値を求めた(図4)。そのうち、最も効果的に抑制する化合物2種の結果を示した(図5)。

【0048】

実施例4：蛋白質チップを用いて探索した物質の生物学的活性の探索

4-1) PC12細胞およびSH-SY5Y細胞の用意

PC12細胞(韓国細胞株銀行、韓国、ソウル)は、10%のFBS(Fetal Bovine Serum)(Welgene社製、韓国、大邱)と、1XのAntibiotic-Antimycotic(GIBCO社製、N.Y.、USA)が含まれたRPMI1640(Welgene社製、韓国、大邱)の混合液で維持された。SH-SY5Y細胞(韓国細胞株銀行、韓国、ソウル)は、10%のFBS(Fetal Bovine Serum)(Welgene社製、韓国、大邱)と1XのAntibiotic-Antimycotic(GIBCO、N.Y.、USA)が含まれたDMEM/F12(Welgene社製、韓国、大邱)の混合液で維持された。前記PC12およびSH-SY5Y培養細胞は、5%の二酸化炭素が加えられる気体組成が供給される環境において、100%の湿度、37℃の条件に維持された。

30

【0049】

4-2) MTTアッセイ

40

MTT[(3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニル-2H-テトラゾリウムプロミド)]実験プロトコルに従って行われた。MTTは、PBSに溶解して5mg/mlとし、4℃で保管して使用し、反応が終わった各ウェルに、培養混合液100に5mg/mlのMTT溶液10μlを加え、3時間反応させた。各ウェルの上澄液を捨てた後、発色反応物(formazan crystal)を100μlのDMSOに溶解させた後、ELISAリーダ機(595nm)で吸光度を測定した。

【0050】

4-3) ベータアミロイドの細胞毒性

PC12細胞は、ポリ-D-リジンがコーティングされた96ウェル組織培養プレート(Corning社製、MA、USA)に、ウェルあたり2×10⁴個の細胞濃度で加え

50

られた。その後、24時間維持させた後、各ウェルに、濃度別にベータアミロイドを、10%のFBSが含まれた培養混合とともに加え、24時間反応させた後、MTTアッセイを行った。

【0051】

4-4) 探索物質によるベータアミロイドの細胞毒性の抑制

SH-SY5Y細胞は、96ウェル組織培養プレートに、ウェルあたり 1×10^4 個の細胞濃度で加えられた。その後、24時間維持させた後、4時間、2%のFBSが含まれた培養混合液でスターベーション(starvation)させた後、各ウェルに、ベータアミロイド($10 \mu\text{M}$)と探索物質(20mM で1/2ずつ希釈)を、2%のFBSが含まれた培養混合とともに加え、24時間反応させた後、MTTアッセイを行った。

10

【0052】

図6は、SH-SY5Y細胞とPC12細胞において、ベータアミロイドによる細胞毒性を確認した結果である。PC12細胞とSH-SY5Y細胞において、ベータアミロイド1-42は、濃度が増加するほど、細胞の生存率が低下することを確認することができ、SH-SY5Y細胞で逆方向に合成したベータアミロイド42-1では、濃度が増加しても、細胞の生存率が正方向に合成されたベータアミロイドと比較して大きく減少しないことを確認することができ、正方向に合成されたベータアミロイドによって細胞毒性が増加することを証明した実験である。

