

(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2014-515739  
(P2014-515739A)

(43) 公表日 平成26年7月3日(2014.7.3)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C4OB 40/10</b> (2006.01)	C4OB 40/10 ZCC	4C084
<b>GO1N 33/53</b> (2006.01)	GO1N 33/53 D	4H045
<b>C4OB 30/04</b> (2006.01)	C4OB 30/04	
<b>CO7K 7/06</b> (2006.01)	CO7K 7/06	
<b>A61P 37/06</b> (2006.01)	A61P 37/06	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 143 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-501248 (P2014-501248)  
 (86) (22) 出願日 平成24年3月22日 (2012. 3. 22)  
 (85) 翻訳文提出日 平成25年11月8日 (2013. 11. 8)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/030161  
 (87) 国際公開番号 W02012/129423  
 (87) 国際公開日 平成24年9月27日 (2012. 9. 27)  
 (31) 優先権主張番号 61/491, 717  
 (32) 優先日 平成23年5月31日 (2011. 5. 31)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 61/583, 881  
 (32) 優先日 平成24年1月6日 (2012. 1. 6)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)  
 (31) 優先権主張番号 61/467, 256  
 (32) 優先日 平成23年3月24日 (2011. 3. 24)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 509067614  
 オブコ ファーマシューティカルズ、エル  
 エルシー  
 アメリカ合衆国、33137 フロリダ州  
 、マイアミ、4400 ビスケン ブー  
 ルバード  
 (74) 代理人 110001379  
 特許業務法人 大島特許事務所  
 (72) 発明者 モーラ、ムラリダール、レディ  
 アメリカ合衆国フロリダ州33458・ジ  
 ュピター・ナンバー106・ユニバーシテ  
 イ ブルーバード 807

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ビーズまたは粒子ベースのライブラリーを用いた複合体液中でのバイオマーカー発見、並びに診  
 断キットおよび治療法

(57) 【要約】

本発明は、他の疾患または病状に関連するバイオマーカーのスクリーニングにおいて有用である。疾患および病状は、神経疾患、自己免疫疾患、および癌のほか、抗体または他の特徴的なタンパク質などのバイオマーカーまたは疾患または疾患の進行に関連したバイオマーカーを有する他の疾患および病状にも及ぶ。適切な実験条件の下で、本明細書に列強された処理にしたがって、本発明の大型リガンドライブラリーを体液で直接利用し、より少ない支持構成要素（例えば、約100,000以下）を使用する必要なしに、あるいは体液をスクリーニングする前にペプチドまたはリガンドをマイクロアレイに移す必要なしに、マーカーをスクリーニングできる。さらに、特定細胞表面マーカーに特に関連する細胞ベース受容体に関するスクリーニングにも、リガンドライブラリーを使用してもよい。

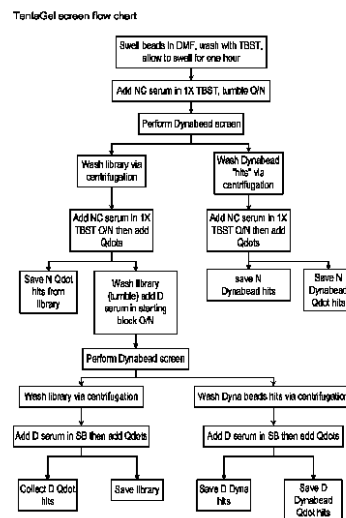


FIGURE 6

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

バイオマーカーに関して複合体液をスクリーニングする方法であって、

(a) 支持体を複数含み、かつ少なくとも 1 つのリガンドが該支持体に結合しているランダムリガンドライブラリーを提供すること；

(b) 前記リガンド結合部位を有する対照複合体液にランダムリガンドライブラリーを曝すこと；

(c) 精製リガンドライブラリーを形成するために、結合したリガンド結合部位を有する支持体すべてを取り除くこと；

(d) バイオマーカーを有する非対照複合体液に対して精製リガンドライブラリーをスクリーニングすること；

(e) 結合したバイオマーカーを有するリガンドの検出を可能にするために、検出試薬またはシステムにステップ (d) で作られた溶液を曝すこと、および必要に応じて

(f) バイオマーカーに結合したリガンドを同定することを含む、方法。

## 【請求項 2】

前記ランダムリガンドライブラリーがステップ (b) の前に前処理される、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記リガンドがペプチド、炭水化物、核酸オリゴマー、ペプチド、置換ペプチド、または小分子から選択される、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 4】

前記複合体液が動物に由来する、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 5】

前記複合体液が血清または血漿を含む、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 6】

血清または血漿が希釈される、請求項 5 に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記血清が約 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ~ 約 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の濃度範囲に希釈される、請求項 6 に記載の方法。

## 【請求項 8】

前記精製リガンドライブラリーが 1 回のスクリーニングあたり約 0.2 ~ 2.0 グラムを含む、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記疾患関連バイオマーカーがタンパク質または細胞表面受容体から選択される、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記疾患関連バイオマーカーが抗体から選択される、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 11】

前記検出試薬が標識二次抗体から選択される、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 12】

前記ランダムリガンドライブラリーが約 500,000 ~ 約 150,000,000 の支持体および約 500,000 ~ 約 150,000,000 のリガンドを含む、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 13】

前記支持体とランダムリガンドの間に PEG リンカーが存在する、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 14】

前記 PEG リンカーが 10 モノマー単位未満である、請求項 13 に記載の方法。

## 【請求項 15】

前記支持体がビーズまたは樹脂である、請求項 2 に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 16】

前記ビーズが t e n t a g e l ビーズである、請求項 15 に記載の方法。

## 【請求項 17】

前記 t e n t a g e l ビーズが約 5 ~ 約 1 , 0 0 0 ミクロンである、請求項 16 に記載の方法。

## 【請求項 18】

リガンドを有する t e n t a g e l ビーズが、膨張ステップにビーズを曝すことを含む処理ステップで前処理される、請求項 17 に記載の方法。

## 【請求項 19】

前記疾患が心臓血管疾患、自己免疫疾患、癌、または神経疾患から選択される、請求項 1 に記載の方法。 10

## 【請求項 20】

前記疾患または病状が炎症性疾患、代謝性疾患または異常、または感染症から選択される、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 21】

前記バイオマーカーが化学的毒素または環境汚染物質に関連している、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 22】

疾病関連バイオマーカーに関して複合体液をスクリーニングする方法であって、

( a ) 支持体を複数含み、かつリガンドが該支持体に結合している大型のランダムリガンドライブラリーを提供すること； 20

( b ) リガンド結合部位を有する健康な正常対照複合体液にランダムリガンドライブラリーを曝すこと；

( c ) 精製リガンドライブラリーを形成するために、結合したリガンド結合部位を有する支持体すべてを取り除くこと；

( d ) 疾病関連バイオマーカーを有する非対照複合体液に精製リガンドライブラリーを曝すこと；

( e ) 結合した疾病関連バイオマーカーを有するリガンドを検出すること；および

( f ) 結合した疾病関連バイオマーカーを有するリガンドを同定すること；および、必要に応じて 30

( g ) 疾病関連バイオマーカーを精製および / または特徴付けすることを含む、方法。

## 【請求項 23】

疾病関連バイオマーカーに関して高親和性リガンドをスクリーニングする方法であって、

( a ) 支持体を複数含み、かつリガンドが該支持体に結合している大型のランダムリガンドライブラリーを提供すること；

( b ) リガンド結合部位を有する健康な正常対照複合体液にランダムリガンドライブラリーを曝すこと；

( c ) 精製リガンドライブラリーを形成するために、結合したリガンド結合部位を有する支持体を取り除くこと； 40

( d ) 疾病関連バイオマーカーを有する非対照複合体液に精製リガンドライブラリーを曝すこと；

( e ) 結合した疾病関連バイオマーカーを有するリガンドを検出することを含む、方法。

## 【請求項 24】

前記大型のランダムリガンドライブラリーが、結合したリガンドを有する約 1 5 0 , 0 0 0 ~ 約 1 5 0 , 0 0 0 , 0 0 0 の支持体を含む、請求項 23 に記載の方法。

## 【請求項 25】

前記複合体液が約 1 , 0 0 0  $\mu$  g / m L ~ 約 1  $\mu$  g / m L の濃度範囲に希釈される、請求項 23 に記載の方法。 50

## 【請求項 26】

バイオマーカーに結合した異なる検出されたりガンドの数が約 5 ~ 約 100 に及ぶ、請求項 23 に記載の方法。

## 【請求項 27】

疾病関連バイオマーカーに関して高親和性リガンドを同定する方法であって、

(a) ビーズを複数含み、かつリガンドが該ビーズに結合している大型のランダムリガンドライブラリーを提供すること；

(b) リガンド結合部位を有する正常対照複合体液にランダムリガンドライブラリーを曝すこと；

(c) 精製リガンドライブラリーを形成するために、結合したりガンド結合部位を有するビーズを取り除くこと；

(d) 疾病関連バイオマーカーを有する非対照複合体液に精製リガンドライブラリーを曝すこと；

(e) 結合した疾病関連バイオマーカーを有するリガンドを検出すること；および

(f) 結合した疾病関連バイオマーカーを有するリガンドを同定することを含む、方法

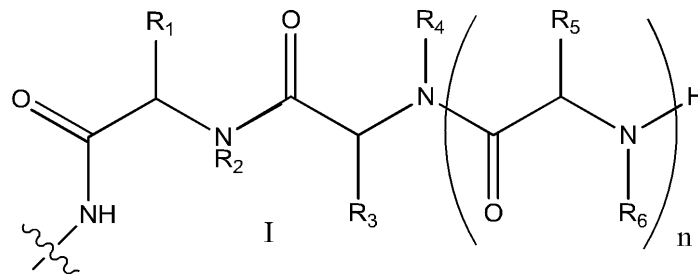
。

## 【請求項 28】

複合体液をスクリーニングするためのランダムリガンドライブラリーであって、

支持体上に下記の式 1 で表される化合物を含む、ランダムリガンドライブラリー。

## 【化 1】



式中、

$R_1$  は電子が豊富なアミノ酸側鎖 Y から選択され；

$R_2$  は H から選択され；

$R_3 \sim R_6$  は、独立して、H、 $-C_1 - C_6$  アルキル、 $-C_1 - C_6$  アルキルSCH<sub>3</sub>、 $-C_0 - C_6$  アルキルC<sub>2</sub> - C<sub>6</sub> アルケニル、 $-C_0 - C_6$  アルキルC<sub>2</sub> - C<sub>6</sub> アルキニル、 $-C_1 - C_6$  COOH、 $-C_1 - C_6$  アルキルOH、 $-C_1 - C_6$  アルキルN(R)<sub>2</sub>、 $-C_3 - C_8$  シクロアルキル、 $-C_1 - C_6$  アルキルアリール、 $-C_1 - C_6$  アルキルヘテロアリール、 $-C_1 - C_6$  アルキルNC(O)C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、 $-C_1 - C_6$  アルキルシクロアミドからなる群から選択され；

アリール及びヘテロアリール基は、互いに独立して、 $-OH$ 、Cl、F、Br、 $-OCH_3$ 、 $-SO_2NH_2$ 、または  $-O - CH_2 - O -$  で置換されてもよい。

## 【請求項 29】

請求項 28 に記載の、複合体液をスクリーニングするためのランダムリガンドライブラリーであって、

下記の (A) ~ (E) の群から選択される反応物の使用を含む処理によって生成された、下記の式 1 で表される化合物を支持体上に含むランダムリガンドライブラリー。

(A) フルフリルアミン；3, 4 - ジメトキシエタノールアミン；ベンジルアミン；N - (2 - アミノエチル) アセトアミド；N - (3 - アミノプロピル) - 2 - ピロリジノン；エタノールアミン；グリシン；ジアミノブタン；アリルキルアミン；ピペロニルアミン；メチルベンジルアミン；イソブチルアミン；4 - (2 - アミノエチル) ベンゼンスルホ

10

20

30

40

50

ンアミド、またはシクロヘキシルアミン；または

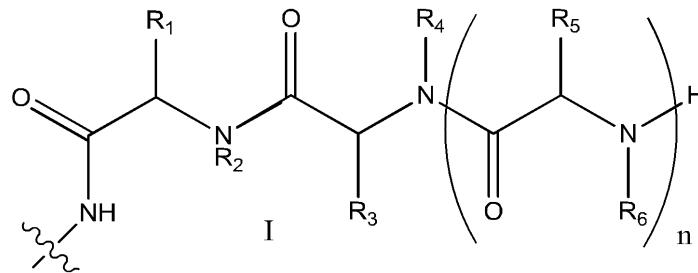
(B) メトキシエチルアミン；ピペロニルアミン；シクロヘキシルアミン；ジアミノブタン；メチルベンジルアミン；イソブチルアミン；フルフリルアミンまたは4-(2-アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド；または

(C) フルフリルアミン、エタノールアミン；グリシン；ジアミノブタン；アリルアミン；ピペロニルアミン；メチルベンジルアミン；イソブチルアミンまたは4-(2-アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド；または

(D) フルフリルアミン、N-(2-アミノエチル)アセトアミド；N-(3-アミノエチル)-2-ピロリジノン；エタノールアミン；グリシン；ジアミノブタン；アリルアミン；ピペロニルアミン；メチルベンジルアミン；イソブチルアミン；4-(2-アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド；または

(E) システイン、グリシン、アリルアミン、エタノールアミン、イソブチルアミン、メチルベンジルアミン、ピペロニルアミン、メチオニン、シクロヘキシルアミン、3,4-ジメトキシフェネチルアミン、ベンジルアミン、N-(2-アミノエチル)アセトアミド、N-(3-アミノプロピル)-2-ピロリドン、4-(2-アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド、およびフルフリルアミン。

【化1】



式中、

R<sub>1</sub> は、-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)SCH<sub>3</sub> からなる群から選択され；

R<sub>2</sub> はHから選択され；

R<sub>3</sub> およびR<sub>5</sub> は、互いに独立して、H、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルSCH<sub>3</sub>、-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>アルキルC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>アルキルC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルキニル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>COOH、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルOH、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルN(R)<sub>2</sub>、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>シクロアルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルアリール、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルヘテロアリール、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルNC(O)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルシクロアミドからなる群から選択され、ここで、アリールまたはヘテロアリール基のいずれも、独立して、-OH、Cl、F、Br、-OCH<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、または-O-CH<sub>2</sub>-O-で置換されてもよく；

R<sub>4</sub> は、フルフリルまたは-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル)NR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>を含む群から選択され、

R<sub>6</sub> は、H、1-イル-アリール、1-イル-2-ヒドロキシエチル、イソブチル、1-イル-n-ブチルアミン、メチルベンジル、ピペロニル、シロヘキシル、1-イル-2-(3,4-ジメトキシフェニル)エチル、ベンジル、1-イル-2-(アセトアミド)エチル、1-イル-3-2-ピロリジノン、1-イル-2-(4-ベンゼンスルホンアミド)エチル、またはフルフリルからなる群から選択され；

nは、3~11である。

【請求項30】

約200,000~約150,000,000の異なるリガンドを含む、請求項29に記載のリガンドライブラリー。

【請求項31】

前記支持体がビーズまたは樹脂から選択される、請求項30に記載のリガンドライブラ

リー。

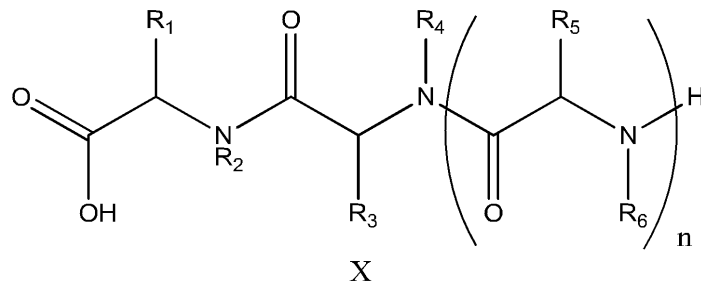
【請求項 3 2】

前記ビーズまたは樹脂が 10 モノマー単位未満の PEG リンカーを含む、請求項 3 1 に記載のリガンドライブラリー。

【請求項 3 3】

下記の式 X で表される化合物。

【化 2】



10

式中、

R<sub>1</sub> は電子が豊富なアミノ酸側鎖 Y から選択され；

R<sub>2</sub> は H から選択され；

R<sub>3</sub> ~ R<sub>6</sub> は、互いに独立して、H、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキル S C H<sub>3</sub>、-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub> アルキル C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> アルケニル、-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub> アルキル C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> アルキニル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> C O O H、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキル O H、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキル N ( R )<sub>2</sub>、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> シクロアルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキルアリール、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキルヘテロアリール、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキル N C ( O ) C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> アルキルシクロアミドからなる群から選択され、ここで、アリールまたはヘテロアリール基のいずれも、独立して、-O H、C l、F、B r、-O C H<sub>3</sub>、-S O<sub>2</sub> N H<sub>2</sub>、または -O - C H<sub>2</sub> - O - で置換されてもよく；

n は、3 ~ 10 である。

20

【請求項 3 4】

R<sub>4</sub> が - n - ブチルアミンから選択される、請求項 3 3 に記載の化合物。

30

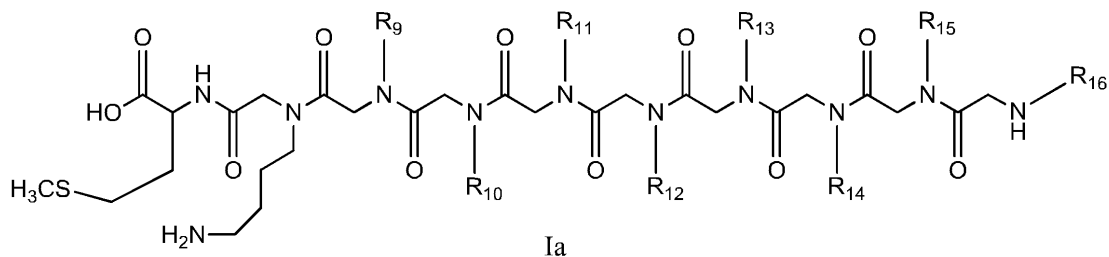
【請求項 3 5】

R<sub>1</sub> が - C H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> S C H<sub>3</sub> または - C H<sub>2</sub> S H から選択される、請求項 3 4 に記載の化合物。

【請求項 3 6】

下記の式 I a で表される化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

【化 3】



40

式中、

( a ) R<sub>9</sub> は n - ブチルアミン； R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>11</sub> はピペロニル； R<sub>12</sub> はメチルベンジル； R<sub>13</sub> はピペロニル； R<sub>14</sub> はメチルベンジル； R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) であり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

50

(b) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - 2 , 2 - ジメチルエチル ( イソブチル ) ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

(c) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はピペロニル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである ;

(d) R<sub>9</sub> はピペロニル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はイソブチル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はイソブチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

(e) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>13</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はピペロニルである ;

(f) R<sub>9</sub> はピペロニル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はイソプロピル ; R<sub>12</sub> はイソプロピル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルである ;

(g) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はピペロニル ; R<sub>12</sub> はメチルベンジル ; R<sub>13</sub> はピペロニル ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである ;

(h) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>13</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はピペロニルである ;

(i) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> はメチルベンジル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである ;

(j) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>10</sub> はメチルベンジル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> はイソブチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

(k) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>10</sub> はイソブチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>12</sub> はピペロニル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである ;

(l) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>14</sub> はイソブチル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

(m) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>15</sub> はフルフリルであり、および R<sub>16</sub> はフルフリルである ;

10

20

30

40

50

(n) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル; R<sub>10</sub> はシクロヘキシル; R<sub>11</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>12</sub> はフルフリル; R<sub>13</sub> は1-イル-2-メトキシエチル; R<sub>14</sub> は1-イル-2-メトキシエチル; R<sub>15</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、およびR<sub>16</sub> はフルフリルである;

(o) R<sub>9</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>10</sub> はピペロニル; R<sub>11</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル); R<sub>12</sub> は1-イル-2-メトキシエチル; R<sub>13</sub> はメチルベンジル; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> は1-イル-2-メトキシエチルであり、およびR<sub>16</sub> はメチルベンジルである;

(p) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル; R<sub>10</sub> はシクロヘキシル; R<sub>11</sub> はピペロニル; R<sub>12</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>13</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> は1-イル-n-ブチルアミンであり、およびR<sub>16</sub> はイソブチルである;

(q) R<sub>9</sub> はピペロニル; R<sub>10</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>11</sub> は1-イル-2-メトキシエチル; R<sub>12</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル); R<sub>13</sub> はピペロニル; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、およびR<sub>16</sub> はメチルベンジルである;

(r) R<sub>9</sub> はメチルベンジル; R<sub>10</sub> はメチルベンジル; R<sub>11</sub> はメチルベンジル; R<sub>12</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>13</sub> はピペロニル; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> はピペロニルであり、およびR<sub>16</sub> は1-イル-n-ブチルアミンである;

(s) R<sub>9</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>10</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>11</sub> はメチルベンジル; R<sub>12</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>13</sub> はメチルベンジル; R<sub>14</sub> はメチルベンジル; R<sub>15</sub> は1-イル-2-メトキシエチルであり、およびR<sub>16</sub> はピペロニルである;

(t) R<sub>9</sub> はメチルベンジル; R<sub>10</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル); R<sub>11</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>12</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル); R<sub>13</sub> はイソブチル; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、およびR<sub>16</sub> は1-イル-2-メトキシエチルである;

(u) R<sub>9</sub> は1-イル-2-メトキシエチル; R<sub>10</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>11</sub> はイソブチル; R<sub>12</sub> はイソブチル; R<sub>13</sub> はシクロヘキシル; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、およびR<sub>16</sub> はシクロヘキシルである;

(v) R<sub>9</sub> はイソブチル; R<sub>10</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>11</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>12</sub> はメチルベンジル; R<sub>13</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> はピペロニルであり、およびR<sub>16</sub> はピペロニルである;

(w) R<sub>9</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル); R<sub>10</sub> はイソブチル; R<sub>11</sub> はメチルベンジル; R<sub>12</sub> は1-イル-2-メトキシエチル; R<sub>13</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル); R<sub>14</sub> はイソブチル; R<sub>15</sub> は1-イル-2-メトキシエチルであり、およびR<sub>16</sub> はシクロヘキシルである;

(x) R<sub>9</sub> はフルフリル; R<sub>10</sub> はフルフリル; R<sub>11</sub> はピペロニル; R<sub>12</sub> はシクロヘキシル; R<sub>13</sub> はピペロニル; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、およびR<sub>16</sub> はシクロヘキシルである;

(y) R<sub>9</sub> はピペロニル; R<sub>10</sub> はピペロニル; R<sub>11</sub> は1-イル-2-メトキシエチル; R<sub>12</sub> は1-イル-2-メトキシエチル; R<sub>13</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> は1-イル-n-ブチルアミンであり、およびR<sub>16</sub> は1-イル-2-メトキシエチルである;

(z) R<sub>9</sub> はピペロニル; R<sub>10</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>11</sub> はイソブチル

10

20

30

40

50

; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はイソブチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( a a ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> はメチルベンジル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルである ;

( b b ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> はイソブチル ; R<sub>13</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> はピペロニルである ;

( c c ) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>10</sub> はメチルベンジル ; R<sub>11</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>12</sub> はピペロニル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである ;

( d d ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>15</sub> はイソブチルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである ;

( e e ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>10</sub> はメチルベンジル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> はピペロニル ; R<sub>14</sub> はイソブチル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( f f ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> はメチルベンジル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>12</sub> はメチルベンジル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである ;

( g g ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

( h h ) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>10</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( i i ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> はフルフリル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> はフルフリル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである ;

( j j ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> はメチルベンジル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルであり、および R<sub>16</sub> はイソブチルである ;

( k k ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> はメチルベンジル ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 (

10

20

30

40

50

ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

(ll)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(mm)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

(nn)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  はピペロニル； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである；

(oo)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はピペロニル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

(pp)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  はメチルアミン； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はピペロニルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

(qq)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はフルフリル； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{13}$  はイソブチル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

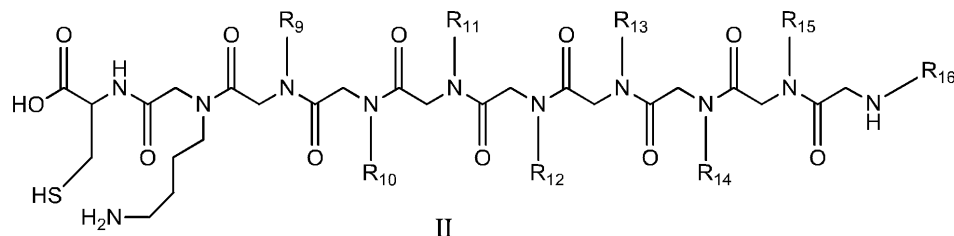
(rr)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  はイソブチル； $R_{12}$  はイソブチル； $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチルである；あるいは

(ss)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである。

【請求項 37】

下記の式 II で表される化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

【化 4】



II

式中、

(a)  $R_9$  は n - ブチルアミン； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  はピペロニル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

(b)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンス

ルホンアミド)エチル;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{12}$  はシクロヘキシル;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2, 2 - ジメチルエチル (イソブチル);  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである;

(c)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{11}$  はピペロニル;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチル;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{14}$  はメチルベンジル;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである;

(d)  $R_9$  はピペロニル;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{11}$  はイソブチル;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチル;  $R_{13}$  はメチルベンジル;  $R_{14}$  はシクロヘキシル;  $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである;

(e)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{11}$  はメチルベンジル;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル;  $R_{13}$  はシクロヘキシル;  $R_{14}$  はシクロヘキシル;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである;

(f)  $R_9$  はピペロニル;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{11}$  はイソプロピル;  $R_{12}$  はイソプロピル;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル;  $R_{14}$  はシクロヘキシル;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチルである;

(g)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{11}$  はピペロニル;  $R_{12}$  はメチルベンジル;  $R_{13}$  はピペロニル;  $R_{14}$  はメチルベンジル;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチル、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである;

(h)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{11}$  はメチルベンジル;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル;  $R_{13}$  はシクロヘキシル;  $R_{14}$  はシクロヘキシル;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである;

(i)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{10}$  はメチルベンジル;  $R_{11}$  はメチルベンジル;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{14}$  はシクロヘキシル;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである;

(j)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチル;  $R_{10}$  はメチルベンジル;  $R_{11}$  はメチルベンジル;  $R_{12}$  はシクロヘキシル;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{14}$  はメチルベンジル;  $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである;

(k)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル;  $R_{10}$  はイソブチル;  $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチル;  $R_{12}$  はピペロニル;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{14}$  はシクロヘキシル;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである;

(l)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチル;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{12}$  はシクロヘキシル;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル;  $R_{14}$  はイソブチル;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである;

(m)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル;  $R_{13}$  はメチルベンジル;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン;  $R_{15}$  はフルフリルであり、および  $R_{16}$  はフルフリルである;

(n)  $R_9$  はシクロヘキシル;  $R_{10}$  はシクロヘキシル;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチ

10

20

30

40

50

ルアミン； $R_{12}$ はフルフリル； $R_{13}$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{14}$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{15}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および $R_{16}$ はフルフリルである；

(o)  $R_9$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$ はピペロニル； $R_{11}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)； $R_{12}$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{13}$ はメチルベンジル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ は1-イル-2-メトキシエチルであり、および $R_{16}$ はメチルベンジルである；

(p)  $R_9$ はシクロヘキシル； $R_{10}$ はシクロヘキシル； $R_{11}$ はピペロニル； $R_{12}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ は1-イル-n-ブチルアミンであり、および $R_{16}$ はイソブチルである；

(q)  $R_9$ はピペロニル； $R_{10}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{12}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)； $R_{13}$ はピペロニル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ はメチルベンジルであり、および $R_{16}$ はメチルベンジルである；

(r)  $R_9$ はメチルベンジル； $R_{10}$ はメチルベンジル； $R_{11}$ はメチルベンジル； $R_{12}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$ はピペロニル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ はピペロニルであり、および $R_{16}$ は1-イル-n-ブチルアミンである；

(s)  $R_9$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$ はメチルベンジル； $R_{12}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$ はメチルベンジル； $R_{14}$ はメチルベンジル； $R_{15}$ は1-イル-2-メトキシエチルであり、および $R_{16}$ はピペロニルである；

(t)  $R_9$ はメチルベンジル； $R_{10}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)； $R_{11}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)； $R_{13}$ はイソブチル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ はメチルベンジルであり、および $R_{16}$ は1-イル-2-メトキシエチルである；

(u)  $R_9$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{10}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$ はイソブチル； $R_{12}$ はイソブチル； $R_{13}$ はシクロヘキシル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および $R_{16}$ はシクロヘキシルである；

(v)  $R_9$ はイソブチル； $R_{10}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$ はメチルベンジル； $R_{13}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ はピペロニルであり、および $R_{16}$ はピペロニルである；

(w)  $R_9$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)； $R_{10}$ はイソブチル； $R_{11}$ はメチルベンジル； $R_{12}$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{13}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)； $R_{14}$ はイソブチル； $R_{15}$ は1-イル-2-メトキシエチルであり、および $R_{16}$ はシクロヘキシルである；

(x)  $R_9$ はフルフリル； $R_{10}$ はフルフリル； $R_{11}$ はピペロニル； $R_{12}$ はシクロヘキシル； $R_{13}$ はピペロニル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および $R_{16}$ はシクロヘキシルである；

(y)  $R_9$ はピペロニル； $R_{10}$ はピペロニル； $R_{11}$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{12}$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{13}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ は1-イル-n-ブチルアミンであり、および $R_{16}$ は1-イル-2-メトキシエチルである；

(z)  $R_9$ はピペロニル； $R_{10}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$ はイソブチル； $R_{12}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)； $R_{13}$ はメチルベン

10

20

30

40

50

ジル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はイソブチルであり、および $R_{16}$  は1-イル-n-ブチルアミンである；

(aa)  $R_9$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{10}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および $R_{16}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルである；

(bb)  $R_9$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{11}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$  はイソブチル； $R_{13}$  はシクロヘキシル； $R_{14}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  は1-イル-n-ブチルアミンであり、  
10 および $R_{16}$  はピペロニルである；

(cc)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はシクロヘキシル； $R_{12}$  はピペロニル； $R_{13}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{15}$  は1-イル-n-ブチルアミンであり、および $R_{16}$  は1-イル-2-メトキシエチルである；

(dd)  $R_9$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{10}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{11}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{13}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{14}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{15}$  はイソブチルであり、および $R_{16}$  はシクロヘキシルである；  
20

(ee)  $R_9$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  はイソブチル； $R_{15}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および $R_{16}$  は1-イル-n-ブチルアミンである；

(ff)  $R_9$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{15}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および $R_{16}$  はシクロヘキシルである；

(gg)  $R_9$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{11}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{13}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{14}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{15}$  は1-イル-n-ブチルアミンであり、および $R_{16}$  はメチルベンジルである；  
30

(hh)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および $R_{16}$  は1-イル-n-ブチルアミンである；

(ii)  $R_9$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$  はフルフリル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{13}$  はフルフリル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および $R_{16}$  はシクロヘキシルである；  
40

(jj)  $R_9$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{13}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は1-イル-2-メトキシエチルであり、および $R_{16}$  はイソブチルである；

(kk)  $R_9$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{10}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および $R_{16}$  はメチルベンジルである；  
50

(ll) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

(mm) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

(nn) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はピペロニル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである ;

(oo) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>10</sub> はメチルベンジル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> はピペロニル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである ;

(pp) R<sub>9</sub> はピペロニル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> はメチルアミン ; R<sub>13</sub> はピペロニル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>15</sub> はピペロニルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである ;

(qq) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>10</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>11</sub> はフルフリル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>13</sub> はイソブチル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

(rr) R<sub>9</sub> はピペロニル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はイソブチル ; R<sub>12</sub> はイソブチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルである ; あるいは

(ss) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>10</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> はメチルベンジル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> はシクロヘキシルであり、および R<sub>16</sub> はピペロニルである。

#### 【請求項 38】

式 I I の前記化合物の R<sub>9</sub> ~ R<sub>16</sub> が下記の群から選択される、請求項 35 に記載の化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

式中、

(a) R<sub>9</sub> は n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はピペロニル ; R<sub>12</sub> はメチルベンジル ; R<sub>13</sub> はピペロニル ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである ;

(b) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - 2 , 2 - ジメチルエチル ( イソブチル ) ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

(c) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はピペロニル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである ;

(d) R<sub>9</sub> はピペロニル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はイソブチル

10

20

30

40

50

; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はイソブチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( e ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>13</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はピペロニルである ; あるいは

( f ) R<sub>9</sub> はピペロニル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はイソプロピル ; R<sub>12</sub> はイソプロピル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルである。

10

【請求項 39】

アルツハイマー病を罹患している患者またはアルツハイマー病が疑われる患者の複合体液中の疾患関連バイオマーカの存在をスクリーニングするスクリーニングキットであって、請求項 37 に記載の少なくとも 1 つのペプチドと、検出プラットフォームとを含む、スクリーニングキット。

【請求項 40】

前記キットがビーズベースプラットフォームまたはマイクロアレイプラットフォームまたは ELISA プラットフォームを含む、請求項 39 に記載のスクリーニングキット。

【請求項 41】

前記ビーズベースプラットフォームが Tent a Gel プラットフォームまたは Lum i n e x プラットフォームから選択される、請求項 40 に記載のスクリーニングキット。

20

【請求項 42】

前記スクリーニング溶液中のペプチドの濃度範囲が 0 . 1 m M ~ 約 2 0 m M に及ぶ、請求項 40 に記載のスクリーニングキット。

【請求項 43】

前記複合体液が複合体液 / 希釈液で約 1 : 1 0 0 ~ 約 1 : 5 0 , 0 0 0 の範囲に希釈される、請求項 40 に記載のスクリーニングキット。

【請求項 44】

前記複合体液が希釈液で約 1 0 ~ 約 2 0 0 μ g / m L の濃度範囲に希釈される、請求項 41 に記載のスクリーニングキット。

30

【請求項 45】

前記 Tent a Gel ビーズが約 1 0 μ m ~ 5 0 μ m のミクロン直径範囲を有する、請求項 44 に記載のスクリーニングキット。

【請求項 46】

前記 Tent a Gel ビーズが、ペプチドに結合した P E G リンカーを有する、請求項 45 に記載のスクリーニングキット。

【請求項 47】

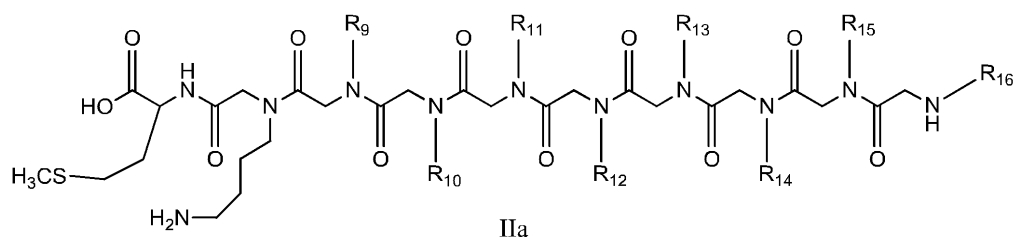
請求項 37 に記載の少なくとも 1 つのペプチドとともに複合体液を含む複合体液中のアルツハイマー病に関連したバイオマーカの有無をスクリーニングし、および複合体液中のバイオマーカの結合の有無を検出する方法。

40

【請求項 48】

下記の式 I I a で表される化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

## 【化5】



式中、

(m)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  はピペロニル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  はシクロヘキシル； $R_{14}$  はイソブチル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(n)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{13}$  はイソブチル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(o)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{13}$  はイソブチル； $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

(p)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである；

(q)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

(r)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(s)  $R_9$  はフルフリル； $R_{10}$  はフルフリル； $R_{11}$  はイソブチル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

(t)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{11}$  はシクロヘキシル； $R_{12}$  はシクロヘキシル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

(u)  $R_9$  はイソブチル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はイソブチル； $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(v)  $R_9$  はイソブチル； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(w)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はイソブチル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである；あるいは

10

20

30

40

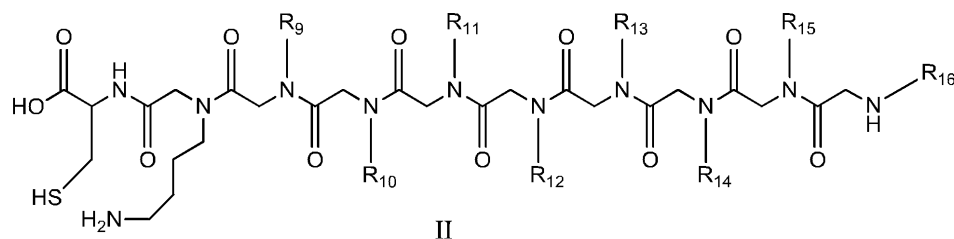
50

( l ) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>10</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>11</sub> はイソブチル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである。

【請求項 49】

下記の式 II で表される化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

【化 4】



10

式中、

( m ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> はピペロニル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>14</sub> はイソブチル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

20

( n ) R<sub>9</sub> はメチルベンジル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) ; R<sub>13</sub> はイソブチル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( o ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>13</sub> はイソブチル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである ;

( p ) R<sub>9</sub> はメチルベンジル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) ; R<sub>12</sub> はメチルベンジル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>15</sub> はシクロヘキシルであり、および R<sub>16</sub> はイソブチルである ;

30

( q ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> はメチルベンジル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> はメチルベンジル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>15</sub> はシクロヘキシルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

( r ) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>10</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

40

( s ) R<sub>9</sub> はフルフリル ; R<sub>10</sub> はフルフリル ; R<sub>11</sub> はイソブチル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

( t ) R<sub>9</sub> はメチルベンジル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) ; R<sub>11</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>12</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

( u ) R<sub>9</sub> はイソブチル ; R<sub>10</sub> はメチルベンジル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はイソブチル ; R<sub>15</sub> はイソブチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

50

(v)  $R_9$  はイソブチル； $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-n-ブチルアミンである；

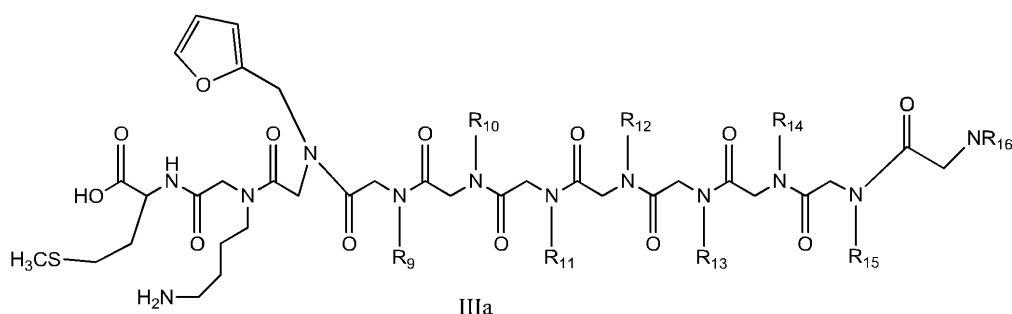
(w)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は 1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$  はイソブチル； $R_{15}$  は 1-イル-n-ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである；あるいは

(x)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はイソブチル； $R_{12}$  は 1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$  は 1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は 1-イル-n-ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-2-メトキシエチルである。

【請求項 50】

下記の式 III a で表される化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

【化 6】



IIIa

式中、

(a)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  は 1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$  は 1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)； $R_{14}$  は 1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-n-ブチルアミンである；

(b)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  はピペロニル； $R_{11}$  はシクロヘキシル； $R_{12}$  は 1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$  は 1-イル-アリル； $R_{14}$  はイソブチル； $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-n-ブチルアミンである；

(c)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  はピペロニル； $R_{11}$  はシクロヘキシル； $R_{12}$  はピペロニル； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は 1-イル-n-ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-n-ブチルアミンである；

(d)  $R_9$  はイソブチル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はイソブチル； $R_{12}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)； $R_{13}$  は 1-イル-アリル； $R_{14}$  は 1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  は 1-イル-アリルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである；

(e)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  はイソブチル； $R_{11}$  はピペロニル； $R_{12}$  はシクロヘキシル； $R_{13}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)； $R_{14}$  は 1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  は 1-イル-n-ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである；

(f)  $R_9$  は 1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$  は 1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$  はピペロニル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  は 1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  は 1-イル-n-ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-2-ヒドロキシエチルである；

(g)  $R_9$  は 1-イル-2-ヒドロキシエチル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はシクロヘキシル； $R_{12}$  は 1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-n-ブチルアミンである；

(h)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  はピペロニル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$

10

20

30

40

50

は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  はメチルベンジル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである ;

( i )  $R_9$  はメチルベンジル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - アリル ;  $R_{11}$  はピペロニル ;  $R_{12}$  はピペロニル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである ;

( j )  $R_9$  はメチルベンジル ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  はピペロニル ;  $R_{12}$  はメチルベンジル ;  $R_{13}$  はピペロニル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( k )  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  はメチルベンジル ;  $R_{13}$  はピペロニル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである ;

( l )  $R_9$  は 1 - イル - アリル ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  はシクロヘキシル ;  $R_{13}$  はピペロニル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである ;

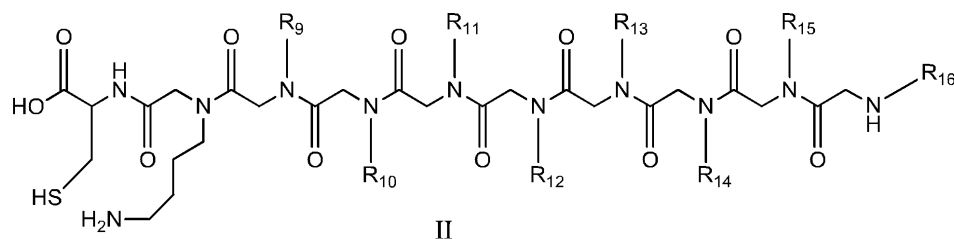
( m )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル ;  $R_{11}$  はイソブチル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである ; あるいは

( n )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  はピペロニルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチルである。

【請求項 5 1】

下記の式 I I で表される化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

【化 4】



式中、

( a )  $R_9$  はピペロニル ;  $R_{10}$  はシクロヘキシル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( b )  $R_9$  はピペロニル ;  $R_{10}$  はピペロニル ;  $R_{11}$  はシクロヘキシル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  は 1 - イル - アリル ;  $R_{14}$  はイソブチル ;  $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( c )  $R_9$  はメチルベンジル ;  $R_{10}$  はピペロニル ;  $R_{11}$  はシクロヘキシル ;  $R_{12}$  はピペロニル ;  $R_{13}$  はピペロニル ;  $R_{14}$  はメチルベンジル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( d )  $R_9$  はイソブチル ;  $R_{10}$  はシクロヘキシル ;  $R_{11}$  はイソブチル ;  $R_{12}$  は 1

-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル; R<sub>13</sub>は1-イル-アリル; R<sub>14</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub>は1-イル-アリルであり、およびR<sub>16</sub>はピペロニルである;

(e) R<sub>9</sub>はピペロニル; R<sub>10</sub>はイソブチル; R<sub>11</sub>はピペロニル; R<sub>12</sub>はシクロヘキシル; R<sub>13</sub>は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル; R<sub>14</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub>は1-イル-n-ブチルアミンであり、およびR<sub>16</sub>はピペロニルである;

(f) R<sub>9</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>10</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>11</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>12</sub>はピペロニル; R<sub>13</sub>はメチルベンジル; R<sub>14</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub>は1-イル-n-ブチルアミンであり、およびR<sub>16</sub>は1-イル-2-ヒドロキシエチルである;

(g) R<sub>9</sub>は1-イル-2-ヒドロキシエチル; R<sub>10</sub>はメチルベンジル; R<sub>11</sub>はシクロヘキシル; R<sub>12</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>13</sub>はピペロニル; R<sub>14</sub>はメチルベンジル; R<sub>15</sub>はメチルベンジルであり、およびR<sub>16</sub>は1-イル-n-ブチルアミンである;

(h) R<sub>9</sub>はメチルベンジル; R<sub>10</sub>はピペロニル; R<sub>11</sub>はメチルベンジル; R<sub>12</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>13</sub>はメチルベンジル; R<sub>14</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub>は1-イル-n-ブチルアミンであり、およびR<sub>16</sub>はピペロニルである;

(i) R<sub>9</sub>はメチルベンジル; R<sub>10</sub>は1-イル-アリル; R<sub>11</sub>はピペロニル; R<sub>12</sub>はピペロニル; R<sub>13</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>14</sub>は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル; R<sub>15</sub>は1-イル-n-ブチルアミンであり、およびR<sub>16</sub>はメチルベンジルである;

(j) R<sub>9</sub>はメチルベンジル; R<sub>10</sub>はメチルベンジル; R<sub>11</sub>はピペロニル; R<sub>12</sub>はメチルベンジル; R<sub>13</sub>はピペロニル; R<sub>14</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub>はメチルベンジルであり、およびR<sub>16</sub>は1-イル-n-ブチルアミンである;

(k) R<sub>9</sub>は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル; R<sub>10</sub>はメチルベンジル; R<sub>11</sub>はメチルベンジル; R<sub>12</sub>はメチルベンジル; R<sub>13</sub>はピペロニル; R<sub>14</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub>は1-イル-n-ブチルアミンであり、およびR<sub>16</sub>はイソブチルである;

(l) R<sub>9</sub>は1-イル-アリル; R<sub>10</sub>はメチルベンジル; R<sub>11</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>12</sub>はシクロヘキシル; R<sub>13</sub>はピペロニル; R<sub>14</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub>は1-イル-n-ブチルアミンであり、およびR<sub>16</sub>はピペロニルである;

(m) R<sub>9</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>10</sub>は1-イル-2-ヒドロキシエチル; R<sub>11</sub>はイソブチル; R<sub>12</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>13</sub>は1-イル-2-ヒドロキシエチル; R<sub>14</sub>は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル; R<sub>15</sub>は1-イル-n-ブチルアミンであり、およびR<sub>16</sub>はシクロヘキシルである;あるいは

(n) R<sub>9</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>10</sub>は1-イル-2-ヒドロキシエチル; R<sub>11</sub>はメチルベンジル; R<sub>12</sub>は1-イル-2-ヒドロキシエチル; R<sub>13</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>14</sub>は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub>はピペロニルであり、およびR<sub>16</sub>は1-イル-2-ヒドロキシエチルである。

#### 【請求項52】

請求項37に記載の少なくとも1つのペプチドを含む膵臓癌であるか、膵臓癌が疑われる患者複合体液中の疾患関連バイオマーカーの存在をスクリーニングするスクリーニングキット、および検出プラットフォーム。

#### 【請求項53】

前記キットがビーズベースプラットフォームまたはマイクロアレイプラットフォームまたはELISAプラットフォームを含む、請求項52に記載のスクリーニングキット。

10

20

30

40

50

## 【請求項 5 4】

前記ビーズベースプラットフォームが Tent a Gel プラットフォームまたは Lum i n e x プラットフォームから選択される、請求項 5 3 に記載のスクリーニングキット。

## 【請求項 5 5】

前記スクリーニング溶液中のペプチドの濃度範囲が 0 . 1 m M ~ 約 2 0 m M に及ぶ、請求項 5 3 に記載のスクリーニングキット。

## 【請求項 5 6】

前記複合体液が複合体液 / 希釈液で約 1 : 1 0 0 ~ 約 1 : 5 0 , 0 0 0 の範囲に希釈される、請求項 5 3 に記載のスクリーニングキット。