【0053】

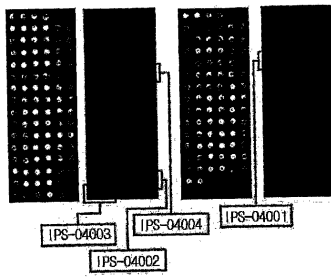
図7では、SH-SY5Y細胞において、抑制剤候補物質(IPS-04001)とAlzhemedTMによってベータアミロイドの毒性の減少を確認した結果である。SH-SY5Y細胞において、ベータアミロイド $10 \mu\text{M}$ に抑制剤候補物質およびAlzhemedTM($20 \mu\text{M}$ で1/2ずつ希釈)を濃度別に処理して細胞の生存率を確認し、抑制剤候補物質とAlzhemedTMによって生存率が増加することを確認することができた。対照群として使用したAlzhemedTMでベータアミロイド $10 \mu\text{M}$ を基準としたとき、 $5 \mu\text{M}$ 以上で約30%程度生存率が増加し、抑制剤候補物質(IPS-04001)では、 $5 \mu\text{M}$ 以上で約20~25%程度生存率が増加した。それだけでなく、抑制剤候補物質(IPS-04001)では、 $1.25 \mu\text{M}$ 以上でもSH-SY5Y細胞の生存率が15%以上増加していることを確認することができた。全体的にみると、抑制剤候補物質(IPS-04001)は、AlzhemedTMと比較したとき、約5%程度低い生存率を示したものの、ベータアミロイドの毒性に対して細胞の生存率が全般的に似た増加ぶりを見せている。

20

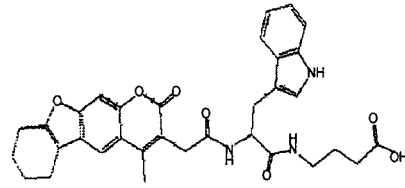
30

【図 3】

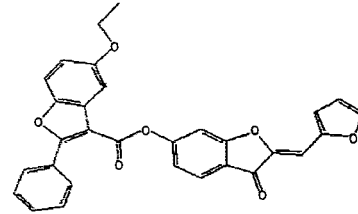
[Fig. 3]



【図 5】

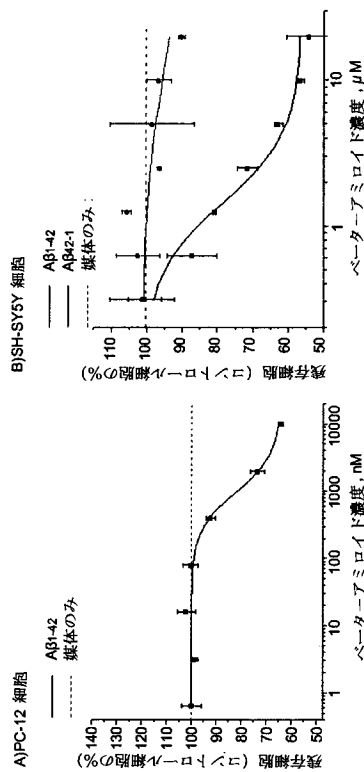


(IPS-04001) : 4- {3- (1*H*-インドール-3-イル) -2-
- [2- (6-メチル-8-オキソ-1, 2, 3, 4-テトラヒドロ-8*H*-
9, 11-ジオキサ-ベンゾ[*b*]フリオレン-7-イル) -アセチルアミノ] -
プロピオニルアミノ} -ブチリクアジド

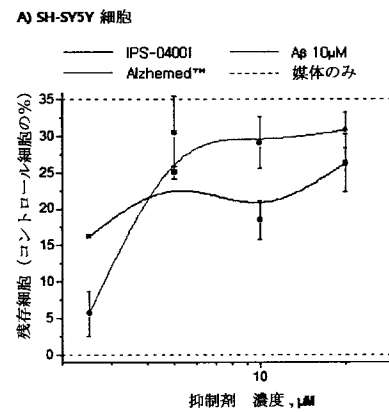


(IPS-04002) : 5-エトキシ-2-フェニル-ベンゾフラン-3-
-カルボキシリクアジド 2-フラン-2-イルメチレン-3-オキソ-
2, 3-ジヒドロ-ベンゾフラン-6-イルエステル

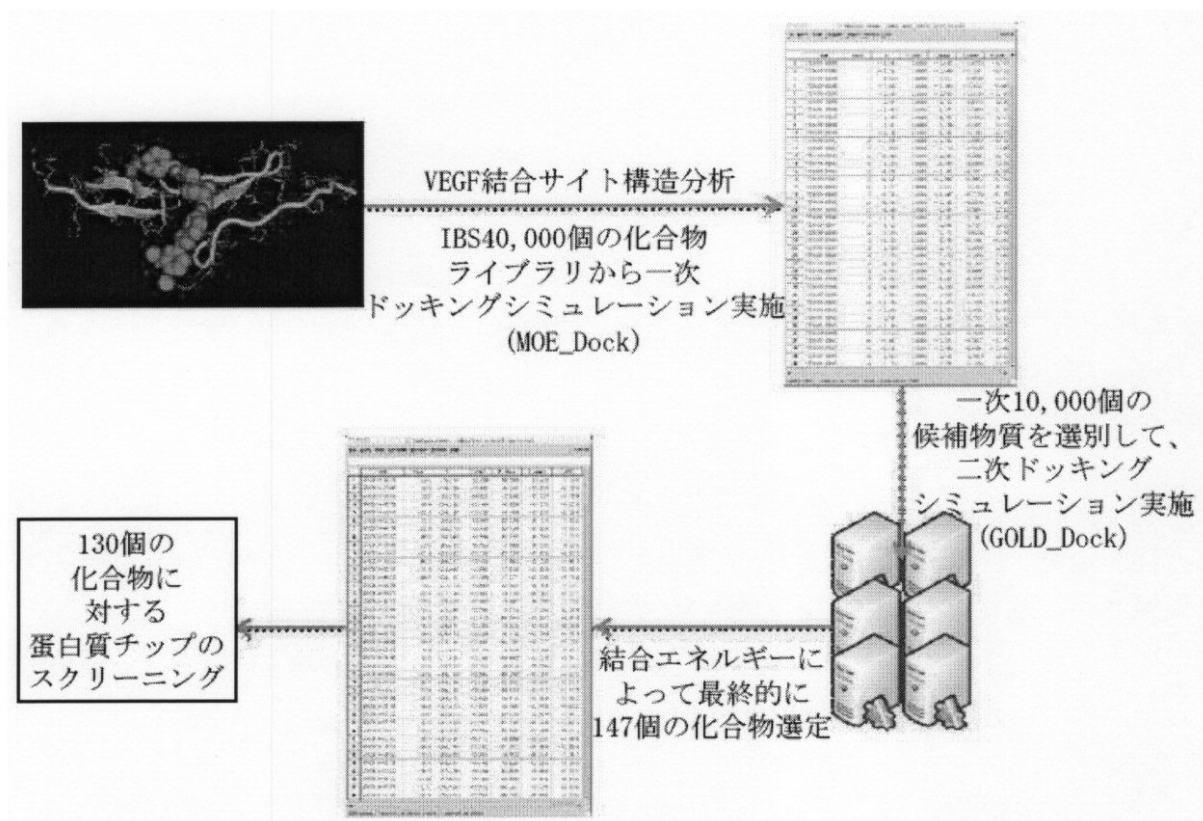
【図 6】



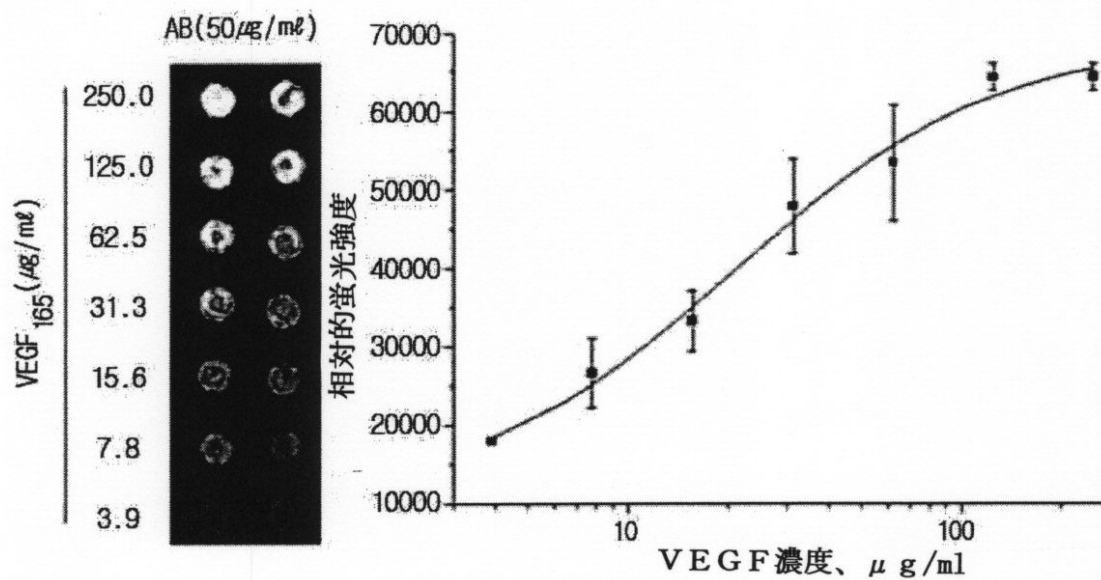
【図 7】



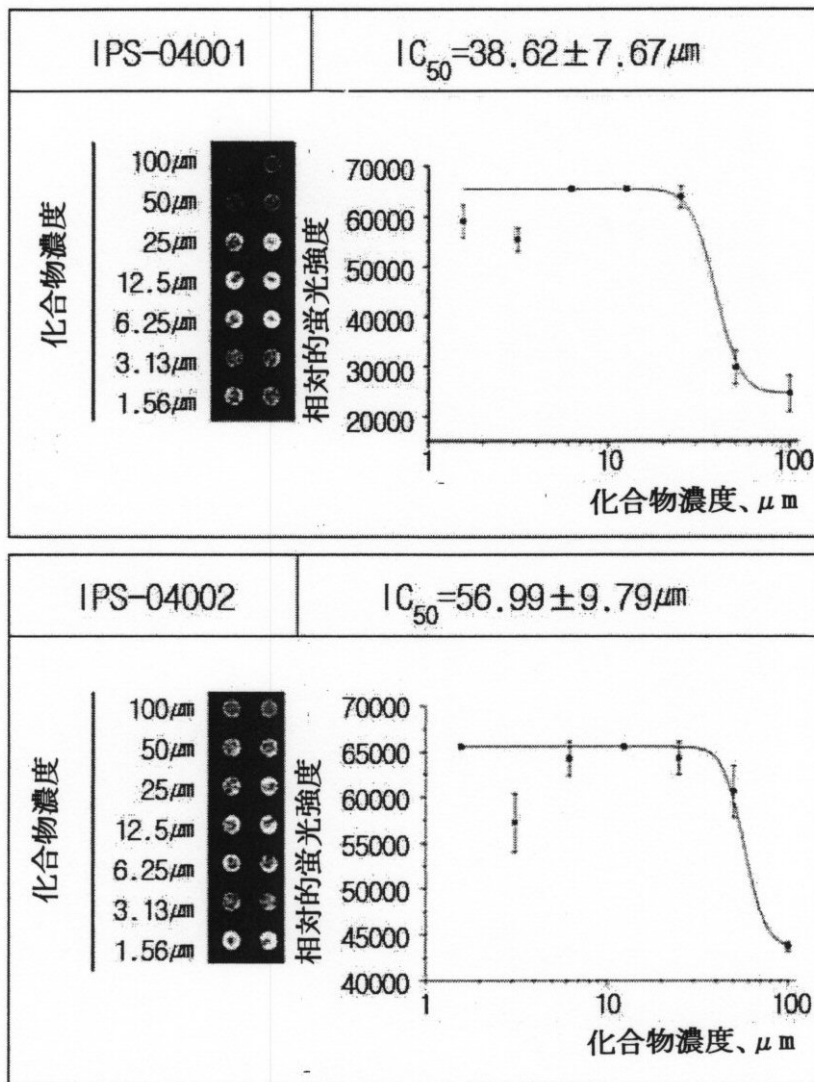
【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 4 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2010/003853