## 【請求項 5 7】

前記複合体液が希釈液で約 1 0 ~ 約 2 0 0 μ g / m L の濃度範囲に希釈される、請求項 5 4 に記載のスクリーニングキット。

## 【請求項 5 8】

前記 Tent a Gel ビーズが約 1 0 μ m ~ 5 0 μ m のミクロン直径範囲を有する、請求項 5 4 に記載のスクリーニングキット。

## 【請求項 5 9】

前記 Tent a Gel ビーズが、ペプチドに結合した P E G リンカーを有する、請求項 5 4 に記載のスクリーニングキット。

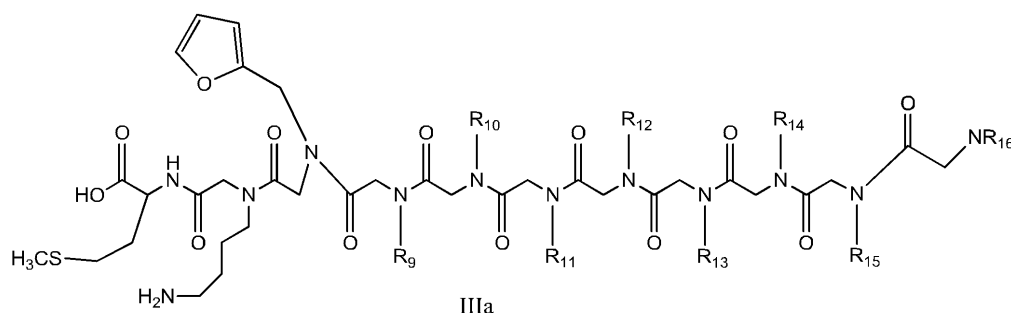
## 【請求項 6 0】

請求項 4 9 または 5 1 に記載の少なくとも 1 つのペプチドとともに複合体液を含む複合体液中の膀胱癌に関連したバイオマーカーの有無をスクリーニングし、および複合体液中のバイオマーカーの結合の有無を検出する方法。

## 【請求項 6 1】

下記の式 III a で表される化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

## 【化 6】



式中、

( a ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - アリル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 3 N - ( 2 - ピロリジノン ) プロピル ; R<sub>11</sub> は酢酸 ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> はベンジル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>15</sub> はイソブチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - アリルである ;

( b ) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル ; R<sub>13</sub> はベンジル ; R<sub>14</sub> はピペロニル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルである ;

( c ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - アリル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> はベンジル ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> はベンジル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( d ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル -

10

20

30

40

50

n - ブチルアミン；R<sub>14</sub> はベンジル；R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、およびR<sub>16</sub> はベンジルである；

(e) R<sub>9</sub> はピペロニル；R<sub>10</sub> はピペロニル；R<sub>11</sub> は1 - イル - n - ブチルアミン；R<sub>12</sub> はシクロヘキシル；R<sub>13</sub> はベンジル；R<sub>14</sub> は1 - イル - 2 - (3, 4 - ジメトキシフェニル) エチル；R<sub>15</sub> は1 - イル - n - ブチルアミンであり、およびR<sub>16</sub> はメチルベンジルである；

(f) R<sub>9</sub> は1 - イル - アリル；R<sub>10</sub> はメチルベンジル；R<sub>11</sub> はメチルベンジル；R<sub>12</sub> は1 - イル - n - ブチルアミン；R<sub>13</sub> はピペロニル；R<sub>14</sub> はベンジル；R<sub>15</sub> はピペロニルであり、およびR<sub>16</sub> は1 - イル - n - ブチルアミンである；

(g) R<sub>9</sub> は1 - イル - 2 - (3, 4 - ジメトキシフェニル) エチル；R<sub>10</sub> はイソブチル；R<sub>11</sub> はメチルベンジル；R<sub>12</sub> は1 - イル - n - ブチルアミン；R<sub>13</sub> はメチルベンジル；R<sub>14</sub> はベンジル；R<sub>15</sub> はピペロニルであり、およびR<sub>16</sub> は1 - イル - n - ブチルアミンである；

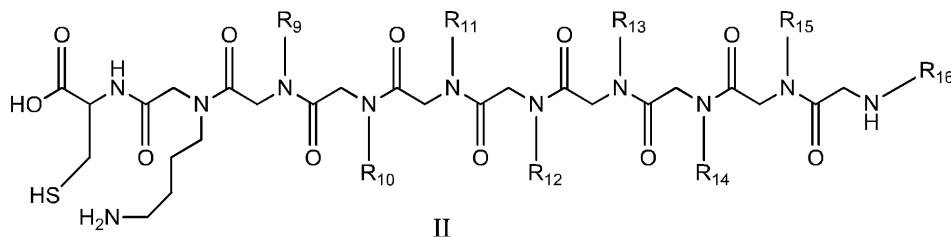
(h) R<sub>9</sub> はメチルベンジル；R<sub>10</sub> は1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)；R<sub>11</sub> はメチルベンジル；R<sub>12</sub> は1 - イル - n - ブチルアミン；R<sub>13</sub> はメチルベンジル；R<sub>14</sub> はメチルベンジル；R<sub>15</sub> は1 - イル - n - ブチルアミンであり、およびR<sub>16</sub> はメチルベンジルである；あるいは

(i) R<sub>9</sub> はピペロニル；R<sub>10</sub> はベンジル；R<sub>11</sub> はピペロニル；R<sub>12</sub> はベンジル；R<sub>13</sub> は1 - イル - n - ブチルアミン；R<sub>14</sub> はベンジル；R<sub>15</sub> はシクロヘキシルであり、およびR<sub>16</sub> は1 - イル - n - ブチルアミンである。

【請求項62】

以下の式の化合物：

【化4】



式中、式IIの化合物中のR<sub>9</sub> ~ R<sub>16</sub> は以下から選択される。すなわち、

(a) R<sub>9</sub> は1 - イル - アリル；R<sub>10</sub> は1 - イル - 3N - (2 - ピロリジノン) プロピル；R<sub>11</sub> は酢酸；R<sub>12</sub> は1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)；R<sub>13</sub> はベンジル；R<sub>14</sub> は1 - イル - n - ブチルアミン；R<sub>15</sub> はイソブチルであり、およびR<sub>16</sub> は1 - イル - アリルである；

(b) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル；R<sub>10</sub> は1 - イル - n - ブチルアミン；R<sub>11</sub> は1 - イル - n - ブチルアミン；R<sub>12</sub> は1 - イル - 2 - (3, 4 - ジメトキシフェニル) エチル；R<sub>13</sub> はベンジル；R<sub>14</sub> はピペロニル；R<sub>15</sub> は1 - イル - n - ブチルアミンであり、およびR<sub>16</sub> は1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)である；

(c) R<sub>9</sub> は1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)；R<sub>10</sub> は1 - イル - アリル；R<sub>11</sub> は1 - イル - n - ブチルアミン；R<sub>12</sub> はベンジル；R<sub>13</sub> はメチルベンジル；R<sub>14</sub> はベンジル；R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、およびR<sub>16</sub> は1 - イル - n - ブチルアミンである；

(d) R<sub>9</sub> は1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)；R<sub>10</sub> は1 - イル - 2 - (3, 4 - ジメトキシフェニル) エチル；R<sub>11</sub> は1 - イル - n - ブチルアミン；R<sub>12</sub> は1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)；R<sub>13</sub> は1 - イル - n - ブチルアミン；R<sub>14</sub> はベンジル；R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、およびR<sub>16</sub> はベンジルである；

(e) R<sub>9</sub> はピペロニル；R<sub>10</sub> はピペロニル；R<sub>11</sub> は1 - イル - n - ブチルアミン

; R<sub>12</sub> はシクロヘキシル; R<sub>13</sub> はベンジル; R<sub>14</sub> は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである;

( f ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - アリル; R<sub>10</sub> はメチルベンジル; R<sub>11</sub> はメチルベンジル; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン; R<sub>13</sub> はピペロニル; R<sub>14</sub> はベンジル; R<sub>15</sub> はピペロニルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである;

( g ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル; R<sub>10</sub> はイソブチル; R<sub>11</sub> はメチルベンジル; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン; R<sub>13</sub> はメチルベンジル; R<sub>14</sub> はベンジル; R<sub>15</sub> はピペロニルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである;

( h ) R<sub>9</sub> はメチルベンジル; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン; R<sub>13</sub> はメチルベンジル; R<sub>14</sub> はメチルベンジル; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである;

( i ) R<sub>9</sub> はピペロニル; R<sub>10</sub> はベンジル; R<sub>11</sub> はピペロニル; R<sub>12</sub> はベンジル; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン; R<sub>14</sub> はベンジル; R<sub>15</sub> はシクロヘキシルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである;

並びにその薬学的に許容される塩。

#### 【請求項 6 3】

請求項 37 に記載の少なくとも 1 つのペプチドを含む S L E ( 狼瘡 ) であるか、S L E が疑われる患者複合体液中の疾患関連バイオマーカーの存在をスクリーニングするスクリーニングキット、および検出プラットフォーム。

#### 【請求項 6 4】

前記キットがビーズベースプラットフォームまたはマイクロアレイプラットフォームまたは E L I S A プラットフォームを含む、請求項 6 3 に記載のスクリーニングキット。

#### 【請求項 6 5】

前記ビーズベースプラットフォームが T e n t a G e l プラットフォームまたは L u m i n e x プラットフォームから選択される、請求項 6 4 に記載のスクリーニングキット。

#### 【請求項 6 6】

前記スクリーニング溶液中のペプチドの濃度範囲が 0 . 1 m M ~ 約 2 0 m M に及ぶ、請求項 6 4 に記載のスクリーニングキット。

#### 【請求項 6 7】

前記複合体液が複合体液 / 希釈液で約 1 : 1 0 0 ~ 約 1 : 5 0 , 0 0 0 の範囲に希釈される、請求項 6 4 に記載のスクリーニングキット。

#### 【請求項 6 8】

前記複合体液が希釈液で約 1 0 ~ 約 2 0 0 μ g / m L の濃度範囲に希釈される、請求項 6 5 に記載のスクリーニングキット。

#### 【請求項 6 9】

前記 T e n t a G e l ビーズが約 1 0 μ m ~ 5 0 μ m のミクロン直径範囲を有する、請求項 6 8 に記載のスクリーニングキット。

#### 【請求項 7 0】

前記 T e n t a G e l ビーズが、ペプチドに結合した P E G リンカーを有する、請求項 6 8 に記載のスクリーニングキット。

#### 【請求項 7 1】

請求項 3 7 に記載の少なくとも 1 つのペプチドとともに複合体液を含む複合体液中の S L E ( 狼瘡 ) に関連したバイオマーカーの有無をスクリーニングし、および複合体液中のバイオマーカーの結合の有無を検出する方法。

#### 【発明の詳細な説明】

#### 【技術分野】

#### 【0001】

10

20

30

40

50

( 関連出願の相互参照 )

本出願の請求項は、それぞれ 2011 年 3 月 24 日、2011 年 5 月 31 日、および 2012 年 1 月 6 日に出願された米国仮特許出願特許第 61 / 467 , 256 号、第 61 / 491 , 717 号、および第 61 / 583 , 881 号の優先権を主張するものであり、それらの全体を参照により本明細書に援用する。

【 0002 】

( 技術分野 )

本発明は、新規なスクリーニング方法論、並びにそれによって得られる診断用および治療用の製品に関する。より詳しくは、疾病関連バイオマーカに関して生体試料をスクリーニングするために、小分子、ペプチド、ペプチド、および / または他のオリゴマーの豊富な組み合わせを含む、新規かつ大きなビーズベースライブラリーを使用する。本発明によって、多くの疾病での疾病関連抗体を見つけ出し、そして抗体特異的分子をさらに見つけ出すために、血漿、血清、または他の体液の迅速かつ直接的なスクリーニングを可能にする。このスクリーニングは、上記疾病に関する診断ツールまたは治療法としての機能を果たすことができる。そのような抗体特異的分子を含む診断キットは、自己免疫疾患、中枢神経系障害、および癌などの抗体または免疫原性成分を有するほぼすべての病状に対して、調製することができる。そのようなキットは、ほぼすべての公知の支持システムがペプチドまたは他のリガンド結合部位などの抗体特異的分子を支持または結合できるという条件で、そのようシステムから作ることができる。同様に、ELISA または他の既知検出手段を含むあらゆる既知検出法を使用して、推定ヒットを見つけ出す初期スクリーニングに引き続いて、および / または、診断分析でそのような推定ヒットを用いた診断スクリーニングの後に、抗体を検出できる。疾病関連マーカを発現している細胞と、そのようなマーカを発現していない正常細胞とを区別するために、細胞表面上のタンパク質および / または他の生体分子を含む他のバイオマーカに関してスクリーニングするためにも、そのような方法を使用することができる。

10

20

【 背景技術 】

【 0003 】

米国特許公報第 2007 / 0003954 号は、小分子マイクロアレイを用いたタンパク質および抗体プロファイリングを開示する。本出願はリガンドを開示する。当該リガンドは、合成分子の配列にリガンドが配置されるリガンド結合部位に結合し、バイオマーカおよび分子指紋に関するスクリーニングに使用される。本明細書で述べられる具体的な配列としては、例えば、上記配列に結合した 7680 種類の化合物を有するペプチドマイクロアレイが挙げられる。その開示では、体液をスクリーニングするために、マイクロアレイ上にアドレス指定可能な場所を持つマイクロアレイに後で移されるペプチドを作る初期手段としてビーズベースライブラリーを利用した。スクリーニングすることにより、複合生体混合物中の特定タンパク質に関する配列上に、特有のパターンまたは分子指紋を生じる。参照により援用される米国特許出願第 2010 / 0303805 号は、中枢神経系障害に関連するバイオマーカに関する体液のスクリーニングで有用な特定のペプチドおよび診断用配列を開示している。本明細書で配列を形成するために利用される本明細書で開示される特定モノマーは、ライブラリーがより多くのビーズ / ペプチドまたはビーズ / リガンド、例えば 100 , 000 ~ 150 , 000 , 000 に拡張されるという条件で、本発明の新規なスクリーニング法で利用される場合もある。

30

40

【 0004 】

本発明では、有意に大きなビーズベースライブラリー ( 抗体バイオマーカに関するマイクロアレイベーススクリーニングまたは細胞に関するビーズベーススクリーニングと比べて ) は、正しい条件の下で、疾病関連バイオマーカのほかそのようリガンド結合部位に結合するリガンドの有意に大きなプールを見つけ出すために、複合生体試料の直接的スクリーニングに使用できることが分かった。当該有意に大きなプールとしては、診断ツールのほかにも可能性がある治療法としての機能を果たす有意に改善された数の高親和性リガンドが挙げられる。当該手法によって、まずマイクロアレイまたは同様のアドレス指定

50

可能な支持システムを作る必要がなくなるため、特定の複合体液に関するスクリーニング速度の有意な改善も可能になる。スクリーニングが行われると、スクリーニングで発見されたヒットを含む診断用配列を含むマイクロアレイまたは他のシステムを製造でき、本発明の範囲内に含まれる。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明は、リガンドの大きなランダムビーズベースライブラリーを含む組成物または複数の「組成物」に関する。対象疾患または病状に関してスクリーニングするために、いずれかの「組成物」を形成するライブラリーまたは複数のライブラリーを選択し、各ライブラリーを使用して異なる疾患または病状のスクリーニングを行ってもよい。あるいは、同じライブラリーを複数の病態または病状のスクリーニングに使用してもよい。用語「ランダム」には、オリゴマー鎖に特定のモノマーを形成する一置換アミン上の豊富な組み合わせの側鎖を有するライブラリーが含まれる。アミン出発物質上のR基のこのような組み合わせは、官能性/溶解性などの特定モノマーの化学的および/または物理的特徴の一部が対象オリゴマーの望ましい特徴または特性の一部であっても、「ランダム」である。血漿ベーススクリーニングまたは血清スクリーニングでは、例えば、ビーズに結合した特定のリガンドが、溶液中で、抗体などのリガンド結合部位との相互作用を促進する溶解特性を有することが望まれる。さらに、オリゴマーの大きさも、対象部分が例えば抗体またはタンパク質である場合にリガンド結合部位に結合できるリガンドのライブラリーを形成する時に考慮される特徴である。ビーズベースライブラリーはビーズまたは同様の支持構造（すなわち、高分子樹脂）を含み、当該ビーズまたは同様の支持構造は、小分子、ペプチド、ペプトイド、多糖、または核酸または修飾された核酸部分を含む他のオリゴマーベース化合物からなる群から選択される当該ビーズまたは同様の支持構造に（またはそのような樹脂上のリンカーに）結合したリガンドを有する。好適な実施形態では、ビーズベースライブラリーはペプチドを含む。該ペプチドは、オリゴマーを形成するために共有結合したモノマー5～15個のモノマー単位を有するオリゴマーである。オリゴマーは、支持体に、またはオリゴマーを支持体に結合させるリンカーに結合したオリゴマーの末端に結合した追加部分を有してもよい。オリゴマーペプトイドは、例えば、サブモノマー合成法と組み合わせられた典型的な固体ペプチド合成を用いて作成され、合成で利用される一置換アミンまたはグリシン炭素置換基に応じてアミド窒素または炭素上の置換基が幅広い部分から選択される一置換アミドを有するグリシンまたは炭素置換グリシン様部分を含む。一般的に、ペプチドライブラリーは、例えばKodadekおよびReddy、Proceedings of the National Academy of Science, Sep. 6, 2005, volume 102, No. 36で述べられたように、あるいは本明細書で述べられたように調製してもよい。上記で参照されるように、一般的に一置換アミンプルは幅広いモノマーから選択される。ライブラリーの大きさは、ビーズあたり200,000～150,000,000の異なるリガンドを有する約200,000～150,000,000のビーズに及ぶことができる。あるいは、ビーズまたは支持体の大きさに応じて、各支持体またはビーズはビーズ/支持体あたり1つ以上のリガンドを有してもよく、リガンドは同じリガンドでも異なるリガンドでもよい。

【0006】

ライブラリーを構成するリガンドを有するビーズ/支持体は本発明のプロセスでさらに必要とされる。本発明は、少なくとも1つのビーズベースライブラリーで生体対照試料および生体罹患試料をスクリーニングして、当該スクリーニングを用いて疾病関連バイオマーカーを見つけ出すステップを含む、疾病関連バイオマーカーに関して体液をスクリーニングするためのプロセスを含む。本発明は、疾病関連バイオマーカーの存在に関して複合生体試料をスクリーニングするプロセスを含み、バイオマーカーは、試料を少なくとも1つのリガンドが疾病関連バイオマーカーに検出可能に結合する複数のリガンド担持支持体に曝すことを含む。本発明はさらに、(1)非特定リガンドヒットを特定および除去する

10

20

30

40

50

ために、対照試料をランダムなリガンドライブラリーに曝すステップと、(2)罹患試料中の疾病関連バイオマーカーに結合するリガンドを特定するために、罹患試料を残りのリガンドライブラリーに曝すステップとを含む、疾病関連バイオマーカーに関して複合生体試料をスクリーニングする方法を含む。特に、本発明は疾病関連バイオマーカーに関して生体試料をスクリーニングするプロセスを含み、これには(1)リガンド担持ビーズ(LBB)ライブラリーを、処理済みLLBを形成するのに適した溶剤で前処理すること；(2)処理済みLLBに、対照試料リガンド結合部位を有する正常対照(NC)生体試料を曝すこと；(3)対照試料からの処理済みLLBをDynabeadスクリーニング(鉄標識抗IgG抗体)に曝し、ヒットを取り除くこと；(4)残りのLBBライブラリーを洗浄し、量子ドット標識二次抗IgG抗体を用いてライブラリーを、残りの対照試料リガンド結合部位を有するNC生体試料に曝し、ヒットを取り除くこと；(5)残りのLBBライブラリーを洗浄し、当該ライブラリーを、疾患を有する患者からの生体試料に曝すこと；(6)罹患試料からの処理済みLBBをDynabeadスクリーニングに曝し、ヒットを取り除くこと；(7)残りのLBBを洗浄し、当該ライブラリーを、疾病を有する患者からの生体試料に曝すこと；(8)量子ドット標識二次抗IgG抗体を洗浄したLBBに添加し、ステップ(6)からDynabeadを洗浄した後、LBB上のリガンドに結合した疾病関連リガンド結合部を特定し、ステップ(6)からのDynabeadヒットを用いてステップ(8)を繰り返し、Dynabead Qdotヒットを特定することを含む。好適な実施形態では、LBBの調製でTentagelビーズ(組み込みPEGリンカーを有する)が利用される。異なるリンカーおよび/またはオプションのリンカーを有する代替ビーズおよび/または粒子も、代替検出手段と一緒に利用してもよい。ビーズは、例えばLuminexビーズから選択してもよい。好適なプロセスでは、Qdotヒットを確認する初期検証ステップを除き、Dynabeadステップを利用しない。

【0007】

上記で特定されたステップごとに分離されたヒットのいずれかまたはすべてを、さらに特徴付け、化学的に特定し、同じ部分またはその修正版として合成してもよい。特に、好適な特徴付けは、ステップ(8)上でLBB上のリガンドを取得し、バイオマーカーまたは疾病関連リガンド結合部位に結合した特定オリゴマーまたはリガンドの配列決定を行うことに関する。好適な実施形態では、リガンドはペプチドであり、該ペプチドを配列決定することで、推定診断用プローブの同一性を同定および/または確認または再確認する。この推定診断用プローブは、診断キットに、あるいは特定疾患または病状に応じた治療薬またはワクチン候補物質のための基準として、さらに利用できる、好適な実施形態では、リガンドヒットの配列決定および同定を行い、その後、支持ベースの合成法を用いてさらに大規模な再合成または合成を行って、同定/配列決定済みリガンドを生成する。この場合、好適な合成リガンドとしては、例えば、樹脂/ビーズまたは支持体(または支持体上のリンカー)に結合される機能的リガンドとしてのシステインアミノ酸が挙げられ、当該アミノ酸は、例えば、プロモ酢酸および特定配列リガンド(ペプチドまたは置換ペプチド)用を選択したR基を含む置換アミンを含むサブモノマーでさらに処理される。システイン残基または他の類似アミノ酸残基はスルフヒドリル基をもたらし、これがスライドガラスまたは支持体上で求電子基と反応できる。別の方法では、初期ライブラリー形成において、そしてリンカーを含まないTentagelビーズまたは樹脂上で、ペプチドオリゴマーの合成後のビーズまたは樹脂からの開裂を可能にする最初のモノマーとしてメチオニンが使用される。樹脂またはビーズから開裂される時に、メチオニンはオリゴマーの一部を形成する。他方で、リンク樹脂は、正しい条件の下で、オリゴマー中の他のアミド結合も開裂させることなく、リンカーおよび樹脂からの分子の開裂を促進する開裂リンカーを有する。

【0008】

本発明は、生体試料スクリーニング法で特定されたリガンド(またはその修飾版)を用いた診断キットも含む。特定スクリーニングの能力によって、そのような診断キットでさらに利用される多数の実際のヒットを迅速に同定する。この場合の用語「迅速な」は、複

合体液を分析する前に、本プロセスによってマイクロアレイの複雑で不必要なステップを回避し、そのため、時間の有意な節約になることを意味する。さらに、本方法によって、マイクロアレイ上の少数に限られる代わりに、どの時点においても複合体液に対してさらに多くの分子をスクリーニングすることが可能になる。多数のヒットを見つけ出すことに加えて、発見したリガンドには、ビーズまたは粒子ベースの技術を用いて複合体液を直接的にスクリーニングまたは分析しなかった以前のスクリーニング法を用いて見つけ出した物に比べて有意に多数の高親和性結合体を含む。疾病または病状 A に関するスクリーニングを行うための第 1 ペプチド、および疾病または病状 B に関するスクリーニングを行うための少なくとも 1 つの追加ペプチドを含む多重疾患プラットフォームに、そのようなリガンドを利用してもよい。

10

## 【0009】

本発明の方法を用いて対象生物中の疾患関連抗体またはバイオマーカーの存在に関してスクリーニングできる疾患の範囲には、ほぼすべての疾患、およびすべての進行段階の疾患を含む。本発明は、ヒトおよび動物の疾患の診断および進行において有用である。スクリーニング中に発見および同定されたリガンドを含む診断キットは、ポイント・オブ・ケア診断スクリーニング用のビーズベース診断キットを含むことができ、および/またはより複合診断システムおよび/またはマイクロアレイなどのより複雑な支持システムに基づいた多重システムを含むことができる。さらに、初期スクリーニングで見つけ出されたペプチド、置換ペプチド、またはリガンドで構成される診断配列を、特定の患者集団または亜集団における患者層別化および/または疾患進行を同定する、または同定で支援するために、臨床試験で使用してもよい。本明細書の一次および/または二次または三次スクリーニングから得られたそのようなデータによって、医薬品開発、並びに初期段階の疾患を含む疾患の段階または特定の段階のために特別に設計される医薬品を用いた亜集団および個人の患者ケアを加速できると想定される。同様に、バイオマーカープロファイルに基づいて初期段階の疾患進行および/または疾患進行のすべての段階を同定するために、本明細書で発見されたリガンドによって得られた診断キットを使用してもよい。個人患者または患者グループに対して最も適切な医療を処方することにおいて医師を支援するために、そのような情報を使用できる。

20

## 【0010】

本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細説明の例および図から明らかになる。しかしながら、本発明の精神および範囲の中でのさまざまな変更および修正は本詳細説明から当業者にとって明らかになるため、本発明の好適な実施形態を示す詳細説明および具体例は図の手段のみで示されることを理解する必要がある。

30

## 【図面の簡単な説明】

## 【0011】

以下の図は本明細書の一部である。

## 【0012】

【図1】図1は、アルツハイマー病の血清試料のスクリーニングに使用される Tentagel ビーズ (KN1B) ライブラリーの調製に関する基本的化学模式図を示す。Aは、反応物質としてアミノ基を有するポリスチレンビーズから始まることを示す (ビーズと末端アミノ基の間にPEGまたは同等物または代替リンカーを形成してもよい)。Bは、メチオニンとしてビーズ上の開始アミノ酸を示し、これはその後、Bで示される化合物を形成するために反応させられる。Cは、化合物のオリゴマライブラリーを形成するために利用されるサブモノマー (単量体アミンおよびハロ酢酸) を示す。

40

【図2】図2は、アルツハイマー病の血清試料のスクリーニングに同様に使用される Tentagel ビーズ (JC3B) ライブラリーの調製に関する基本的化学模式図を示す。Aは、反応物質としてアミノ基を有するポリスチレンビーズから始まることを示す (ビーズと末端アミノ基の間にPEGまたは同等物または代替リンカーを形成してもよい)。Bは、メチオニンとしてビーズ上の開始アミノ酸を示し、これはその後、Bで示される化合物を形成するために反応させられる。Cは、化合物のオリゴマライブラリーを形成する

50

ために利用されるサブモノマー（単量体アミンおよびハロ酢酸）を示す。J C 3 B は、膵臓癌血清のスクリーニングにも使用された（データは示されず）。

【図 3】図 3 は、アルツハイマー病の血清試料のスクリーニングに使用される T e n t a g e l ビーズ（J C 4 B）ライブラリーの調製に関する基本的化学模式図を示す。A は、反応物質としてアミノ基を有するポリスチレンビーズから始まることを示す（ビーズと末端アミノ基の間に P E G または同等物または代替リンカーを形成してもよい）。B は、メチオニンとしてビーズ上の開始アミノ酸を示し、これはその後、B で示される化合物を形成するために反応させられる。C は、化合物のオリゴマーライブラリーを形成するために利用されるサブモノマー（単量体アミンおよびハロ酢酸）を示す。

【図 4】図 4 は、アルツハイマー病の血清試料のスクリーニングに使用される T e n t a g e l ビーズ（J C 5 B）ライブラリーの調製に関する基本的化学模式図を示す。A は、反応物質としてアミノ基を有するポリスチレンビーズから始まることを示す（ビーズと末端アミノ基の間に P E G または同等物または代替リンカーを形成してもよい）。B は、メチオニンとしてビーズ上の開始アミノ酸を示し、これはその後、B で示される化合物を形成するために反応させられる。C は、化合物のオリゴマーライブラリーを形成するために利用されるサブモノマー（単量体アミンおよびハロ酢酸）を示す。J C 5 B モノマーは、イソブチルアミン、2 - メトキシエチルアミン、ジアミノブタン、フルフリルアミン、シクロヘキシルアミン、R - メチルベンジルアミン、ピペロニルアミン、および 4 - (アミノエチル) ベンゼンスルホンアミドを含んだ。

【図 5】図 5 は、血清試料のスクリーニングに使用される T e n t a g e l ビーズ（J C 7 B）ライブラリーの調製に関する基本的化学模式図を示す。A は、反応物質としてアミノ基を有するポリスチレンビーズから始まることを示す（ビーズと末端アミノ基の間に P E G または同等物または代替リンカーを形成してもよい）。B は、メチオニンとしてビーズ上の開始アミノ酸を示し、これはその後、B で示される化合物を形成するために反応させられる。C は、化合物のオリゴマーライブラリーを形成するために利用されるサブモノマー（単量体アミンおよびハロ酢酸）を示す。

【図 6】図 6 は、ペプチドリガンドのビーズベースライブラリーを用いて複合生体試料をスクリーニングする本発明のプロセスを模式的に示す。

【図 7】図 7 は、アルツハイマー病正常対照血清試料およびアルツハイマー病罹患血清試料に対してスクリーニングするために調製されたペプチドライブラリー（J C 3 B）での Q D o t 添加後の正常対照（N C）D y n a b e a d ヒットを示す。ヒットは取り出され、残りのリガンド結合ビーズは疾患ベーススクリーニングで使用された。

【図 8】図 8 は、N C ヒットを取り除いた後のアルツハイマー病患者血液試料からの罹患血清の T e n t a g e l スクリーニングを示す。ヒットは赤色で示され、ビーズに P E G リンカーを通じて結合されたペプチドに結合される血清中の疾病関連バイオマーカー（抗体）に結合した Q D o t 二次抗体である。

【図 9】図 9 は、S D S 洗浄および Q D O T 添加後の正常対照試料（N C 0 3 0 0 9 3）を使用する再現性試験を示す。矢印は、配列に対してどの N C ペプチドヒットを抽出したかを示す。

【図 10】図 10 は、S D S 洗浄および Q D O T 添加後の正常対照試料（N C 0 5 0 0 4 7）を使用する再現性試験を示す。

【図 11】図 11 は、S D S 洗浄および Q D O T 添加後の罹患試料を使用する再現性試験を示す。

【図 12 A】図 12 は、J C 3 B ライブラリーによるアルツハイマー病スクリーニングから選択された推定ヒットのペプチド配列を示す。C 末端は紙面の右側で、N 末端が左側である。

【図 12 B】図 12 は、J C 3 B ライブラリーによるアルツハイマー病スクリーニングから選択された推定ヒットのペプチド配列を示す。C 末端は紙面の右側で、N 末端が左側である。

【図 13 A】図 13 は、J C 3 B ライブラリーによるアルツハイマー病スクリーニングか

10

20

30

40

50

らの好適な高親和性ヒットの化学構造を示す。本例では、示された構造はシステイン残基を有し、予備スクリーニングで初期ヒットの構造を決定した後に再合成された。J C 3 B ライブラリーは類似物のペプチドを含んだが、C末端にメチオニン残基を有し、システイン残基を有さなかった。

【図13B】図13は、J C 3 B ライブラリーによるアルツハイマー病スクリーニングからの好適な高親和性ヒットの化学構造を示す。本例では、示された構造はシステイン残基を有し、予備スクリーニングで初期ヒットの構造を決定した後に再合成された。J C 3 B ライブラリーは類似物のペプチドを含んだが、C末端にメチオニン残基を有し、システイン残基を有さなかった。

【図14】図14は、溶液中の高親和性リガンド(A D T G 1)とマイクロアレイ支持体上のA D T G - 1 ~ A D T G - 42の競合実験を示す。競合実験によって、溶液中のA D T G 1は、マイクロアレイ上のペプチドA D T G - 1、A D T G - 14、A D T G - 24、A D T G - 25、A D T G - 31、A D T G - 35、およびA D T G - 40に結合したであろう同じ抗体に結合したことが分かる。4組のペプチドを見つけるためにペプチドの各々に対して同様の実験を行った。これらのペプチドは4つの異なるアルツハイマー病自己抗体に結合した(データは示さず)。

【図15A】図15は、4群の異なるペプチドを示し、アルツハイマー病スクリーニングでこれらのペプチドは異なる自己抗体に結合する。図の各群は上に高親和性結合体を記載している。

【図15B】図15は、4群の異なるペプチドを示し、アルツハイマー病スクリーニングでこれらのペプチドは異なる自己抗体に結合する。図の各群は上に高親和性結合体を記載している。

【図16A】図16AはP 1 a a g 1 ( J C 3 B - 1 ) ペプチドを用いる患者の集団に対するA D 試験データ(盲検)を示す。各ペプチドは、マイクロアレイ上にある。

【図16B】図16BはP 1 a a g 2 ( J C 3 B - 2 1 ) ペプチドを用いるA D 患者の同じ集団に対する試験データ(盲検)を示す。各ペプチドは、マイクロアレイ上にある。

【図17A】図17AはP 1 a a g 3 ( J C 3 B - 7 ) ペプチドを用いる患者の集団に対するA D 試験データ(盲検)を示す。各ペプチドは、マイクロアレイ上にある。

【図17B】図17BはP 1 a a g 4 ( J C 3 B - 5 ) を用いるA D 患者の同じ集団に対する試験データ(盲検)を示す。各ペプチドは、マイクロアレイ上にある。

【図18A】図18AはP 1 a a g 5 ( J C 3 B - R 8 ) ペプチドを用いる患者の集団に対するA D 試験データ(盲検)を示す。各ペプチドは、マイクロアレイ上にある。

【図18B】図18BはP 1 a a g 6 ( J C 3 B - R <sub>1 2</sub> ) を用いるA D 患者の同じ集団に対する試験データ(盲検)を示す。各ペプチドは、マイクロアレイ上にある。

【図19A】図19Aは、P 1 a a g 1 ~ 6 を用いて行われた試験に対して患者の同じ集団でのA D P 2 のマイクロアレイデータを示す。データは、同じ患者集団での以前同定したA D P 2 で達成した結果と新たに同定したP 1 a a g 4 で達成した結果との明確な相関関係を示す。

【図19B】図19Bは、同じ一連の患者にP 1 a a g 4 を用いた比較データを示す。データは、同じ患者集団での以前同定したA D P 2 で達成した結果と新たに同定したP 1 a a g 4 で達成した結果との明確な相関関係を示す。

【図20A】図20Aは、P 1 a a g 1 ~ 6 を用いて行われた試験に対して患者の同じ集団でのA D P 3 のマイクロアレイデータを示す。データは、同じ患者集団での以前同定したA D P 3 で達成した結果と新たに同定したP 1 a a g 2 で達成した結果との明確な相関関係を示す。

【図20B】図20Bは、同じ一連の患者にP 1 a a g 2 を用いた比較データを示す。データは、同じ患者集団での以前同定したA D P 3 で達成した結果と新たに同定したP 1 a a g 2 で達成した結果との明確な相関関係を示す。

【図21】図21は、40 μ g / m L での罹患A D 血清と正常対照(保存)の比較におけ

10

20

30

40

50

る、TentaGelビーズ上のP1aag5（推定ヒット5またはJC3B-R8）の検証を示す。

【図22】Aは、QDot655およびJC5Bライブラリーを用いた膵臓癌スクリーニングにおけるペプチドヒットを示す。BおよびCは、QDot655を用いたヒットの再確認を示す（矢印はヒットを指し示す）。

【図23】図23は、膵臓ペプチドヒットの検証を示し、QDot655を用いた罹患血清添加および検出と、正常血清添加とを比較する。

【図24】図24は、ADマーカーとPCマーカーを混ぜ合わせることによるヒット検証を示す。データから、膵臓癌血清（血清1）ではPCマーカーを検出した一方、ADペプチドビーズ上に検出可能な抗体がないことが分かる。

【図25】図25は、JC3Bライブラリーからの膵臓癌スクリーニングヒット配列を示す。

【図26】図26は、JC5Bライブラリーからの膵臓癌スクリーニングヒット配列を示す。

【図27】図27A、B、およびCは、SLE（狼瘡）スクリーニングの結果を示す。Aは正常対照であり、BおよびCは2つの異なる群1および2からのSLE血清である。矢印はヒットを指し示す。

【図28】図28は、KN1BライブラリーからのSLEヒットを示す。C末端は、表の右側である。

【図29】図29は、ペプチドKN1B-20に対するヒット検証を示す。群1は、約0.374 mg/mLの濃度での保存罹患血清である（左の写真）（ヒットは、ビーズ上の赤色の色合いで示される）。非罹患保存血清（中央の写真）は、約0.378 mg/mLの濃度で提供され、一番右の写真は無血清対照を示す。

【図30】図30は、フルオレセインタグを用いたペプチドの異なる濃度での2つの異なる結合法を用いた、ELISAプレートに対するSLE（狼瘡）ペプチドのうちの1つの結合/検出を示す。

【図31】図31は、さまざまな濃度の溶液中でのプレート結合型KN1B-20-ビオチン-フルオレセインと遊離KN1B-20-ビオチンの競合分析を示す。遊離KN1B-20-ビオチンの濃度が結合型対遊離型の等モル濃度から増加するにつれて、信号の低下が生じる。

【図32】図32は、さまざまな濃度のペプチドを有するELISAプレートを示し、そして罹患血清（AD）（P列1）と正常対照血清（列3）の違いを明確に示す[1:200の各ウェルを倍にして1:400、1:800、1:1,600、1:3,200、1:6,400、1:12,800とした]。矢印は、1XTBSTバッファーでの1:800希釈を指し示す。ウェルのペプチド濃度は10 mMである。図32は、罹患血清と対照血清を区別するTentaGelビーズプラットフォームの検証も示す。

【図33】図33は、10 mM ADP3を含み、AD血清および対照血清のさまざまな希釈物でのELISAプレートを示す。矢印は、1:800希釈物を指し示す。

【図34】図34は、10 mM SLE-KN1B-20を含み、AD血清および対照血清のさまざまな希釈物でのELISAプレートを示す。矢印は、1:800希釈物を指し示す。

【図35】図35は、さまざまな血清希釈物で結合バッファー溶液に調製された10 mM ADP3を用いたAD血清ELISAグラフを示す。1:200～約1:10,000の希釈範囲にわたって、正常血清と罹患血清の分離が起こった。開始希釈物は1:200だった（群1 AD血清0.394 mg/mLおよび非罹患血清0.386 mg/mL）。

【図36】図36は、さまざまな血清希釈物で結合バッファー溶液に調製された10 mM KN1B-20を用いたSLE血清ELISAグラフを示す。1:200～約1:10,000の希釈範囲にわたって、正常血清と罹患血清の分離が起こった。開始希釈物は1:200だった（群1 SLE血清0.375 mg/mLおよび非罹患血清0.396 mg/mL）。

10

20

30

40

50

【図37】図37は、さまざまな血清希釈物でDMSO溶液に調製された10mM KN1B-20を用いたSLE血清ELISAグラフを示す。1:200~約1:10,000の希釈範囲にわたって、正常血清と罹患血清の分離が起こった。開始希釈物は1:200だった(群1SLE血清0.367mg/mLおよび非罹患血清0.322mg/mL)。

【図38】図38は、Tentagelビーズヒット検証のためのFACSプラットフォームを示す。

【図39】図39は、さまざまな濃度(100µg/mL~1,000µg/mL)の血清で、そして抗DNP標識二次抗体による治療に反応した、アセチル基を有するビーズと2,5-ジニトロフェニル基(DNP)を有するビーズの分離度を示す。平均蛍光強度(MFI)分離は、血清1,000µg/mLの高希釈物で最大だった。

【図40】図40は、1,000µg/mLの血清濃度で遊離型エタノールアミン-DNPと抗DNP抗体に対するDNP(プレート上)の結合との直接的な競合があることを示す。

【図41A】図41は、保存正常対照血清と保存AD血清からのADP3結合抗体を示す。データは、2つの異なる二次抗体(ヤギ抗ヒトDyLight649およびヤギ抗ヒトAlexa647)を用いて20~140µg/mLの濃度範囲の血清で良好な分離を示す。

【図41B】図41は、保存正常対照血清と保存AD血清からのADP3結合抗体を示す。データは、2つの異なる二次抗体(ヤギ抗ヒトDyLight649およびヤギ抗ヒトAlexa647)を用いて20~140µg/mLの濃度範囲の血清で良好な分離を示す。

【図42】図42は、さまざまな血清濃度範囲でのバックグラウンド減算後の正常対照血清およびAD血清からのADP3結合自己抗体を示す。20µg/mL未満ないし120µg/mL以上の大部分の血清濃度で、有意な程度 of 分離がある。

【図43A】図43は、SLE(狼瘡)再合成ペプチドリガンドヒットの構造を示す。

【図43B】図43は、SLE(狼瘡)再合成ペプチドリガンドヒットの構造を示す。

【図44】図44は、SLE(狼瘡)再合成ペプチドリガンドヒットの構造を示す。

【図45】図45は、10µm Tentagelビーズ上でのADP3の調製、および示されたラクトンの質量分析測定値と一緒にCNBrを用いた開裂を示す。

【図46】図46は、さまざまな濃度での正常対照血清およびアルツハイマー病血清からのADP3結合自己抗体を示す。1XTBSTで3時間、ビーズを事前ブロックし、ヤギ抗ヒトAlexa647二次抗体を用いて検出した。

【図47】図47は、さまざまな血清濃度での正常対照血清およびアルツハイマー病血清からのADP3結合自己抗体を示し、DNP値も示す。

【図48】図48は、大腸菌溶解物およびリシンなどの事前ブロック条件を用いた正常対照血清およびアルツハイマー病血清からのADP3結合抗体を示す。

【図49】図49は、大腸菌溶解物およびリシンなどの事前ブロック条件を用いた正常対照血清およびアルツハイマー病血清からのADP3結合抗体を示す。

【図50】図50は、マイクロアレイに使用されるペプチドとELISAプレートに置かれるペプチドの調製および違いの簡単な模式図を示す。ペプチドマイクロアレイが作られる方法に関する模式図:個々のビーズはマイクロタイタープレートのウェルに分けられ、濃縮原液を作るために、ペプチドはビーズから開裂される。これで各ウェルは1種類のペプチドを含むことになることに注意する。その後、化学的に修飾されたガラス製顕微鏡スライドに、表面に共有結合するような方法で数千のペプチドをスポットで入れる。1つの合成ライブラリーから高い再現性で数千のスライドを作ることができる。表面にPEG鎖がないが、ELISAプレート上のペプチドの密度がマイクロアレイ上と異なってもよいことを除き、ELISAの製造も同様である。

【図51】図51は、疾患関連抗体-ペプチド複合体を検出する二次抗体に結合された西洋ワサビペルオキシダーゼを用いた、1:800の血清希釈物で正常対照血清と罹患血

10

20

30

40

50

清との間に明確な違いがある E L I S A 実験を示す。無色の基質を添加し、結合 H R P 酵素と反応する時に色を変える（青色）。

【図 5 2 A】図 5 2 は、疾患血清（A）対正常血清（B）の、さまざまな血清希釈物での E L I S A 試験のさまざまな A D ペプチドを比較する滴定データを示す。正常血清には信号の強度がないが、濃度が 1 : 1 2 , 8 0 0 ~ 1 : 2 0 0 に上昇するにつれて、A D ペプチドに明確な違いが現れ、そのすべてに強度がある。

【図 5 2 B】図 5 2 は、疾患血清（A）対正常血清（B）の、さまざまな血清希釈物での E L I S A 試験のさまざまな A D ペプチドを比較する滴定データを示す。正常血清には信号の強度がないが、濃度が 1 : 1 2 , 8 0 0 ~ 1 : 2 0 0 に上昇するにつれて、A D ペプチドに明確な違いが現れ、そのすべてに強度がある。

【図 5 3】図 5 3 は、アルツハイマー病（あるいは同疾患ではない）の様々な段階における A D 患者の非盲検試料セットの臨床診断と、同じ患者血清試料（盲検）から得られ、かつ疾患関連抗体を検出するために A D P 3 ペプチドに対してスクリーニングされたデータとの、相関関係を検証する図を示す。示された結果は、M a y o C l i n i c J a c k s o n v i l l e からの血漿試料の盲検からのものである。U N D = 未決定。プロットは、1つの血清濃度（1 : 8 0 0）希釈物を取り入れることから得られる。1を超える測定値は陽性で見なし、1 ~ 0 . 7 の測定値は未決定で見なし、0 . 7 未満の測定値は陰性で見なした。

【図 5 4】図 5 4 は、さまざまな段階のアルツハイマー病（あるいは同疾患ではない）での A D 患者の非盲検試料セットの臨床診断と、同じ患者血清試料（盲検）から得られ、かつ疾患関連抗体を検出するために本発明のさまざまな A D ペプチド（プロットは 9 種のペプチドの結果の平均値である）に対してスクリーニングされたデータとの相関関係を検証する図を示す。示された結果は、M a y o C l i n i c J a c k s o n v i l l e からの血漿試料の盲検からのものである。U N D = 未決定。プロットは、1つの血清濃度（1 : 8 0 0）希釈物を取り入れることから得られる。1を超える測定値は陽性で見なし、1 ~ 0 . 7 の測定値は未決定で見なし、0 . 7 未満の測定値は陰性で見なした。

【図 5 5】図 5 5 は、さまざまな段階のアルツハイマー病（あるいは同疾患ではない）での A D 患者の非盲検試料セットの臨床診断と、同じ患者血清試料（盲検）から得られ、かつ疾患関連抗体を検出するために本発明のさまざまな A D ペプチドに対してスクリーニングされたデータとの相関関係を検証する図を示す。示された結果は、M a y o C l i n i c J a c k s o n v i l l e からの血漿試料の盲検からのものである。U N D = 未決定。プロットは、1つの血清濃度（1 : 8 0 0）希釈物を取り入れることから得られる。1を超える測定値は陽性で見なし、1 ~ 0 . 7 の測定値は未決定で見なし、0 . 7 未満の測定値は陰性で見なした。データは、M C I / 鬱病試料に標識が付けられ、レビー小体型認知症試料も印が付けられる他の認知症に関する効果も示す。データからは、少なくとも 3 人の M C I 患者が、本発明の A D 選択的ペプチドによって捕らえられる抗体のうちの 1 つ以上の検出可能量の血清試料を持ちことが分かる。

【図 5 6 A】図 5 6 A ~ D は、複数の A D ペプチドを用いた O p k o H e a l t h ペプチド診断分析と、混ぜ合わさなかった時にこの情報が示された後の臨床診断との不一致を有する患者からの試料の小集団に関するデータを示す。図 5 6 A は、臨床的に病気に罹っているが、O p k o ペプチド P l a a g 4 が 1 . 0 未満（1 箇所では U N D ; 滴定 A D 陽性）であった患者に対して示されるペプチド A D P 3 およびその他に関するデータを示す。他のすべての O p k o ペプチドは A D に対して陽性（すなわち、1 . 0 超）であった。

【図 5 6 B】図 5 6 B から、正常（非認知症）示唆前 A D と現在診断されている患者の疾患関連抗体に対して O p k o ペプチドは陽性であったことが分かる。