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/68(2006.01)i, C07D 405/12(2006.01)i, G01N 33/533(2006.01)i, A61K 8/64(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)

G01N 33/68; A61P 25/00; A61K 39/395; G06F 17/50; A61K 31/015; G06F 17/00; A01N 27/00

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

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: vascular endothelial growth factor, beta-amyloid, screening, antibody.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 02-48898 A1 (PRANA BIOTECHNOLOGY LIMITED) 20 June 2002 See the entire document.	1-8
A	US 2009-0028869 A1 (DODEL RICHARD et al.) 29 January 2009 See the entire document.	1-8
A	WO 97-44669 A1 (MEDICAL RESEARCH COUNCIL) 27 November 1997 See the entire document.	1-8
A	WO 97-05780 A1 (THE UNIVERSITY OF ALABAMA AT BIRMINGHAM RESEARCH FOUNDATION) 20 February 1997 See the entire document.	1-8

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

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 JANUARY 2011 (25.01.2011)

Date of mailing of the international search report

25 JANUARY 2011 (25.01.2011)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2010/003853

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
WO 02-48898 A1	20.06.2002	AU 2002-20372 A1	24.06.2002
		AU 2037202 A	24.06.2002
		AU PR20-240000	11.01.2001
		US 2007-0015688 A1	18.01.2007
		US 2007-015688 A1	18.01.2007
		WO 02-48898A1	20.06.2002
US 2009-0028869 A1	29.01.2009	AU 2008-204335 A1	17.07.2008
		CA 2675340-A1	17.07.2008
		EP 1944314 A1	16.07.2008
		EP 1944315 A1	16.07.2008
		EP 2104682 A2	30.09.2009
		JP 2010-515717 A	13.05.2010
		WO 2008-084402 A2	17.07.2008
		WO 2008-084402 A3	17.07.2008
		WO 2008-084402 A8	17.07.2008
WO 97-44669 A1	27.11.1997	AT 235058 T	15.04.2003
		DE 69719978 D1	24.04.2003
		DE 69719978 T2	18.12.2003
		DK901633T3	16.06.2003
		EP 0901633 A1	17.03.1999
		EP 0901633 A1	21.08.2002
		EP 0901633 B1	19.03.2003
		ES 2194198 T3	16.11.2003
		GB 9610829 D0	31.07.1996
		JP 2001-503509 A	13.03.2001
		JP 2001-503509 T	13.03.2001
		PT901633E	31.07.2003
		PT901633T	31.07.2003
		US 6245575 B1	12.06.2001
WO 97-05780 A1	20.02.1997	AT 343381 T	15.11.2006
		AU 1996-68438 B2	13.04.2000
		AU 6843896 A	05.03.1997
		CA 2225647-A1	20.02.1997
		DE 69636659 D1	07.12.2006
		DE 69636659 T2	01.02.2007
		EP 0912086 A1	09.10.2002
		EP 0912086 A1	06.05.1999
		EP 0912086 A4	17.04.2002
		EP 0912086 B1	25.10.2006
		JP 04-135810 B2	20.08.2008
		JP 2000-502043 A	22.02.2000
		JP 2000-502043 T	22.02.2000

국제조사보고서

국제출원번호
PCT/KR2010/003853

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))		
<i>G01N 33/68(2006.01)i, C07D 405/12(2006.01)i, G01N 33/533(2006.01)i, A61K 8/64(2006.01)i</i>		
B. 조사된 분야		
조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) G01N 33/68; A61P 25/00; A61K 39/395; G06F 17/50; A61K 31/015; G06F 17/00; A01N 27/00		
조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC		
국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 혈관내피성장인자, 베타-아밀로이드, 스크리닝, 항체.		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	WO 02-48898 A1 (PRANA BIOTECHNOLOGY LIMITED) 2002.06.20 전문 참조.	1-8
A	US 2009-0028869 A1 (DODEL RICHARD 외 4명) 2009.01.29 전문 참조.	1-8
A	WO 97-44669 A1 (MEDICAL RESEARCH COUNCIL) 1997.11.27 전문 참조.	1-8
A	WO 97-05780 A1 (THE UNIVERSITY OF ALABAMA AT BIRMINGHAM RESEARCH FOUNDATION) 1997.02.20 전문 참조.	1-8
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일 2011년 01월 25일 (25.01.2011)		국제조사보고서 발송일 2011년 01월 25일 (25.01.2011)
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 선사로 139, 정부대전청사 팩스 번호 82-42-472-7140		심사관 김정태 전화번호 82-42-481-5594 

서식 PCT/ISA/210 (두 번째 용지) (2009년 7월)

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호

PCT/KR2010/003853

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
WO 02-48898 A1	2002.06.20	AU 2002-20372 A1 AU 2037202 A AU PR20-240000 US 2007-0015688 A1 US 2007-015688 A1 WO 02-48898A1	2002.06.24 2002.06.24 2001.01.11 2007.01.18 2007.01.18 2002.06.20
US 2009-0028869 A1	2009.01.29	AU 2008-204335 A1 CA 2675340-A1 EP 1944314 A1 EP 1944315 A1 EP 2104682 A2 JP 2010-515717 A WO 2008-084402 A2 WO 2008-084402 A3 WO 2008-084402 A8	2008.07.17 2008.07.17 2008.07.16 2008.07.16 2009.09.30 2010.05.13 2008.07.17 2008.07.17 2008.07.17
WO 97-44669 A1	1997.11.27	AT 235058 T DE 69719978 D1 DE 69719978 T2 DK901633T3 EP 0901633 A1 EP 0901633 A1 EP 0901633 B1 ES 2194198 T3 GB 9610829 D0 JP 2001-503509 A JP 2001-503509 T PT901633E PT901633T US 6245575 B1	2003.04.15 2003.04.24 2003.12.18 2003.06.16 1999.03.17 2002.08.21 2003.03.19 2003.11.16 1996.07.31 2001.03.13 2001.03.13 2003.07.31 2003.07.31 2001.06.12
WO 97-05780 A1	1997.02.20	AT 343381 T AU 1996-68438 B2 AU 6843896 A CA 2225647-A1 DE 69636659 D1 DE 69636659 T2 EP 0912086 A1 EP 0912086 A1 EP 0912086 A4 EP 0912086 B1 JP 04-135810 B2 JP 2000-502043 A JP 2000-502043 T	2006.11.15 2000.04.13 1997.03.05 1997.02.20 2006.12.07 2007.02.01 2002.10.09 1999.05.06 2002.04.17 2006.10.25 2008.08.20 2000.02.22 2000.02.22

서식 PCT/ISA/210 (대응특허 추가용지) (2009년 7월)

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
G 0 1 N 33/15 (2006.01)		G 0 1 N 33/15	Z	4 C 0 8 6
G 0 1 N 33/53 (2006.01)		G 0 1 N 33/53	D	
G 0 1 N 33/533 (2006.01)		G 0 1 N 33/533		
G 0 1 N 21/78 (2006.01)		G 0 1 N 21/78	C	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)		A 6 1 K 45/00		
C 0 7 D 493/04 (2006.01)		C 0 7 D 493/04	1 0 6 C	
C 0 7 D 307/84 (2006.01)		C 0 7 D 307/84		

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, 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, RO, 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, HU, 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, RO, RS, RU, 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