【図 5 6 C】図 5 6 C から、O p k o A D ペプチドが、患者が認知症の他のいくつかの形態を有することを示唆する A D と臨床的に診断されている患者のいずれの希釈点においても 1 超の強度を示したことが分かる。

【図 5 6 D】図 5 6 D から、臨床的に陽性の A D 患者では、疾患関連抗体に対して複数の

10

20

30

40

50

Opko ADペプチドが陽性ではないが、2種類のペプチド(P1aa6およびP1aa4)は陽性であり、それ故に1箇所ではUNDであり、滴定後でもUNDであったことが分かる。

【図57】図57は、ADP3が配置されたマイクロアレイを用いて以前のAD試料から作成されたクラスタ図を示す。マイクロアレイデータおよびELISAプラットフォームを用いて作成されたデータでの罹患と対照との間には明確な相関関係がある。図57から、アルツハイマー病に関連し、パーキンソン病または狼瘡(SLE)に関連しない疾患関連抗体にADP3ペプチドが選ばれることが分かる。

【図58】図58は、合計106種の試験された血清試料を用いたELISA分析の要約を示す。

【図59A】図59は、P1aa7~9の化学構造を示す。

【図59B】図59は、P1aa7~9の化学構造を示す。

【図59C】図59は、P1aa7~9の化学構造を示す。

【発明を実施するための形態】

【0013】

本発明は、診断的および治療的な発見において有意な進歩を意味する。特に、本発明は、複合生体試料のスクリーニングに対する以前の手法を上回るスクリーニング法を発見した。特に、疾患関連バイオマーカーを発見し、そのようなバイオマーカー用の高親和性リガンドを含む診断キットを作る改良された方法が必要である。本発明は、そのようなバイオマーカーに関してスクリーニングし、そのようなバイオマーカーを検出するためのリガンドを用いて疾患および疾患進行を診断する方法に関する。

【0014】

本発明は、ペプチド、ペプチド、オリゴマー、小分子、および天然または合成によって作られたあらゆる分子から選択される化合物の粒子ベースライブラリーを含み、ビーズまたは小粒子などの支持システムに置くことができる組成物を含む。次に、この「ライブラリー」は、正しい条件の下で、かつ非選択的なりガンドの除去を可能にするために対照血漿または血清に曝した後で、疾患関連バイオマーカーあるいは抗体またはタンパク質等の他の標的バイオマーカーあるいは細胞表面タンパク質タンパク質等の他のマーカーの有無に関して「スクリーニング」される血漿または血清等の複合体液に対して、前処理および暴露がなされる。特定の疾患を患っているか、患っていない患者から、血液試料または他の体液試料が採取され、スクリーニングによって生じる結果を対照の健康な患者または他の疾患患者から得られた結果と比較する。

【0015】

一次スクリーニングによって、抗体などの特定疾患関連バイオマーカーのための多数の高親和性リガンドが得られる。本発明は、そのような病状に対する診断環境で有用な、および/または、例えば、体または体内組織の特定領域にあるそのような疾患関連抗体を標的にできる治療用ワクチンまたは医薬品として、それ自体でリガンドとして有用な高親和性リガンドを作成するプロセスをさらに含む。そのような医薬品を、自己抗体を除去および/または分解する限局性免疫反応を生じる、あるいは生じる可能性がある化学療法剤または他の薬物などの他の部分に結合できる。

【0016】

アルツハイマー病(AD)は、530万人もの数のアメリカ人に影響を及ぼす進行性かつ致命的な脳疾患である。ADは脳細胞を破壊して、記憶、思考、および行動に問題を引き起こす。これらの症状は時間とともに悪化し、最終的に疾患は致命的である。現在、米国における6番目の死因であり、すべての認知症症例の50~70%を占める認知症の最もよく見られる病型である。残念ながら、症状の治療法は存在するが、治す方法はない。

【0017】

アルツハイマー病の診断は、いくつかの種類の評価を必要とし、完了に数日~数週間を要する場合がある実験的プロセスである。評価には、詳細病歴を聴取し、身体検査を行うことを含む。さらに、他の考え得る条件を除外するように、血液、尿、およびCSF検査

10

20

30

40

50

を含む標準的な検査室検査が主に設計される。記憶、問題解決、注意、視覚 - 動作調整および抽象的思考を評価するさまざまなツールを用いた神経心理検査も行われる。鬱病に関する検査も含める必要がある。最終的に、症状の原因として脳内の脳腫瘍または血栓を除外するために、脳撮像スキャンを推奨する。要するに現状では、死後に脳組織を検査することでのみアルツハイマー病の確定診断を行うことができ、アルツハイマー病を正確に診断する単独の検査はない。

【0018】

パーキンソン病 (PD) は、動作技能、会話、および他の機能を多くの場合に損なうもう1つの脳 (中枢神経系) の変性疾患である。動作に影響を及ぼすが (動作症状)、他の典型的な症状としては、気分、行動、思考、および感覚の障害 (非動作症状) が挙げられる。患者の個別の症状は全く似ていない場合があり、疾患の進行も明らかに個別である。PDの症状は、黒質 (逐語的に「黒色物質」) の緻密部領域における色素沈着したドーパミン分泌 (ドーパミン作動性) 細胞の損失 (特発性または遺伝的、毒性または外傷性) に起因する。これらの神経細胞は線条体に突き出し、その損失が、動作、本質的には直接経路の抑制および間接経路の励起を調節する脳幹神経節内での神経回路の活動における変化に至る。

10

【0019】

多少違った課題の場合、PDの診断は同様のものを示す。運動障害を患う患者を評価する神経学的診察を行う場合、医師は病歴を聴取し、身体検査を行う必要がある。さらに、患者の動作、調整、およびバランスの様子を観察することを含む神経系の徹底的な評価を行うための神経学的診察を行う。パーキンソン病のみの典型的な症状を持つ患者の血液の検査室検査では、めったに異常を発見しない。脳波図 (EEG) は脳の電氣的活動のいくつかの状況を記録するが、PDのスポットティングでは効果がない。脳のMRIおよびCATスキャンによって優れた精緻な写真を作成するが、PDに関連した変化は微小で、これらのスキャンでは明らかにされないため、この精査の下でもPD患者の脳は正常であるように見える。具体的な答えを与える確定診断検査を持たない医師は、PDの診断を判断に基づく必要がある。

20

【0020】

したがって、初期段階と後期段階の両方の症例において (i) 正確かつ客観的で、(ii) 簡単かつ再現性が高く、および (iii) 有益なこれらの疾患および他の神経疾患の両方のための診断手順がなおも必要である。

30

【0021】

本発明に従って、神経変性疾患を示す抗体を結合するペプチド、およびペプチドを貼り付けている支持体に抗体含有試料を接触させることを含む抗体含有試料中の抗体を検出する方法を含む組成物を提供する。リガンドライブラリーには式Iの化合物が含まれ、式中、アミン側鎖または炭素上のR基は、独立して、水素；アルキル；アリール；メチル；エチル；n-プロピル；イソプロピル；n-ブチル；イソブチル；n-ブチルアミン；sec-ブチル；tert-ブチル；ペンチル；ヘキシル；イソペンチル；アリーール；ヘテロアリーール；フラニル；インドリル；チオフェニル；チアゾリル；イミダゾリル；イソオキサゾイル；オキサゾイル；ピペロニル；ピラゾイル；ピロリル；ピラジニル；ピリジニル；ピリミジニル；プリニル；シンノリニル；ベンゾフラニル；ベンゾチエニル；ベンゾトリアゾリル；ベンゾオキサゾリル；キノリン；イソオキサゾリル；イソキノリンシクロアルキル；アルケニル；シクルアルケニル；フェニル；ピリジニル；メトキシエチル；(R)-メチルベンジル；C<sub>0-6</sub>アルキルアリーール；C<sub>0-6</sub>アルキルヘテロアリーール；OH、SH、ハロゲン、OR<sub>1-5</sub>、COOR<sub>1-5</sub>、NR<sub>1-5</sub> (ここで、R<sub>1-5</sub>はHまたはC<sub>1-6</sub>アルキルまたはC<sub>1-6</sub>アルキニルからなる群から選択される)、またはR<sub>1-6</sub> (ここで、R<sub>1-6</sub>はHまたはC<sub>1-6</sub>アルキニルからなる群から選択される) から選択される群で置換されたC<sub>1-6</sub>アルキル；OC<sub>1-6</sub>アルキル；C<sub>2-6</sub>アルケニル；C<sub>2-6</sub>アルキニル；C<sub>2-6</sub>アルケニル；およびC<sub>2-6</sub>アルキニルからなる群から選択され、下記の表1および2に記載の1つ以上の化学基を含む。

40

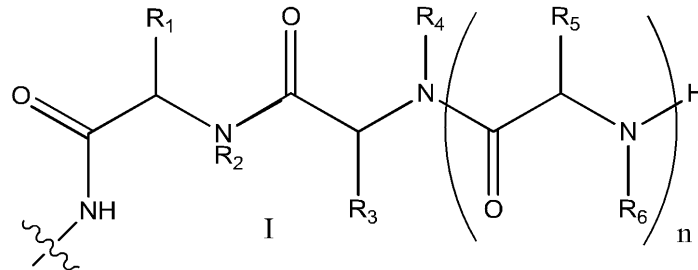
50

## 【0022】

アルツハイマー病をスクリーニングする目的のための本発明の好適なりガンドライブラリーは、支持体に式1の化合物を含む複合体液をスクリーニングするためのランダムなりガンドライブラリーを含む。

## 【0023】

## 【化1】



10

## 【0024】

式中、

$R_1$  は電子が豊富なアミノ酸鎖 Y から選択され；

$R_2$  は H から選択され；

および、 $R_3 \sim R_6$  は、独立して、H、 $-C_1 - C_6$  アルキル、 $-C_1 - C_6$  アルキル S $CH_3$ 、 $-C_0 - C_6$  アルキル  $C_2 - C_6$  アルケニル、 $-C_0 - C_6$  アルキル  $C_2 - C_6$  アルキニル、 $-C_1 - C_6$  COOH、 $-C_1 - C_6$  アルキル OH、 $-C_1 - C_6$  アルキル  $N(R)_2$ 、 $-C_3 - C_8$  シクロアルキル、 $-C_1 - C_6$  アルキルアリール、 $-C_1 - C_6$  アルキルヘテロアリール、 $-C_1 - C_6$  アルキル  $NC(O)C_1 - C_6$  アルキル、 $-C_1 - C_6$  アルキルシクロアミドからなる群から選択され、ここで、アリールまたはヘテロアリール基のいずれも、独立して、 $-OH$ 、Cl、F、Br、 $-OCH_3$ 、 $-SO_2NH_2$ 、または  $-O - CH_2 - O -$  で置換されてもよい。

20

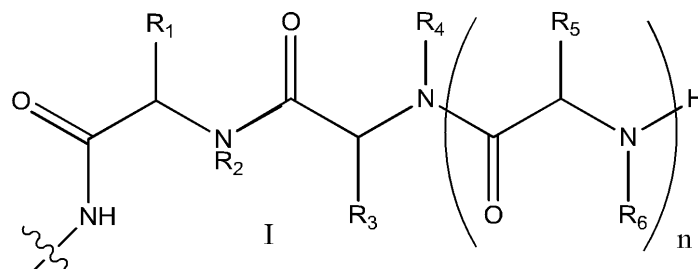
## 【0025】

アルツハイマー病のスクリーニングに適した他のペプチドライブラリーとしては、以下を含むライブラリーが挙げられる。すなわち、支持体上にある式1の化合物を含む複合体液をスクリーニングするためのランダムリガンドライブラリーであり、

30

## 【0026】

## 【化1】



40

## 【0027】

式中、化合物は以下からなる群から選択される反応物の使用を含むプロセスで生成される。すなわち、

(A) フルフリルアミン；3, 4 - ジメトキシエタノールアミン；ベンジルアミン；N - (2 - アミノエチル) アセトアミド；N - (3 - アミノプロピル) - 2 - ピロリジノン

50

; エタノールアミン; グリシン; ジアミノブタン; アリルアミン; ピペロニルアミン; メチルベンジルアミン; イソブチルアミン; 4 - ( 2 - アミノエチル ) ベンゼンスルホンアミド、またはシクロヘキシルアミン; または

( B ) メトキシエチルアミン; ピペロニルアミン; シクロヘキシルアミン; ジアミノブタン; メチルベンジルアミン; イソブチルアミン; フルフリルアミンまたは 4 - ( 2 - アミノエチル ) ベンゼンスルホンアミド; または

( C ) フルフリルアミン、エタノールアミン; グリシン; ジアミノブタン; アリルアミン; ピペロニルアミン; メチルベンジルアミン; イソブチルアミンまたは 4 - ( 2 - アミノエチル ) ベンゼンスルホンアミド; または

( D ) フルフリルアミン、N - ( 2 - アミノエチル ) アセトアミド; N - ( 3 - アミノエチル ) - 2 - ピロリジノン; エタノールアミン; グリシン; ジアミノブタン; アリルアミン; ピペロニルアミン; メチルベンジルアミン; イソブチルアミン; 4 - ( 2 - アミノエチル ) ベンゼンスルホンアミド; または

( E ) システイン、グリシン、アリルアミン、エタノールアミン、イソブチルアミン、メチルベンジルアミン、ピペロニルアミン、メチオニン、シクロヘキシルアミン、3, 4 - ジメトキシフェネチルアミン、ベンジルアミン、N - ( 2 - アミノエチル ) アセトアミド、N - ( 3 - アミノプロピル ) - 2 - ピロリドン、4 - ( 2 - アミノエチル ) ベンゼンスルホンアミド、およびフルフリルアミン; および

式中、

R<sub>1</sub> は、- ( C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> ) S C H<sub>3</sub> からなる群から選択され;

R<sub>2</sub> は H から選択され;

R<sub>3</sub> および R<sub>5</sub> は、独立して、H、- C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、- C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル S C H<sub>3</sub>、- C<sub>0</sub> - C<sub>6</sub> アルキル C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub> アルケニル、- C<sub>0</sub> - C<sub>6</sub> アルキル C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub> アルキニル、- C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> C O O H、- C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル O H、- C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル N ( R )<sub>2</sub>、- C<sub>3</sub> - C<sub>8</sub> シクロアルキル、- C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルアリアル、- C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルヘテロアリアル、- C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル N C ( O ) C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、- C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルシクロアミドからなる群から選択され、ここで、アリアルまたはヘテロアリアル基のいずれも、独立して、- O H、C l、F、B r、- O C H<sub>3</sub>、- S O<sub>2</sub> N H<sub>2</sub>、または - O - C H<sub>2</sub> - O - で置換されてもよく;

R<sub>4</sub> は、フルフリルまたは - ( C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル ) N R<sub>7</sub> R<sub>8</sub> からなる群から選択され

R<sub>6</sub> は、H、1 - イル - アリル、1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル、イソブチル、1 - イル - n - ブチルアミン、メチルベンジル、ピペロニル、シロヘキシル、1 - イル - 2 - ( 3, 4 - ジメトキシフェニル ) エチル、ベンジル、1 - イル - 2 - ( アセトアミド ) エチル、1 - イル - 3 - 2 - ピロリジノン、1 - イル - 2 - ( 4 - ベンゼンスルホンアミド ) エチル、またはフルフリル、および

n は、3 ~ 11 である。

【 0 0 2 8 】

より好適な実施形態では、そのようなライブラリーおよび/または化合物は、以下から選択される。すなわち、  
式 I a を有する化合物

【 0 0 2 9 】

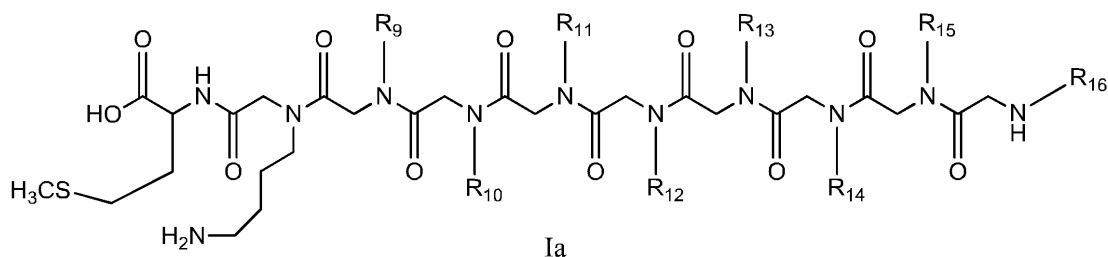
10

20

30

40

## 【化3】



## 【0030】

10

式中、化合物は式Iaの化合物からなる群から選択され、ここで、

(a) R<sub>9</sub>はn-ブチルアミン；R<sub>10</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>11</sub>はピペロニル；R<sub>12</sub>はメチルベンジル；R<sub>13</sub>はピペロニル；R<sub>14</sub>はメチルベンジル；R<sub>15</sub>は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、およびR<sub>16</sub>は1-イル-2-メトキシエチルである；

(b) R<sub>9</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>10</sub>は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル；R<sub>11</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>12</sub>はシクロヘキシル；R<sub>13</sub>は1-イル-2-メトキシエチル；R<sub>14</sub>は1-イル-2,2-ジメチルエチル(イソブチル)；R<sub>15</sub>は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、およびR<sub>16</sub>はメチルベンジルである；

20

(c) R<sub>9</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>10</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>11</sub>はピペロニル；R<sub>12</sub>は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル；R<sub>13</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>14</sub>はメチルベンジル；R<sub>15</sub>はメチルベンジルであり、およびR<sub>16</sub>はシクロヘキシルである；

(d) R<sub>9</sub>はピペロニル；R<sub>10</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>11</sub>はイソブチル；R<sub>12</sub>は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル；R<sub>13</sub>はメチルベンジル；R<sub>14</sub>はシクロヘキシル；R<sub>15</sub>はイソブチルであり、およびR<sub>16</sub>は1-イル-n-ブチルアミンである；

(e) R<sub>9</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>10</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>11</sub>はメチルベンジル；R<sub>12</sub>は1-イル-2-メトキシエチル；R<sub>13</sub>はシクロヘキシル；R<sub>14</sub>はシクロヘキシル；R<sub>15</sub>はメチルベンジルであり、およびR<sub>16</sub>はピペロニルである；

30

(f) R<sub>9</sub>はピペロニル；R<sub>10</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>11</sub>はイソプロピル；R<sub>12</sub>はイソプロピル；R<sub>13</sub>は1-イル-2-メトキシエチル；R<sub>14</sub>はシクロヘキシル；R<sub>15</sub>は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、およびR<sub>16</sub>は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルである；

(g) R<sub>9</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>10</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>11</sub>はピペロニル；R<sub>12</sub>はメチルベンジル；R<sub>13</sub>はピペロニル；R<sub>14</sub>はメチルベンジル；R<sub>15</sub>は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、およびR<sub>16</sub>はシクロヘキシルである；

40

(h) R<sub>9</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>10</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>11</sub>はメチルベンジル；R<sub>12</sub>は1-イル-2-メトキシエチル；R<sub>13</sub>はシクロヘキシル；R<sub>14</sub>はシクロヘキシル；R<sub>15</sub>はメチルベンジルであり、およびR<sub>16</sub>はピペロニルである；

(i) R<sub>9</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>10</sub>はメチルベンジル；R<sub>11</sub>はメチルベンジル；R<sub>12</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>13</sub>は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>14</sub>はシクロヘキシル；R<sub>15</sub>は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、およびR<sub>16</sub>はシクロヘキシルである；

(j) R<sub>9</sub>は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル；R<sub>10</sub>はメチルベンジル；R<sub>11</sub>はメチルベンジル；R<sub>12</sub>はシクロヘキシル；R<sub>13</sub>は1-イル-n-

50

ブチルアミン； $R_{14}$ はメチルベンジル； $R_{15}$ はイソブチルであり、および $R_{16}$ は1-イル-n-ブチルアミンである；

(k)  $R_9$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{10}$ はイソブチル； $R_{11}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{12}$ はピペロニル； $R_{13}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$ はシクロヘキシル； $R_{15}$ はメチルベンジルであり、および $R_{16}$ は1-イル-2-メトキシエチルである；

(l)  $R_9$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{11}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$ はシクロヘキシル； $R_{13}$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{14}$ はイソブチル； $R_{15}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および $R_{16}$ はメチルベンジルである；

(m)  $R_9$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{10}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{13}$ はメチルベンジル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ はフルフリルであり、および $R_{16}$ はフルフリルである；

(n)  $R_9$ はシクロヘキシル； $R_{10}$ はシクロヘキシル； $R_{11}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$ はフルフリル； $R_{13}$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{14}$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{15}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および $R_{16}$ はフルフリルである；

(o)  $R_9$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$ はピペロニル； $R_{11}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{12}$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{13}$ はメチルベンジル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ は1-イル-2-メトキシエチルであり、および $R_{16}$ はメチルベンジルである；

(p)  $R_9$ はシクロヘキシル； $R_{10}$ はシクロヘキシル； $R_{11}$ はピペロニル； $R_{12}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ は1-イル-n-ブチルアミンであり、および $R_{16}$ はイソブチルである；

(q)  $R_9$ はピペロニル； $R_{10}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{12}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{13}$ はピペロニル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ はメチルベンジルであり、および $R_{16}$ はメチルベンジルである；

(r)  $R_9$ はメチルベンジル； $R_{10}$ はメチルベンジル； $R_{11}$ はメチルベンジル； $R_{12}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$ はピペロニル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ はピペロニルであり、および $R_{16}$ は1-イル-n-ブチルアミンである；

(s)  $R_9$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$ はメチルベンジル； $R_{12}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$ はメチルベンジル； $R_{14}$ はメチルベンジル； $R_{15}$ は1-イル-2-メトキシエチルであり、および $R_{16}$ はピペロニルである；

(t)  $R_9$ はメチルベンジル； $R_{10}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{11}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{13}$ はイソブチル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ はメチルベンジルであり、および $R_{16}$ は1-イル-2-メトキシエチルである；

(u)  $R_9$ は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{10}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$ はイソブチル； $R_{12}$ はイソブチル； $R_{13}$ はシクロヘキシル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および $R_{16}$ はシクロヘキシルである；

(v)  $R_9$ はイソブチル； $R_{10}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$ はメチルベンジル； $R_{13}$ は1-イル-n-ブチルアミン；R

10

20

30

40

50

$R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  はピペロニルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである ;

(w)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{10}$  はイソブチル ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{14}$  はイソブチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである ;

(x)  $R_9$  はフルフリル ;  $R_{10}$  はフルフリル ;  $R_{11}$  はピペロニル ;  $R_{12}$  はシクロヘキシル ;  $R_{13}$  はピペロニル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである ;

(y)  $R_9$  はピペロニル ;  $R_{10}$  はピペロニル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである ;

(z)  $R_9$  はピペロニル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{11}$  はイソブチル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{13}$  はメチルベンジル ;  $R_{14}$  はシクロヘキシル ;  $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

(aa)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  はメチルベンジル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルである ;

(bb)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  はイソブチル ;  $R_{13}$  はシクロヘキシル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである ;

(cc)  $R_9$  はシクロヘキシル ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  はシクロヘキシル ;  $R_{12}$  はピペロニル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである ;

(dd)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである ;

(ee)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  はピペロニル ;  $R_{14}$  はイソブチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

(ff)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{12}$  はメチルベンジル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである ;

(gg)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである ;

10

20

30

40

50

( h h ) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>10</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( i i ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> はフルフリル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> はフルフリル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである ;

( j j ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> はメチルベンジル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルであり、および R<sub>16</sub> はイソブチルである ;

( k k ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> はメチルベンジル ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

( l l ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( m m ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

( n n ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はピペロニル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである ;

( o o ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>10</sub> はメチルベンジル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> はピペロニル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである ;

( p p ) R<sub>9</sub> はピペロニル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> はメチルアミン ; R<sub>13</sub> はピペロニル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>15</sub> はピペロニルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである ;

( q q ) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>10</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>11</sub> はフルフリル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>13</sub> はイソブチル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

( r r ) R<sub>9</sub> はピペロニル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はイソブチル ; R<sub>12</sub> はイソブチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルである ;

( s s ) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>10</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> はメチルベンジル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> はシクロヘキシルであり、および R<sub>16</sub> はピペロニルである ;

並びにその薬学的に許容される塩。

【 0 0 3 1 】

10

20

30

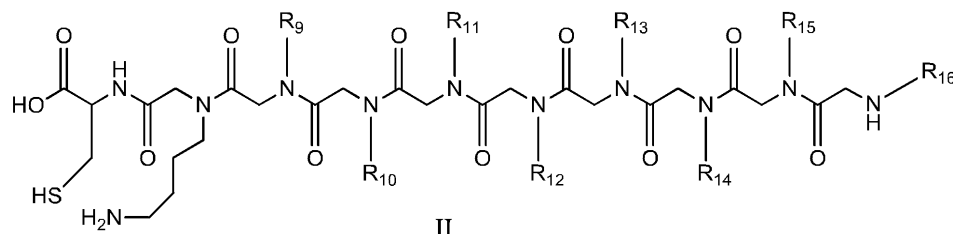
40

50

より好適な実施形態では、キットおよび/または診断薬、および/または機器を用いて、アルツハイマー病患者またはアルツハイマー病が疑われる患者での疾患関連バイオマーカーをスクリーニングするために、以下の化合物が好適である。すなわち、以下の式の化合物：

【0032】

【化4】



10

【0033】

式中、化合物は式 I の化合物からなる群から選択され、ここで、

(a)  $R_9$  は  $n$ -ブチルアミン； $R_{10}$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミン； $R_{11}$  はピペロニル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および  $R_{16}$  は 1-イル-2-メトキシエチルである；

20

(b)  $R_9$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミン； $R_{10}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)； $R_{11}$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミン； $R_{12}$  はシクロヘキシル； $R_{13}$  は 1-イル-2-メトキシエチル； $R_{14}$  は 1-イル-2,2-ジメチルエチル(イソブチル)； $R_{15}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

(c)  $R_9$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミン； $R_{10}$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミン； $R_{11}$  はピペロニル； $R_{12}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)； $R_{13}$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミン； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである；

(d)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミン； $R_{11}$  はイソブチル； $R_{12}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミンである；

30

(e)  $R_9$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミン； $R_{10}$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミン； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1-イル-2-メトキシエチル； $R_{13}$  はシクロヘキシル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである；

(f)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミン； $R_{11}$  はイソプロピル； $R_{12}$  はイソプロピル； $R_{13}$  は 1-イル-2-メトキシエチル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および  $R_{16}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)である；

40

(g)  $R_9$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミン； $R_{10}$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミン； $R_{11}$  はピペロニル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである；

(h)  $R_9$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミン； $R_{10}$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミン； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1-イル-2-メトキシエチル； $R_{13}$  はシクロヘキシル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである；

(i)  $R_9$  は 1-イル- $n$ -ブチルアミン； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はメチル

50

ベンジル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである；

( j )  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はシクロヘキシル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

( k )  $R_9$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{10}$  はイソブチル； $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{12}$  はピペロニル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

( l )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  はシクロヘキシル； $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{14}$  はイソブチル； $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

( m )  $R_9$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はフルフリルであり、および  $R_{16}$  はフルフリルである；

( n )  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  はフルフリル； $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および  $R_{16}$  はフルフリルである；

( o )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  はピペロニル； $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

( p )  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はピペロニル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである；

( q )  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

( r )  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はピペロニルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

( s )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである；

( t )  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{13}$  はイソブチル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

( u )  $R_9$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン；

10

20

30

40

50

R<sub>11</sub> はイソブチル； R<sub>12</sub> はイソブチル； R<sub>13</sub> はシクロヘキシル； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである；

( v ) R<sub>9</sub> はイソブチル； R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>12</sub> はメチルベンジル； R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>15</sub> はピペロニルであり、および R<sub>16</sub> はピペロニルである；

( w ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； R<sub>10</sub> はイソブチル； R<sub>11</sub> はメチルベンジル； R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； R<sub>14</sub> はイソブチル； R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである；

( x ) R<sub>9</sub> はフルフリル； R<sub>10</sub> はフルフリル； R<sub>11</sub> はピペロニル； R<sub>12</sub> はシクロヘキシル； R<sub>13</sub> はピペロニル； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである；

( y ) R<sub>9</sub> はピペロニル； R<sub>10</sub> はピペロニル； R<sub>11</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

( z ) R<sub>9</sub> はピペロニル； R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>11</sub> はイソブチル； R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； R<sub>13</sub> はメチルベンジル； R<sub>14</sub> はシクロヘキシル； R<sub>15</sub> はイソブチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

( a a ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； R<sub>11</sub> はメチルベンジル； R<sub>12</sub> はメチルベンジル； R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルである；

( b b ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>12</sub> はイソブチル； R<sub>13</sub> はシクロヘキシル； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> はピペロニルである；

( c c ) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル； R<sub>10</sub> はメチルベンジル； R<sub>11</sub> はシクロヘキシル； R<sub>12</sub> はピペロニル； R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>14</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

( d d ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； R<sub>14</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； R<sub>15</sub> はイソブチルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである；

( e e ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； R<sub>10</sub> はメチルベンジル； R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>13</sub> はピペロニル； R<sub>14</sub> はイソブチル； R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

( f f ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>10</sub> はメチルベンジル； R<sub>11</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； R<sub>12</sub> はメチルベンジル； R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>14</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである；

10

20

30

40

50

( g g ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

( h h ) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>10</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( i i ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> はフルフリル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> はフルフリル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである ;

( j j ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> はメチルベンジル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルであり、および R<sub>16</sub> はイソブチルである ;

( k k ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> はメチルベンジル ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

( l l ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( m m ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

( n n ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はピペロニル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> はメチルベンジル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである ;

( o o ) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>10</sub> はメチルベンジル ; R<sub>11</sub> はメチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> はメチルベンジル ; R<sub>14</sub> はピペロニル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである ;

( p p ) R<sub>9</sub> はピペロニル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> はメチルアミン ; R<sub>13</sub> はピペロニル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>15</sub> はピペロニルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである ;

( q q ) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>10</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>11</sub> はフルフリル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>13</sub> はイソブチル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである ;

( r r ) R<sub>9</sub> はピペロニル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> はイソブチル ; R<sub>12</sub> はイソブチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルである ;

10

20

30

40

50

(ss) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル；R<sub>10</sub> はシクロヘキシル；R<sub>11</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>12</sub> はメチルベンジル；R<sub>13</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>14</sub> はメチルベンジル；R<sub>15</sub> はシクロヘキシルであり、およびR<sub>16</sub> はピペロニルである；並びにその薬学的に許容される塩。

【0034】

より好適な実施形態では、以下の化合物が、アルツハイマー病スクリーニングおよび/または検出のためのペプチドリガンドとして選択される。すなわち、本明細書の請求項35に従う化合物であり、式IIの前記化合物は、R<sub>9</sub> ~ R<sub>16</sub> を有する群から選択される。式中、

(a) R<sub>9</sub> はn-ブチルアミン；R<sub>10</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>11</sub> はピペロニル；R<sub>12</sub> はメチルベンジル；R<sub>13</sub> はピペロニル；R<sub>14</sub> はメチルベンジル；R<sub>15</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、およびR<sub>16</sub> は1-イル-2-メトキシエチルである；

(b) R<sub>9</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>10</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)；R<sub>11</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>12</sub> はシクロヘキシル；R<sub>13</sub> は1-イル-2-メトキシエチル；R<sub>14</sub> は1-イル-2,2-ジメチルエチル(イソブチル)；R<sub>15</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、およびR<sub>16</sub> はメチルベンジルである；

(c) R<sub>9</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>10</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>11</sub> はピペロニル；R<sub>12</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)；R<sub>13</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>14</sub> はメチルベンジル；R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、およびR<sub>16</sub> はシクロヘキシルである；

(d) R<sub>9</sub> はピペロニル；R<sub>10</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>11</sub> はイソブチル；R<sub>12</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)；R<sub>13</sub> はメチルベンジル；R<sub>14</sub> はシクロヘキシル；R<sub>15</sub> はイソブチルであり、およびR<sub>16</sub> は1-イル-n-ブチルアミンである；

(e) R<sub>9</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>10</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>11</sub> はメチルベンジル；R<sub>12</sub> は1-イル-2-メトキシエチル；R<sub>13</sub> はシクロヘキシル；R<sub>14</sub> はシクロヘキシル；R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、およびR<sub>16</sub> はピペロニルである；

(f) R<sub>9</sub> はピペロニル；R<sub>10</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>11</sub> はイソプロピル；R<sub>12</sub> はイソプロピル；R<sub>13</sub> は1-イル-2-メトキシエチル；R<sub>14</sub> はシクロヘキシル；R<sub>15</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、およびR<sub>16</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)である

並びにその薬学的に許容される塩。

【0035】

自己免疫疾患

【0036】

本発明は、自己免疫性T細胞および/またはさまざまな自己免疫疾患病態または病状からの抗体を結合できる分子の同定も行う。例はEAE、MSの動物モデルに関するものであるが、本発明はさまざまな自己免疫疾患との関連で有用であり、その一部を以下で述べる。特定の態様において、病態としては、疾患が挙げられるが、これに限定するものではない。すなわち、急性散在性脳髄炎(ADEM)、急性出血性白質脳炎、アジソン病、無ガンマグロブリン血症、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、円形脱毛症、アミロイドーシス、強直性脊椎炎、抗GBM/抗TBM腎炎、抗リン脂質症候群(APS)、自己免疫性再生不良性貧血、自己免疫性自律神経障害、自己免疫性肝炎、自己免疫性脂質異常症、自己免疫性免疫不全、自己免疫性内耳疾患(AIED)、自己免疫性心筋炎、自己免疫性膵炎、自己免疫性網膜症、自己免疫性血小板減少性紫斑病(ATP)、自己免疫性甲状腺疾患、軸索およびニューロン神経障害、パロ病、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、キャッスルマン病、セリアック病(非熱帯性)、シャーガス病、慢性疲労症候群、

慢性炎症性脱髄性多発神経炎（CIDP）、慢性再発性多発性骨髄炎（CRMO）、チャ-グストラウス症候群、癩痕性類天疱瘡/良性粘膜類天疱瘡、クローン病、コーガン症候群、寒冷凝集素症、先天性心ブロック、コクサッキー心筋炎、CREST病、本態性混合型クリオグロブリン血症、脱髄性ニューロパシー、皮膚筋炎、デビック病（視神経脊髄炎）、円板状ループス、ドレスラー症候群、子宮内膜症、好酸球性筋膜炎、結節性紅斑、実験的アレルギー性脳脊髄炎、エバンス症候群、線維筋痛、線維化性肺炎、巨細胞性動脈炎（側頭動脈炎）、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、グレース病、ギランバレー症候群、橋本脳炎、橋本甲状腺炎、溶血性貧血、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病、妊娠性疱疹、低ガンマグロブリン血症、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）、IgA腎症、免疫調節リポタンパク質、封入体筋炎、インシュリン依存性糖尿病（一型）、間質性膀胱炎、若年性関節炎、若年性糖尿病、川崎症候群、ランバート・イトン症候群、白血球破壊性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、木質性結膜炎、線状IgA病（LAD）、全身性紅斑性狼瘡（SLE）、ライム病、メニエール病、顕微鏡的多発性血管炎、混合性結合組織病（MCTD）、モーレン潰瘍、ムッハ・ハーバーマン病、多発硬化症、重症筋無力症、筋炎、睡眠発作、視神経脊髄炎（デビック病）、好中球減少症、眼部癩痕性類天疱瘡、視神経炎、回帰性リウマチ、PANDAS（連鎖球菌に関連する小児自己免疫性神経精神疾患）、傍腫瘍性樟脳変性症、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）、パリー・ロンベルグ症候群、パーソネージ・ターナー症候群、扁平部炎（周辺部ブドウ膜炎）、天疱瘡、末梢神経障害、動脈周囲脳脊髄炎、悪性貧血、POEMS症候群、結節性多発動脈炎、多線性自己免疫症候群I、IIおよびIII型、リウマチ性多発性筋痛、多発性筋炎、心筋梗塞後症候群、心膜切開後症候群、プロゲステロン皮膚炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、乾癬、乾癬性関節炎、特発性肺線維症、壊疽性膿皮症、赤芽球癆、レイノー現象、反射性交感神経性ジストロフィー、ライター症候群、再発性多発性軟骨炎、むずむず脚症候群、後腹膜線維化症、リウマチ熱、リウマチ性関節炎、サルコイドーシス、シュミット症候群、強膜炎、強皮症、シェーグレン症候群、精子および精巣自己免疫、スティッフパーソン症候群、亜急性細菌性心内膜炎（SBE）、交感性眼炎、高安動脈炎、側頭動脈炎/巨細胞性動脈炎、血小板減少性紫斑病（TTP）、トローザ・ハント症候群、横断性脊髄炎、潰瘍性大腸炎、分類不能型結合組織病（UCTD）、ブドウ膜炎、血管炎、小水疱水疱性皮膚病、白斑またはウェグナー肉芽腫症または、慢性活動性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、拡張型心筋症、心筋炎、多線性自己免疫症候群1型（APS-1）、嚢胞性線維症性血管炎、後天性副甲状腺機能低下症、冠動脈疾患、落葉状天疱瘡、尋常性天疱瘡、ラスムッセン脳炎、自己免疫性胃炎、インスリン低血糖症候群（平田病）、B型インシュリン抵抗症候群、アカントーシス、狼瘡（SLE）、悪性貧血、治療抵抗性ライム病関節炎、多発ニューロパシー、脱髄疾患、アトピー性皮膚炎、自己免疫性甲状腺機能低下症、白斑、甲状腺関連眼病、自己免疫性セリアック病、ACTH欠乏症、皮膚筋炎、シェーグレン症候群、全身性硬化症、全身性進行性硬化症、限局性強皮症、原発性抗リン脂質抗体症候群、慢性特発性じんましん、結合組織症候群、壊死性半月体形成性糸球体腎炎（NCGN）、全身性血管炎、レイノー症候群、慢性肝疾患、内臓リーシュマニア症、自己免疫性C1抑制欠乏症、膜性増殖性糸球体腎炎（MPGN）、凝固時間延長、免疫不全、アテローム性動脈硬化症、神経細胞傷害、腫瘍随伴性天疱瘡、腫瘍随伴性スティッフマン症候群、腫瘍随伴性脳脊髄炎、亜急性自律性ニューロパシー、癌関連網膜症、腫瘍随伴性眼球クローヌスミオクローヌス運動失調、下位運動ニューロン症候群、およびランバート・イトン筋無力症候群。

10

20

30

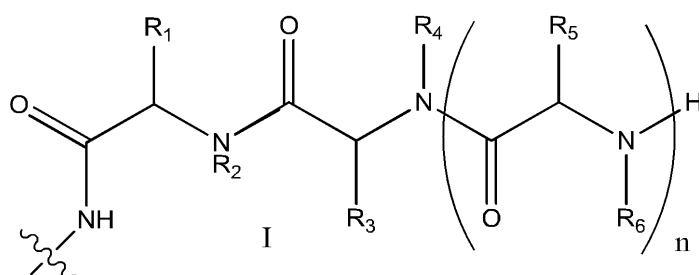
40

【0037】

狼瘡関連抗体をスクリーニングする目的のための本発明のペプチドライブラリーは上記で規定するライブラリーを含み、および支持体上にある式Iの化合物を含む複合体液をスクリーニングするためのランダムリガンドライブラリーをさらに含む、

【0038】

## 【化 1】



10

## 【0039】

式中、

$R_1$  は電子が豊富なアミノ酸鎖 Y から選択され；

$R_2$  は H から選択され；

および、 $R_3 \sim R_6$  は、独立して、H、 $-C_1 - C_6$  アルキル、 $-C_1 - C_6$  アルキル S  
 $CH_3$ 、 $-C_0 - C_6$  アルキル  $C_2 - C_6$  アルケニル、 $-C_0 - C_6$  アルキル  $C_2 - C_6$   
 アルキニル、 $-C_1 - C_6 COOH$ 、 $-C_1 - C_6$  アルキル OH、 $-C_1 - C_6$  アルキル  
 $N(R)_2$ 、 $-C_3 - C_8$  シクロアルキル、 $-C_1 - C_6$  アルキルアリール、 $-C_1 - C_6$   
 $C_1 - C_6$  アルキルヘテロアリール、 $-C_1 - C_6$  アルキル  $NC(O)C_1 - C_6$  アルキル、 $-C_1 - C_6$   
 $C_1 - C_6$  アルキルシクロアミドからなる群から選択され、ここで、アリールまたはヘテロ  
 アリール基のいずれも、独立して、 $-OH$ 、Cl、F、Br、 $-OCH_3$ 、 $-SO_2NH$   
 $2$ 、または  $-O - CH_2 - O -$  で置換されてもよい。

20

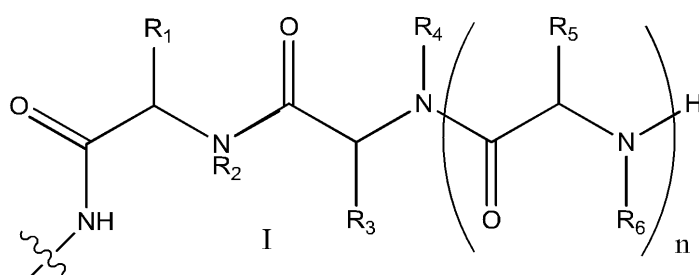
## 【0040】

SLE (狼瘡) のスクリーニングに適した他のペプチドライブラリーとしては、以下  
 を含むライブラリーが挙げられる。すなわち、

支持体上にある式 1 の化合物を含む複合体液をスクリーニングするためのランダムリガン  
 ドライブラリー、

## 【0041】

【化 1】



30

## 【0042】

式中、化合物は以下からなる群から選択される反応物の使用を含むプロセスで生成され  
 る。すなわち、

(A) フルフリルアミン；3, 4 - ジメトキシエタノールアミン；ベンジルアミン；N  
 - (2 - アミノエチル) アセトアミド；N - (3 - アミノプロピル) - 2 - ピロリジノン  
 ；エタノールアミン；グリシン；ジアミノブタン；アシルアミン；ピペロニルアミン  
 ；メチルベンジルアミン；イソブチルアミン；4 - (2 - アミノエチル) ベンゼンスルホ  
 ンアミド、またはシクロヘキシルアミン；または

(B) メトキシエチルアミン；ピペロニルアミン；シクロヘキシルアミン；ジアミノブ  
 タン；メチルベンジルアミン；イソブチルアミン；フルフリルアミンまたは 4 - (2 - ア

40

50

ミノエチル)ベンゼンスルホンアミド;または

(C)フルフリルアミン、エタノールアミン;グリシン;ジアミノブタン;アリルアミン;ピペロニルアミン;メチルベンジルアミン;イソブチルアミンまたは4-(2-アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド;または

(D)フルフリルアミン、N-(2-アミノエチル)アセトアミド;N-(3-アミノエチル)-2-ピロリジノン;エタノールアミン;グリシン;ジアミノブタン;アリルアミン;ピペロニルアミン;メチルベンジルアミン;イソブチルアミン;4-(2-アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド;または

(E)システイン、グリシン、アリルアミン、エタノールアミン、イソブチルアミン、メチルベンジルアミン、ピペロニルアミン、メチオニン、シクロヘキシルアミン、3,4-ジメトキシフェネチルアミン、ベンジルアミン、N-(2-アミノエチル)アセトアミド、N-(3-アミノプロピル)-2-ピロリドン、4-(2-アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド、およびフルフリルアミン;および

式中、

R<sub>1</sub>は、-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)SCH<sub>3</sub>からなる群から選択され;

R<sub>2</sub>はHから選択され;

R<sub>3</sub>およびR<sub>5</sub>は、独立して、H、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルSCH<sub>3</sub>、-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>アルキルC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>アルキルC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルキニル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>COOH、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルOH、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルN(R)<sub>2</sub>、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>シクロアルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルアリール、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルヘテロアリール、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルNC(O)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルシクロアミドからなる群から選択され、ここで、アリールまたはヘテロアリール基のいずれも、独立して、-OH、Cl、F、Br、-OCH<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、または-O-CH<sub>2</sub>-O-で置換されてもよく;

R<sub>4</sub>は、フルフリルまたは-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル)NR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>からなる群から選択され、

R<sub>6</sub>は、H、1-イル-アリル、1-イル-2-ヒドロキシエチル、イソブチル、1-イル-n-ブチルアミン、メチルベンジル、ピペロニル、シロヘキシル、1-イル-2-(3,4-ジメトキシフェニル)エチル、ベンジル、1-イル-2-(アセトアミド)エチル、1-イル-3-2-ピロリジノン、1-イル-2-(4-ベンゼンスルホンアミド)エチル、またはフルフリルからなる群から選択され、および

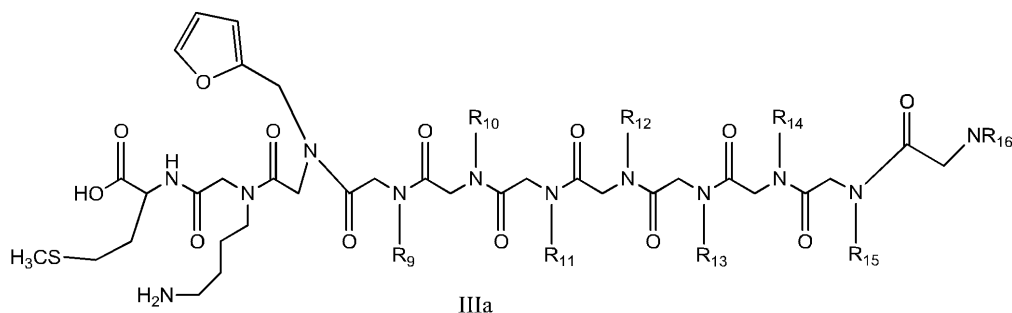
nは、3~11である。

【0043】

初期スクリーニング目的の好適な実施形態は以下を含む。すなわち、以下の式の化合物:

【0044】

【化6】



【0045】

式中、式IIIaの化合物中のR<sub>9</sub>~R<sub>16</sub>は以下から選択される。すなわち、

(a) R<sub>9</sub>は1-イル-アリル; R<sub>10</sub>は1-イル-3N-(2-ピロリジノン)プロピル; R<sub>11</sub>は酢酸; R<sub>12</sub>は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル;

R<sub>13</sub> はベンジル；R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>15</sub> はイソブチルであり、  
 およびR<sub>16</sub> は1-イル-アリルである；

(b) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル；R<sub>10</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>11</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>12</sub> は1-イル-2-(3,4-ジメトキシフェニル)エチル；  
 R<sub>13</sub> はベンジル；R<sub>14</sub> はピペロニル；R<sub>15</sub> は1-イル-n-ブチルアミンであり、  
 およびR<sub>16</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)である；

(c) R<sub>9</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)；R<sub>10</sub> は1-イル-アリル；  
 R<sub>11</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>12</sub> はベンジル；R<sub>13</sub> はメチルベンジル；  
 R<sub>14</sub> はベンジル；R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、およびR<sub>16</sub> は1-イル-n-ブチルアミンである；

(d) R<sub>9</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)；R<sub>10</sub> は1-イル-2-(3,4-ジメトキシフェニル)エチル；  
 R<sub>11</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>12</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)；  
 R<sub>13</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>14</sub> はベンジル；R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、およびR<sub>16</sub> はベンジルである；