(72)発明者 カン、イン - チョル

大韓民国ソウル特別市、カンナム - グ、ヨクサム、2 (アイ) - ドン、ヨクサム、プルジオ、アパート、ナンバー 1 0 3 - 3 0 2

(72)発明者 パク、チャン - ウォン

大韓民国キョンギ - ド、スウォン - シ、クウォンソン - グ、グムゴク - ドン、サムイク、3 - チャ、アパート、ナンバー 3 0 6 - 1 1 0 2

F ターム(参考) 2G045 AA25

2G054 AA06 AB04 AB10 CA23 CE02 EA03 GA03 GA04

4C037 QA04 QA09

4C071 AA01 AA08 BB01 CC12 EE05 FF17 GG01 GG06 HH09 JJ05

LL01

4C084 AA17 NA14 ZA162 ZC802

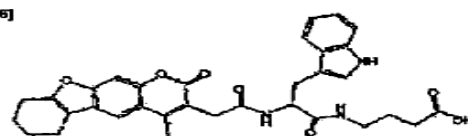
4C086 AA01 AA02 BA03 BA06 CA01 MA01 MA04 NA14 ZA16 ZC80

专利名称(译)	用于搜索抑制β淀粉样肽和VEGF之间相互作用的物质的方法和由此搜索的抑制剂		
公开(公告)号	JP2012530896A	公开(公告)日	2012-12-06
申请号	JP2012515976	申请日	2010-06-15
[标]申请(专利权)人(译)	INNOPHARMASCREEN		
申请(专利权)人(译)	伊诺屏幕制药公司		
[标]发明人	カンインチヨル パクチャンウォン		
发明人	カン、イン-チヨル パク、チャン-ウォン		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/343 A61P43/00 A61P25/28 A61K31/37 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/533 G01N21/78 A61K45/00 C07D493/04 C07D307/84		
CPC分类号	A61P25/28 C07D493/04 G01N2333/4709 G01N2500/00 G01N2800/2821 A61K31/343 A61K31/405		
FI分类号	G01N33/50.Z A61K31/343 A61P43/00.111 A61P25/28 A61K31/37 G01N33/15.Z G01N33/53.D G01N33/533 G01N21/78.C A61K45/00 C07D493/04.106.C C07D307/84		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G054/AA06 2G054/AB04 2G054/AB10 2G054/CA23 2G054/CE02 2G054/EA03 2G054/GA03 2G054/GA04 4C037/QA04 4C037/QA09 4C071/AA01 4C071/AA08 4C071/BB01 4C071/CC12 4C071/EE05 4C071/FF17 4C071/GG01 4C071/GG06 4C071/HH09 4C071/JJ05 4C071/LL01 4C084/AA17 4C084/NA14 4C084/ZA162 4C084/ZC802 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BA03 4C086/BA06 4C086/CA01 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZA16 4C086/ZC80		
代理人(译)	中村KoTakashi		
优先权	1020090054085 2009-06-17 KR		
外部链接	Espacenet		

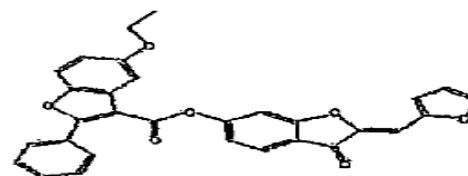
摘要(译)

提供了通过筛选抑制β-淀粉样蛋白1-42肽和VEGF 165之间结合的材料而发现的化合物，其中根据本发明筛选的抑制材料可以提高作为治疗阿尔茨海默病的材料的有效性。

[Fig. 6]



(PS-04001) : 4-{3-(1H-indol-3-yl)-2-[2-(6-acetyl-6-oxo-1,2,3,4-tetrahydro-5H-9,11-dioxo-benzol[5]furan-7-yl)-acetylamino]-propionylamino}-butyric acid



(PS-04002) : 5-Ethoxy-2-phenyl-benzofuran-3-carboxylic acid 2-furan-2-ylmethylene-3-oxo-2,3-dihydro-benzofuran-