(e) R<sub>9</sub> はピペロニル；R<sub>10</sub> はピペロニル；R<sub>11</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；  
 R<sub>12</sub> はシクロヘキシル；R<sub>13</sub> はベンジル；R<sub>14</sub> は1-イル-2-(3,4-ジメトキシフェニル)エチル；  
 R<sub>15</sub> は1-イル-n-ブチルアミンであり、およびR<sub>16</sub> はメチルベンジルである；

(f) R<sub>9</sub> は1-イル-アリル；R<sub>10</sub> はメチルベンジル；R<sub>11</sub> はメチルベンジル；  
 R<sub>12</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>13</sub> はピペロニル；R<sub>14</sub> はベンジル；R<sub>15</sub> はピペロニルであり、  
 およびR<sub>16</sub> は1-イル-n-ブチルアミンである；

(g) R<sub>9</sub> は1-イル-2-(3,4-ジメトキシフェニル)エチル；R<sub>10</sub> はイソブチル；  
 R<sub>11</sub> はメチルベンジル；R<sub>12</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>13</sub> はメチルベンジル；  
 R<sub>14</sub> はベンジル；R<sub>15</sub> はピペロニルであり、およびR<sub>16</sub> は1-イル-n-ブチルアミンである；

(h) R<sub>9</sub> はメチルベンジル；R<sub>10</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)；  
 R<sub>11</sub> はメチルベンジル；R<sub>12</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>13</sub> はメチルベンジル；  
 R<sub>14</sub> はメチルベンジル；R<sub>15</sub> は1-イル-n-ブチルアミンであり、  
 およびR<sub>16</sub> はメチルベンジルである；

(i) R<sub>9</sub> はピペロニル；R<sub>10</sub> はベンジル；R<sub>11</sub> はピペロニル；R<sub>12</sub> はベンジル；  
 R<sub>13</sub> は1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>14</sub> はベンジル；R<sub>15</sub> はシクロヘキシルであり、  
 およびR<sub>16</sub> は1-イル-n-ブチルアミンである；

並びにその薬学的に許容される塩。

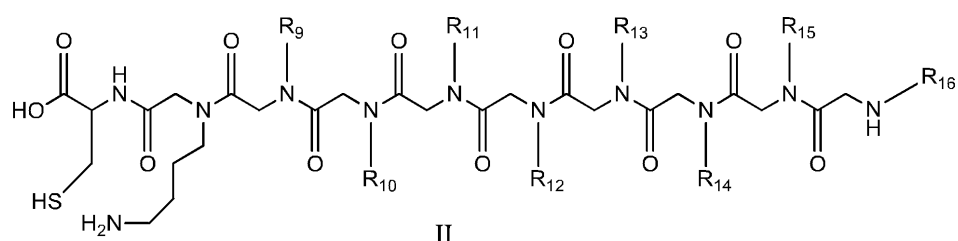
【0046】

キットおよび/または他の診断法の目的のための好適な実施形態としては、以下のものが挙げられる。すなわち、

以下の式の化合物：

【0047】

【化4】



【0048】

式中、式 I I の化合物中の R<sub>9</sub> ~ R<sub>16</sub> は以下から選択される。すなわち、

10

20

30

40

50

(a) R<sub>9</sub> は 1 - イル - アリル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 3 N - ( 2 - ピロリジノン ) プロピル ; R<sub>11</sub> は 酢酸 ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> は ベンジル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>15</sub> は イソブチル であり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - アリル である ;

(b) R<sub>9</sub> は シクロヘキシル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル ; R<sub>13</sub> は ベンジル ; R<sub>14</sub> は ピペロニル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン であり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル である ;

(c) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - アリル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は ベンジル ; R<sub>13</sub> は メチルベンジル ; R<sub>14</sub> は ベンジル ; R<sub>15</sub> は メチルベンジル であり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン である ;

(d) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> は ベンジル ; R<sub>15</sub> は メチルベンジル であり、および R<sub>16</sub> は ベンジル である ;

(e) R<sub>9</sub> は ピペロニル ; R<sub>10</sub> は ピペロニル ; R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>12</sub> は シクロヘキシル ; R<sub>13</sub> は ベンジル ; R<sub>14</sub> は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン であり、および R<sub>16</sub> は メチルベンジル である ;

(f) R<sub>9</sub> は 1 - イル - アリル ; R<sub>10</sub> は メチルベンジル ; R<sub>11</sub> は メチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> は ピペロニル ; R<sub>14</sub> は ベンジル ; R<sub>15</sub> は ピペロニル であり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン である ;

(g) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル ; R<sub>10</sub> は イソブチル ; R<sub>11</sub> は メチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> は メチルベンジル ; R<sub>14</sub> は ベンジル ; R<sub>15</sub> は ピペロニル であり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン である ;

(h) R<sub>9</sub> は メチルベンジル ; R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ; R<sub>11</sub> は メチルベンジル ; R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>13</sub> は メチルベンジル ; R<sub>14</sub> は メチルベンジル ; R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン であり、および R<sub>16</sub> は メチルベンジル である ;

(i) R<sub>9</sub> は ピペロニル ; R<sub>10</sub> は ベンジル ; R<sub>11</sub> は ピペロニル ; R<sub>12</sub> は ベンジル ; R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン ; R<sub>14</sub> は ベンジル ; R<sub>15</sub> は シクロヘキシル であり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン である ;

並びにその薬学的に許容される塩。

【0049】

癌

【0050】

本発明は、癌または前癌性病状に関連したバイオマーカーの有無の同定および/または特徴付けにおいても有用である。これらの癌は、以下からなる群から選択される。

【0051】

急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、副腎皮質癌、AIDS 関連癌、AIDS 関連リンパ腫、肛門癌、虫垂癌、星状細胞種、小児小脳または脳癌、基底細胞癌、胆管癌、肝外癌、膀胱癌、骨肉腫、骨肉腫 / 悪性線維性組織球腫、脳幹神経膠腫、脳腫瘍、脳腫瘍、小脳星状細胞腫、脳腫瘍脳星状細胞種 / 悪性神経膠腫、脳腫瘍上衣腫、脳腫瘍髄芽腫、脳腫瘍テント上原始神経外胚葉腫瘍、脳腫瘍、視覚伝導路および視床下部膠腫、乳癌、気管支腺腫 / カルチノイド、パーキット腫、カルチノイド腫瘍、小児カルチノイド腫瘍、消化管癌、原因不明癌、中枢神経系リンパ腫、原発性癌、小脳星状細胞種、小児脳星状細胞腫 / 悪性神経膠腫、小児癌、子宮頸癌、小児慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、

10

20

30

40

50

慢性骨髄増殖性疾患、大腸癌、皮膚T細胞性リンパ腫、線維形成小円形細胞腫瘍、子宮内  
 膜癌、上衣腫、食道癌、ユーイング肉腫ファミリー腫瘍、頭蓋外胚細胞腫瘍、小児性腺外  
 胚細胞腫瘍、肝外胆管癌、眼癌、眼内黒色腫、眼癌、網膜芽細胞種、胆嚢癌、胃（腹）癌  
 、消化管カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍（GIST）、胚細胞腫瘍：頭蓋外、性腺外  
 、または卵巣、妊娠性絨毛性腫瘍、脳幹の神経膠腫、神経膠腫、小児大脳星細胞腫、神経  
 膠腫、小児視経路および視床下部、胃カルチノイド、ヘアリー細胞白血病、頭頸部癌、心  
 臓癌、肝細胞（肝臓）癌、ホジキンリンパ腫、下咽頭癌、視床下部および視経路膠腫、小  
 児眼内黒色腫、島細胞癌（膵臓内分泌）、カボジ肉腫、腎臓癌（腎細胞癌）、咽頭癌、白  
 血病、白血病急性リンパ芽球性（急性リンパ球白血病とも呼ばれる）、白血病急性骨髄性  
 （急性骨髄性白血病とも呼ばれる）、白血病慢性リンパ球性（慢性リンパ球性白血病とも  
 呼ばれる）、白血病慢性骨髄性（慢性骨髄性白血病とも呼ばれる）、毛様細胞白血病、口  
 唇および口腔内のリンパ腫、肝臓癌（原発性）、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、リンパ腫、  
 リンパ腫、AIDS関連リンパ腫、パーキットリンパ腫、皮膚T細胞性リンパ腫、ホジキン  
 リンパ腫、非ホジキンリンパ腫（ホジキンリンパ腫を除くすべてのリンパ腫の旧分類）  
 、原発性中枢神経系リンパ腫、マーカスホイットル致死症（Marcus Whittle,  
 Deadly Disease）、ヴァルデンストロームマクログロブリン血症（  
 Macroglobulinemia, Waldenström）、骨の悪性線維性組  
 織球腫/骨肉腫、小児髓芽腫、黒色腫、眼内（眼）黒色腫、メルケル細胞癌、成人悪性中  
 皮腫、小児中皮腫、原因不明の転移性頸部扁平上皮癌、口腔癌、多発性内分泌腫瘍症候群  
 、小児多発性骨髄腫/形質細胞腫、菌状息肉腫、骨髄異形成症候群、骨髄異形成/骨髄増  
 殖性疾患、骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病、成人急性、小児急性骨髄性白血病多発性骨  
 髄腫、多発性（骨髄の癌）、慢性骨髄増殖性疾患、鼻腔および副鼻腔癌、鼻咽頭癌、神経  
 芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、非小細胞肺癌、口腔癌、口腔咽頭癌、骨肉腫/骨の悪性  
 線維性組織球腫、卵巣癌、上皮性卵巣癌（表面上皮間質腫瘍）、卵巣胚細胞腫瘍、卵巣低  
 悪性度腫瘍、膵臓癌、膵島細胞癌、副鼻腔および鼻腔癌、副甲状腺癌、陰茎癌、咽頭癌、  
 褐色細胞腫、松果体星細胞腫、松果体胚細胞腫、松果体芽細胞腫およびテント上原始神経  
 外胚葉腫瘍、小児下垂体腺腫、形質細胞腫/多発性骨髄腫、胸膜肺芽腫、原発性中枢神経  
 系リンパ腫、前立腺癌、直腸癌、腎細胞癌（腎臓癌）、腎盂尿管癌、移行上皮癌、網膜芽  
 細胞腫、小児横紋筋肉腫、唾液腺癌、ユーイング肉腫ファミリー腫瘍、カボジ肉腫、軟部  
 組織の肉腫、子宮肉腫、セザリー症候群、皮膚癌（非黒色腫）、皮膚癌（黒色腫）、メル  
 ケル細胞皮膚癌、小細胞肺癌、小腸癌、軟部組織の肉腫、扁平上皮癌 - 皮膚癌（非黒色腫  
 ）を参照、原発不明の頸部扁平上皮癌、胃癌、小児性テント上原始神経外胚葉腫瘍、T細  
 胞リンパ腫、皮膚 - 菌状息肉腫およびセザリー症候群を参照、睾丸癌、咽喉癌、胸腺腫、  
 小児胸腺腫および胸腺癌、甲状腺癌、小児性甲状腺癌、腎盂および尿管移行上皮癌、絨毛  
 性腫瘍、妊娠性の原発部位不明癌、成人性の原発部位不明癌、小児尿管および腎盂移行上  
 皮癌、尿道癌、子宮癌、子宮内膜、子宮肉腫、膣癌、小児視経路および小児視床下部膠腫  
 、外陰癌、ヴァルデンストロームマクログロブリン血症、小児腎芽細胞腫（腎臓癌）。

【0052】

前述のライブラリーに加えて、膵臓癌をスクリーニングする目的のための本発明のペプ  
 トライブラリーは、支持体上にある式Iの化合物を含む複合体液をスクリーニングす  
 るためのランダムリガンドライブラリーを含む。

【0053】

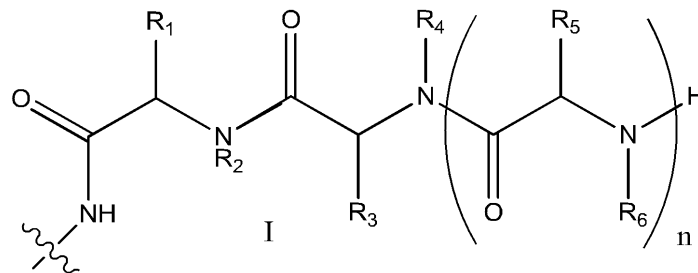
10

20

30

40

## 【化 1】



10

## 【 0 0 5 4 】

式中、

$R_1$  は電子が豊富なアミノ酸側鎖 Y から選択され；

$R_2$  は H から選択され；

および、 $R_3 \sim R_6$  は、独立して、H、 $-C_1 - C_6$  アルキル、 $-C_1 - C_6$  アルキル S  
 $CH_3$ 、 $-C_0 - C_6$  アルキル  $C_2 - C_6$  アルケニル、 $-C_0 - C_6$  アルキル  $C_2 - C_6$   
 アルキニル、 $-C_1 - C_6$  COOH、 $-C_1 - C_6$  アルキル OH、 $-C_1 - C_6$  アルキル  
 $N(R)_2$ 、 $-C_3 - C_8$  シクロアルキル、 $-C_1 - C_6$  アルキルアリール、 $-C_1 - C_6$   
 $C_1 - C_6$  アルキルヘテロアリール、 $-C_1 - C_6$  アルキル  $NC(O)C_1 - C_6$  アルキル、 $-C_1 - C_6$   
 $C_1 - C_6$  アルキルシクロアミドからなる群から選択され、ここで、アリールまたはヘテロ  
 アリール基のいずれも、独立して、 $-OH$ 、Cl、F、Br、 $-OCH_3$ 、 $-SO_2NH$   
 $2$ 、または  $-O - CH_2 - O -$  で置換されてもよい。

20

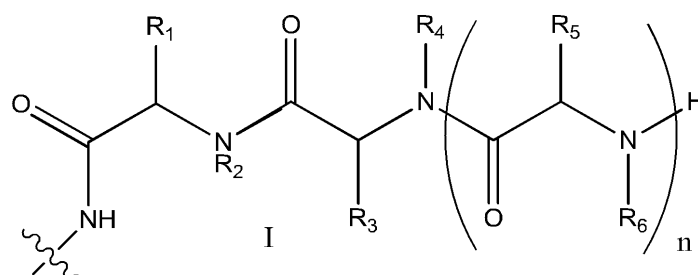
## 【 0 0 5 5 】

癌のスクリーニングに適した他のペプチドライブラリーとしては、以下を含むライブ  
 ラリーが挙げられる。すなわち、

支持体上にある式 1 の化合物を含む複合体液をスクリーニングするためのランダムリガン  
 ドライブラリー、

## 【 0 0 5 6 】

## 【化 1】



30

40

## 【 0 0 5 7 】

式中、化合物は以下からなる群から選択される反応物の使用を含むプロセスで生成され  
 る。すなわち、

(A) フルフリルアミン；3, 4 - ジメトキシエタノールアミン；ベンジルアミン；N  
 - (2 - アミノエチル) アセトアミド；N - (3 - アミノプロピル) - 2 - ピロリジノン  
 ；エタノールアミン；グリシン；ジアミノブタン；アシルアミン；ピペロニルアミン  
 ；メチルベンジルアミン；イソブチルアミン；4 - (2 - アミノエチル) ベンゼンスルホ  
 ンアミド、またはシクロヘキシルアミン；または

(B) メトキシエチルアミン；ピペロニルアミン；シクロヘキシルアミン；ジアミノブ  
 タン；メチルベンジルアミン；イソブチルアミン；フルフリルアミンまたは 4 - (2 - ア

50

ミノエチル)ベンゼンスルホンアミド;または

(C)フルフリルアミン、エタノールアミン;グリシン;ジアミノブタン;アリルアミン;ピペロニルアミン;メチルベンジルアミン;イソブチルアミンまたは4-(2-アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド;または

(D)フルフリルアミン、N-(2-アミノエチル)アセトアミド;N-(3-アミノエチル)-2-ピロリジノン;エタノールアミン;グリシン;ジアミノブタン;アリルアミン;ピペロニルアミン;メチルベンジルアミン;イソブチルアミン;4-(2-アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド;または

(E)システイン、グリシン、アリルアミン、エタノールアミン、イソブチルアミン、メチルベンジルアミン、ピペロニルアミン、メチオニン、シクロヘキシルアミン、3,4-ジメトキシフェネチルアミン、ベンジルアミン、N-(2-アミノエチル)アセトアミド、N-(3-アミノプロピル)-2-ピロリドン、4-(2-アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド、およびフルフリルアミン;および

式中、

R<sub>1</sub>は、-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)SCH<sub>3</sub>からなる群から選択され;

R<sub>2</sub>はHから選択され;

R<sub>3</sub>およびR<sub>5</sub>は、独立して、H、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルSCH<sub>3</sub>、-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>アルキルC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>アルキルC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルキニル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>COOH、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルOH、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルN(R)<sub>2</sub>、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>シクロアルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルアリール、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルヘテロアリール、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルNC(O)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルシクロアミドからなる群から選択され、ここで、アリールまたはヘテロアリール基のいずれも、独立して、-OH、Cl、F、Br、-OCH<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、または-O-CH<sub>2</sub>-O-で置換されてもよく;

R<sub>4</sub>は、フルフリルまたは-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル)NR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>からなる群から選択され、

R<sub>6</sub>は、H、1-イル-アリル、1-イル-2-ヒドロキシエチル、イソブチル、1-イル-n-ブチルアミン、メチルベンジル、ピペロニル、シロヘキシル、1-イル-2-(3,4-ジメトキシフェニル)エチル、ベンジル、1-イル-2-(アセトアミド)エチル、1-イル-3-2-ピロリジノン、1-イル-2-(4-ベンゼンスルホンアミド)エチル、またはフルフリルから選択され、および

nは、3~11である。

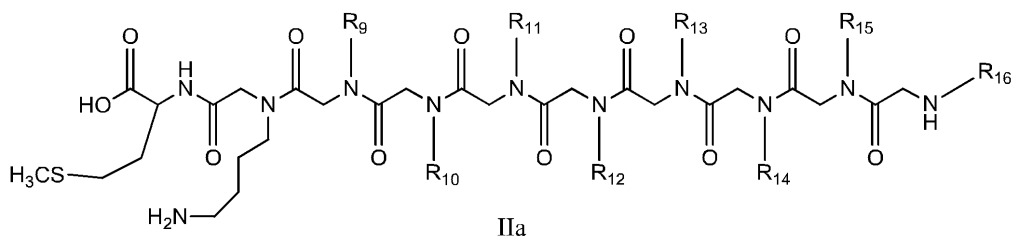
【0058】

予備スクリーニングの目的のための好適な実施形態としては、以下を含む上記ペプチドが挙げられる。すなわち、

以下の式の化合物:

【0059】

【化5】



【0060】

式中、化合物は式IIaの化合物からなる群から選択され、ここで、

(a) R<sub>9</sub>は1-イル-n-ブチルアミン;R<sub>10</sub>はピペロニル;R<sub>11</sub>はメチルベンジル;R<sub>12</sub>は1-イル-n-ブチルアミン;R<sub>13</sub>はシクロヘキシル;R<sub>14</sub>はイソブ

10

20

30

40

50

チル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(b)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{13}$  はイソブチル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(c)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{13}$  はイソブチル； $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

(d)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである；

(e)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

(f)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(g)  $R_9$  はフルフリル； $R_{10}$  はフルフリル； $R_{11}$  はイソブチル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

(h)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{11}$  はシクロヘキシル； $R_{12}$  はシクロヘキシル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

(i)  $R_9$  はイソブチル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はイソブチル； $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(j)  $R_9$  はイソブチル； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(k)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はイソブチル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである；

(l)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はイソブチル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

並びにその薬学的に許容される塩。

【0061】

キットで膵臓癌をスクリーニングする目的のための好適な実施形態としては、以下を含む。すなわち、

以下の式の化合物：

【0062】

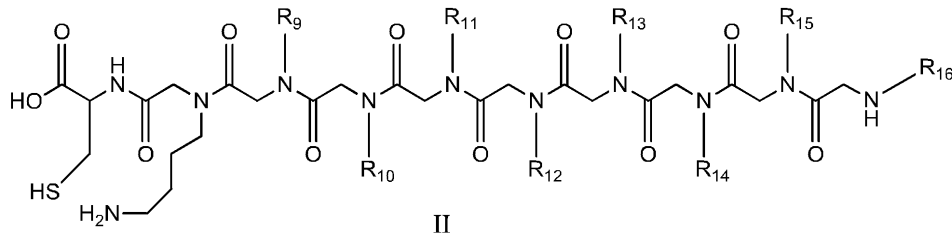
10

20

30

40

## 【化 4】



## 【 0 0 6 3 】

式中、化合物は式 I I の化合物からなる群から選択され、ここで、

( a )  $R_9$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{10}$  はピペロニル ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{13}$  はシクロヘキシル ;  $R_{14}$  はイソブチル ;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンである ;

( b )  $R_9$  はメチルベンジル ;  $R_{10}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{13}$  はイソブチル ;  $R_{14}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンである ;

( c )  $R_9$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{10}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{13}$  はイソブチル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである ;

( d )  $R_9$  はメチルベンジル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{12}$  はメチルベンジル ;  $R_{13}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである ;

( e )  $R_9$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  はメチルベンジル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{14}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである ;

( f )  $R_9$  はシクロヘキシル ;  $R_{10}$  はシクロヘキシル ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{13}$  はメチルベンジル ;  $R_{14}$  はメチルベンジル ;  $R_{15}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンである ;

( g )  $R_9$  はフルフリル ;  $R_{10}$  はフルフリル ;  $R_{11}$  はイソブチル ;  $R_{12}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{13}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{14}$  はメチルベンジル ;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである ;

( h )  $R_9$  はメチルベンジル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{11}$  はシクロヘキシル ;  $R_{12}$  はシクロヘキシル ;  $R_{13}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである ;

( i )  $R_9$  はイソブチル ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{13}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{14}$  はイソブチル ;  $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンである ;

( j )  $R_9$  はイソブチル ;  $R_{10}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  はメチルベンジル ;  $R_{13}$  はメチルベンジル ;  $R_{14}$  はシクロヘキシル ;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンである ;

( k )  $R_9$  はシクロヘキシル ;  $R_{10}$  はシクロヘキシル ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  はメチルベンジル ;  $R_{13}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン ;  $R_{14}$  はイソブチル ;  $R_{15}$  はメチルベンジル ;  $R_{16}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンである ;

10

20

30

40

50

$R_{15}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである；  
 (1)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はイソブチル； $R_{12}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン； $R_{13}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

並びにその薬学的に許容される塩。

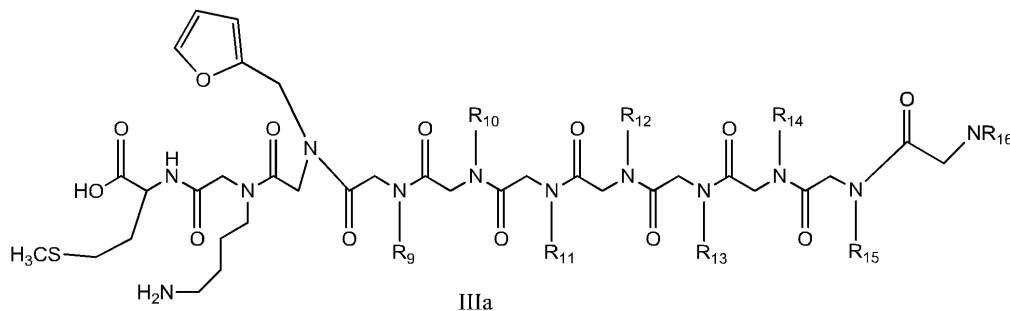
【0064】

膵臓癌自己抗体検出のための予備スクリーニング目的での別の実施形態としては、以下が挙げられる。すなわち、

以下の式の化合物：

【0065】

【化6】



【0066】

式中、前記化合物は、以下の  $R_9 \sim R_{16}$  を有する化合物からなる群から選択され、

(a)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン； $R_{12}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン； $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{14}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン； $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンである；

(b)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  はピペロニル； $R_{11}$  はシクロヘキシル； $R_{12}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン； $R_{13}$  は 1 - イル - アリル； $R_{14}$  はイソブチル； $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンである；

(c)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  はピペロニル； $R_{11}$  はシクロヘキシル； $R_{12}$  はピペロニル； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンである；

(d)  $R_9$  はイソブチル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はイソブチル； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{13}$  は 1 - イル - アリル； $R_{14}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン； $R_{15}$  は 1 - イル - アリルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである；

(e)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  はイソブチル； $R_{11}$  はピペロニル； $R_{12}$  はシクロヘキシル； $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{14}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン； $R_{15}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである；

(f)  $R_9$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン； $R_{10}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン； $R_{11}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン； $R_{12}$  はピペロニル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン； $R_{15}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチルである；

(g)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はシクロヘキシル； $R_{12}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミン； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル -  $n$  - ブチルアミンである；

(h)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  はピペロニル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$

10

20

30

40

50

は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  はメチルベンジル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである ;

( i )  $R_9$  はメチルベンジル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - アリル ;  $R_{11}$  はピペロニル ;  $R_{12}$  はピペロニル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである ;

( j )  $R_9$  はメチルベンジル ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  はピペロニル ;  $R_{12}$  はメチルベンジル ;  $R_{13}$  はピペロニル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( k )  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  はメチルベンジル ;  $R_{13}$  はピペロニル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである ;

( l )  $R_9$  は 1 - イル - アリル ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  はシクロヘキシル ;  $R_{13}$  はピペロニル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである ;

( m )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル ;  $R_{11}$  はイソブチル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである ;

( n )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  はピペロニルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチルである ;

並びにその薬学的に許容される塩。

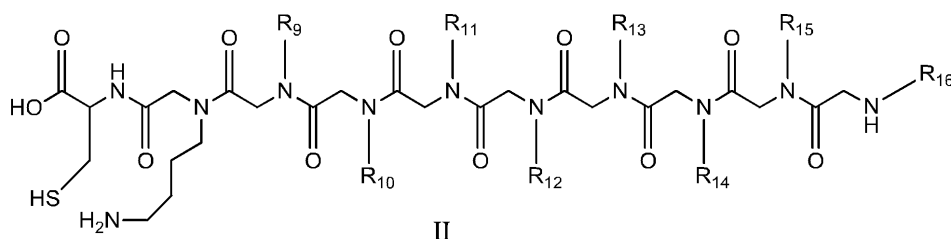
【 0 0 6 7 】

キットおよび診断法の目的のための好適な実施形態としては、以下のものが挙げられる。すなわち、

以下の式の化合物 :

【 0 0 6 8 】

【 化 4 】



【 0 0 6 9 】

式中、前記化合物は、以下の  $R_9 \sim R_{16}$  を有する化合物からなる群から選択され、

( a )  $R_9$  はピペロニル ;  $R_{10}$  はシクロヘキシル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( b )  $R_9$  はピペロニル ;  $R_{10}$  はピペロニル ;  $R_{11}$  はシクロヘキシル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  は 1 - イル - アリル ;  $R_{14}$  はイソブチル ;  $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

(c) R<sub>9</sub> はメチルベンジル; R<sub>10</sub> はピペロニル; R<sub>11</sub> はシクロヘキシル; R<sub>12</sub> はピペロニル; R<sub>13</sub> はピペロニル; R<sub>14</sub> はメチルベンジル; R<sub>15</sub> は1-イル-n-ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> は1-イル-n-ブチルアミンである;

(d) R<sub>9</sub> はイソブチル; R<sub>10</sub> はシクロヘキシル; R<sub>11</sub> はイソブチル; R<sub>12</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル; R<sub>13</sub> は1-イル-アリル; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> は1-イル-アリルであり、および R<sub>16</sub> はピペロニルである;

(e) R<sub>9</sub> はピペロニル; R<sub>10</sub> はイソブチル; R<sub>11</sub> はピペロニル; R<sub>12</sub> はシクロヘキシル; R<sub>13</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> は1-イル-n-ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> はピペロニルである;

(f) R<sub>9</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>10</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>11</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>12</sub> はピペロニル; R<sub>13</sub> はメチルベンジル; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> は1-イル-n-ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> は1-イル-2-ヒドロキシエチルである;

(g) R<sub>9</sub> は1-イル-2-ヒドロキシエチル; R<sub>10</sub> はメチルベンジル; R<sub>11</sub> はシクロヘキシル; R<sub>12</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>13</sub> はピペロニル; R<sub>14</sub> はメチルベンジル; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> は1-イル-n-ブチルアミンである;

(h) R<sub>9</sub> はメチルベンジル; R<sub>10</sub> はピペロニル; R<sub>11</sub> はメチルベンジル; R<sub>12</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>13</sub> はメチルベンジル; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> は1-イル-n-ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> はピペロニルである;

(i) R<sub>9</sub> はメチルベンジル; R<sub>10</sub> は1-イル-アリル; R<sub>11</sub> はピペロニル; R<sub>12</sub> はピペロニル; R<sub>13</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>14</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル; R<sub>15</sub> は1-イル-n-ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである;

(j) R<sub>9</sub> はメチルベンジル; R<sub>10</sub> はメチルベンジル; R<sub>11</sub> はピペロニル; R<sub>12</sub> はメチルベンジル; R<sub>13</sub> はピペロニル; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> は1-イル-n-ブチルアミンである;

(k) R<sub>9</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル; R<sub>10</sub> はメチルベンジル; R<sub>11</sub> はメチルベンジル; R<sub>12</sub> はメチルベンジル; R<sub>13</sub> はピペロニル; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> は1-イル-n-ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> はイソブチルである;

(l) R<sub>9</sub> は1-イル-アリル; R<sub>10</sub> はメチルベンジル; R<sub>11</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>12</sub> はシクロヘキシル; R<sub>13</sub> はピペロニル; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> は1-イル-n-ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> はピペロニルである;

(m) R<sub>9</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>10</sub> は1-イル-2-ヒドロキシエチル; R<sub>11</sub> はイソブチル; R<sub>12</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>13</sub> は1-イル-2-ヒドロキシエチル; R<sub>14</sub> は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル; R<sub>15</sub> は1-イル-n-ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである;

(n) R<sub>9</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>10</sub> は1-イル-2-ヒドロキシエチル; R<sub>11</sub> はメチルベンジル; R<sub>12</sub> は1-イル-2-ヒドロキシエチル; R<sub>13</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>14</sub> は1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> はピペロニルであり、および R<sub>16</sub> は1-イル-2-ヒドロキシエチルである;

並びにその薬学的に許容される塩。

#### 【0070】

本発明は、他の疾患または病状に関連するバイオマーカーのスクリーニングにおいても有用である。前記疾患および病状は、神経疾患、自己免疫疾患、および上記癌のほか、抗

10

20

30

40

50

体または他の特徴的なタンパク質などのバイオマーカーまたは疾患または疾患の進行に関連したバイオマーカーを有する他の疾患および病状にも及ぶ。これらの疾患および病状としては、炎症性疾患、感染症、心臓血管疾患、および代謝性疾患が具体的に挙げられる。具体的な感染症としては、AIDS、炭疽病、ボツリヌス中毒症、ブルセラ症、軟性下疳、クラミジア感染症、コレラ、コクシジオイデス症、クリプトスポリジウム症、シクロスポラ症、ジフテリア、エーリキア症、アルボウイルス脳炎、腸管出血性大腸菌、ランブル鞭毛虫症、淋病、デング熱、インフルエンザ菌、ハンセン病（癩病）、ハンタウイルス肺症候群、溶血性尿毒症症候群、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、ヒト免疫不全ウイルス、レジオネラ症、リステリア症、ライム病、マラリア、はしか、髄膜炎菌性疾患、おたふく風邪、百日咳（百日咳）、ペスト、麻痺性灰白髄炎、オウム病、Q熱、狂犬病、ロッキー山発疹熱、風疹、先天性風疹症候群（SARS）、細菌性赤痢、天然痘、連鎖球菌感染症（侵襲性群A）、連鎖球菌毒素性ショック症候群、連鎖球菌性肺炎、梅毒、破傷風、毒素性ショック症候群、旋毛虫病、結核、野兔病、腸チフス、バンコマイシン中間耐性黄色ブドウ球菌、水痘、黄熱病、変異型クロイツフェルト・ヤコブ病（vCJD）、エボラ出血熱、エキノコックス症、ヘンドラウイルス感染症、ヒトサル痘、A型インフルエンザ、H5N1、ラッサ熱、マールブルグ出血熱、ニパウイルス、オニオンニオン熱、リフトバレー熱、ベネズエラウマ脳炎、および西ナイルウイルスが挙げられる。

#### 【0071】

適切な実験条件の下で、本発明の大型リガンドライブラリーを体液で直接利用し、より少ない支持構成要素（例えば、約100,000以下）を使用する必要なしに、あるいは体液をスクリーニングする前に前記ペプチドまたはリガンドをマイクロアレイに移す必要なしに、前記マーカーをスクリーニングできる。さらに、特定細胞表面マーカーに特に関連する細胞ベース受容体に関するスクリーニングにも、リガンドライブラリーを使用してもよい。以前の方法と違い、本発明はより多くのビーズ/樹脂を含めることを可能にし、したがって、複合生体試料を直接スクリーニングするために、リガンド結合剤スクリーニングまたは細胞受容体スクリーニングのいずれでも、より大きなライブラリーを含めることができる。したがって、本発明は、時点1で患者の生体試料をスクリーニングするステップを含む疾患進行を監視し、いずれかの時点で前記患者の疾患関連バイオマーカーの有無を追跡および/または監視するために、時点2またはその後のいずれの使用時点でも前記患者の生体試料をスクリーニングする方法、または、本発明の迅速なスクリーニング法から得られる少なくとも1つのリガンドを有するキットまたは機器または装置も含む。

#### 【0072】

リガンド

#### 【0073】

マイクロアレイシステムに対する前述の通り、ランダムビーズまたは樹脂ベースライブラリーを構築するために、ほぼすべての分子または化合物を使用してもよい。これらの「分子」または「化合物」には、天然物または人工化合物または合成的に誘導された分子を含んでもよい。前記分子の源は、生物系からのほか、非生物学的に誘導された源であってもよい。本発明で請求される条件の下で、大型ビーズライブラリーを用いた初期スクリーニング目的に好適なリガンドは、一部分においてサブモノマーから作られ、そのサブモノマーは公知の単量体アミンおよび公知の酢酸ハロゲン化物または置換酢酸ハロゲン化物から選択される。例えば、表1には、選択することができる一置換アミン上のさまざまなR基を示す。

#### 【0074】

10

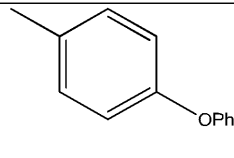
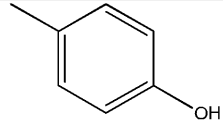
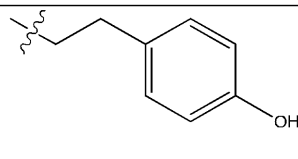
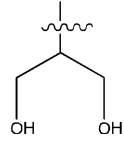
20

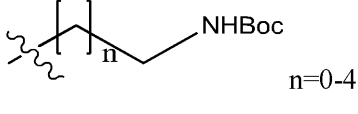
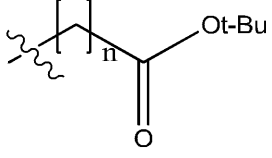
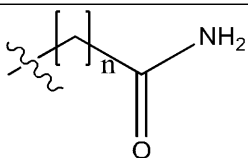
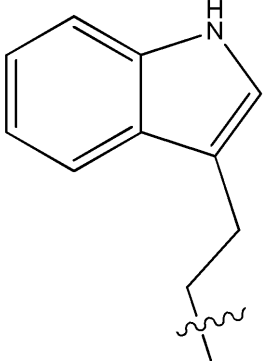
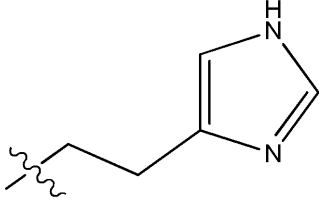
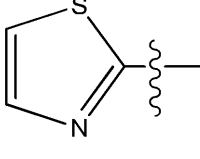
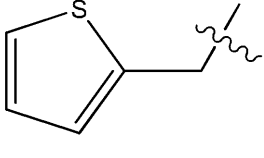
30

40

## 【表 1 A】

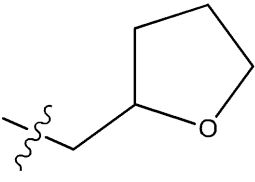
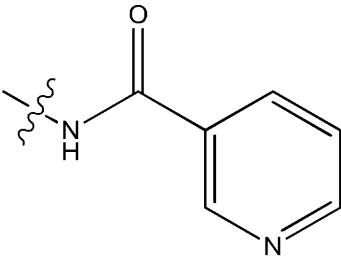
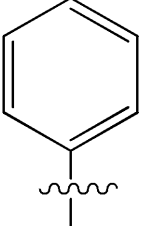
表 1 ペプチドの側鎖修飾

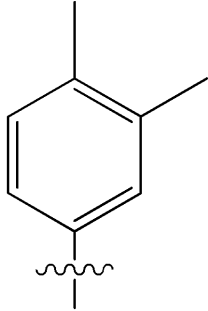
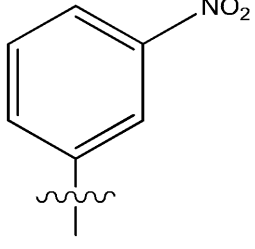
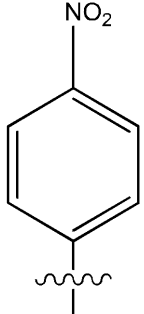
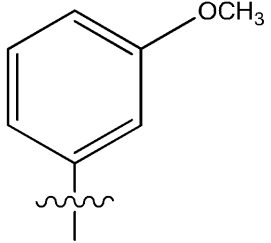
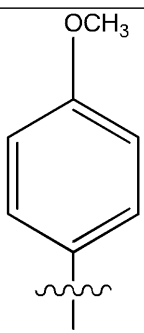
アミン側鎖、NH <sub>2</sub> R (参照番号)
n-Bu <sup>1</sup> (Heine, Tetrahedron 59 (2003) 9919-9930)
s-Bu
-Cy
-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -CH(Ph) <sub>2</sub>
-CH <sub>2</sub> Ph
-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
-OH





	
	10
	
	20
	30
	
	40

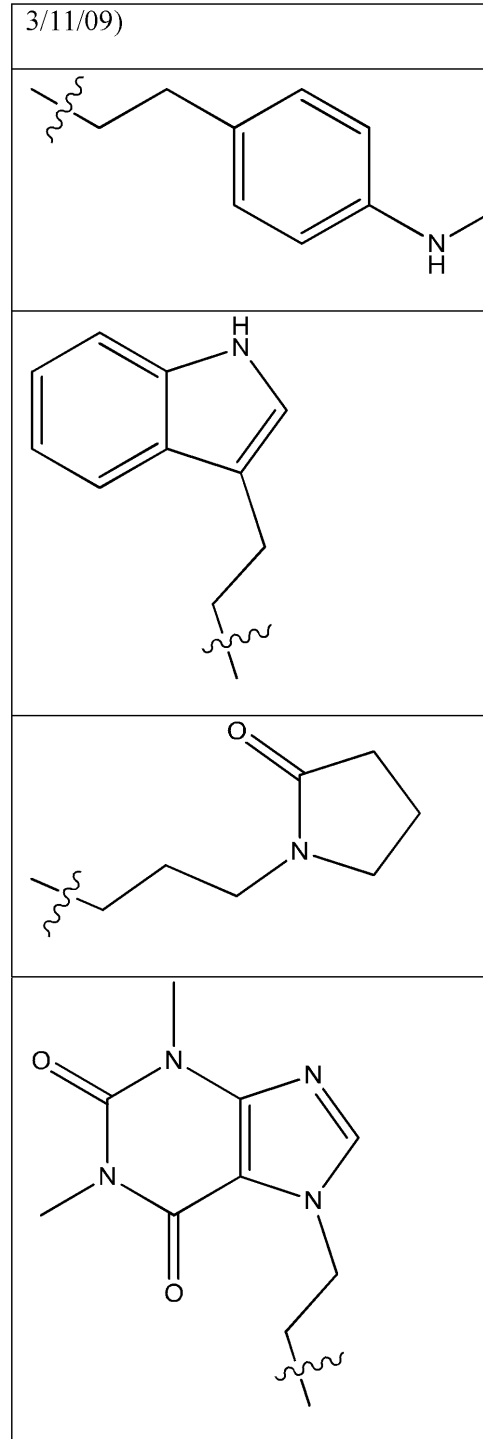
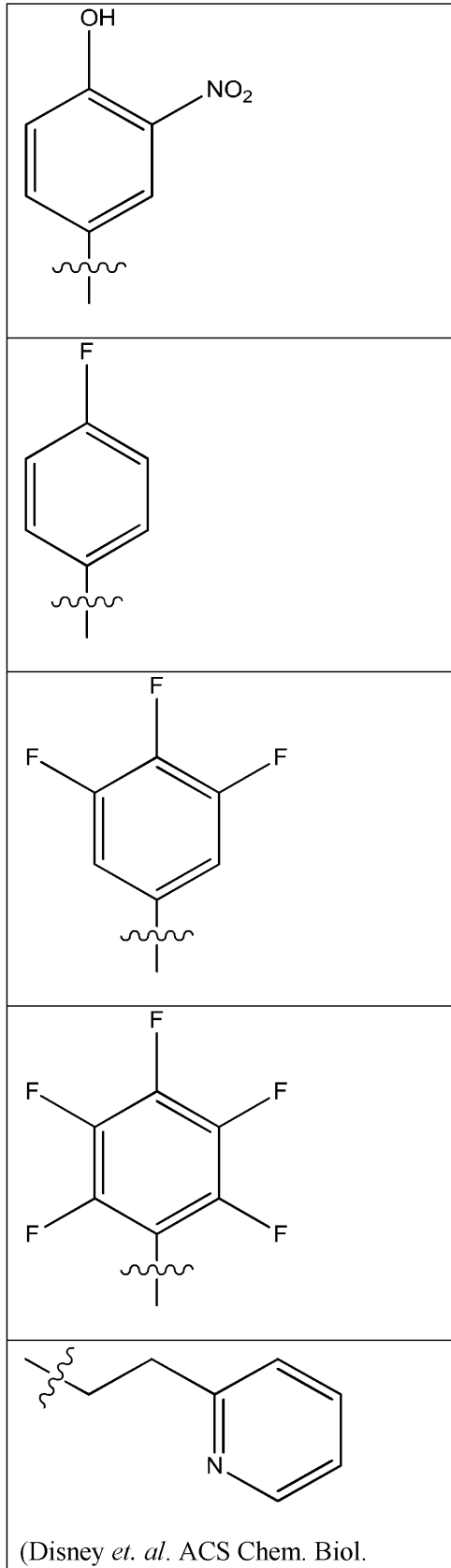
【 0 0 7 5 】

【表 1 B】

-i-Bu
-CH <sub>2</sub> Cy

-CH <sub>2</sub> OCIPh
-CH <sub>2</sub> pOCH <sub>3</sub> Ph
-CHCH <sub>3</sub> Ph
-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NHBoc

-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OMe
-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
-CH(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> OH
-CH <sub>2</sub> CHOHCH <sub>2</sub> OH
-CH <sub>2</sub> CH(OH)Ph

(Kirshenbaum etal JACS 11/17/2008)

	10
	
	20
	30
	40

【表 1 C】



10

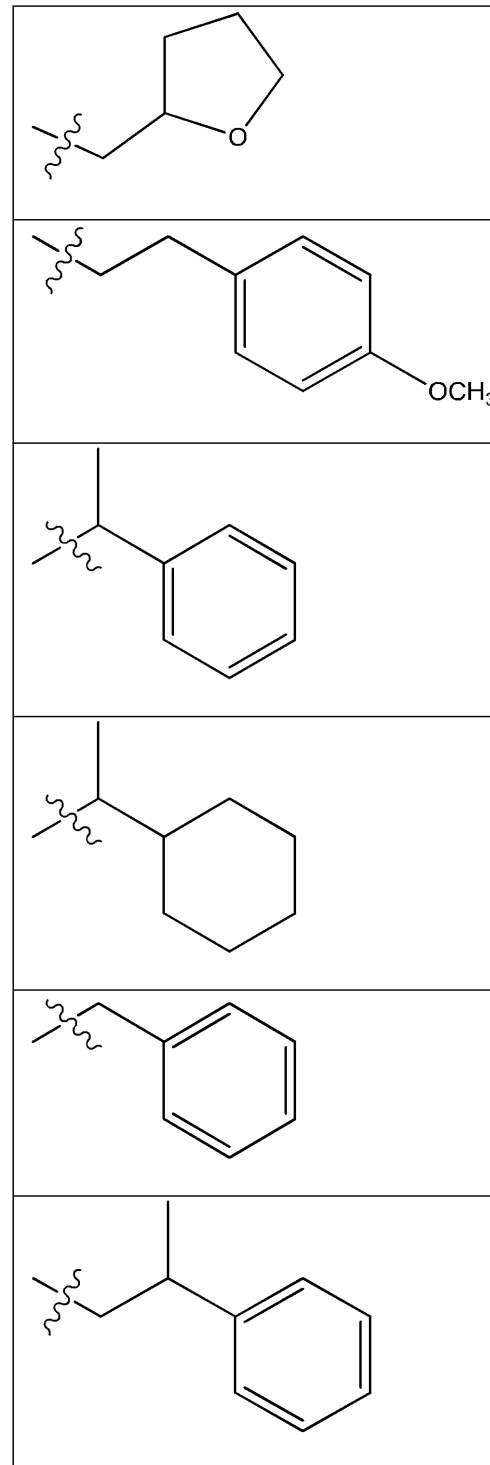
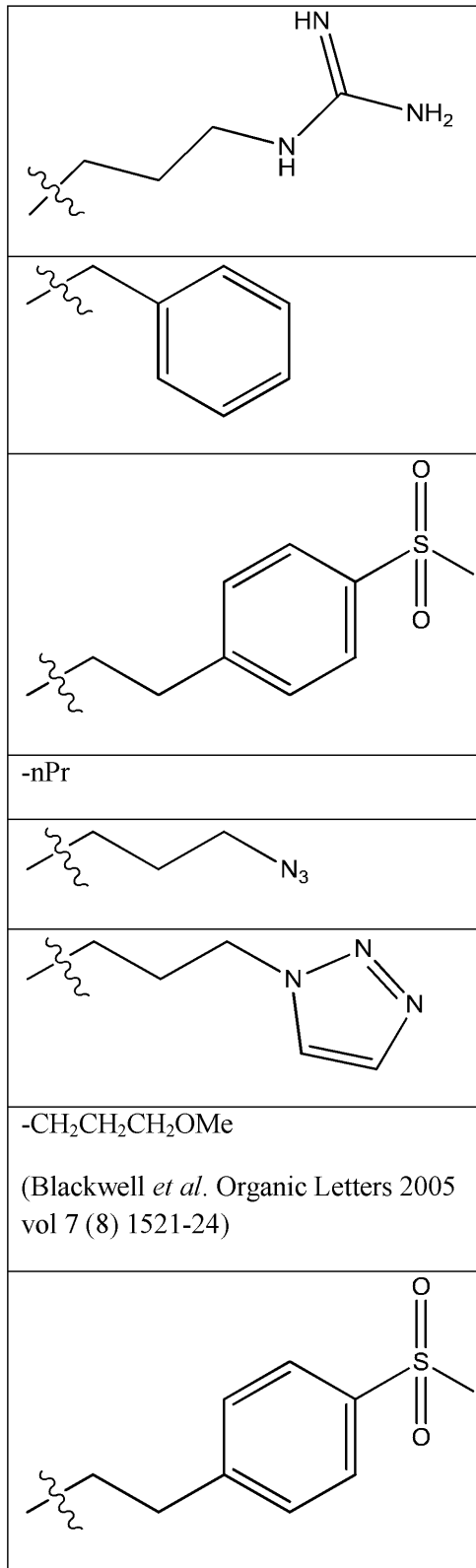
20

30

40

【 0 0 7 7 】

【表 1 D】



10

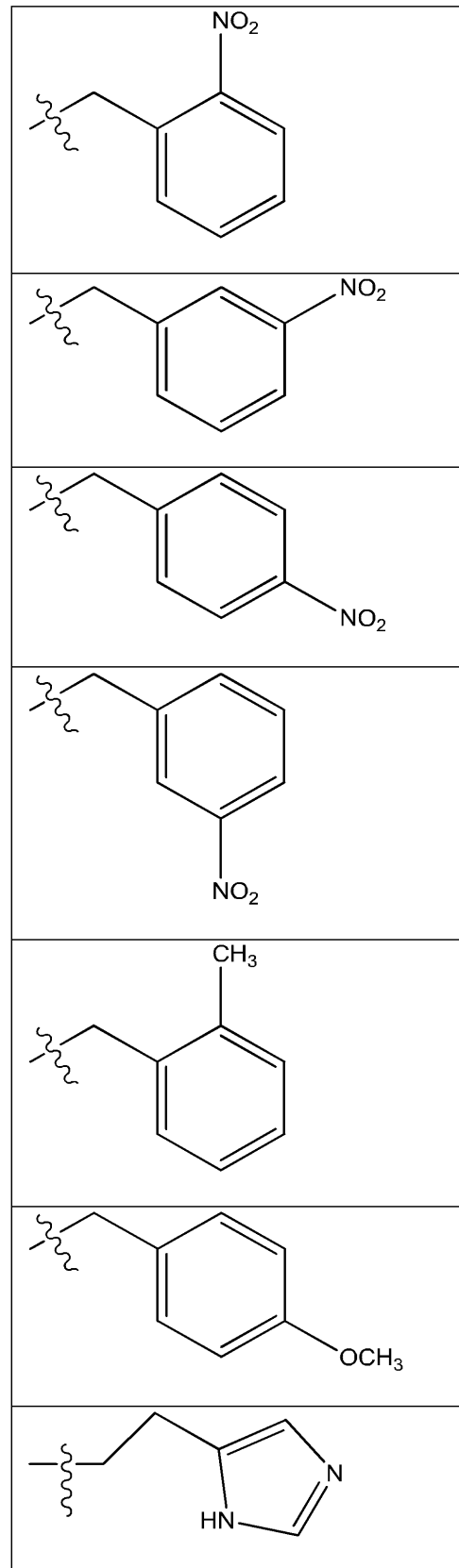
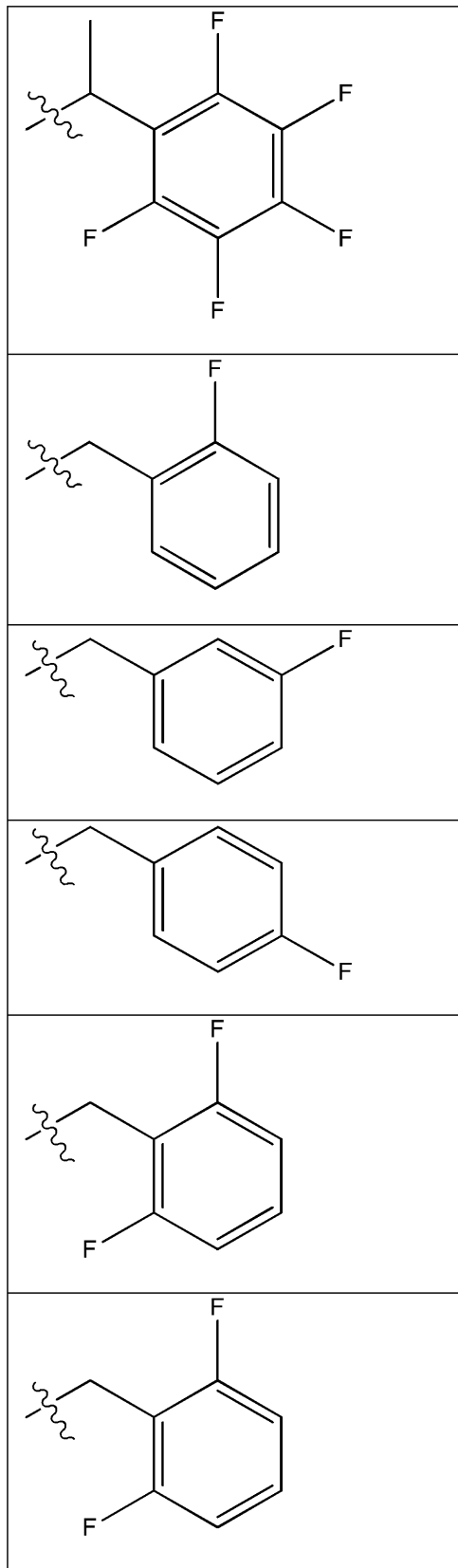
20

30

40

【 0 0 7 8 】

【表 1 E】



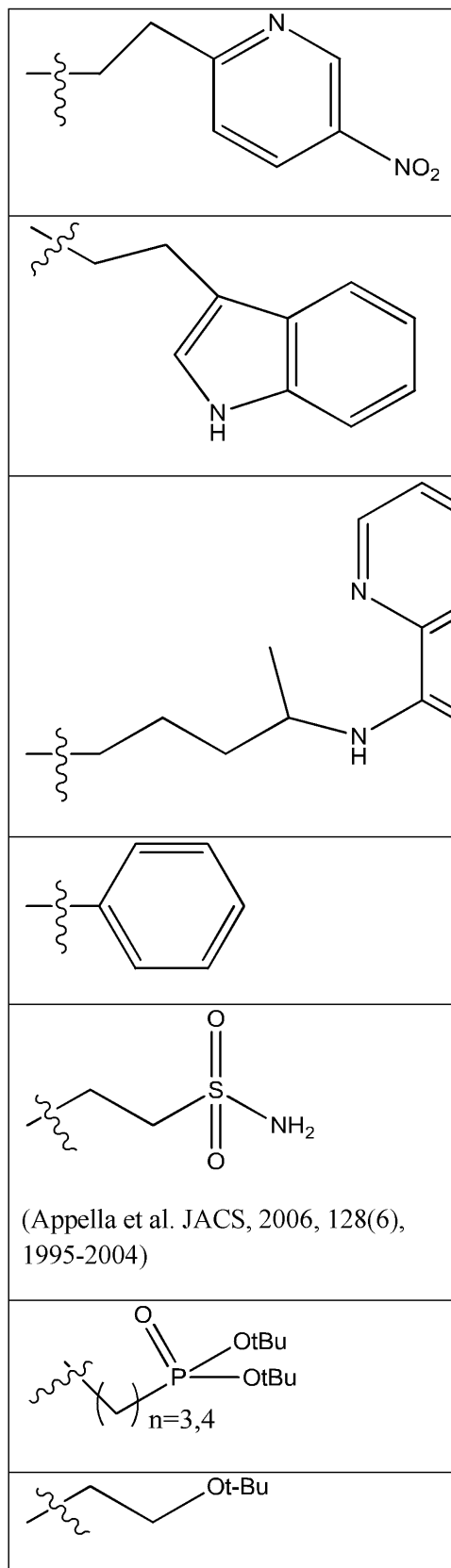
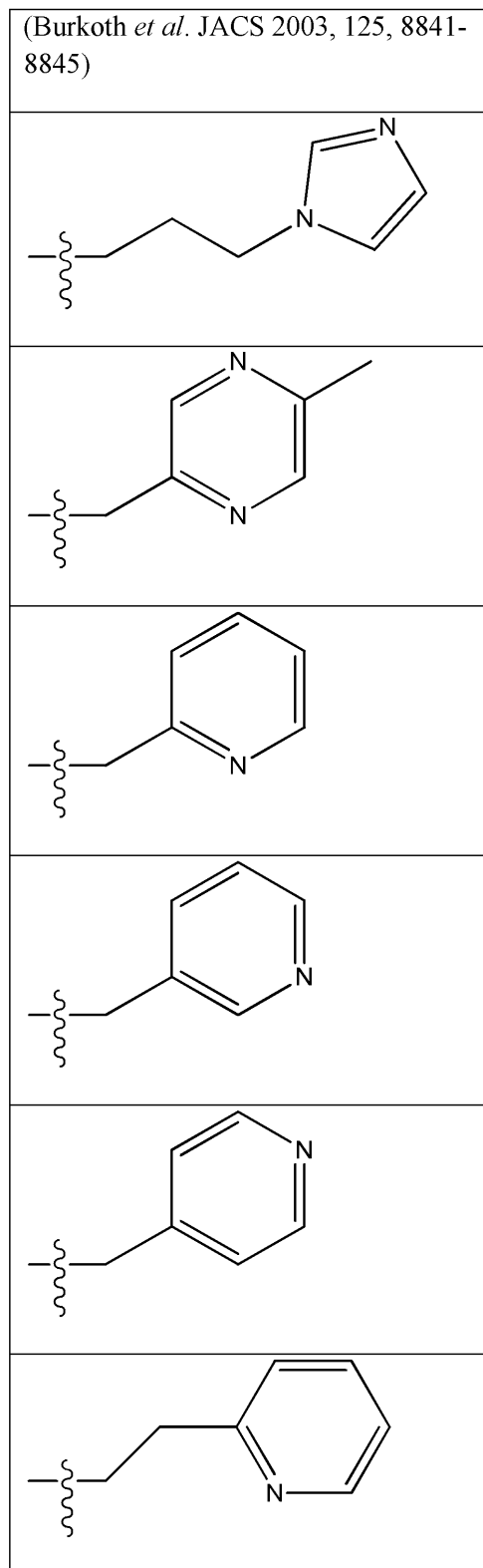
10

20

30

40

【表 1 F】



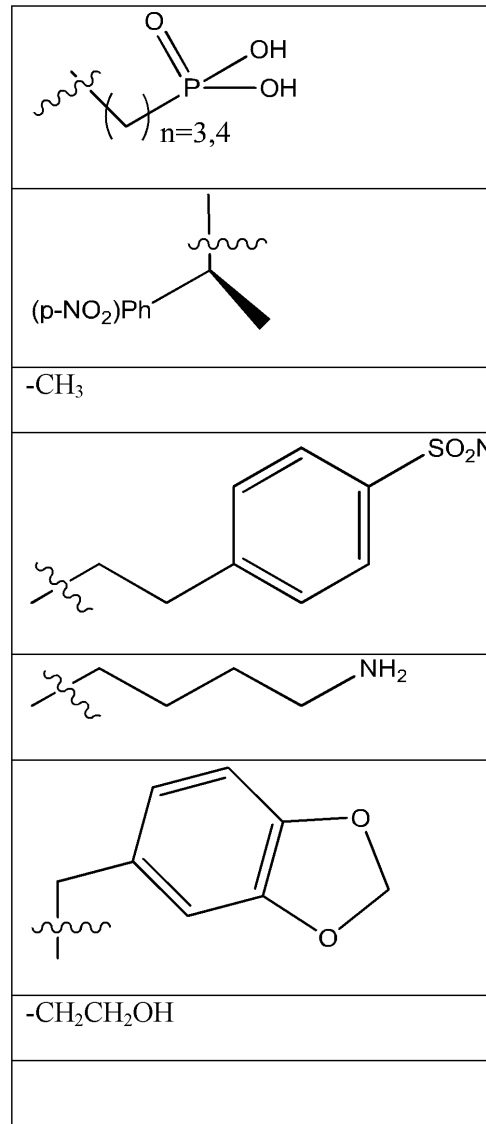
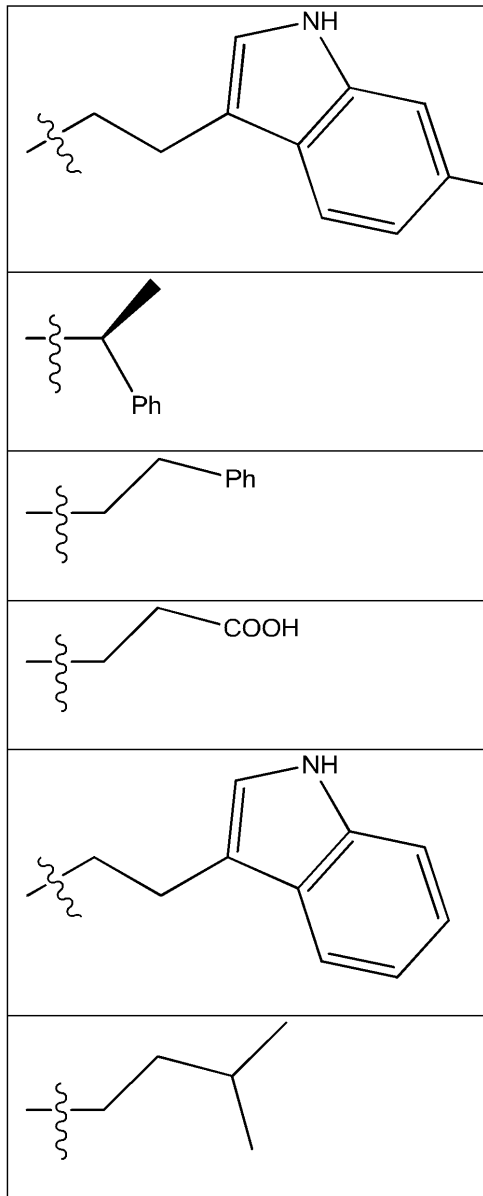
10

20

30

40

【表 1 G】



10

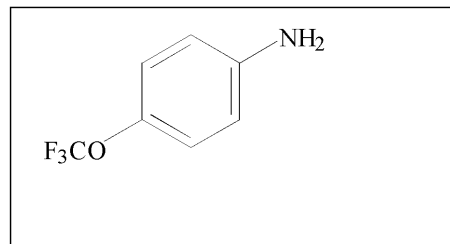
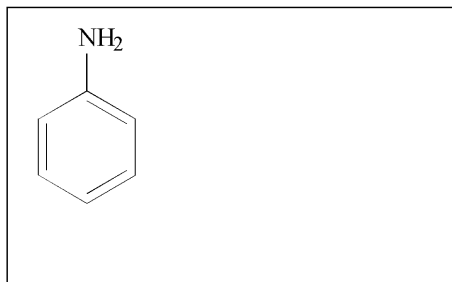
20

30

【 0 0 8 1 】

【表 2 A】

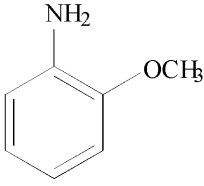
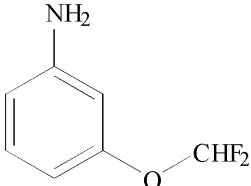
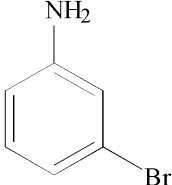
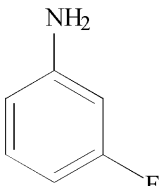
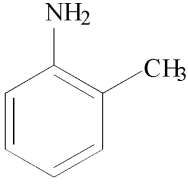
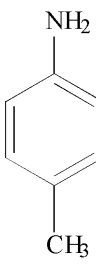
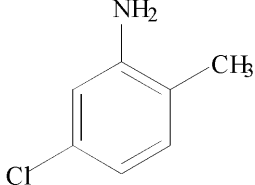
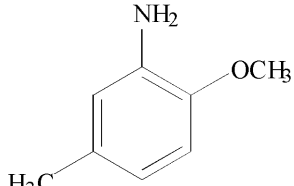
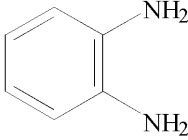
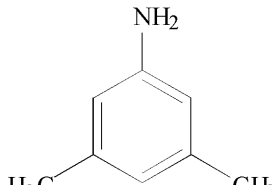
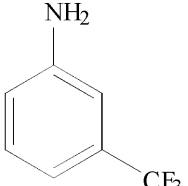
表 2 本明細書で述べられるペプチドの合成に使用できるアミンのリスト



40

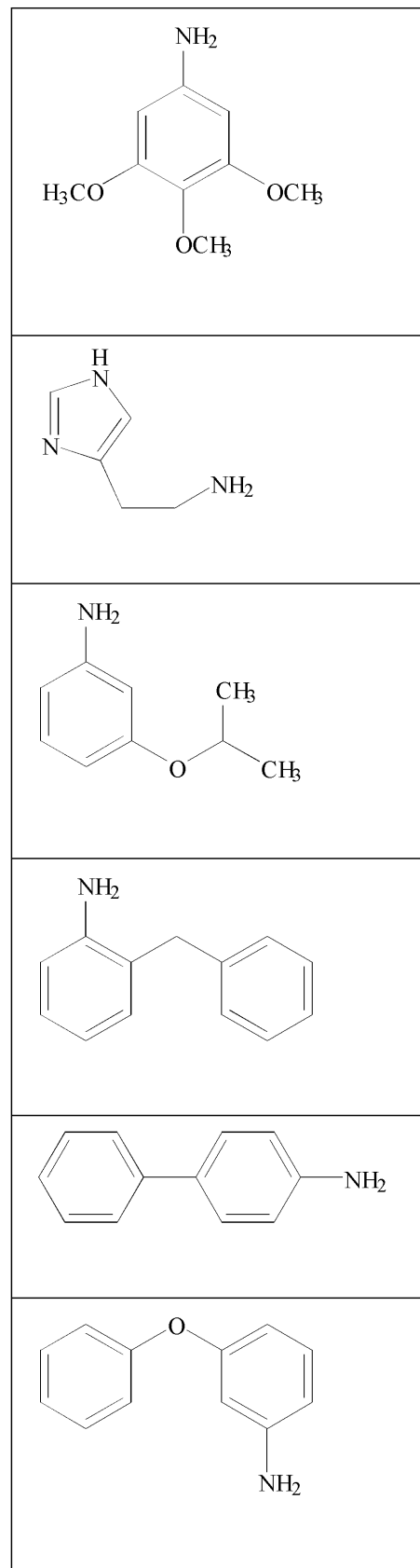
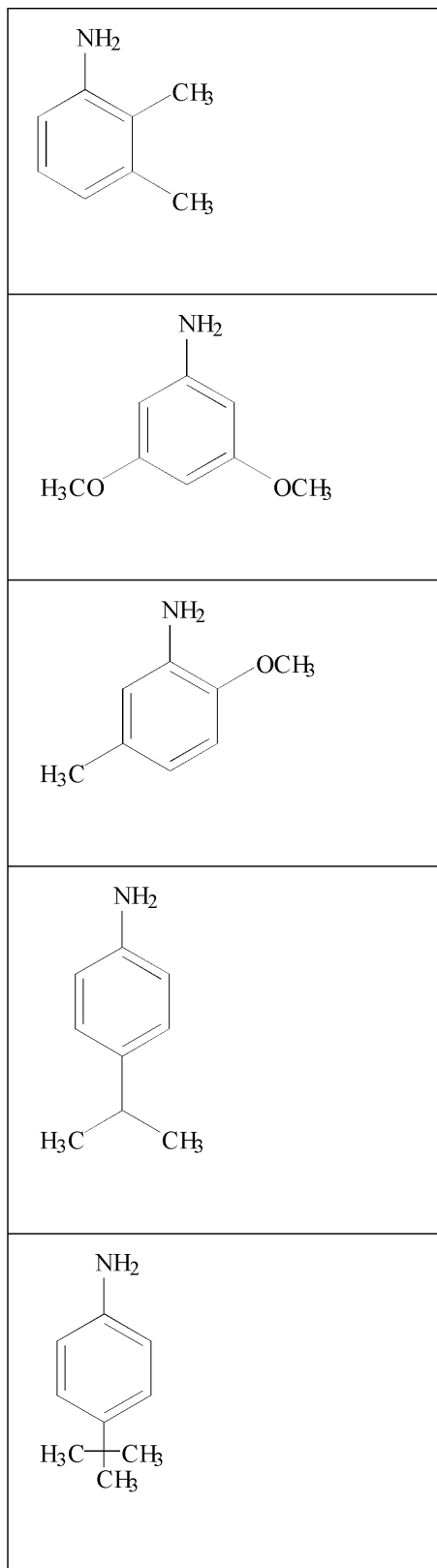
【 0 0 8 2 】

【表 2 B】

		10
		20
		30
		40
		
		

【 0 0 8 3 】

【表 2 C】



10

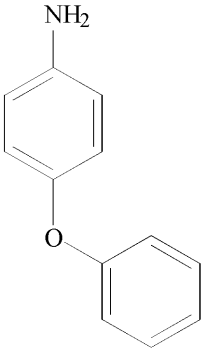
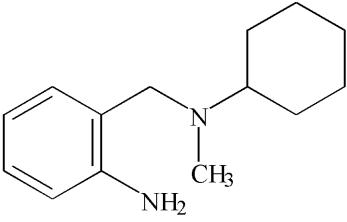
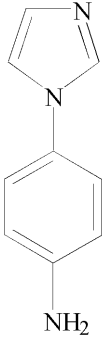
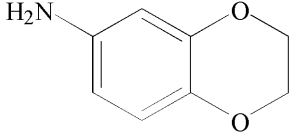
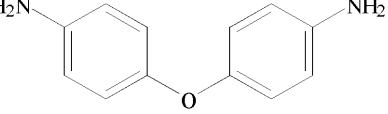
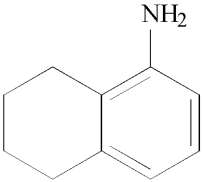
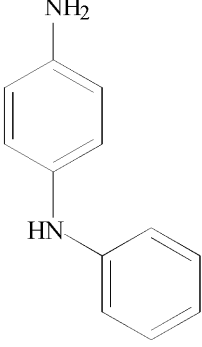
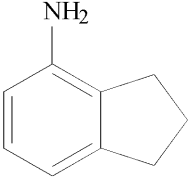
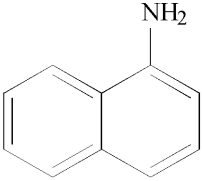
20

30

40

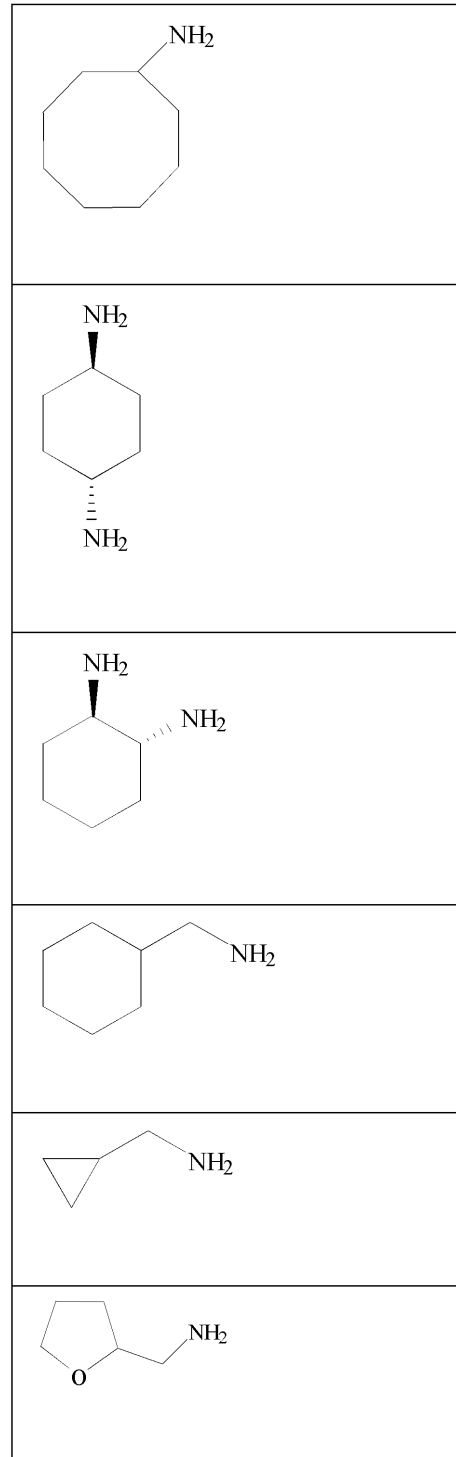
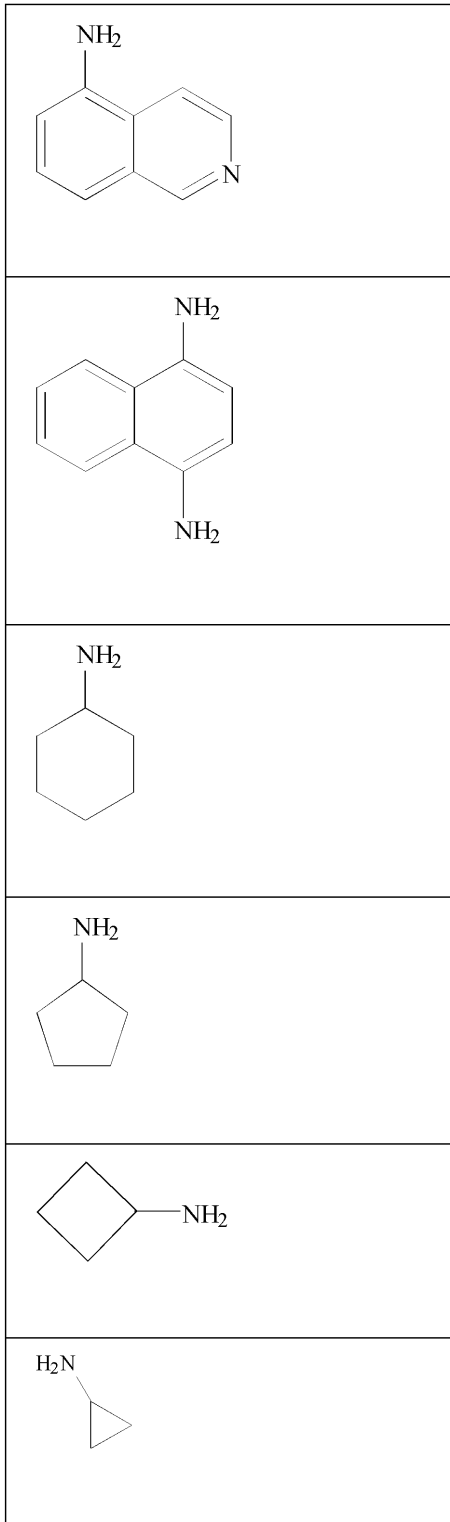
【 0 0 8 4 】

【表 2 D】

 <p>Chemical structure: 4-aminophenyl phenyl ether. A benzene ring with an amino group (NH<sub>2</sub>) at the para position is connected via an oxygen atom to another benzene ring.</p>	 <p>Chemical structure: 2-(4-cyclohexyl-1-methylpiperidin-2-yl)aniline. A benzene ring with an amino group (NH<sub>2</sub>) at the para position is connected to the 2-position of a piperidine ring. The piperidine ring has a methyl group (CH<sub>3</sub>) and a cyclohexyl group attached to the nitrogen atom.</p>	10
 <p>Chemical structure: 4-(1H-imidazol-2-yl)aniline. A benzene ring with an amino group (NH<sub>2</sub>) at the para position is connected to the 2-position of an imidazole ring.</p>	 <p>Chemical structure: 4-amino-2,3-dihydro-1,4-benzodioxin. A benzene ring with an amino group (H<sub>2</sub>N) at the para position is fused to a six-membered ring containing two oxygen atoms.</p>	20
 <p>Chemical structure: 4,4'-diaminodiphenyl ether. Two benzene rings, each with an amino group (H<sub>2</sub>N) at the para position, are connected to each other via an oxygen atom.</p>	 <p>Chemical structure: 4-amino-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene. A benzene ring with an amino group (NH<sub>2</sub>) at the para position is fused to a cyclohexane ring.</p>	30
 <p>Chemical structure: N-(4-aminophenyl)benzylamine. A benzene ring with an amino group (NH<sub>2</sub>) at the para position is connected to the nitrogen atom of a benzylamine group (HN-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).</p>	 <p>Chemical structure: 4-amino-1,2,3,4-tetrahydroquinoline. A benzene ring with an amino group (NH<sub>2</sub>) at the para position is fused to a six-membered ring containing one nitrogen atom.</p>	40
	 <p>Chemical structure: 4-amino-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene. A benzene ring with an amino group (NH<sub>2</sub>) at the para position is fused to another benzene ring.</p>	40

【 0 0 8 5 】

【表 2 E】



10

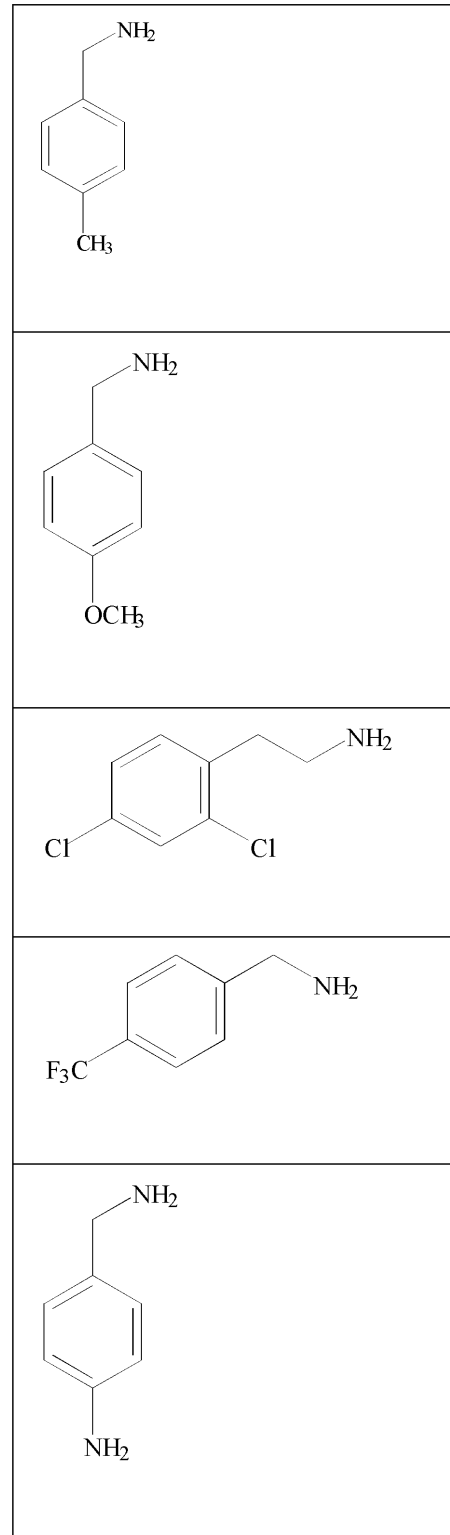
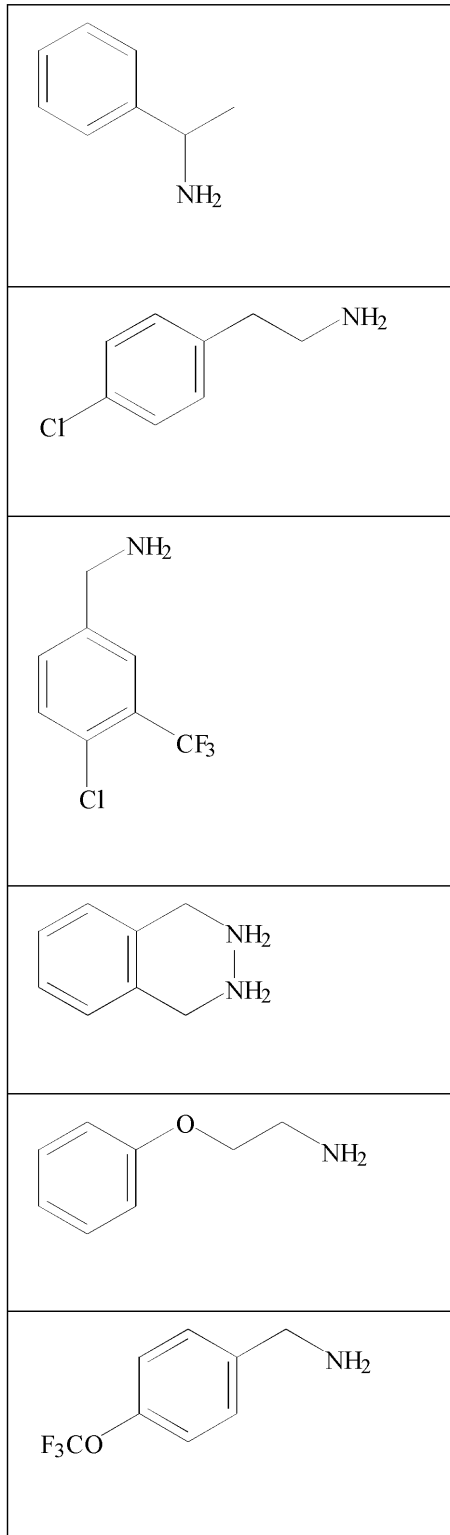
20

30

40

【 0 0 8 6 】

【表 2 F】



10

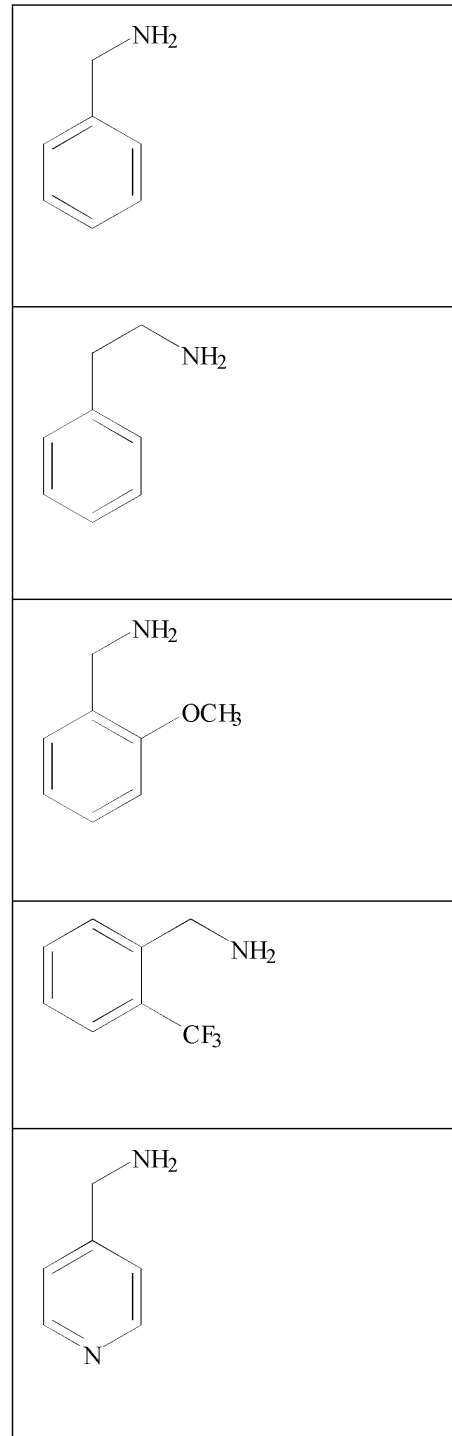
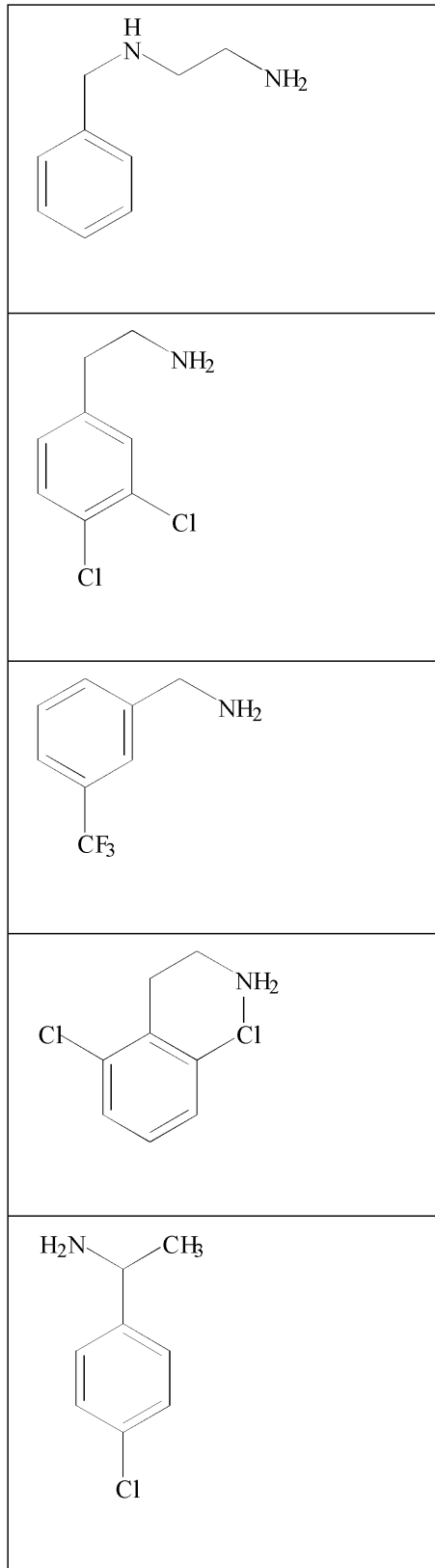
20

30

40

【 0 0 8 7 】

【表 2 G】



10

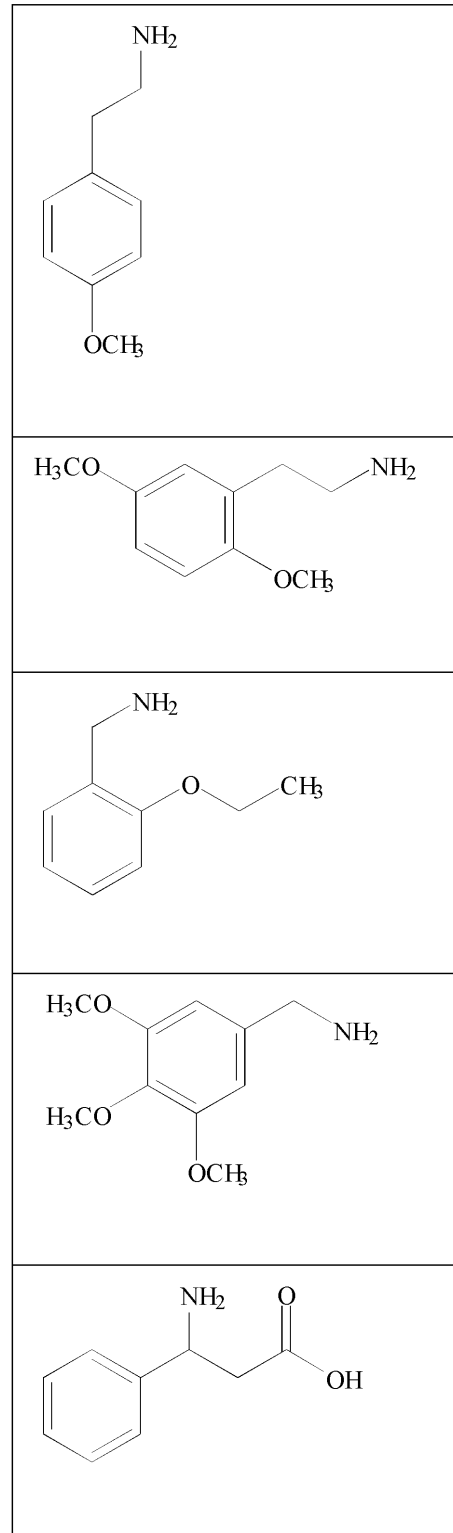
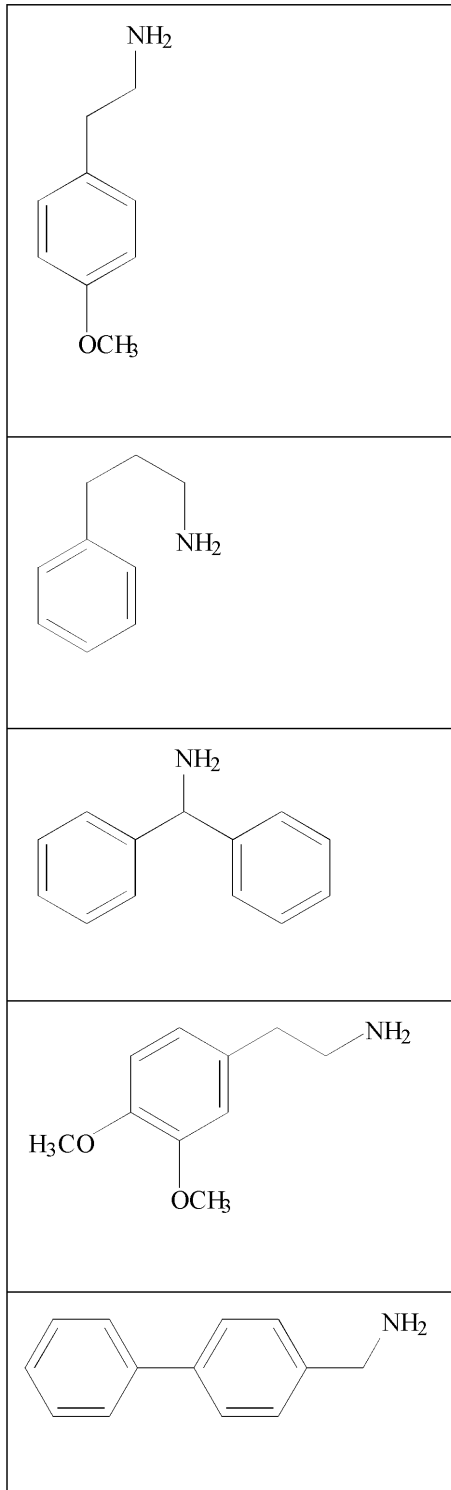
20

30

40

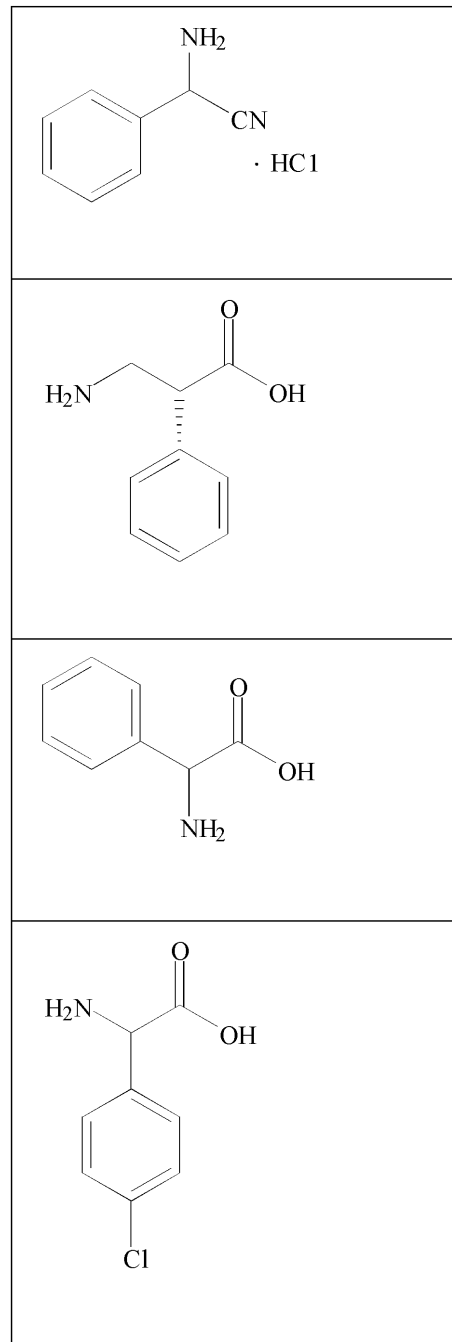
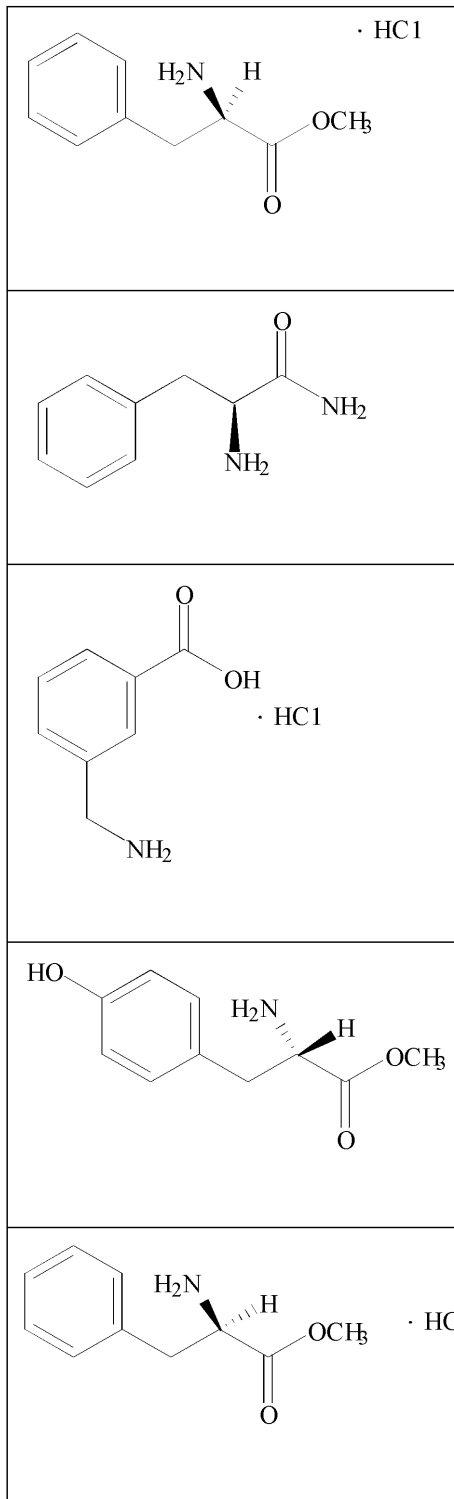
【 0 0 8 8 】

【表 2 H】



【 0 0 8 9 】

【表 2 I】



10

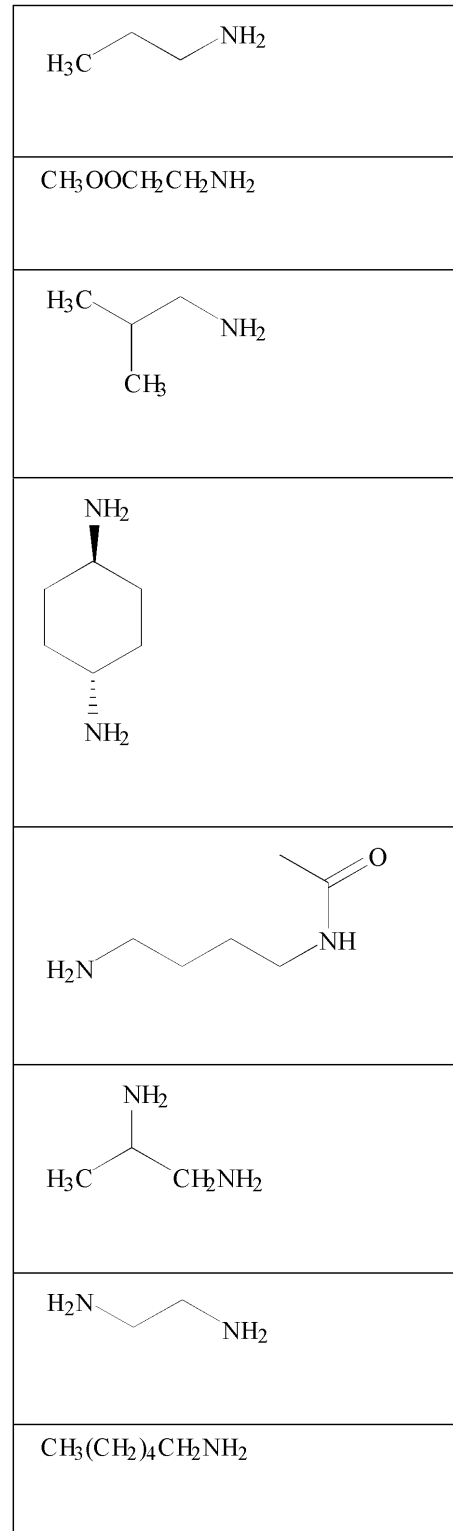
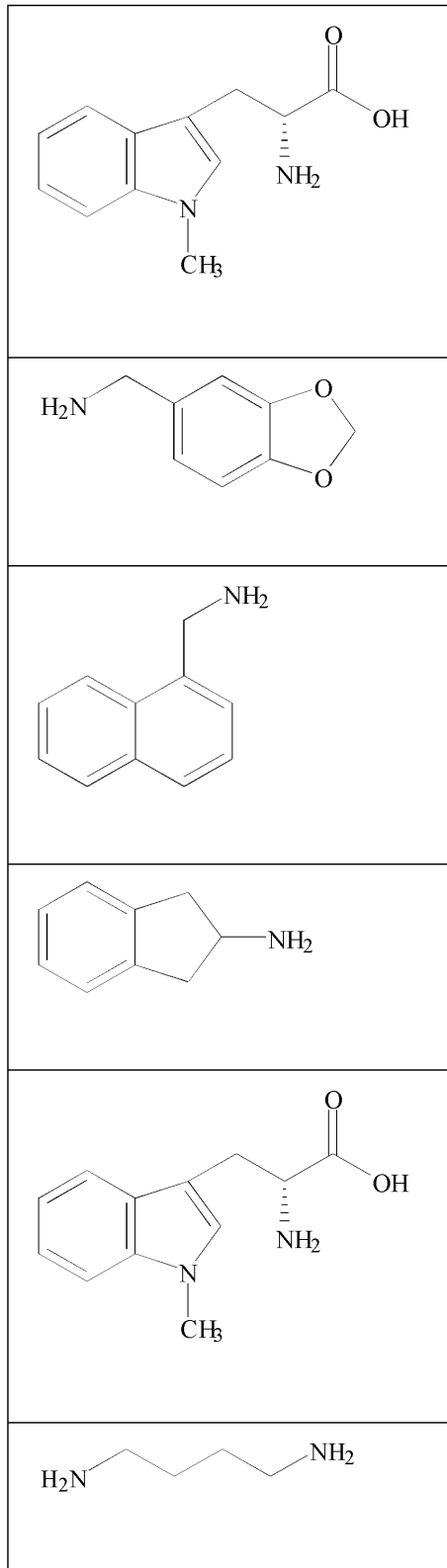
20

30

40

【 0 0 9 0 】

【表 2 J】



10

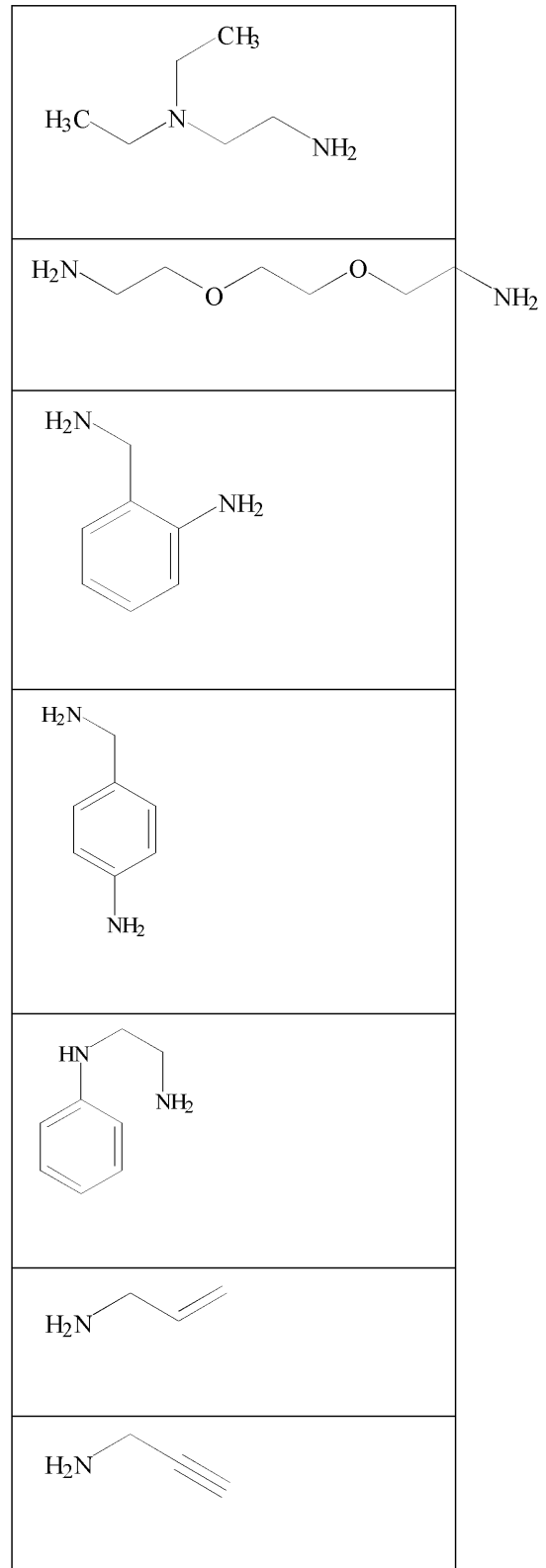
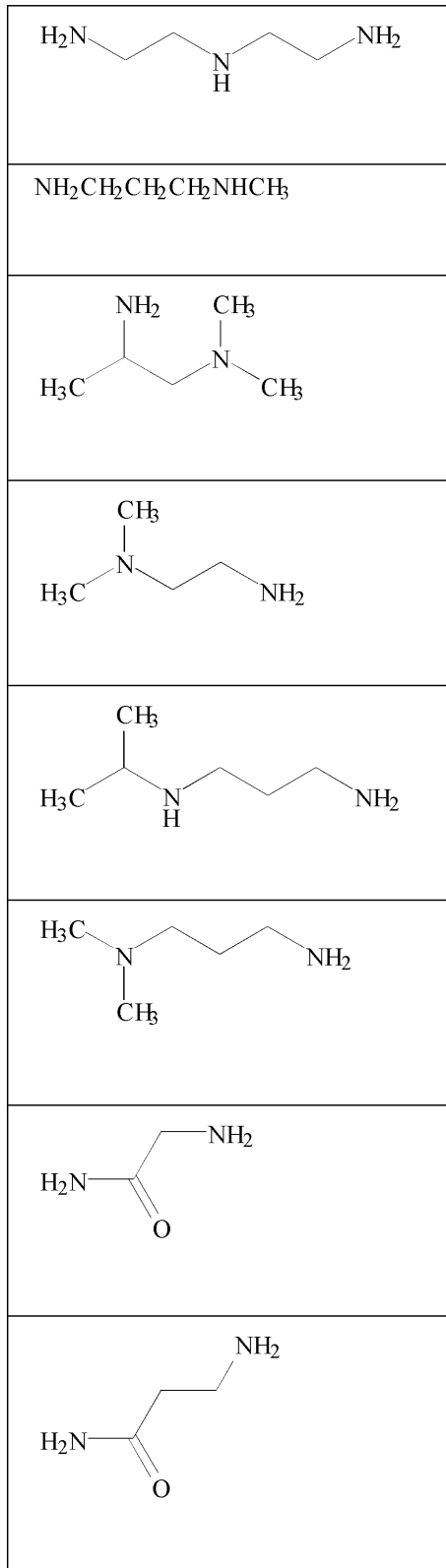
20

30

40


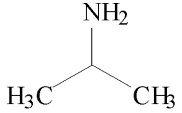
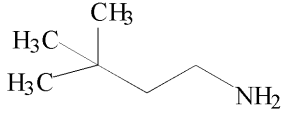
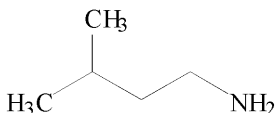
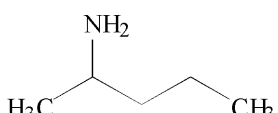
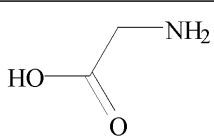
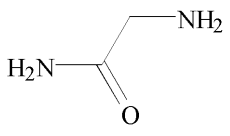
【 0 0 9 1 】

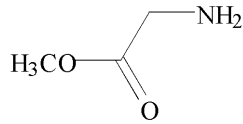
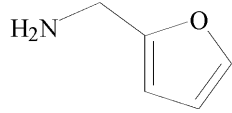
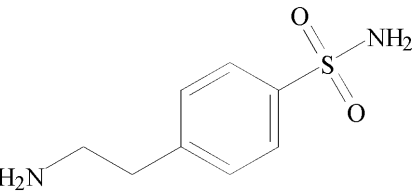
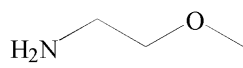
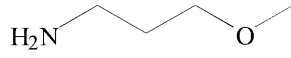
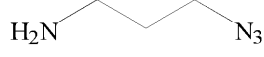
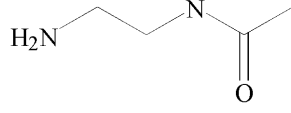
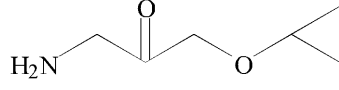
【表 2 K】



【 0 0 9 2 】

【表 2 L】


$\text{CF}_3\text{CH}_2\text{NH}_2$

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2\text{NH}_2$







任意のアミノ酸








10

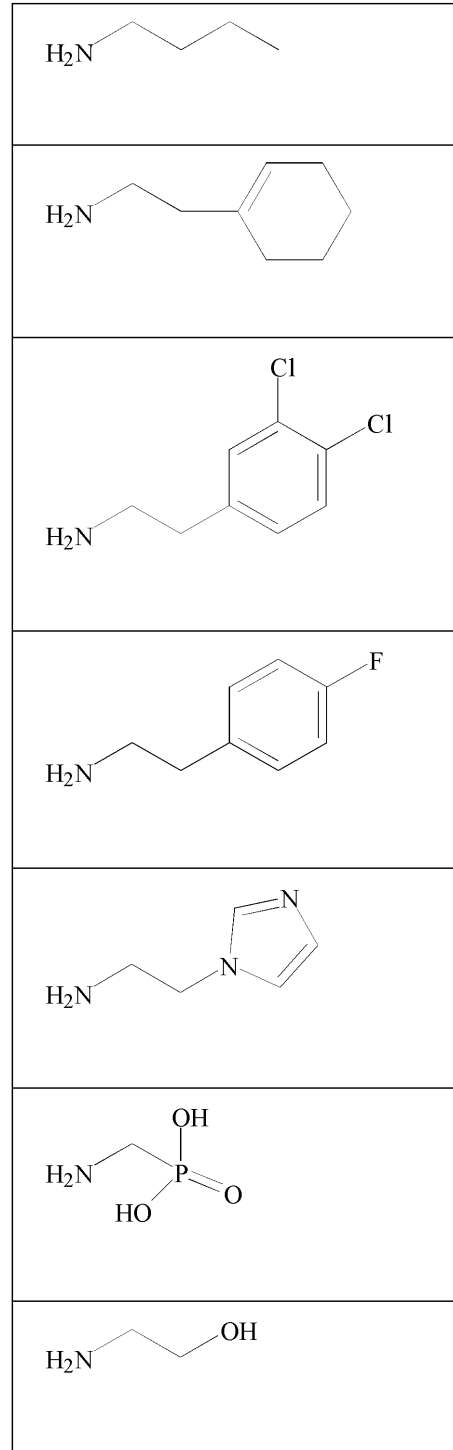
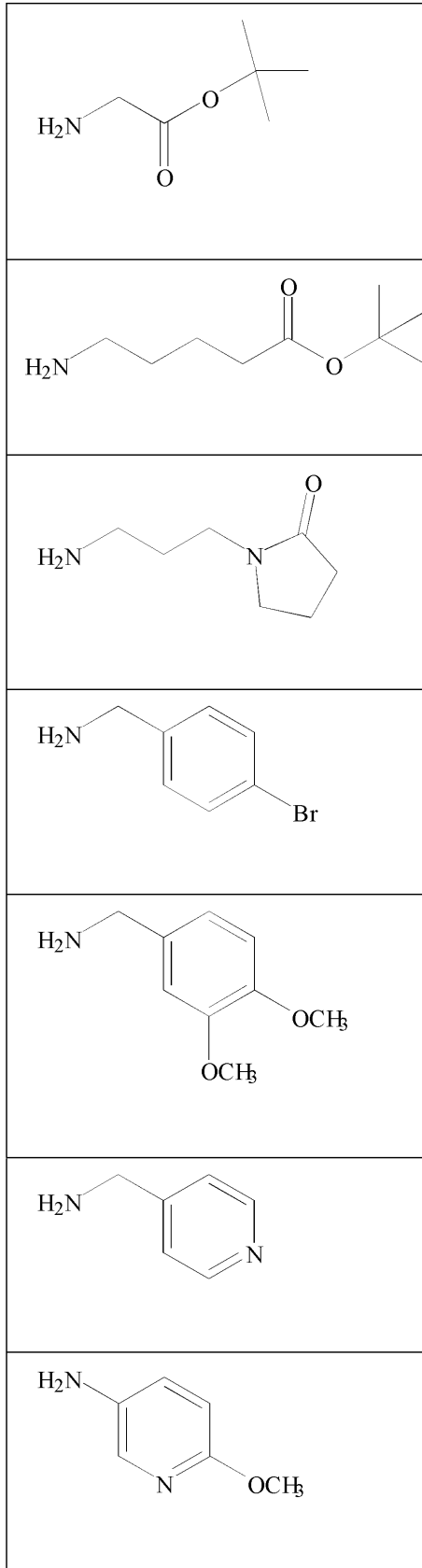
20

30

40

【 0 0 9 3 】

【表 2 M】



10

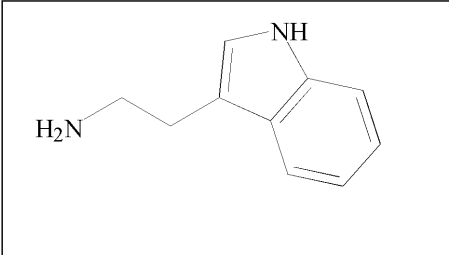
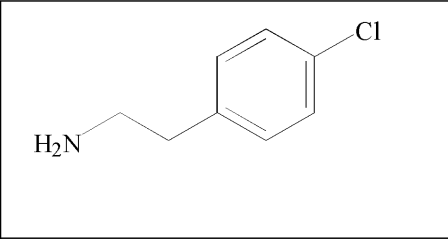
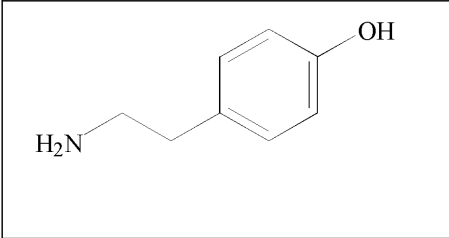
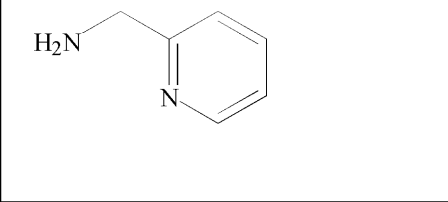
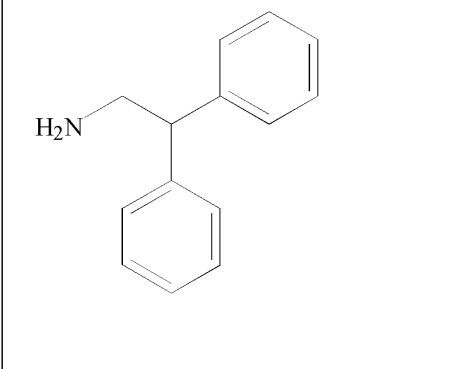
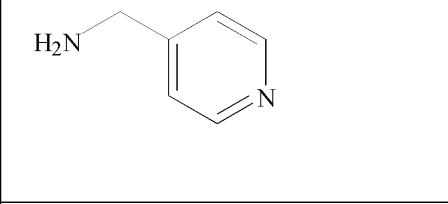
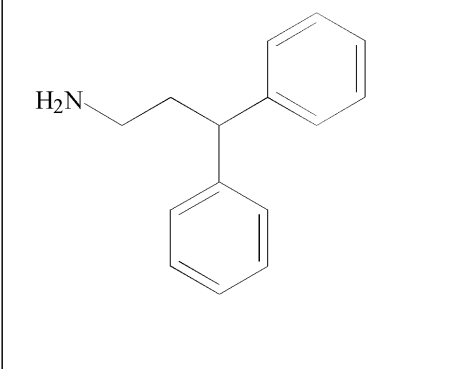
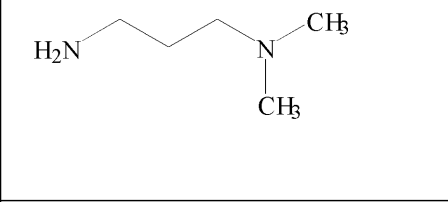
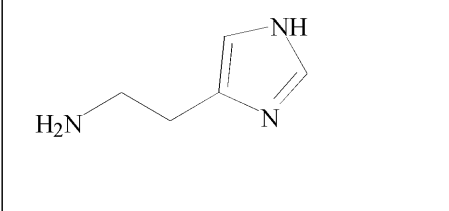
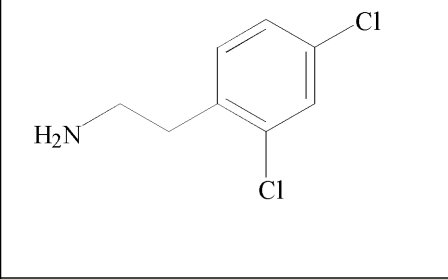
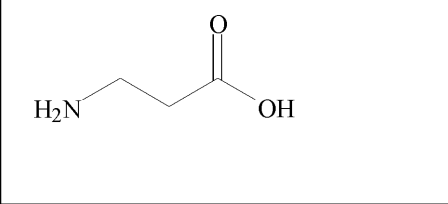
20

30

40

【 0 0 9 4 】

【表 2 N】

		
		10
		
		20
		30
		40

## 【 0 0 9 5 】

A Dスクリーニング、膵臓癌スクリーニング、および狼瘡スクリーニング（事前および/または診断）の目的に好適なモノマーおよび/またはサブモノマーは、システイン、グリシン、メチオニン、アシルアミン、エタノールアミン、イソブチルアミン、ジアミノブタン、メチルベンジルアミン（ラセミ化合物または鏡像異性体）、ピペロニルアミン、シクロヘキシルアミン、3,4-ジメトキシフェネチルアミン、ベンジルアミン、N-(2-アミノエチル)アセトアミド、N-(3-アミノプロピル)-2-ピロリジノン、4-(2-アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド、またはフルフリルアミンからなる群から選択される。

## 【0096】

酢酸ハロゲン化物および/またはR置換酢酸ハロゲン化物(Rが任意のアミノ酸側鎖から、または一置換アミン上に基または変数を含む任意の他の群から選択される)も、サブモノマーとして利用される。あるいは、モノマーを形成するために、任意のアミンと任意の酢酸ハロゲン化物の組み合わせを反応させてもよい。その後、上記組み合わせは、本発明のオリゴマーを形成するために、成長するペプチド鎖上で別の反応性モノマーと反応させられる。

## 【0097】

ペプチドの組み合わせライブラリーは、以下のように作成できる：

## 【0098】

支持体に、あるいは支持体、樹脂、またはビーズ上のリンカーに付着したシステインまたはメチオニン単量体アミノ酸を有するペプチドを、支持体または支持体上のリンカーに保護アミノ酸をまず添加することで作成できる。上記アミノ酸(あるいは、オリゴマーで機能的目的または他の目的、または上記オリゴマーを有する診断法を果たすことができるように求められる任意のアミノ酸)の添加後、標準ペプチド化学を用いて、あるいはプロモ酢酸(または置換プロモ酢酸または同様の反応物)のサブモノマーとアミンがR基で置換される一置換アミンを用いて、残りのモノマーを添加できる。上記R基は、例えば、米国特許第2010/0303805号または第2010/0303835号で述べられたもの、および/またはZuckermannおよびさまざまなKodak出版物で述べられたものを含む任意で公知のペプチド置換基から選択してもよい。好適なアミンは、1~2MMビーズまたは樹脂ライブラリーを構築するために特定の単量体アミンが各ライブラリーに追加される本明細書で列挙されたライブラリーから選択されるものである。

## 【0099】

各ペプチドを作成するプロセスでは一般的に、(1)支持体(支持体上のオプションのリンカーを含む)上のアミノ酸反応物の調製；(2)ハロゲン化誘導体を形成するための、上記支持体上のアミノ酸部分の反応物とプロモ酢酸またはクロロ酢酸などのハロゲン化アシルとの反応、(3)アミドを形成するためのハロゲン化誘導体と一置換アミンの反応、(4)ペプチドからステップ(2)および(3)の繰り返しを伴う。メチオニン含有ペプチドは、一般的に大型ライブラリーで作成される。システイン含有ペプチドは、大規模な量の高親和性ペプチドが必要な時に、そして大型ビーズまたは樹脂ライブラリーの初期スクリーニングの後に一般的に作成される。血清などの複合体液を初期スクリーニングするために使用される大型ビーズライブラリーでは、マイクロアレイスクリーニングに一般的に必要な長いPEGリンカーの必要はなく、あるいはその要件はない。PEGリンカーは、約10モノマー未満の短いリンカーであることを条件に、ビーズまたは樹脂上にあってもよい。約50ミクロン未満(例えば、10ミクロン)のビーズまたはTentagelビーズを含む診断キットでは、短いPEGリンカー(例えば、2~10のPEGモノマー)または長いPEGオリゴマーの両方を使用するのに便利であり、利用できる。

## 【0100】

オリゴマー構築プロセスの各ステップを行うために使用される条件では、DMFまたは酢酸ニトリルまたはジクロロメタンなどの溶剤を利用する。開裂目的にはトリフルオロ酢酸が利用され、ピペリジンまたは他の好適なベースは、プロモ誘導体とアミンの反応でのベースとして使用される。アミノ酸反応物の調製では、さまざまな保護基が利用される。好適な実施形態では、ペプチドのC末端にあるシステイン残基に隣接した鎖での最初のアミンサブモノマーとして、ジアミノブタンが利用される。プロセスの最初のステップでは、選択したビーズまたは樹脂(グラムまたはミリグラム単位の量)が、DMFなどの好適な溶剤で膨張させられる。ビーズが、上記ビーズ上の反応性アミンの保護基で「保護」される場合、ビーズを脱保護するために、DMFによるその後の洗浄でピペリジンなどの塩基溶液が繰り返し添加される。一旦、ビーズを脱保護すると、あるいはTentagel

10

20

30

40

50

1 ビーズなどのビーズを最初に利用する場合、DMFなどの適切な溶剤中で、システインまたはメチオニン（窒素上のFmocまたは他の適切な保護基で保護され、および硫黄上のTrt（トリフェニルメチル）で保護され、各ビーズと反応させるために十分なモル量で）などの適切なアミノ酸と反応させてもよい。ビーカー（または試験管またはフラスコ）に入ったビーズ溶液に保護アミノ酸と一緒にHBTU（テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート）（カップリング試薬）および4-メチルモルフォリン（塩基）を添加し、樹脂に（または樹脂上のリンカーに）Fmoc/Trt保護アミノ酸を形成するために室温で攪拌する。その後、DMFなどの溶剤中でビーズを数回洗浄する。その後、加熱下（攪拌しながらマイクロ波をかける）、適切な溶剤中で、別の保護アミノ酸などの別の反応物とのアミノ酸上のアミンの反応を可能にする適切な試薬、またはプロモ酢酸などのサブモノマーおよびDIC（3-イソプロピルカルボジイミド）などの活性化剤を用いてFmoc基を脱保護する。その後、結果として得られたビーズを数回洗浄し、次に、過熱下、適切な溶剤柱で望ましい単量体アミン（わずかなモルで過剰な量で）で処理する。結果として得られたビーズを数回洗浄し、その後、オリゴマーおよびオリゴマーを構築するために、プロモ酢酸および最適なアミンで繰り返し処理する。トリフルオロ酢酸を用いて、ビーズからペプチドを開裂させてもよい。好適な実施形態を含むペプチド、例えば1-イル-n-ブチルアミンを有するモノマーに隣接するシステインを有するペプチドのための別のプロセスまたは他の適切なプロセスは、第二アミノ酸がリシンであるサブモノマー処理で構築されたモノマーのいずれかを添加することをさらに含むプロセスにより、C末端に2つのアミノ酸を有するペプチドを構築することを含む。これには、反応物の反応後に、ペプチド鎖上の炭素またはペプチド鎖上の窒素のいずれか、または両方にR基が見つかる置換ペプチドを作成するために、一般的なアミノ酸側鎖から炭素置換基を選択してもよい置換プロモ酢酸サブモノマーを作成するために、任意のモノマーまたはサブモノマーの選択を含む。

10

20

30

40

50

#### 【0101】

小分子の組み合わせライブラリーを、当該技術分野で公知の方法を用いて商業的に入手しても、あるいは作成してもよい。例えば、Eichler et al., 1995; Cho et al., 1999; LePlae et al., 2002; Ostergaard and Holm, 1997; Yang et al., 1999)を参照。さらに、米国特許第6,344,334、およびGallop等（1994年）、Gordon等（1994年）、ThompsonおよびEllman（1996年）による出版物も、上記分子およびライブラリーの情報源である。

#### 【0102】

ペプチドの組み合わせライブラリーを、当該技術分野で公知の方法を用いて商業的に入手しても、あるいは作成してもよい。例えば、次の参考文献を参照：Stewart and Young（1984）； Tam et al.（1983）； Merrifield（1986）； and Barany and Merrifield（1979）。これらの各々は、引用により援用される。

#### 【0103】

RNAまたはDNAを含む核酸の組み合わせライブラリーを、当該技術分野で公知の方法を用いて商業的に入手しても、あるいは作成してもよい。オリゴ糖の組み合わせライブラリーを、当該技術分野で公知の方法を用いて商業的に入手しても、あるいは作成してもよい。

#### 【0104】

それぞれの場合において、複合体液中のバイオマーカーに関してスクリーニングするために、本明細書に記載の条件の下で、使用できるスクリーニングライブラリーを形成する樹脂またはビーズを支持するために、「リガンド」またはランダムリガンドを追加してもよい。好適なリガンドはペプチドリガンドである。

#### 【0105】

そのようなライブラリーの構築および/または使用に加えて、任意のそのようなリガン

ドを特徴付ける、精製する、および/または合成または再合成する必要がある、あるいはそうすることを求められる場合がある。そのような方法は当該技術分野で公知であり、クロマトグラフ的手段によるHPLCなどの精製方法または化学的手段による精製方法；質量分析またはNMRまたはこれら方法のいずれかの組み合わせなどの特徴付け方法のありとあらゆるものを含む。当該方法は、例えば米国特許公報第2007/0003954号でさらに述べられており、引用により援用される。そのような場合、そのような精製リガンドのいずれも化合物またはほぼ精製された化合物と呼んでもよい。

**【0106】**

本発明の初期スクリーニング法において、上記支持体に操作上結合されたオリゴマーを有する支持手段としてビーズおよび/または樹脂が利用される。上記初期スクリーニングによる「ヒット」または「推定ヒット」を有する診断キットまたは他のキットにおいて、マイクロアレイまたは他のいかなる公知の診断プラットフォームを含むほぼすべての支持体に支持システムを拡大することができる。これらの場合、そのようなリガンドに付着したリガンド結合部位を有するリガンドの検出を可能にするために、推定ヒットのあるそのようなキットまたは他の支持システムが検出器または検出手段も有する、あるいは有するように構成されることが必要である。好適な検出方法としては、例えばELISA、または標識化二次抗体の使用を伴う他の方法が挙げられる。

10

**【0107】**

支持体は、適切な材料から作ることができる。そのような支持体を作るために利用される材料としては、例えばガラス、プラスチック、セラミック、または高分子樹脂またはビーズが挙げられる。支持体は、ニッケル、真鍮、鉄、または他の金属または金属の混合物などの材料も含んでもよい。また支持体を、リガンドまたはリガンド上の活性基と結合する、接続する、あるいは反応するリンカーおよび/または他の手段を有するように調節してもよい。そのような基は、米国特許公報第2007/0003954号でも述べられている。本発明では、リガンドまたはリンカーに、そしてその後、上記支持体に結合した個別のリガンドを有する樹脂またはビーズの数は、100,000超ないし約150,000,000の範囲に及ぶ。本発明の初期スクリーニング法で利用される好適な数は、100万~200万のリガンド/樹脂の範囲に及ぶ。

20

**【0108】**

本発明の大型リガンドスクリーニング法には、TentaGel（登録商標）樹脂が最も好適である。これらの樹脂は、ポリエチレングリコール（PEGまたはPOE）がグラフトされた低架橋ポリスチレンマトリックスからなるグラフト共重合体である。TentaGel樹脂は市販されている（Rapp Polymer GmbH）。PEGは疎水性と親水性の特性を持つ「カメレオン型」高分子であるため、グラフト共重合体は修正された化学的性質を示す。製造者によれば、原理上は修飾されたポリスチレンマトリックス上にPEGを導入する方法が2つある。最も簡単な固定化手法は、古典的エーテル合成に従って、クロロメチル化ポリスチレンに、その末端の水酸基の1つを通じてPEGを結合させること、または固体支持体上に結合させるために他の二官能性PEGを使用することである。製造者によると、マトリックス上に段階的にPEGを構築するアニオン性グラフト共重合を用いて、最高20キログルトンまで集合する分子のPEG鎖が、官能化架橋ポリスチレン上に固定されたことが分かった。約2000~3000ダルトンのPEG鎖があるグラフト共重合体は、運動速度、移動度、膨張、および樹脂容量の点で最適であることが証明された。重合技術で10エチレンオキサイド単位を超える単分散PEGを入手する手法がないため、樹脂に10エチレンオキサイド単位を超える単分散PEG鎖を導入する、あるいはポリスチレン骨格への直接重合により単分散PEGを入手する方法は理論上ない（単分散は、分子量分布のないPEGと定義される）。これらのグラフト共重合体は圧力に安定しており、バッチ処理のほか、連続流条件下でも使用することができる。共重合体は約50~70%のPEG（w/w）を含む。これらの高分子の特性は、ポリスチレンマトリックスと比べてPEGの特性によって強く支配される。

30

40

**【0109】**

50

「ワン・ビーズ・ワン・コンパウンド」手法による化学的ライブラリーまたはペプチドライブラリーを設定する場合、一定量の樹脂のほか単一ビーズの容量の範囲内で利用できるビーズの数を知ることが不可欠である。表2に一部の粒径を要約し、それらを単一ビーズの対応する容量に関連付ける。計算は、 $0.25 \sim 0.3 \text{ mmol/g}$ の範囲内であるTentaGelビーズの標準的充填に基づく。解析評価のため、ビーズ上に配列するために少なくとも $5 \text{ pmol}$ の樹脂結合ペプチドが必要である。経済的に取り扱うことができるライブラリーに対する最適な樹脂量を推定するために、ビーズサイズとビーズ容量を考慮する必要がある。拡散処理および運動速度の均一性に関して、または単一ビーズ分析および単一ビーズ定量のためにも、すべてのビーズが非常に狭い粒度分布を示す。

【0110】

【表3】

樹脂	粒径 [ $\mu\text{m}$ ]	ビーズ数/g	容量/ビーズ
TentaGel NH <sub>2</sub>	750 $\mu\text{m}$	$4.62 \times 10^3$	65 nmol
TentaGel NH <sub>2</sub>	500 $\mu\text{m}$	$1.5 \times 10^4$	19 nmol
TentaGel NH <sub>2</sub>	300 $\mu\text{m}$	$6.4 \times 10^4$	4 nmol
TentaGel NH <sub>2</sub>	200 $\mu\text{m}$	$2.15 \times 10^5$	1.3 nmol
TentaGel NH <sub>2</sub>	130 $\mu\text{m}$	$8.87 \times 10^5$	280 - 330 pmol
TentaGel NH <sub>2</sub>	90 $\mu\text{m}$	$2.86 \times 10^6$	80 - 100 pmol
TentaGel M NH <sub>2</sub>	35 $\mu\text{m}$	$4.55 \times 10^7$	5.5 pmol
TentaGel M NH <sub>2</sub>	20 $\mu\text{m}$	$2.4 \times 10^8$	1.0 pmol
TentaGel M NH <sub>2</sub>	10 $\mu\text{m}$	$1.95 \times 10^9$	0.13 pmol

【0111】

その用途によって決まる適合特性を示すいくつかの種類のTentaGel樹脂がある：

【0112】

TentaGel S樹脂：

【0113】

PEGスパーサーが、アルキル結合によってポリスチレン骨格に付着する。この結合は酸または塩基に反応しない。この種類の樹脂は、ペプチド合成、固相有機合成、またはコンビナトリアル・ケミストリーに使用される標準タイプの樹脂である。

【0114】

TentaGel PAP樹脂：

【0115】

PEGが、ベンジルエーテル結合によってポリスチレン骨格に付着する。このベンジルエーテル結合は、100% TFAまたはTFA/TMSBrの混合物のような厳しい酸条件に反応する。

【0116】

免疫性付与手法のため、またはPEG修飾誘導体(PEGが付着した生成物)の合成に、これらの特別に適合された樹脂が使用される。固相条件を適用することで可溶性PEG修飾化合物を得るために(例えば、PEG修飾ペプチド)、厳しい酸条件下で、固体支持体から合成化合物と一緒にPEGスパーサーは開裂される。

【0117】

TentaGel N樹脂：

## 【 0 1 1 8 】

P E Gスパーサーが、ベンジルエーテル結合によってポリスチレン骨格に付着する。小規模および大規模オリゴヌクレオチド合成のためのオリゴヌクレオチド化学で、これらの適合樹脂が使用される。C P Gガラスとの比べると、容量は10倍増加する。

## 【 0 1 1 9 】

T e n t a l G e l樹脂はポリスチレンとポリエチレングリコールから構成される共重合体であるため、両方の基本高分子の化学特性および物理化学特性を考慮する必要がある。

## 【 0 1 2 0 】

P E G自体は吸湿性高分子である。P E Gエステルはあまり安定していなく、簡単に加水分解されることが文献から公知である。保管条件および保管時間に依りて、過酸化物質またはエステルを形成するポリエーテル鎖に沿ってP E G自体が酸化される可能性がある。その結果として、酸処理または塩基による処理によって、少量の「P E G結合」を生じる形成したP E G - エステルを加水分解する。この結合は、P E G信号および最終生成物中の不純物としてM SまたはN M Rによって見つけることができる。この化学的挙動は、すべてのP E G高分子およびP E Gベース高分子に忠実である。

10

## 【 0 1 2 1 】

## 【表 4】

<b>TentaGel S:</b>	「S」は標準 (Standard) 樹脂を意味し、多数の用途に適用でき、バッチおよびフロースルーシステムに便利である。	20
<b>TentaGel R:</b>	研究目的の合成に特に適した樹脂。樹脂は膨張量の増加を示すが、圧力耐性が低い。大型ペプチドおよび困難な配列に最適。	
<b>TentaGel HL:</b>	このT e n t a l G e lの高充填版は、T e n t a l G e l樹脂の長所に有意に高い容量を組み合わせる。	
<b>TentaGel MB:</b>	T e n t a l G e l技術に基づく非常に大きな粒径と高容量によって、T e n t a l G e lマイクロビーズが強調され、単一ビーズ合成および単一ビーズ解析用に設計されている。	30
<b>TentaGel N:</b>	このタイプの樹脂は、自動大規模オリゴヌクレオチド合成用に設計されている。	
<b>TentaGel J:</b>	このタイプの樹脂は、高分子免疫抱合体用に開発された。	
<b>TentaGel M:</b>	このT e n t a l G e lの10、20、30 μmの微小球状形状およびその単分散によって、巨大なライブラリーの作成、高速合成などのために、選別装置での利用を可能にする。	40
<b>TentaGel B:</b>	二官能性T e n t a l G e l樹脂を意味し、ビーズの外表面の反応性部位が、連続開裂のためにビーズおよびハイブリッド樹脂の内部体積に位置する反応性部位に対して直角に保護される。	

## 【 0 1 2 2 】

ビーズライブラリーあたり1つのリガンドライブラリーを構築するために、T e n t a

50

1 G e l ビーズに加えて、他の樹脂および/または粒子を利用してもよい。例えば、軽度  
に架橋したポリスチレン樹脂またはポリアミド樹脂を利用してもよい。樹脂ビーズに基質  
を結合させる基が固相合成の不可欠な部分になり得る。リンカーは専用保護基であり、大  
抵の場合に、合成の最後に再現するためだけに、リンカーは官能基を結び付ける。リンカ  
ーは、付着した化合物の修飾または延長に使用される化学的性質の影響を受けてはなら  
ない。そして最終的に、開裂ステップが容易に、高い収量で進む必要がある。最良のリンカ  
ーによって、定量的収量での結合および開裂が可能でなければならない。

【0123】

特定の形態では、支持体がビーズ、プレート、ディップスティック、フィルター、膜、  
ピンまたはウェルであってもよい。試料は血液、血清、唾液、またはCSFであってもよ  
い。検出は、RIA、FIA、ELISA、ウエスタンブロット、フローサイトメトリー  
、FRET、または表面プラズモン共鳴を含んでもよい。

10

【0124】

カルボン酸リンカー

【0125】

ペプチド合成に使用される最初の結合基は、固相合成の父の名前を有する。メリフィー  
ルド(Merrifield)樹脂は、クロロメチル基で官能化された架橋ポリスチレン  
である。カルボン酸セシウム塩のDMF溶液を用いた塩化物の求核置換によって、カルボ  
ニル基が付着する。通常、カルボン酸を再生する開裂はフッ化水素によって行われる。

【0126】

カルボン酸に使用される第二分類のリンカーは、Wangリンカーである。一般的に当  
該リンカーは、架橋ポリスチレン、TentaGelおよびポリアクリルアミドに付着  
してWang樹脂を形成する。これはFmoc保護法を用いたカルボン酸ペプチドの合成  
用に設計され、活性化ベンジルアルコール設計のため、TFAによってカルボン酸生成物  
を開裂することができる。Wang樹脂のさらに酸に不安定な形態が開発されている。S  
ASRIN樹脂はWangリンカーと同じ構造を有するが、メトキシ基を添加することで  
、酸触媒開裂中に形成されるカルボニウムイオンを安定させる。

20

【0127】

カルボキサミドリンカー

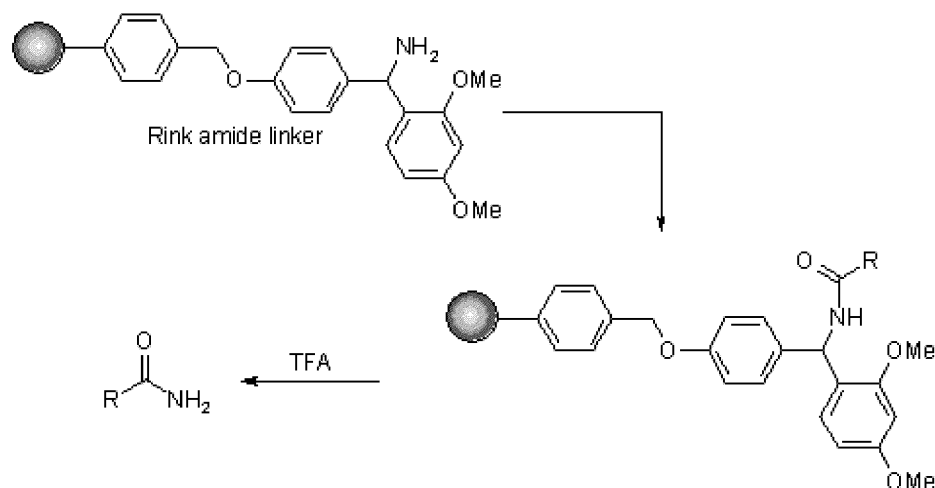
【0128】

固相での第1カルボキサミドの作成には、一般的にリンクリンカーが好適である。本発  
明では、本発明の一次スクリーニングからのヒットまたは推定ヒットを製造または再合成  
する時に、当該リンカーが利用される。そのような場合、システインがリンクリンカーと  
反応させられる最初のモノマーであり、その後、プロセスにはオリゴマーを構築するた  
めの次のモノマー添加、またはオリゴマーを構築するための次のサブモノマー化学を伴う。  
リンクリンカーにおける高い酸感度は、2つの追加電子供与メトキシ基の結果である。第  
1カルボキサミドの作成において、カルボン酸として、TFAによって樹脂から合成修飾  
が開裂された後、リンカーに開始材料が付着する。

30

【0129】

## 【化7】



10

TFA触媒開裂後にカルボキサミドを生成するためのリンク樹脂の使用。

## 【0130】

アルコールリンカー

## 【0131】

テトラヒドロピラニル (THP) 保護基に基づくヒドロキシルリンカーが、ThompsonおよびEilmannによって開発されている。すべての種類のアルコールがジヒドロピランに容易に加わり、結果として得られるTHP保護基は強塩基に対して安定しているが、酸で容易に開裂される。当該リンカーは、メリフィールド樹脂に付着する。トリチル基は、多くのヘテロ原子に対して優れた、酸に不安定な保護基である。メルカプトケトンのライブラリーの合成で、別のアルコールにトリチル基が使用されてきた。

20

## 【0132】

カルバメートおよびアミンリンカー

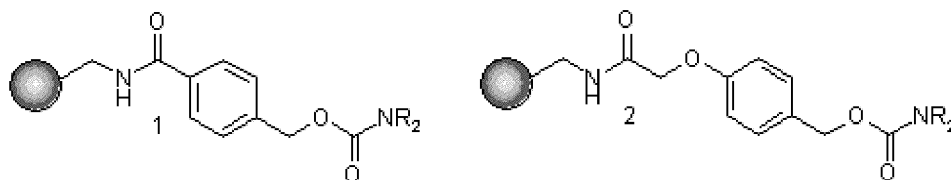
## 【0133】

トリパノソーマ寄生虫感染症の抑制剤の研究で調製される576種のポリアミンの組み合わせライブラリーの合成に、カルバメートリンカーが使われてきた。2つのリンカーを調査した。1つは安息香酸ヒドロキシメチルに基づき(1)、他の1つは、電子供与基を追加した(2)。前者が強酸条件で開裂できる一方で、後者はTFAにより開裂が可能であった。

30

## 【0134】

## 【化8】



40

## 【0135】

現在では、第3級アミンの作成に非常に有用なリンカーが開発されている。(第3級アミンは一般に薬物分子に使用される。)第1級アミンおよび第2級アミンは、マイケル付加によってリンカーに導入される。樹脂結合第4級アンモニウムイオンを得るために、アミンをアルキル化してもよい。弱塩基条件では、ホフマン脱離によって高純度の第3級アミンが得られる。

## 【0136】

トレースレスリンカー

50

## 【0137】

場合によっては、カルボン酸などのある形態で開始物質を取り込み、例えばカルボキサミドなどの別の形態で開裂させる。標的化合物が放出された官能 (released function) を必要とする場合、これは全く問題ない。(ペプチドは、カルボン酸またはカルボキサミドを常を含む。)しかし、低分子量非ペプチドの組み合わせライブラリーにおいて目的とする増加に、新種のリンカーの必要性が生じた。これらのリンカーは、開裂後に非特異的官能 (non-specific function) を示す。最終化合物が固相に対する結合部位の痕跡を示さないため、トレースレスリンカーと呼ばれる。

## 【0138】

試料

10

## 【0139】

上述のように、本発明のプロセスにおける分析のために調製される複合体液としては、細胞 (T細胞または他の免疫エフェクター細胞を含む非接着性細胞) 上に発現されたマーカーを含む潜在的バイオマーカーのホスト、微生物、タンパク質、ペプチド、脂質、多糖、小分子、有機分子、無機分子、生体分子、およびそのような複雑な環境で検出可能または反応可能な部分が挙げられる、あるいは挙げられる可能性がある。好適な実施形態では、そのようなマーカーは抗体であり、特に疾患または病状の結果として作成される抗体である。好適な実施形態では、患者または動物または生物から得られた血清、血漿、唾液、または他の液などの体液または試料がそのようなマーカーの入手源である。そのような試料を初期スクリーニングに、または予測ヒットまたはそのようなバイオマーカーに対する親和性を有するリガンドを用いたその後のスクリーニングに曝すために、各試料、組織、あるいは生物由来または環境由来の試料を前処理、処理、希釈、または取り扱う。バックグラウンドレベルまたはノイズと、リガンド結合部位とのリガンドの結合に関連した信号との間の十分な区別を行う、または可能にするために、本明細書で列挙された方法に従って試料を希釈する。

20

## 【0140】

リガンド / 支持体を上記試料に曝すために必要な時間および / または条件は、特定の試料および他の要因に左右される。ここでは、請求項に係る発明のプロセスに好適な条件をさらに述べる。ほぼすべての場合、体液の大型リガンドライブラリーおよび / またはそのようなライブラリー由来のリガンドまたはキットに曝した後、洗浄または溶出ステップおよび他の調整手段を利用する。HEPESバッファー、トリスバッファー、またはトリス緩衝生理食塩水などの緩衝液を含む水溶液を利用する。支持システムをエネルギー吸収材料で処理して、支持体表面からの「錯体」の脱着またはイオン化を促進してもよい。支持体からリガンド - リガンド結合部錯体を分離または除去するために、化学的手段も利用される。

30

## 【0141】

支持体上のリガンド - リガンド結合部位複合体を検出するための検出方法としては、測光手段および非測光手段が挙げられる。そのような方法は、上記プロセスが吸光度、蛍光、屈折率、偏光、または光散乱を検出および測定する方法を含むようにすることを含む。これらには、そのようなパラメータを測定する直接的および / または間接的手段を含む。蛍光を伴う方法としては、ELISAまたはサンドイッチ分析などの免疫学的方法での蛍光標識を含む。屈折率を伴う方法としては、表面プラズモン共鳴 (SPR)、格子結合法 (例えば、センサー均一格子カプラー、波長検出光センサー (WIOS)、およびチャープ格子カプラー)、共振ミラー、および干渉法が挙げられる。偏光を伴う方法としては、偏光解析法が挙げられる。光散乱法も使用してもよい。標識化および / または分離および / または検出のための他の手段としては、磁気的手段も含むことができる。磁気共鳴映像法、気相イオン分光分析、MRIをすべて使用してもよい。

40

## 【0142】

作成されたデータの解析には、対照または基準に対する検出されたバイオマーカーによる信号の定量を一般的に必要とする。適切な手段でデータを解析できる。データを作成お

50

よび解析するために、コンピュータおよびコンピュータプログラムを利用してもよい。ビーズおよび/または他の支持体を、同定目的のためにコンピュータコード化またはコード化してもよい。データ解析には、分析または検出方法の特定条件下での信号強度の解析を含む。リガンド、リガンド結合部位、または基準部分および/または二次検出部分を、検出可能部分で標識化または放射性標識化してもよい。当業者によって、疾患関連バイオマーカーを有する体液試料と、そのようなマーカーを含まないその対照または健康な患者の試料との違いおよび/または区別を評価できる。当業者によって、本明細書で述べられる方法に従って、構成する対照試料中にある、または発見される可能性がある擬陽性または他のヒットの存在を測定することもでき、および/またはそのような「ヒット」を取り除くことができ、そして当業者によって、本明細書で述べられる方法に従って、疾患または病状を有する患者試料中の疾患関連バイオマーカーを測定または発見するプロセスを続けることができる。いかなる場合でも、そのようなヒットの「検出」は、本明細書で述べられるものなどのリガンドライブラリー中のリガンドに対する疾患関連バイオマーカーまたは他のマーカーなどのリガンド結合部位を検出するための手段によって達成される。

10

20

30

40

50

#### 【0143】

本明細書で列挙された疾患および/または病状に関連したバイオマーカーは、評価される特定の患者または動物または他の生物の疾患および/または病状の特定の段階に応じて変化する。ほとんどの場合、推定ヒットであり、かつ本明細書で列挙される化合物であるリガンドは、まず免疫反応および/または抗体または免疫細胞の形成を開始する天然抗原によく似ることが期待される。本発明と、クレームされ、かつ本明細書に詳述されるスクリーニングプロセスとは、抗原に対する反応で生成される特定の抗原または抗体のいずれの知識も必要としない。しかし、リガンドは、本明細書で列記されたスクリーニングおよび診断法で便利であることに加えて、ワクチンまたは医薬品候補として、それ自体で有用な場合がある。したがって、本発明は化合物および医薬品を含む。

#### 【0144】

ペプチドスクリーニング：

#### 【0145】

ワン・ビーズ・ワン・コンパウンド(OBOC)組み合わせペプチドライブラリーをスクリーニングするために、数万～数百万のペプチド支持ビーズを調製し、その後、複合生体試料に混ぜる。最初の複合生体試料は好適には対照試料であり、そしてその後、対照ヒットを「除去」したリガンドライブラリーで処理された次の複合生体試料は、罹患複合生体試料に対して処理および/またはスクリーニングされる。その後、少なくとも1つの疾患関連バイオマーカーと相互作用するリガンド/ビーズを、検出、同定、および単離および/または特徴付けする。好適な実施形態では、(1)ビーズ調製、(2)複合体液のスクリーニング、および(3)ヒットの検出を含む Tentative 1 スクリーニングプロトコルが使用される。

#### 【0146】

ペプチドスクリーニング：

#### 【0147】

ワン・ビーズ・ワン・コンパウンド(OBOC)組み合わせペプチドライブラリーをスクリーニングするために、数万～数百万のペプチド支持ビーズを調製し、その後、本明細書に記載のプロセス後に複合生体試料に混ぜる。その後、疾患関連バイオマーカーと相互作用するビーズを、化合物構造決定のために同定および単離する。例えば、赤色蛍光染料によって標識化された、プローブタンパク質としてストレプトアビジン(SA)を用い、および非蛍光ビーズから蛍光を分離するために COPAS BIO-BEAD フローソーターを用いた OBOC ペプチドライブラリースクリーニングを行ってもよい。次の参考文献を参照：Marani et al., J. Comb. Chem., 2009, 11 (1), pp 146?150。使用できる赤色染料は ATTO 590 および Texas Red である。SA-赤色蛍光染料複合体と一緒に上記ライブラリーをインキュベートした後、ペプチド-SA相互作用によって生じた陽性ビーズが得られる。上記ビ

ーズを、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析(MALDI-TOF MS)で分析する。したがって、ペプチドライブラリーは、ペプトイドに、本明細書に記載のプロセスに類似した方法で使用してもよく、ここで、開始化合物ライブラリーからリガンド/ピーズヒットを除去するために初期対照体液試料を使用し、その後、罹患複合体体液試料中のヒットをスクリーニングするためにライブラリーの残りのメンバーを使用する。これらのヒットは、その後、診断キットで進められる推定ヒットである。

【0148】

同様に、本明細書に記載のプロセスを用いて、ピーズまたは支持体上でリガンドをスクリーニングしてもよい。これらのリガンドとしては、ペプトイドまたはペプチドに加えて、ライブラリーに組み込むことができ、本明細書に記載の条件下で複合体液のスクリーニングに使用される核酸オリゴマー、多糖、小分子、および/またはその組み合わせが挙げられる。

10

【0149】

キットおよび診断ツール

【0150】

本明細書に記載の化合物または組成物のいずれも、臨床環境または実験室環境のいずれかで診断キットにさらに利用してもよい。これらのキットは、簡単なポイント・オブ・ケア診断分析から複雑で多重化された機器またはプローブまでに及ぶことができる。中核となる支持体/リガンドシステムを取り囲む支持システムおよび「パッケージング」を、推定ヒットおよび/またはそのような適切なプラットフォームに再合成および設置されるヒットを含むように設計される現在市販されているキットから選択できる。あるいは、新たに設計された診断キットでそれらを使用できる。キットには一般的に、キットがそのために設計された特定の疾患または病状をスクリーニングおよび/または診断するキットを使用するためのすべての適切な試薬および取扱説明書が同封されている。そのようなキットまたは方法は、本明細書で列記されたスクリーニング法に従って同定された少なくとも1つの推定ヒットまたはリガンドを含む。当該リガンドまたは複数のリガンドを、本発明の化合物を含む同じリガンドまたはリガンドの混合物から選択してもよい。上記リガンドは、ある特定の病状あるいは疾患または病状の群または組に関して、疾患関連バイオマーカーに対するその親和性に基づいて選択してもよい。好適なリガンドはペプトイドリガンドである。上記キットは、特定の疾患または病状を診断する医師向けの説明書、および特定のキット、および疾患または病状に関するラベルも含む。したがって、本発明は、本明細書に記載され、および/または本明細書に列挙された特定の方法に従うことが公知であるライブラリーのいずれか1つを用いて初期スクリーニングから見つかった推定ペプトイドまたはリガンドなどのキットの必須構成要素のすべてを含むキットの組み合わせ、およびラベル付け説明書を含む。熟練オペレーターの監督下の臨床環境および実験室環境で、本明細書で開示される特定のプロセスおよび方法および材料も利用してもよいことも想定される。キットおよび/または機器または設備は、疾患関連抗体および/または細胞に対して特異的なペプトイドなどのリガンドを含む。「キット」は、一式の診断キットおよび/またはスクリーニングキットを含んでもよく、あるいは「キット」は、診断用ペプトイド、そのようなペプトイドを通じて発見および特徴付けされた抗体、または自己抗体との相互作用および自己抗体からの発見の結果として精製および/または特徴付けされた天然抗原を含む、あるいはそれから構成されるコンポーネントまたはサブコンポーネントを含んでもよい。そのような抗体および精製された抗原は、本発明の一部を成す。

20

30

40

【0151】

診断法

【0152】

本発明のリガンドライブラリーを利用して、疾病関連バイオマーカーに結合するリガンドを発見および測定する。その後、病態または病状を評価、スクリーニング、または診断するために、一般的に上記のキットおよび/または方法でそのようなリガンドを利用する。これらの診断法は一般的に、抗体および/または他の生体マーカーを含む疾病関連バイ

50

オマーカーのスクリーニングおよび発見を伴う。上述のように、血液試料からそのような抗体を取り出す、または取り除くために、適切なカラム上の本発明のリガンドを用いて、これらの抗体をさらに同定し、特徴付けることができる。同様に、そのような抗体に関連した天然抗原を探る、および発見するために、抗体を使用できる。したがって、本発明には、抗体と、そのような抗体に関連し、本発明の方法を用いて発見、単離、および特徴付けられた精製抗原の両方を含む。

#### 【0153】

まず、病態または病状をスクリーニングおよび/または診断するためのキットおよび/または他の手段を、患者試料に対して評価する必要がある。これらの患者試料は、正常対照試料から、または患者がその疾患または症状を有する、または有することが疑われると確認された患者試料から得てもよい。患者は、疾患関連バイオマーカーの「存在」を越える疾患に関連した他の症状を示してもよい。患者は疾患の早期であってもよく、疾患または症状を全く示していなくてもよく、あるいは特定疾患の末期であってもよい。どのような臨床状況でも、適切な指針および管理下で、患者試料および臨床試料を盲検方式で提供し、その後、本発明の化合物を用いて評価してもよい。その後、特定の患者または患者群についての統計的に有意な結果、または公知または根本的なデータとの相関関係を見つけ出すか、見つけ出さないかにかかわらず、非盲検後にスクリーニングの結果として作成されたデータを評価してもよい。本発明は、(1)本発明の少なくとも1つの化合物で患者からの生体試料をスクリーニングすること、(2)本発明の上記少なくとも1つの化合物を用いて同じ条件下で、対照生体試料をスクリーニングすること、および(3)疾病関連バイオマーカーの有無を測定するために、正常対照データと患者データを比較することを含む疾患または症状の存在をスクリーニングする方法を含む。疾病Xを有する、あるいは有すると疑われる患者の群または患者の試料を、本発明の少なくとも1つの化合物を有するキットまたは診断プローブに対してスクリーニングしてもよく、そして、病態または症状またはその欠如を確認または検証するために、各患者に関して作成されたデータを、ケースバイケースで利用してもよい。患者の症状を評価し、治療選択を行う医師に指針を提供するために、その特定の患者について知られている全情報と組み合わせて、本明細書で作成されるそのようなデータを使用してもよい。そのようなスクリーニングの結果として作成された「情報」を、薬物治療を受けている個々の患者を評価するために、臨床試験環境で使用してもよい。したがって、本発明は、本明細書に記載の方法に従って行われるスクリーニングの使用を含む臨床試験の進行を評価する方法を含む。好適な実施形態では、本発明は、疾患関連バイオマーカーを検出するための本明細書の請求項に係るスクリーニングまたは化合物の使用を含む、早期病態をスクリーニングまたは診断する方法に関する。本発明は、疾患の急速な進行前にそのようなバイオマーカーの検出がよく見られる早期癌治療介入の状況で特に有用である。別の状況では、心臓血管疾患および/または代謝性疾患のほか、神経疾患での早期治療によって、命を救い、早期医療介入または処置を行わない場合のそのような疾患のさらなる進行を防止する、あるいは防止に役立つことが期待される。

#### 【0154】

本発明は、対照溶液または標準溶液と疾患関連バイオマーカーを含む複合体液との差の分解能または効率を上げる方法も含む。例えば、方法は、バッファーおよび/または大腸菌(E coli)溶解物および/またはリシンの調整剤で、システム/血清を事前調整または前処理または事前ブロックすることを含む。

#### 【0155】

さらに別の実施形態では、(a)被験者からの抗体含有試料を、本明細書で列挙された式のペプチドを含むペプチドをそれに付着した1つ以上の支持体に接触させること、(b)上記ペプチドに結合した抗体を検出すること、および(c)ステップ(b)の結果に基づく処置決定を行うことを含む、疾患を有することが疑われる被験者を処置する方法が提供される。上記方法は、被検者からの上記試料を得ることをさらに含んでもよい。また、前記方法は、上記ペプチドに結合している抗体が、対照非罹患患者で見られるも

10

20

30

40

50

のよりも多い場合に、上記試料を入手した被験者に関して疾病の診断を行うことをさらに含んでもよい。また、前記方法は、上記被験者に対する処置決定を行うことをさらに含んでもよい。上記試料を、本明細書で列挙された式の、1を超える数のペプチドに接触させてもよい。複数の病態または症状を診断する目的で、上記試料を多重プラットフォームに接触させてもよい。上記支持体がビーズ、プレート、ディップスティック、フィルター、膜、ピンまたはその他であってもよい。試料は血液、血清、唾液、またはCSFであってもよい。検出は、RIA、FIA、ELISA、ウエスタンブロット、フローサイトメトリー、FRET、または表面プラズモン共鳴を含んでもよい。

#### 【0156】

さらに別の実施形態は、疾患を示す体液から単離された抗体組成物に関する。特定の実施形態では、上記抗体を有する試料を、疾患を示す、あるいは関連する抗体を特異的に結合するペプチド組成物に接触させることで、上記抗体が単離される。上記抗体を、他の非抗体および非D特異成分から除去、単離、または精製できる。その後、上記抗体を洗浄する、および/またはペプチド捕捉剤から切り離すことができる。

#### 【0157】

特定の実施形態では、本明細書に記載の処理で発見されたペプチドから作られたペプチド配列が、大腸菌溶解物などの細菌溶解物で補完されている生体試料とハイブリダイズさせる。生体試料としては、対照試料、および中枢神経系障害に関するマーカーを有する試料が上げられる。例えば、マイクロアレイスライドをハイブリダイゼーションチャンバーで覆い、約15分間、1XTBST(50mMトリス、pH8.0、150mM NaCl、0.1% Tween20)で平衡化する。その後、少なくとも、高くとも、あるいはおよそ0.5、1、1.5、2mg/mLの溶解物濃度の細菌溶解物でスライドをブロックする。溶解物を取り除き、優しく振りながら細菌溶解物中で約1mLの生体試料(すべての範囲および値を含む5、10、15、20、または25g/mLのおおよそのタンパク質濃度を有する)とともにスライドをインキュベートする。その後、マイクロアレイを1XTBSTで洗浄し、標識抗IgG抗体(例えば、1:400希釈物)とハイブリダイズさせる。その後、適切なバッファーでスライドを洗浄する。遠心分離機を用いてスライドを乾燥させ(例えば、1500rpmで5分間回転)、例えば100%出力で635-nmレーザーおよび600または650の光電子増倍管ゲインを用いたマイクロアレイスキャナーでスキャンする。したがって、本発明は、対照血漿試料および大腸菌溶解物を含む罹患試料を処理すること、および前記試料をペプチドまたはリガンドアレイに接触させることを含む診断分析でのバックグラウンド抗血清ノイズを低減する方法にも関する。このプロセスを使用して、対照試料を罹患試料と比較する状況で血清中の抗体を検出および識別することに使用されるアレイの処理を支援できると考えられる。

#### 【0158】

本明細書に記載の方法または組成物を、本明細書に記載の他の方法または組成物に対して実施できると考えられる。

#### 【0159】

請求項および/または明細書で用語「含む(comprising)」と併せて使用される場合の単語「1(a、an)」の使用は「1(one)」を意味するが、「1つ以上(one or more)」、「少なくとも1つ(at least one)」、および「1つまたは1つ超(one or more than one)」とも一致する。

#### 【0160】

本明細書に記載の実施形態を、本発明の方法または組成物に対して実施できる、また逆もまた同様と考えられる。さらに、本発明の組成物およびキットを使用して、本発明の方法を達成できる。

#### 【0161】

本発明を通して、用語「約(about)」は、値が装置、値を測定するために採用されている方法、または治験被験者の間に存在する変動量に対する固有の差異の誤差を含む

10

20

30

40

50

ことを示すために使用される。

【0162】

ワクチンおよび医薬品

【0163】

当然のことながら、本明細書で列挙されたプロセスを通じて発見された推定ヒットまたはペプチドは、治療用医薬品またはワクチン候補でもあってよい。したがって、本発明は、本明細書に記載の方法に従ったスクリーニングの使用を含む医薬品候補またはワクチンを発見するプロセスに関する。

【0164】

実施例1 ライブラリー調製

10

【0165】

ペプチド合成（システイン - ペプチドまたはメチオニン - ペプチド）のプロトコル

【0166】

以下の例では、本発明のペプチドライブラリーの調製方法を示す。本実施例で利用される材料としては、反応フラスコまたはビーカー、プラスチックチューブ、針付き3 mL シリンジ10～15本、Latex手袋、15 mL ポリプロピレン製試験管および溶剤安全チップ付きマイクロピペット（1000 μL）10～15本、ガラスピペット、および樹脂ビーズが挙げられる。使用する化学薬品および/または試薬としては、N,Nジメチルホルムアミド、プロモ酢酸（BMA）、無水ジメチルホルムアミド、ピペリジン、アセトニトリル、3-ジイソプロピルホルボジイミド（DIC）、トリフルオロ酢酸、5（6）-カルボキシフルオレセイン、ジクロロメタン（DCM）、および4-メチルモルホリン（NMM）が挙げられる。各ライブラリーの調製で利用されるさまざまなアミンのほか、HBTU（テトラメチルウロニウムヘキサフルオロフォスフェート）およびトリエチルシランも使用した。

20

【0167】

ペプチド調製

【0168】

以下の式を用いて、処理に使用される各アミンの濃度を計算する。すなわち、 $V = FW / d / 1000 \times 2M \times 5ml$

30

【0169】

手順：

【0170】

ステップ1

【0171】

樹脂ビーズの膨張

(a) 樹脂ビーズ250 mgをきれいな乾燥した反応フラスコに入れ、1時間以内の期間にわたり膨張させたままにしたビーズに、DMF水和物5 mLを添加した。その後、真空下で複数回（2回または3回）、DMFでビーズを洗浄した。

40

【0172】

ステップ2

【0173】

「脱保護ビーズ」（例えば、Tenta-Gel）を使用した場合は、ステップ（b）、（c）、および（d）を省略した。

【0174】

以下の処理で、溶剤として無水DMFを用いたピペリジンの20%溶液（塩基性）を使用した。

【0175】

「保護ビーズ」を使用する場合、ステップ（b）、（c）、および（d）を含む以下の処理を2回行った。

50

- (b) 20% ピペリジン溶液 2.5 mL を保護ビーズに添加した。  
 (c) ピペリジンの添加後、25 で 200 rpm に設定した振とう器 / インキュベーターの上に反応フラスコを 20 分間置いた。  
 (d) その後、DMF 5 mL を用いた DMF 水和物で反応フラスコを 8 ~ 10 回洗浄した。

## 【0176】

以下の溶液も調製した。

1. 468 mg の Fmoc - Cys (Trt) - OH の無水 DMF 溶液 (量 2 mL) (溶液 A)。
2. 161.6 mg の NMM の DMF 水和物溶液 2 mL。
3. 303.2 mg の HBTU を NMM パイアルに添加した (溶液 B)。

10

## 【0177】

HBTU / NMM および Fmoc - Cys の添加

## 【0178】

溶液 A および溶液 B のそれぞれ 1 mL をビーズ - (HBTU / NMM) および Fmoc - Cys (Trt) - OH) に添加した、そして 1 時間振とうする。

## 【0179】

DMF 中で、ビーズを 5 ~ 10 回洗浄した。

## 【0180】

1 時間振とうしたビーズに溶液 A および溶液 B の残りの溶液 1 mL を添加し、DMF 中で 5 ~ 10 回再び洗浄した。

20

## 【0181】

以下の溶液も調製した。

- 20% ピペリジン (無水 DMF 溶液中)
- 2 M プロモ酢酸
- 50% DIC / A. DMF
- 各アミンの 2 M 溶液

## 【0182】

以下のステップ (a)、(b)、および (c) を 2 回行った。

(a) 20% ピペリジン溶液 2.5 mL を添加した; (b) 200 rpm、25 で、反応フラスコを振とうした、その後 (c) DMF でビーズを 8 ~ 10 回洗浄した。

30

## 【0183】

2 M プロモ酢酸溶液 10 mL を調製した。

## 【0184】

50% の 3.2 M DIC / 無水 DMF 溶液 (v/v) 10 mL も調製した。

## 【0185】

各ライブラリー用に各アミンの 2 M アミン溶液を調製した。

## 【0186】

ペプチド合成のため、2 M 原液 1 mL を毎回使用し、ペプチド鎖にアミンを追加した。

40

## 【0187】

ステップ 3

## 【0188】

プロモ酢酸 1 mL を反応容器に加えた;  
 (b) その後、50% DIC / DMF 溶液 1 mL を添加し、得られた溶液に、(c) 15 秒間、10% の出力でマイクロ波をかけた。

## 【0189】

マイクロ波のセットの間で、フラスコを左右に回転しながら、ステップ (c) を 2 回行った。

## 【0190】

50

マイクロ波をかけるステップの後、毎回、白色沈殿物が形成された。その後、DMFで、ビーズを8～10回洗浄した。

【0191】

ステップ4

【0192】

その順序で最初のアミンを1 mL、前のステップからのプロモ中間体を含む反応フラスコに添加し、反応容器を振とうすることで、ビーズにアミンを均等に分布させた。その後、15秒間、10%の出力でマイクロ波を2回使用して、反応を開始させた。その後、DMFで、反応したビーズを8～10回洗浄した。

【0193】

目標とするペプチドを作るため、すべてのアミンが追加されるまでステップ3および4を繰り返した。

【0194】

ステップ5

【0195】

その後、3回、ジクロロメタン(DCM)でビーズを洗浄し、乾燥させた。

【0196】

ステップ6

【0197】

その後、95% TFA溶液(5 mL)を用いて、ビーズからペプチドを開裂させた。次に、残留ペプチドを除去するために溶剤(CH<sub>3</sub>CNおよび水)で洗浄したビーズから、ペプチドを集めた。アルゴンガスを使用して残留TFAの除去を行った。その後、必要に応じてペプチドを凍結乾燥、特徴付け、および精製した。

【0198】

上記反応条件は、特定のビーズ組成物に対して必要な量に応じた必要性を基準として変更される場合がある。

【0199】

図1～5は、一般的に、AD診断、膵臓癌診断、および狼瘡のために本発明のライブラリーを調製する方法を説明する。一般的に、アミン部分を有するビーズは、標準的ペプチド化学を用いた一連のステップを通じてアミノ酸残基に結合し、その後、ハロゲン化物基を有する活性カルボニル部分と反応し、次に、R基を有する単量体アミンと反応した。100万～200万の異なるリガンドを有する大型ペプチドライブラリーを作成するために、図に示した通りに、サイクルのステップ2および3を繰り返した。Tentagel樹脂またはビーズ上に調製された初期スクリーニングライブラリーは、一般的に鎖中の最初のモノマーとしてメチオニンアミノ酸を有した。本発明はそのようなアミノ酸を使用して、開裂可能なリンカーを持たないビーズまたは樹脂からの開裂を促進する。ペプチドを含むシステインを構築するために使用されるリンク樹脂は、第1のアミノ酸としてメチオニンを必要としない、あるいはその使用が求められないリンカーを有する。一般的に、初期スクリーニングによって推定ヒットを見つけた後、ペプチドを含むシステインを再合成した。システインの硫黄基によって、例えば、診断プラットフォーム基質上の別の反応部分とのペプチド鎖の反応を可能にする。再合成されたペプチドも、アミノ酸アミンの後の鎖上の第1の側鎖として1-イル-n-ブチルアミン部分を含んだ。ペプチドを表示させ、水溶液にペプチドを溶解させるために当該基が必要であると考えている。

【0200】

実施例2 一般的スクリーニング方法

【0201】

最適なペプチドに付着した160ミクロンTentagelビーズをDMF中で一晚膨張させた。その後、反応容器内で、Millipore水で、激しく振とうしてビーズを10回洗浄した。毎回、新しいMillipore水を添加し、10回目の洗浄で、150～200 rpmで、ビーズを一晩振とうしたままにした。翌日、1X TBS Tを用

10

20

30

40

50

いて同じ方法でビーズを洗浄し、150～200rpmで、少なくとも3時間、振とうしたままにした。

【0202】

その後、ビーズをチューブ1本あたり約0.5グラム、1X TBS T溶液で、15 mLコニカルチューブに均等に分けた。TBS Tを取り除き、希釈正常ヒト血清4 mLを各チューブに添加した。1X TBS T中に作った血清原液を超微量滴下し、希望濃度の20 µg/mLを入手した。その後、血清とビーズを含むチューブを、暗所にて4 で一晚、タンブラーにかけた。その後、チューブから血清をピペットで取り出し、4 mLの1X TBS Tと入れ替えた。その後、ビーズを再び浮遊させるためにチューブをゆっくりとひっくり返し、落ち着くまでそのままにした。合計3回のTBS T洗浄を行うために、TBS Tの除去/添加をさらに2回行った。

10

【0203】

その後、1X TBS Tの1 mLあたりヤギ抗ヒトIgG Qdot 655を5 µL調製することで、二次抗体溶液を調製した。ビーズから最後のTBS T溶液を取り除くと、Qdot溶液4 mLを添加し、暗所にて、2時間、4 でビーズをタンブラーにかけた。その後、ビーズが落ち着くまでそのままにし、そしてQdot溶液を取り除いた。その後、4 mLの1X TBS Tで、ビーズを3回洗浄した。その後、DAPIフィルターを含むUV顕微鏡下で確認しながら空のシャーレにビーズを注いだ。赤色に染められたすべてのビーズを取り除いた。

20

【0204】

初回スクリーニングの完了後、15 mLのコニカルチューブにビーズを注ぎ戻し、次の血清試料添加までの少なくとも4時間、4 でタンブラーにかけた。その後、1X TBS Tとは対照的に、血清をPBS開始ブロックに希釈した場合を除き、正常血清添加と同じ方法で罹患血清をビーズに添加した。しかし、超微量滴下で正確な濃度を得るために、1X TBS Tで元の原液を調製した。血清添加および二次抗体添加は、正常血清と同じである。

【0205】

罹患「ヒット」を取り除くと、1.5 mLエッペンドルフチューブに貯め、95 で25～30分間、1%のSDS中で加熱した。その後、チューブからSDSを取り除き、Millipore水で置き換えた。その後、4 で15分間、ビーズをタンブラーにかけた。その後、水を新しい水と交換し、さらに15分間、ビーズをタンブラーにかけた。その後、水を取り除き、50/50のアセトニトリル/水の溶液と置き換え、さらに15分間、タンブラーにかけたままにした。その後、ビーズを96ウェルプレートの各ウェルに分け、乾燥させた。

30

【0206】

臭化シアン20～30 mg、アセトニトリル500 µL、氷酢酸400 µL、およびMillipore水100 µLの溶液を作成し、ヒットビーズを含む各ウェルに前記溶液20 µLを添加した。プレートを覆い、100 rpmで16時間、振とうしたままにした。その後、カバーを取り除き、ウェルから開裂溶液を蒸発させた。その後、MSMSプレートにヒットをスポットで滴下し、4800 MALDI/TOF/TOF分析装置を用いて配列を決定した。

40

【0207】

図6は、本明細書で開示され、本明細書に係るスクリーニング方法の概略的な模式図を示す。

【0208】

実施例3 アルツハイマー病スクリーニング

【0209】

Tentagel磁気スクリーニング

【0210】

160ミクロンTentagelビーズ(JC3Bライブラリー)500 mgを15 m

50

Lコニカルチューブに入れた。DMF 5 mLをチューブに添加し、ビーズを膨張させるために、一晚、静置したままにした。翌日、チューブからDMFをピペットで取り出し、5 mLの1X TBS Tと入れ替えた。チューブを逆さまにして混ぜ合わせ、ビーズが底に落ち着くまでそのままにし、そして1X TBS Tを取り除いた。5 mLの1X TBS Tを添加/除去することをさらに5回行った。

【0211】

PBS開始ブロック4 mLをチューブに添加し、4つの別個のAD試料それぞれ7 µLを同じチューブに添加することで、正常AD血清試料を調製した。洗浄したビーズに血清を添加し、暗所にて4で一晚、ビーズおよび血清をタンブラーにかけたままにした。翌朝、ビーズをタンブラーから取り出し、チューブから血清をピペットで取り出す前に、そのまま静置した。4 mLの1X TBS Tをチューブに添加し、チューブを逆さまにして混ぜ合わせた。その後、チューブからTBS Tをピペットで取り出し、4 mLの新しい1X TBS Tと入れ替え、再び取り除いた。

10

【0212】

その後、50 µLのよく混ぜたヤギ抗ヒトIgG DYNAビーズを4 mLの1X TBS Tに添加することで、DYNA-ビーズ溶液を調製した。その後、洗浄したビーズに混合物を添加した。その後、暗所にて、4で2時間、ビーズをタンブラーにかけたままにした。

【0213】

ビーズを洗浄せずに、DYNAビーズスクリーニングを行った。チューブをマグネットホルダーに入れ、1X TBS Tを縁まで満たした。2分間、磁石とチューブをゆっくりと掻き混ぜ、マグネットホルダーの中でビーズをそのまま静置した。マグネットによって側面に付いたヒットビーズに触れないように、底に落ち着いたTBS Tおよびフリーのビーズを慎重に取り除き、1X TBS Tと置き換えた。チューブの側面に付いたビーズが見えなくなるまで、2、3回、処理を繰り返した。その後、ヒットビーズを1本のチューブに混ぜ合わせた。

20

【0214】

残りの非ヒットビーズを1.5 mLチューブに分け、逆さまにし、パルス遠心分離処理を素早く行った。上澄みを取り除き、新しい1X TBS Tと置き換えた。ビーズ/TBS T溶液にDYNAビーズがこれ以上見えなくなるまで、この処理を6~8回繰り返した。同じ方法でヒットビーズを洗浄した。

30

【0215】

ビーズを混ぜ合わせて1.5 mLチューブに戻し、上記と同じ方法でビーズに正常血清を添加し、暗所にて4で一晚、タンブラーにかけたままにした。さらに、各4つの正常AD試料を3 mL、PBS開始ブロック1 mLに添加し、この溶液をDYNAビーズ「ヒット」ビーズチューブに添加した。翌日、正常血清を添加するとともに、同じ方法でビーズを洗浄した。

【0216】

20 µLのヤギ抗ヒトIgG Quantum Dot 655を4 mLの1X TBS Tで希釈し(「ヒット」チューブに対しては、1 mLの1X TBS Tで20 µLのQdot)、そしてビーズに添加した。暗所にて、4で2時間、溶液をタンブラーにかけた。ヒットチューブと非ヒットチューブ両方を1X TBS Tで4回洗浄し、UV顕微鏡下で真っ赤なビーズをスクリーニングした。4 mLの1X TBS T中で、1時間、残りのビーズをタンブラーにかけ、そして正常血清と同じ方法で疾患AD血清を添加した。上記と同じ方法で磁気スクリーニングおよびQdot添加を行った。その後、MALDI TOF/TOF質量分析器でヒットの配列を決定した。

40

【0217】

図7は、ペプチドライブラリー(JC3B)からのビーズとともに一晚インキュベートした保存正常対照血清試料を示す。非特異的ビーズヒットを取り除くために、DYNAビーズで標識化されたヤギ抗ヒトIgGを用いた初期二次抗体DYNAビーズスクリーニ

50

ングを行った。その後、異なる二次抗体を用いて非特異的ヒットを再確認した。この場合、Quantum Dot 655 (Invitrogen)で標識化されたヤギ抗ヒトIgGを、DAPIフィルターを含むUV顕微鏡で検出した。赤色ビーズは、再確認されたヒットを示す；青色ビーズは、再確認しなかったビーズを示す。再確認済みビーズの割合は引き続き低く、そのため、DNAビーズスクリーニングは結局のところ中止した。

【0218】

図8は、AD患者からの血清とともにインキュベートされたペプチドライブラリーを示す。その後、二次検出抗体(Quantum dot 655 (Invitrogen)で標識化されたヤギ抗ヒトIgG)とともにライブラリーをインキュベートした。DAPIフィルターを含むUV顕微鏡下でヒットビーズを検出し、赤色のビーズを、今後のスクリーニングのために配列が決定されるヒットとして取り出した。

10

【0219】

図9、10、および11は、疾患ヒットをペプチドライブラリーから単離した後、残留抗体からヒットを取り払うために1%SDS洗浄を行ったことを示す。次に、個別の罹患試料とともに、その後、ヤギ抗ヒトIgG Quantum dot 655とともにビーズをインキュベートした。その後、ビーズをUV顕微鏡下で可視化することで、ヒットが個別の試料で再確認されるかを確認した。一貫して再確認されたヒットを選んで配列決定をおこなった。

【0220】

図12は、JC3Bライブラリーのアルツハイマー病スクリーニングで選択されたヒットのすべての配列を示す。

20

【0221】

図13は、アルツハイマー病スクリーニングで選択された推定ヒットの化学構造を示す。

【0222】

図14は、溶液中のペプチドADTG1とマイクロアレイ上のADTG-1~42として指定されたペプチドとの間の競合実験を示す。上記データから、ペプチドADTG1、14、24、25、31、35、および40が同じ自己抗体に結合していることが分かる。配列上のペプチドのそれぞれに対して同じ実験を行い、このプロセスによって、アルツハイマー病抗原に対する7つの異なる自己抗体にペプチドが結合していることが分かった。

30

【0223】

図15は、これらペプチドのうち41種類の配列を示し、一番上から順番で、活性が高い物から活性が低い物へと指定され、リガンドがADに対する4つの異なる抗体バイオマーカーに結合していることが分かった競合実験の結果に基づく4つの異なる群で表される。マイクロアレイスクリーニングではADP1~3が先に見つかり(データは示さないが、米国特許公報第2010/0303805号で先に述べられている)、ADに対する2つの異なる抗体バイオマーカーに結合していることが発見された。ADP1およびADP3は同じ抗体に結合していることが分かったが、ADP2は別の抗体に結合した。本発明の新しいスクリーニング方法で発見された新しいリガンドも(図15の他のすべてのリガンドおよび図13で示された通り)、群で異なる抗体に結合した。2つの新しい抗体バイオマーカーが発見され、新しいリガンドの一部は、ADP1およびADP3が結合する同じ抗体のいずれかに、またはADP2が結合する抗体に結合した。

40

【0224】

ADデータ解析：1回の測定によるマイクロアレイデータ

【0225】

マイクロアレイを、引用により援用される米国特許公報第2010/0303805号で述べられように、調製した。マイクロアレイスライドをハイブリダイゼーションチャンパーで覆い、15分間、1XTBST(50mMトリス、pH8.0、150mM NaCl、0.1% Tween20)で平衡化する。その後、1時間、4にてブロックン

50

グバッファー 1 mL でスライドをブロックする。ブロッキングバッファーを取り除き、16 時間、4 で優しく振とうさせながら血清 (20 mg/mL) 1 mL とともにスライドをインキュベートする。別の方法では、1 時間、4 にて大腸菌溶解物 (1.5 mg/mL) 1 mL でスライドをブロックする。大腸菌溶解物を取り除き、18 時間、4 で優しく振とうさせながら血清 (15 mg/mL) の大腸菌溶解物 (1.5 mg/mL) 溶液 1 mL とともにスライドをインキュベートする。その後、マイクロアレイを 1 X T B S T で 3 回洗浄し、2 時間、4 にてオービタルシェーカーで Alexa - 647 標識抗 Ig G 抗体 (5 mg/mL) とハイブリダイズさせる。マイクロアレイスライドから容器カセットを取り除き、1 X T B S T で洗浄し (15 分 x 3 回)、続いて 0.1 X T B S T で洗浄した (10 分 x 1 回)。その後、遠心分離機 (1500 rpm で 5 分) を用いてスライドを乾燥させ、100% 出力で 635 - nm レーザーおよび 600 または 650 の光電子増倍管ゲインを用いたマイクロアレイスキャナー (Gene Pix Auto loader 4200) でスキャンした。Gene Pix Pro 6.0 ソフトウェアおよび Genespring ソフトウェアで、すべてのスキャン画像を解析した。

10

#### 【0226】

新しいペプチドまたはリガンドはマイクロアレイ上に構築され、盲検にて、上記の方法に従って患者試料に対してスクリーニングした。図 16 ~ 20 は、これらのスクリーニング分析の結果を示す。34 人の患者のプールから血清試料を入手した。図 16 ~ 18 に示されるように、各試料はその強度または欠如を生じた。新しいペプチドのうち 2 つ (P1aag4 および P1aag2) を、同じ患者プールで公知のペプチド ADP3 および ADP2 に対して比較した。これらの結果から、新しいペプチドと、AD 関連抗体の存在と臨床症状または疾患の存在との間の直接的相関関係を示した非盲検で検証されている以前のペプチドとの間の直接的相関関係が分かる。

20

#### 【0227】

図 16 A は、マイクロアレイ上のペプチド P1aag1 でスクリーニングされた 34 人の被験者からの一群の血清試料 (20 μg/mL) に関するデータを示す。図 16 B は、マイクロアレイ上のペプチド P1aag2 でスクリーニングされた 34 人の被験者からの一群の血清試料に関するデータを示す。

#### 【0228】

図 17 A は、マイクロアレイ上のペプチド P1aag3 でスクリーニングされた 34 人の被験者からの一群の血清試料に関するデータを示す。図 17 B は、マイクロアレイ上のペプチド P4aag1 でスクリーニングされた 34 人の被験者からの一群の血清試料に関するデータを示す。

30

#### 【0229】

図 18 A は、マイクロアレイ上のペプチド P1aag5 でスクリーニングされた 34 人の被験者からの一群の血清試料に関するデータを示す。図 18 B は、マイクロアレイ上のペプチド P1aag6 でスクリーニングされた 34 人の被験者からの一群の血清試料に関するデータを示す。

#### 【0230】

また、これらのペプチドの各々を図 13 に示す。P1aag1 は J C 3 B - 1 ; P1aag2 は J C 3 B - 2 1 ; P1aag3 は J C 3 B - 7 ; P1aag4 は J C 3 B - 5 ; P1aag5 は J C 3 B - R 8、および P1aag6 は J C 3 B - R 1 2 である。

40

#### 【0231】

図 19 A は、ADP2 マイクロアレイデータを示す。図 19 B は、同じ患者プールからの患者血清を用いた P1aag4 マイクロアレイデータを示す。ADP2 による左のデータセットと P1aag4 による右のデータセットの間には、少なくとも 90% の相関関係がある。

#### 【0232】

図 20 A は、ADP3 マイクロアレイデータを示す。図 20 B は、同じ患者プールでの患者血清試料を用いた P1aag2 マイクロアレイデータを示す。ADP3 による左のデ

50

ータセットと P 1 a a g 2 による右のデータセットとの間には、少なくとも 90% の相関関係がある。

【 0 2 3 3 】

図 2 1 は、アルツハイマー病に関する t e n t a g e 1 ベーススクリーニングにおけるペプチド ( J C 3 B - R 8 ) の使用の検証を示す。140 ミクロン (  $\mu\text{m}$  ) ビーズを使用し、血清濃度は 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  だった。罹患ビーズと非罹患 ( 正常対照 ) ビーズの間には、明らかな違いがあった。

【 0 2 3 4 】

図 5 0 は、マイクロアレイに使用されるペプチドと E L I S A プレートに置かれるペプチドとの調製および違いの簡単な模式図を示す。ペプチドマイクロアレイが作られる方法に関する模式図：個々のビーズはマイクロタイプレートのウェルに分けられ、濃縮原液を作るために、ビーズからペプチドを開裂させる。これで各ウェルは 1 種類のペプチドを含むことになることに注意する。その後、化学的に修飾されたガラス製顕微鏡スライドに、表面に共有結合するような方法で数千のペプチドをスポットで入れる。1 つの合成ライブラリーから高い再現性で数千のスライドを作ることができる。表面に P E G 鎖がないが、E L I S A プレート上のペプチドの密度がマイクロアレイ上と異なってもよいことを除き、E L I S A の製造も同様である。

10

【 0 2 3 5 】

図 5 1 は、疾患関連抗体 - ペプチド複合体を検出する二次抗体に結合された西洋ワサビペルオキシダーゼを用いた、1 : 800 の血清希釈物で正常対照血清と罹患血清との間に明確な違いがある E L I S A 実験を示す。無色の基質を添加し、結合 H R P 酵素と反応する時に色を変える ( 青色 ) 。

20

【 0 2 3 6 】

図 5 2 は、疾患血清 ( A ) および正常血清 ( B ) のさまざまな血清希釈物での E L I S A 試験のさまざまな A D ペプチドを比較する滴定データを示す。正常血清には信号の強度がないが、濃度が 1 : 12 , 800 ~ 1 : 200 に上昇するにつれて、A D ペプチドに明確な違いが現れ、そのすべてに強度がある。

【 0 2 3 7 】

図 5 3 は、さまざまな段階のアルツハイマー病 (あるいは同疾患ではない) での A D 患者の非盲検試料セットの臨床診断と、同じ患者血清試料 (盲検) から得られ、かつ疾患関連抗体を検出するために A D P 3 ペプチドに対してスクリーニングされたデータとの相関関係を検証する図を示す。示された結果は、M a y o C l i n i c J a c k s o n v i l l e からの血漿試料の盲検からのものである。U N D = 未決定。プロットは、1 つの血清濃度 ( 1 : 800 ) 希釈物を取り入れることから得られる。1 を超える測定値は陽性で見なし、1 ~ 0 . 7 の測定値は未決定で見なし、0 . 7 未満の測定値は陰性で見なし。

30

【 0 2 3 8 】

図 5 4 は、さまざまな段階のアルツハイマー病 (あるいは同疾患ではない) での A D 患者の非盲検試料セットの臨床診断と、同じ患者血清試料 (盲検) から得られ、かつ疾患関連抗体を検出するために本発明のさまざまな A D ペプチド (プロットは 9 種類のペプチドの結果の平均値である) に対してスクリーニングされたデータとの相関関係を検証する図を示す。示された結果は、M a y o C l i n i c J a c k s o n v i l l e からの血漿試料の盲検からのものである。U N D = 未決定。プロットは、1 つの血清濃度 ( 1 : 800 ) 希釈物を取り入れることから得られる。1 を超える測定値は陽性で見なし、1 ~ 0 . 7 の測定値は未決定で見なし、0 . 7 未満の測定値は陰性で見なし。

40

【 0 2 3 9 】

図 5 5 は、さまざまな段階のアルツハイマー病 (あるいは同疾患ではない) での A D 患者の非盲検試料セットの臨床診断と、同じ患者血清試料 (盲検) から得られ、かつ疾患関連抗体を検出するために本発明のさまざまな A D ペプチドに対してスクリーニングされたデータとの相関関係を検証する図を示す。示された結果は、M a y o C l i n i c

50

Jacksonvilleからの血漿試料の盲検からのものである。UND = 未決定。プロットは、1つの血清濃度(1:800)希釈物を取り入れることから得られる。1を超える測定値は陽性で見なし、1~0.7の測定値は未決定で見なし、0.7未満の測定値は陰性で見なし。データは、MCI/鬱病試料に標識が付けられ、レビー小体型認知症試料も印が付けられる他の認知症に関する効果も示す。データからは、少なくとも3人のMCI患者が、本発明のAD選択的ペプチドによって捕らえられる抗体のうちの1つ以上の検出可能量の血清試料を持ちことが分かる。

【0240】

図56A~Dは、複数のADペプチドを用いたOpko Healthペプチド診断分析と、非盲検時にこの情報が示された後の臨床診断との不一致を有する患者からの試料の小集団に関するデータを示す。図56Aは、臨床的に病気に罹っているが、OpkoペプチドPlaag4が1.0未満(1箇所ではUND; 滴定AD陽性)であった患者に対して示されるペプチドADP3およびその他に関するデータを示す。他のすべてのOpkoペプチドはADに対して陽性(すなわち、1.0超)であった。図56Bから、正常(非認知症)示唆前ADと現在診断されている患者の疾患関連抗体に対してOpkoペプチドは陽性であったことが分かる。図56Cから、Opko ADペプチドが、患者が認知症の他のいくつかの形態を有することを示唆するADと臨床的に診断されている患者のいずれの希釈点においても1超の強度を示さなかったことが分かる。図56Dから、臨床的に陽性のAD患者では、疾患関連抗体に対して複数のOpko ADペプチドが陽性ではないが、2種類のペプチド(P1aag6およびP1aag4)は陽性であり、それ故に1箇所ではUNDであり、滴定後でもUNDであったことが分かる。

【0241】

図57は、ADP3が配置されたマイクロアレイを用いて以前のAD試料から作成されたクラスタ図を示す。マイクロアレイデータおよびELISAプラットフォームを用いて作成されたデータでの罹患と対照との間には明確な相関関係がある。図57から、アルツハイマー病に関連し、パーキンソン病または狼瘡(SLE)に関連しない疾患関連抗体にADP3ペプチドが選ばれることが分かる。

【0242】

図58は、合計106種の試験された血清試料を用いたELISA分析の要約を示す。このデータでは、シングルポイントデータから9個の試料を呼び出すことができなかった(臨床的に、4個がAD、5個が正常)。滴定曲線の観察によって、9個のうち3個を臨床データに一致するものとして割り当てた。6個は不明なままである(さまざまなペプチドのうちで不一致)。

【0243】

図59は、P1aag7~9の化学構造を示す。

【0244】

アルツハイマー病に関連した疾患関連抗体を検出するOpko診断法に関する上図で示されたデータによって、本明細書で開示および列挙された方法が、アルツハイマー病の発症を確認および/または予測するための強力なツールであることを確認し、および/または神経疾患または神経障害が軽度認知機能障害のような他のいくつかの神経障害であることを確認する。データは、疾患関連抗体を検出する特定のペプチドおよび方法を請求および開示する先願特許を明確に裏付けている。本明細書では、新しく新規で高速なスクリーニングプロセスを通じて発見された完全に新規のペプチドを、マイクロアレイを含む複数のプラットフォームで、およびさまざまな段階のアルツハイマー病症状を持つ患者の臨床データに対するELISAで検証し、盲検後に実際の臨床データと有意に相関関係があった。

【0245】

実施例4 膵臓癌スクリーニング

【0246】

膵臓癌患者からの血清のスクリーニングを行うために、血清ペプチドライブラリーを

10

20

30

40

50

作成した。2つのライブラリー（JC3BおよびJC5B）を合成した。膵臓癌バイオマーカーに対するスクリーニングで合計26件のヒットが得られた。JC3Bライブラリーは、ジアミノブタン；R-メチルベンジルアミン；イソブチルアミン；シクロヘキシルアミン；ピペロニルアミン；4-（アミノエチル）ベンゼンスルホンアミド；フルフリルアミンおよび2-メトキシエチルアミンから選択されるアミノを含んだ。JC5Bライブラリーを、イソブチルアミン；2-メトキシエチルアミン；ジアミノブタン；フルフリルアミン；シクロヘキシルアミン；R-メチルベンジルアミン；ピペロニルアミン；4-（アミノエチル）ベンゼンスルホンアミドから選択されるアミノから構築した。スクリーニングには、各膵臓癌血清および対照血清の保存した6個の試料を使用した。JC3B条件：各罹患血清試料5 $\mu$ LのPBSブロッキングバッファー溶液4mLを使用し、および各正常血清試料5 $\mu$ Lの1X TBS溶液4mLを使用した。JC5B条件：罹患血清10 $\mu$ g/LのPBSブロッキングバッファー溶液4mLを使用し、および正常血清150 $\mu$ g/Lの1X TBS溶液4mLを使用した。Dynaビーズスクリーニング：ヤギ抗ヒトIgG Dynaビーズ50 $\mu$ Lを1mLの1X TBSに添加した。非特異的ヒットを取り除くために、Dynaビーズスクリーニングを行った。Quantum dotスクリーニング：ヤギ抗ヒトIgG Quantum Dot 655を1X TBSに10 $\mu$ L/1mLの量で添加した；ヒットを取り除くためにUV顕微鏡を用いてスクリーニングした。ヒット検証：JC3B：ヒットをスクリーニングするために、2 $\mu$ Lの各対照PC試料を1mLの1X TBSに添加した；赤色（非特異的）ビーズを取り除き；ヒットをスクリーニングするために、2 $\mu$ Lの各罹患PC試料を1mLのブロッキングバッファーに添加した；赤色ビーズ（実際のヒット）を取り除き、および配列決定のために開裂させた。DynaビーズヒットおよびQ dotヒットの両方にこれを行った。12件のヒットを再確認した。JC5B：ヒットに対して、50 $\mu$ g/mLの保存罹患試料を1mLのブロッキングバッファーに添加した；ヒットに対して、15 $\mu$ g/mLの保存対照試料を1X TBSに添加した；赤色ビーズ（実際のヒット）を取り除き、および配列決定のために開裂させた；DynaビーズヒットおよびQ dotヒットの両方にこれを行った。14件のヒットを再確認した。

#### 【0247】

図22（左の写真）では、膵臓癌患者からの血清とともにペプチドライブラリーをインキュベートした。その後、二次検出抗体（Quantum dot 655（Introrgen）で標識化されたヤギ抗ヒトIgG）とともにライブラリーをインキュベートした。DAPIフィルターを含むUV顕微鏡下でヒットビーズを検出し、赤色のビーズを、今後のスクリーニングのために配列が決定されるヒットとして取り出した。

#### 【0248】

（右の写真）：膵臓癌疾患ヒットをペプチドライブラリーから単離した後、残留抗体からヒットを取り払うために1%SDS洗浄を行った。次に、膵臓癌患者からの個別の血清試料とともに、その後、ヤギ抗ヒトIgG Quantum Dot 655とともにビーズをインキュベートした。その後、ビーズをUV顕微鏡下で可視化することで、ヒットが個別の試料で再確認されるかを確認した。一貫して再確認されたヒットを選んで配列決定を行った。

#### 【0249】

図23：（左）ヒット検証写真は、Tentagelスクリーニングの有効性を示す。膵臓癌疾患ヒットをペプチドライブラリーから単離した後、残留抗体からヒットを取り払うために1%SDS洗浄を行った。次に、膵臓癌患者からの個別の血清試料とともに、その後、ヤギ抗ヒトIgG Quantum Dot 655とともにビーズをインキュベートした。その後、ビーズをUV顕微鏡下で可視化することで、ヒットが個別の試料で再確認されるかを確認した。一貫して再確認されたヒットを選んで配列決定を行った。

#### 【0250】

（右）さらにSDS洗浄を行い、次に対照血清とともに、その後、ヤギ抗ヒトIgG Quantum Dot 655とともにビーズをインキュベートした。その後、ビーズ

をUV顕微鏡下で可視化することで、ヒットが個別の試料で再確認されるかを確認した。一貫して再確認されたヒットを選んで配列決定を行った。

【0251】

図24は、混合による膵臓癌スクリーニングでのヒット検証を示す。データから、マーカーは特定疾患に対して特異的であることが分かる(PC対AD)。

【0252】

図25は、JC3Bライブラリーからの膵臓癌リガンド(推定ヒット)を示す。

【0253】

図26は、JC5Bライブラリーからの膵臓癌リガンド(推定ヒット)を示す。

【0254】

実施例5 狼瘡スクリーニング

【0255】

図27は、正常対照に対するSLEライブラリースクリーニングでのSLEヒットを示す。KN1Bライブラリーを使用し、この特定スクリーニングで有用なことが分かった。ライブラリーおよび血清試料を除き、膵臓癌スクリーニングおよびADスクリーニングに対して、上記のように狼瘡スクリーニングで全く同じプロトコルを使用した。

【0256】

図28は、推定SLEヒットを示す。

【0257】

図29は、ヒット検証研究を示す。

【0258】

診断キットおよび方法

【0259】

図30は、2つの異なる結合法を用いた、ELISAプレートに対するSLE(狼瘡)ペプチドのうち1つの結合を示す。最初のケースでは、ストレプトアビジン処理プレートを通じてELISAプレートに「結合」する(これは非共有結合)「部分」としてビオチンを使用する。ペプチドはフルオレセインタグを有する。2番目のケースでは、ペプチド上のシステインはマレイミド処理ELISAプレートに共有結合する。両方のケースにおいて、約3mM超のmM濃度で有意なフルオレセイン信号が見られることがデータから分かる。

【0260】

図31は、さまざまな濃度の溶液中のプレートに結合した遊離KN1B-20-ビオチン-フルオレセインとKN1B-20-ビオチンの競合分析を示す。遊離KN1B-20-ビオチンの濃度が結合型対遊離型の等モル濃度から増加するにつれて、信号の低下が生じる。

【0261】

図32は、10mMでペプチドを有するELISAプレートを示し、そしてさまざまな血清希釈での罹患血清(列1)(AD)と正常対照血清(列3)の違いを明確に示す[1:200を倍にして1:400、1:800、1:1,600、1:3,200、1:6,400、1:12,800とした]。ADペプチドADP3を有するペプチドウェルは、10mMのペプチド濃度を有する。同様に図32は、140マイクロンピース上に40μg/mLの希釈血清濃度のTentagelプラットフォームに対して罹患試料と正常対照試料の間の明確な違いを示す。

【0262】

図33は、さまざまな濃度でペプチドを有するELISAプレートを示し、そしてさまざまな希釈での罹患血清(AD)と正常対照血清の違いを明確に示す[1:200を1:12,800とした]。矢印は、1:800血清希釈物での10mM ADP3のデータを示す。

【0263】

図34は、10mMでペプチドを有するELISAプレートを示し、そしてさまざま

10

20

30

40

50

な血清希釈物 [ 1 : 2 0 0 ~ 1 : 1 2 , 8 0 0 ] での罹患血清 ( S L E ) と正常対照血清の違いを明確に示す。 S L E - K N 1 B - 2 0 ( 1 0 m M ) を用いた罹患血清と対照との間の明確な違いがデータから分かる。総タンパク量を説明することを条件に、あらゆるスクリーニング方法で血漿も利用してもよい。

【 0 2 6 4 】

図 3 5 は、さまざまな血清希釈物で結合バッファー溶液に調製された 1 0 m M A D P 3 を用いた A D 血清 E L I S A グラフを示す。 1 : 2 0 0 ~ 約 1 : 1 0 , 0 0 0 の希釈範囲にわたって、正常血清と罹患血清の分離が起こった。開始希釈物は 1 : 2 0 0 だった ( 群 1 A D 血清 0 . 3 9 4 m g / m L および非罹患血清 0 . 3 8 6 m g / m L ) 。

【 0 2 6 5 】

図 3 6 は、さまざまな血清希釈物で結合バッファー溶液に調製された 1 0 m M K N 1 B - 2 0 を用いた S L E 血清 E L I S A グラフを示す。 1 : 2 0 0 ~ 約 1 : 1 0 , 0 0 0 の希釈範囲にわたって、正常血清と罹患血清の分離が起こった。開始希釈物は 1 : 2 0 0 だった ( 群 1 S L E 血清 0 . 3 7 5 m g / m L および非罹患血清 0 . 3 9 6 m g / m L ) 。

【 0 2 6 6 】

図 3 7 は、さまざまな血清希釈物で D M S O 溶液に調製された 1 0 m M K N 1 B - 2 0 を用いた S L E 血清 E L I S A グラフを示す。 1 : 2 0 0 ~ 約 1 : 1 0 , 0 0 0 の希釈範囲にわたって、正常血清と罹患血清の分離が起こった。開始希釈物は 1 : 2 0 0 だった ( 群 1 S L E 血清 0 . 3 6 7 m g / m L および非罹患血清 0 . 3 2 2 m g / m L ) 。

【 0 2 6 7 】

図 3 8 は、 T e n t a g e l ビーズヒット検証のための F A C S プラットフォームを示す。

【 0 2 6 8 】

図 3 9 は、さまざまな濃度 ( 1 0 0 μ g / m L ~ 1 , 0 0 0 μ g / m L ) の血清で、そして抗 D N P 標識二次抗体による治療に反応した、アセチル基を有するビーズと 2 , 5 - ジニトロフェニル基 ( D N P ) を有するビーズの分離度を示す。平均蛍光強度 ( M F I ) 分離は、血清 1 , 0 0 0 μ g / m L の高希釈物で最大だった。

【 0 2 6 9 】

図 4 0 は、 1 , 0 0 0 μ g / m L の血清濃度で遊離型エタノールアミン - D N P と抗 D N P 抗体に対する D N P ( プレート上 ) の結合との直接的な競合があることを示す。

【 0 2 7 0 】

図 4 1 は、保存正常対照血清と保存 A D 血清からの A D P 3 結合抗体を示す。データは、2つの異なる二次抗体 ( ヤギ抗ヒト D y l i g h t 6 4 9 およびヤギ抗ヒト A l e x a 6 4 7 ) を用いて 2 0 ~ 1 4 0 μ g / m L の濃度範囲の血清で良好な分離を示す。

【 0 2 7 1 】

図 4 2 は、さまざまな血清濃度範囲でのバックグラウンド減算後の正常対照血清および A D 血清からの A D P 3 結合自己抗体を示す。 2 0 μ g / m L 未満ないし 1 2 0 μ g / m L 以上の大部分の血清濃度で、有意な程度の分離がある。

【 0 2 7 2 】

図 4 3 および 4 4 は、 S L E ( 狼瘡 ) 再合成ペプチドリガンドヒットの構造を示す

【 0 2 7 3 】

図 4 5 は、 1 0 μ m T e n t a g e l ビーズ上での A D P 3 の調製、および示されたラクトンの質量分析測定値と一緒に C N B r を用いた開裂を示す。

【 0 2 7 4 】

図 4 6 は、さまざまな濃度での正常対照血清およびアルツハイマー病血清からの A D P 3 結合自己抗体を示す。 1 X T B S T で 3 時間、ビーズを事前ブロックし、ヤギ抗ヒト A l e x a 6 4 7 二次抗体を用いて検出した。

【 0 2 7 5 】

図 4 7 は、さまざまな血清濃度での正常対照血清およびアルツハイマー病血清からの A

10

20

30

40

50

D P 3 結合自己抗体を示し、D N P 値も示す。

【0276】

図48および49は、大腸菌溶解物およびリシンなどの事前ブロック条件を用いた正常対照血清およびアルツハイマー病血清からのADP3結合自己抗体を示す。

【0277】

E L I S A プロトコル

【0278】

Thermo Scientificから96ウェルマレイミド活性化プレート入手し、Beckman Coulterのプレート洗浄機を用いて400 $\mu$ L/ウェルの洗浄バッファー(0.1Mリン酸ナトリウム、0.15M塩化ナトリウム、0.05% Tween 20, pH7.2)で3回洗浄した。PBS結合バッファー(0.10Mリン酸ナトリウム、0.15M塩化ナトリウム、10mM EDTA, pH7.2)で、目的のペプチドを10mMに希釈し、このペプチド溶液200 $\mu$ Lを適当なウェルに加えた。その後、500rpmで振とうしながら、室温で暗所にて2時間、プレートをインキュベートしたままにした。その後、プレート洗浄機を用いてウェルからペプチド溶液を吸い取り、400 $\mu$ L/ウェルの洗浄バッファーで3回再洗浄した。L-システイン HCL: 結合バッファーでH2O(Thermo Scientific)を10 $\mu$ L/mLに希釈し、200 $\mu$ L/ウェルで添加した。その後、500rpmで振とうしながら、室温で暗所にて1時間、プレートをインキュベートし、3回洗浄した。Starting Block(商標)(PBS)ブロッキングバッファー(Thermo Scientific)200 $\mu$ Lをウェルに添加し、500rpmで振とうしながら、4で暗所にて1時間、プレートをインキュベートした。プレート洗浄機を用いてプレートを3回洗浄し、1:200から希薄になる方向に結合バッファーで連続的に希釈することで血清試料を調製した。試料濃度が同様になるように、nano-drop(Thermo Scientific)を用いて1:200濃度の試料原液を用いた。次の希釈物を調製する前に、各希釈試料をボルテックスにかけた。血清(罹患と正常の両方)の適切な希釈物200 $\mu$ Lのほか、対照として血清を含まない結合バッファーもプレートに添加した。500rpmで振とうしながら、室温で暗所にて2時間、血清をインキュベートしたままにした。プレートを再洗浄し、ヤギ抗ヒトIgG HRP(Milipore)の1:30,000希釈物の結合バッファー溶液200 $\mu$ Lを適切なウェルに添加し、暗所にて500rpmで振とうしながら30分間、室温でインキュベートした。プレートを3回洗浄し、TMB(3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン)溶液100 $\mu$ Lを各ウェルに添加し、暗所の作業台上で30分間、発色させた。反応を停止させるために2M硫酸停止液100 $\mu$ Lを添加し、プレートリーダーを用いて450の吸光度で読み取った。

【0279】

したがって、いずれの場合にも、各疾患またはすべての疾患に関して、そのようなマーカーに結合した疾患関連バイオマーカーおよびリガンドを迅速に発見するために、本発明のプロセスを利用してもよい。その後、これらのリガンド(リガンドからなるこの大きなプール)を診断および/または治療目的に使用できる。診断プラットフォームとしては、マイクロアレイ、ビーズベース方法、およびELISAシステムが挙げられる。上記で利用される条件は、本発明の重要な一面を含む。これらの条件には、血清の希釈範囲のほか、ビーズまたはウェルでの特定ペプチドの濃度、および検出方法も含む。ビーズ上にペプチドを有するビーズの数は、特定の試験キットまたはスクリーニングキットに応じて異なる場合がある。これらの数は、ビーズ/リガンドが本明細書で列挙された初期スクリーニングプロトコルおよび方法で使用されるかどうか、および/または高親和性リガンドの発見に基づく試験キットで使用されるかに応じて異なる場合がある。

【0280】

本発明の広範囲に及ぶ発明概念から逸脱せずに、上述の実施形態に対して変更を行うことができることは、当業者に高く評価されるであろう。そのため、当然のことながら、本発明は開示された特定の実施形態に限定されないが、添付した特許請求の範囲に定められ

10

20

30

40

50

る本発明の精神および範囲内にある修正を対象とすることを意図としている。

【 図 1 】

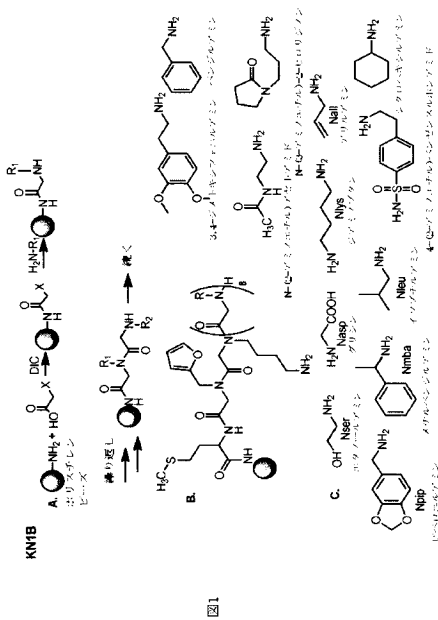


図1

【 図 2 】

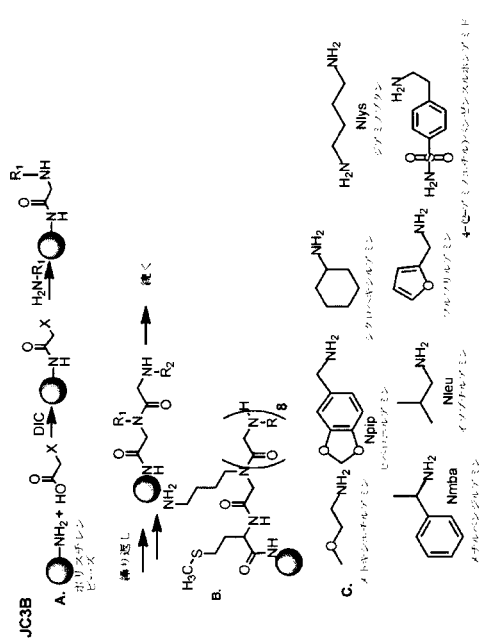
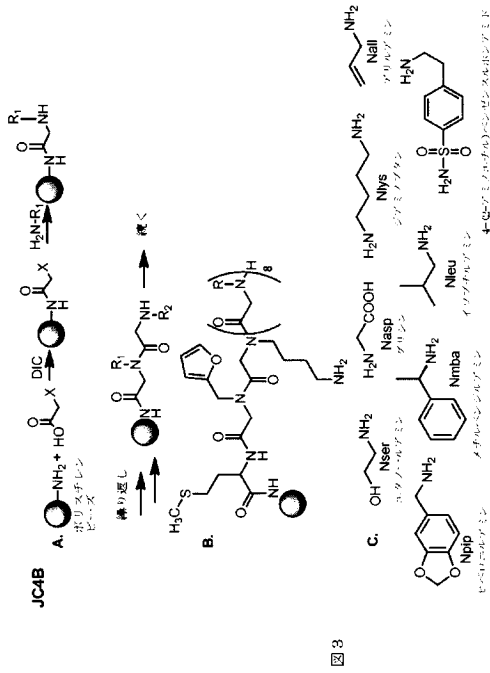
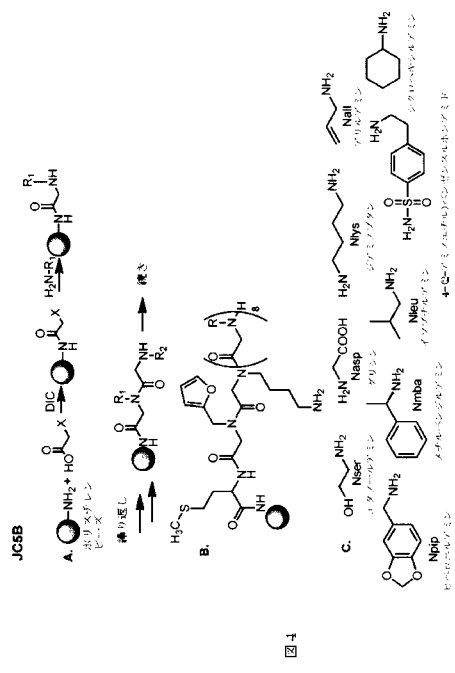


図2

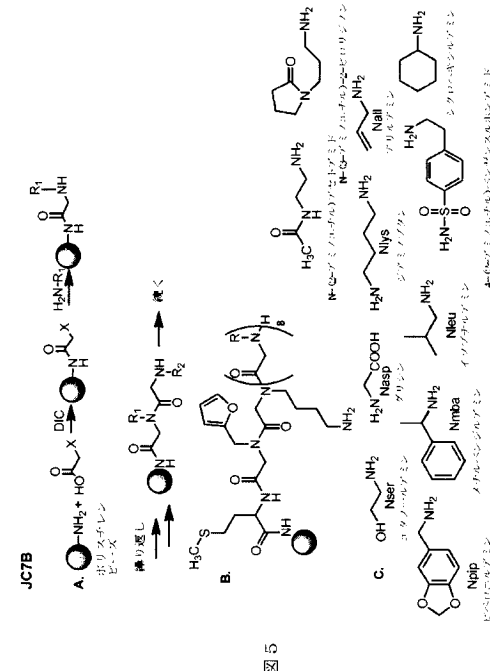
【 図 3 】



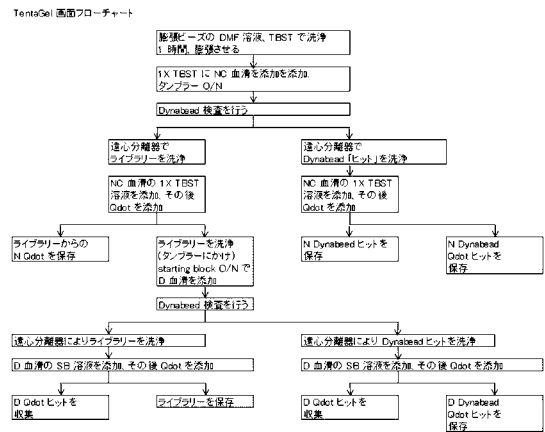
【 図 4 】



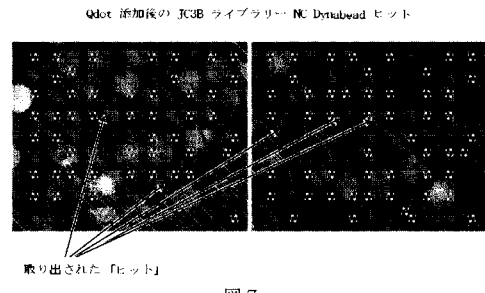
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】

疾患血清による TetraGel ライブアタリ・スクリーニング

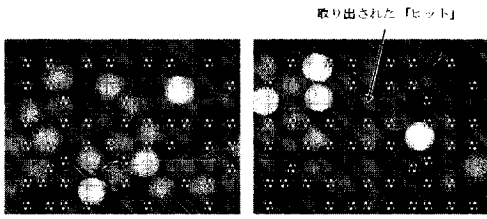
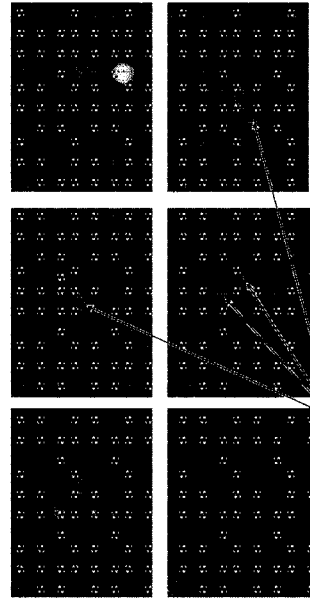


図 8

【 図 9 】



再現性試験 (SIS 洗浄および Qdot 添加後の NC 試料 030063)

図 9

配列決定のために取り出された

【 図 10 】

再現性試験 (SIS 洗浄および Qdot 添加後の NC 試料 050047)

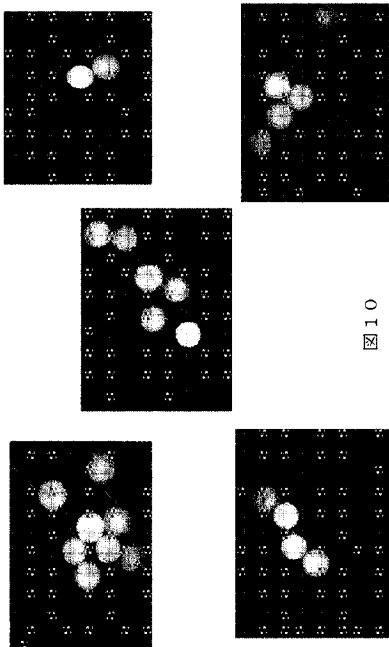


図 10

【 図 11 】

再現性試験 (SIS 洗浄および Qdot 添加後の腫瘍試料)

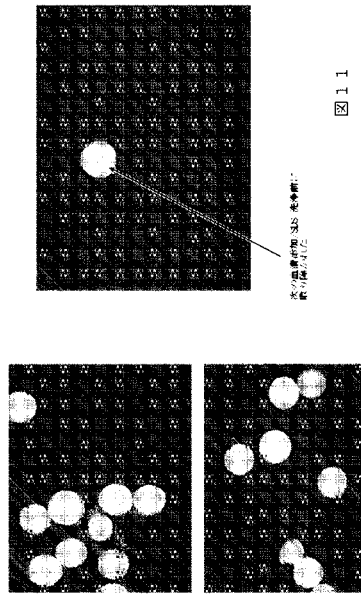


図 11

その位置が加 SIS 洗浄時に  
取り出された



【 図 1 4 】

統合実験

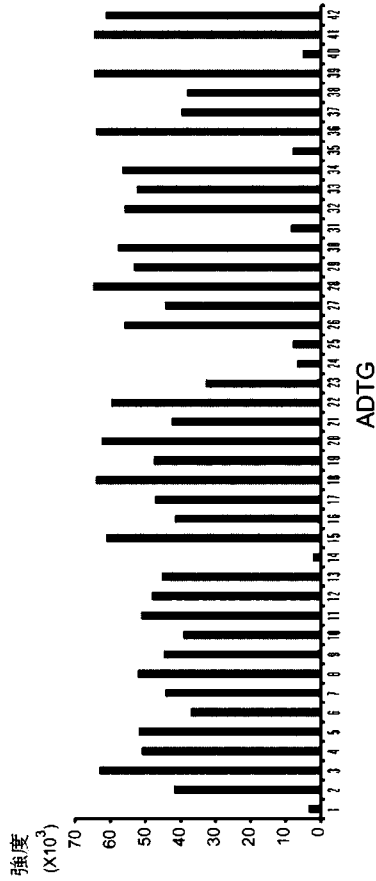


図 1 4

【 図 1 5 B 】

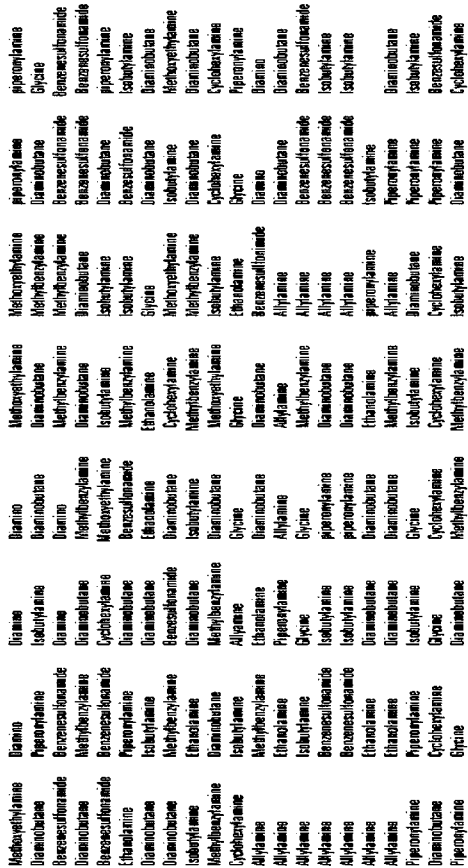


図 1 5 B

【 図 1 5 A 】

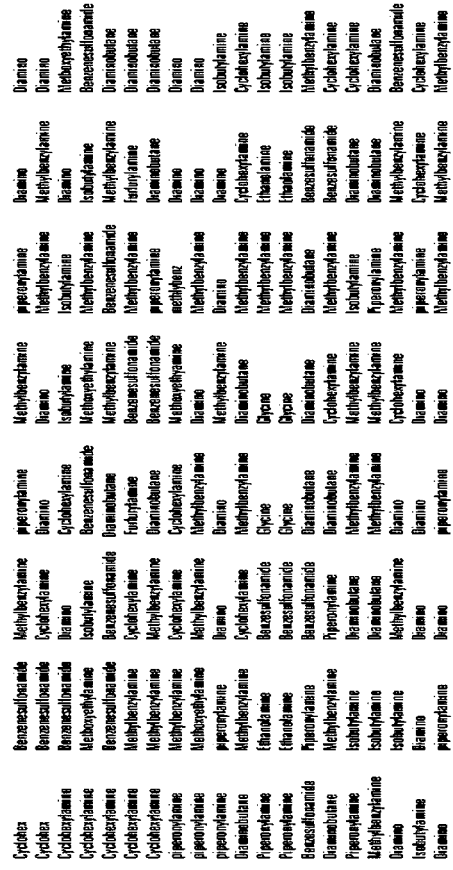


図 1 5 A

【 図 1 6 A 】

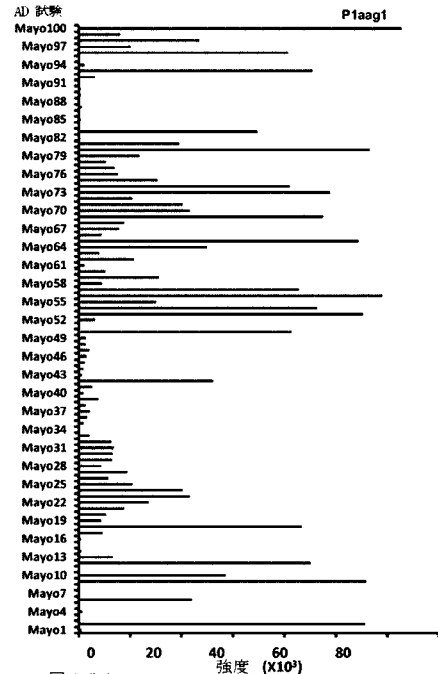
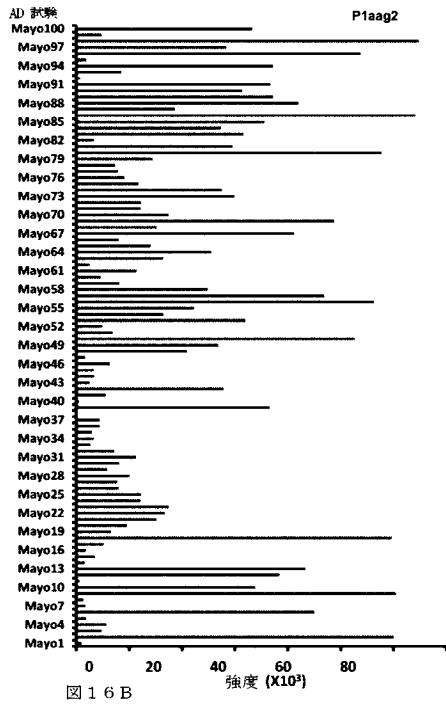
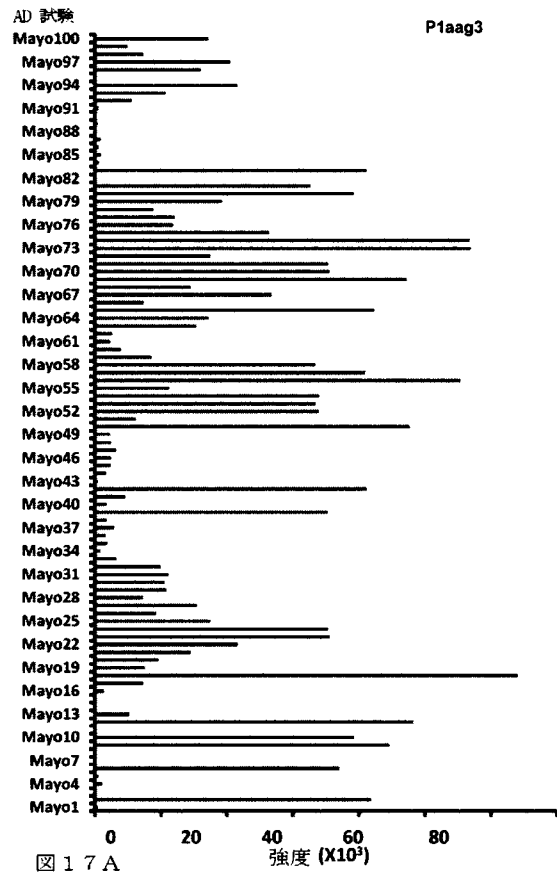


図 1 6 A

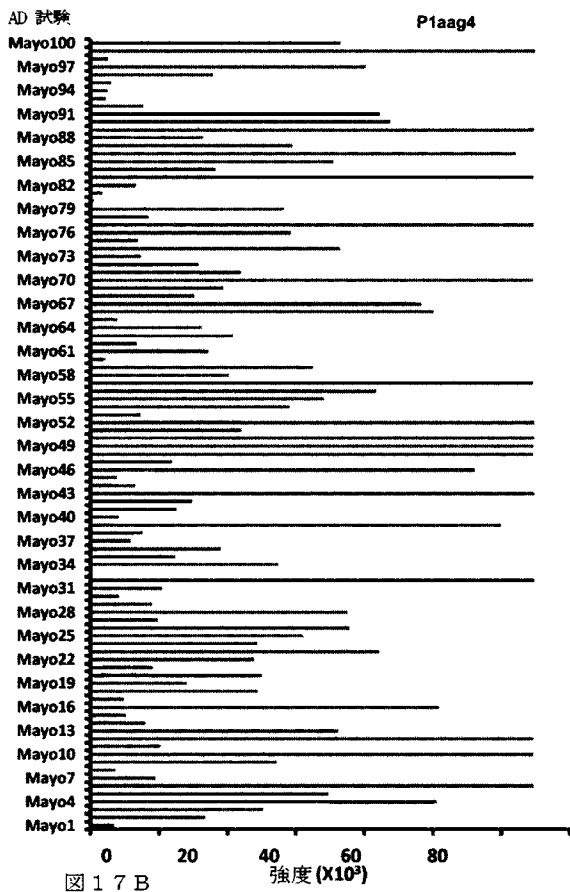
【 図 1 6 B 】



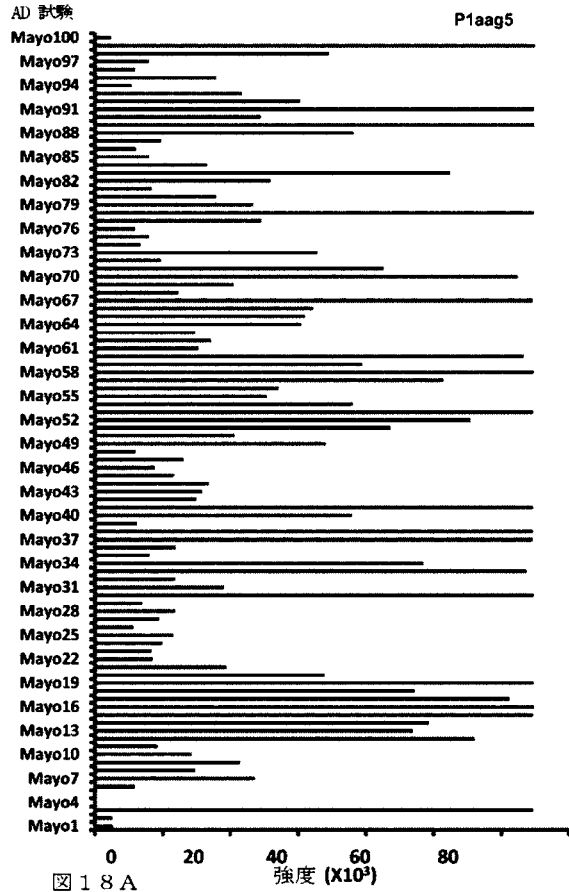
【 図 1 7 A 】



【 図 1 7 B 】



【 図 1 8 A 】



【 図 1 8 B 】

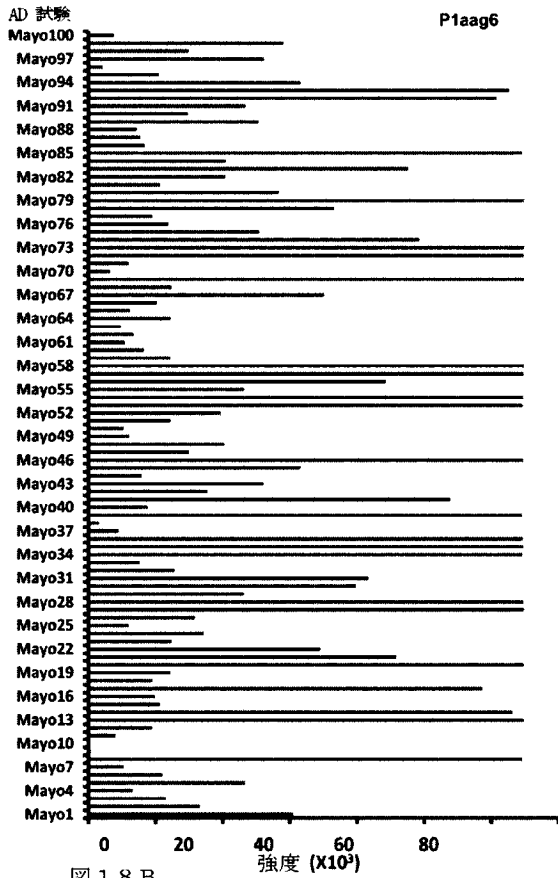


図 1 8 B

【 図 1 9 A 】

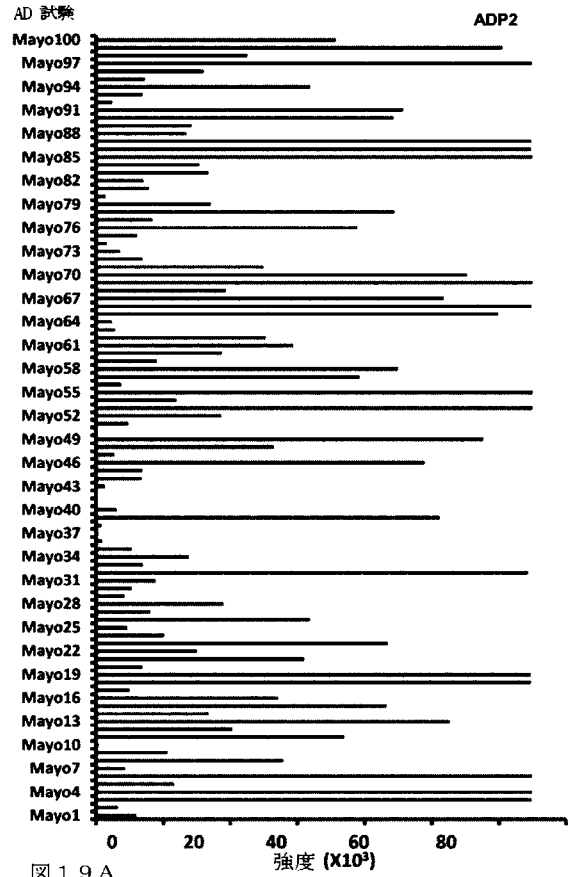


図 1 9 A

【 図 1 9 B 】

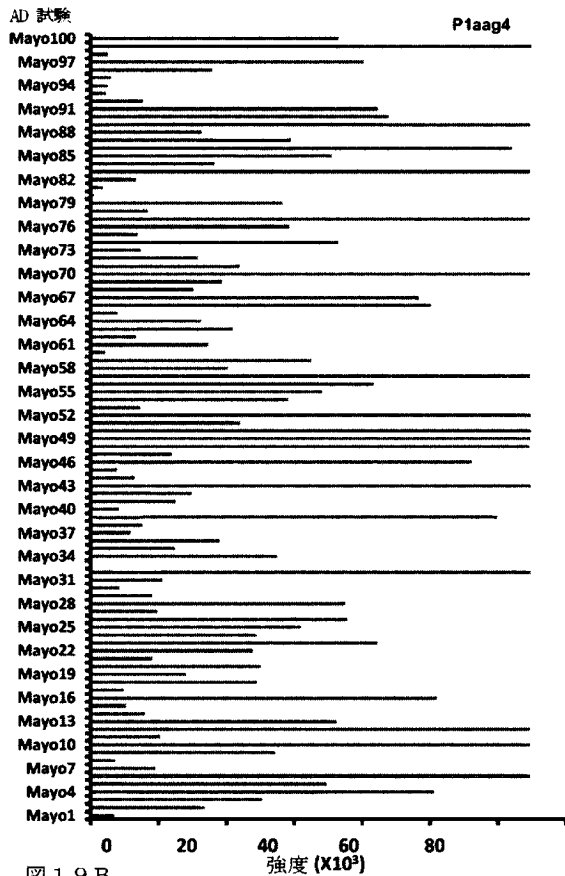


図 1 9 B

【 図 2 0 A 】

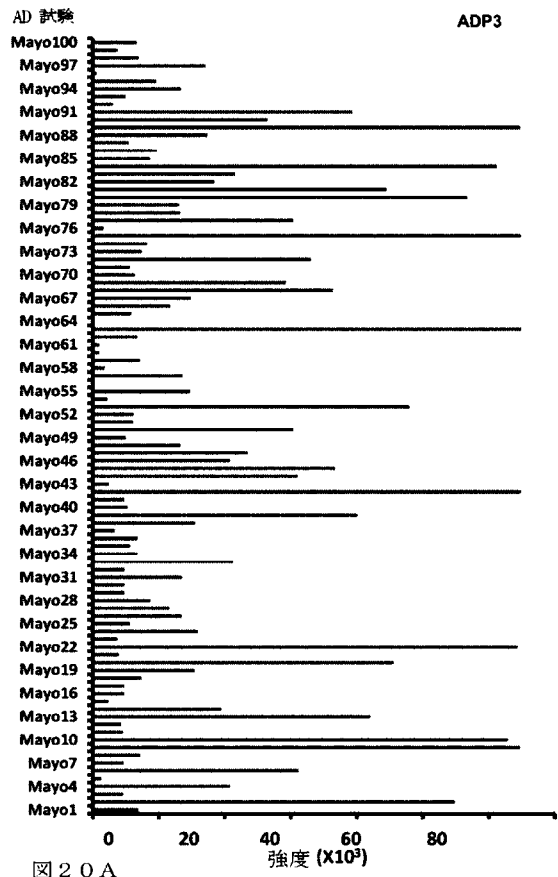


図 2 0 A





【 図 3 0 】

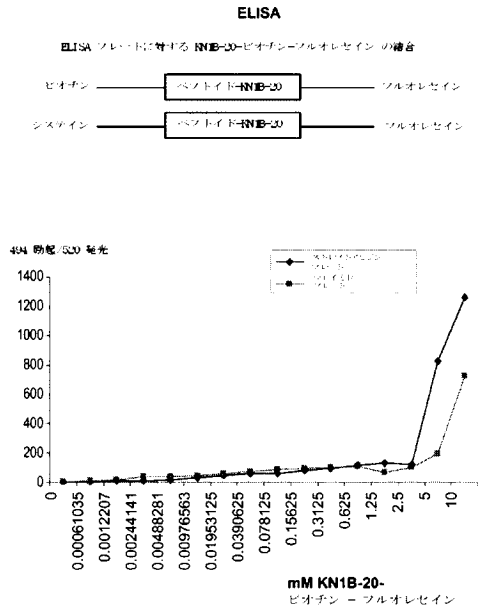


図 3 0

【 図 3 1 】

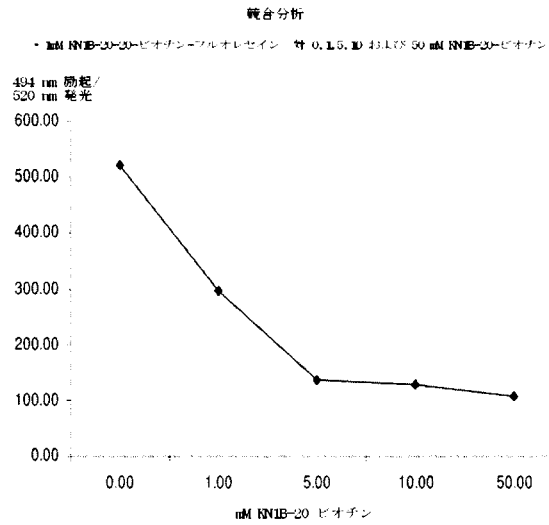


図 3 1

【 図 3 2 】

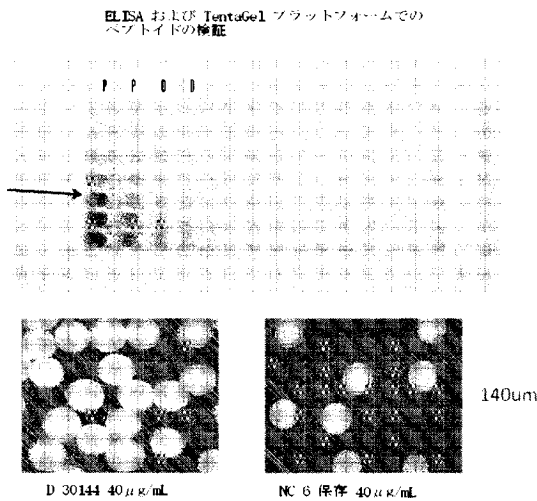


図 3 2

【 図 3 3 】

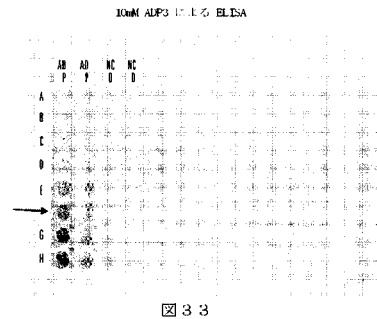


図 3 3

【 図 3 4 】

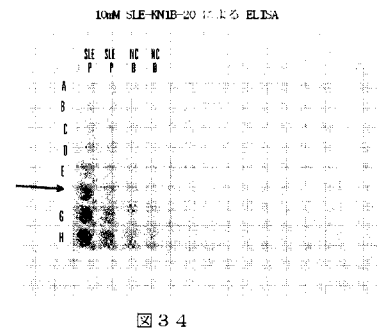


図 3 4

【 図 3 5 】

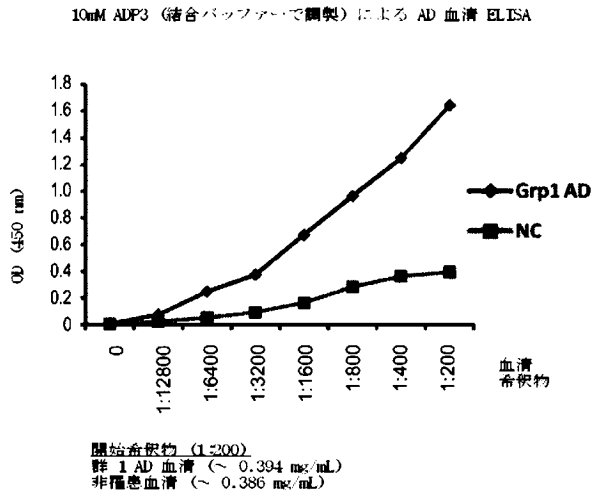


図 3 5

【 図 3 6 】

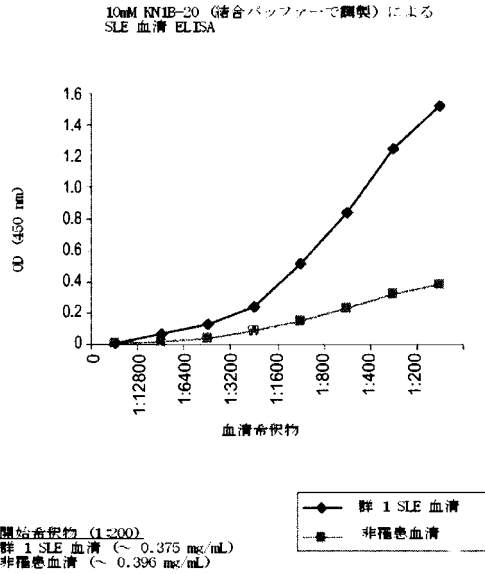


図 3 6

【 図 3 7 】

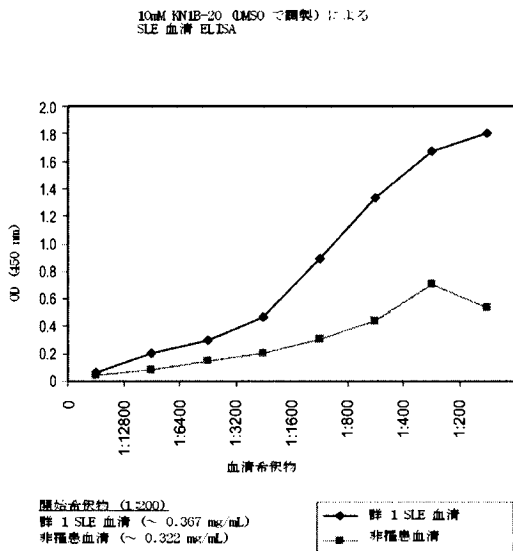


図 3 7

【 図 3 8 】

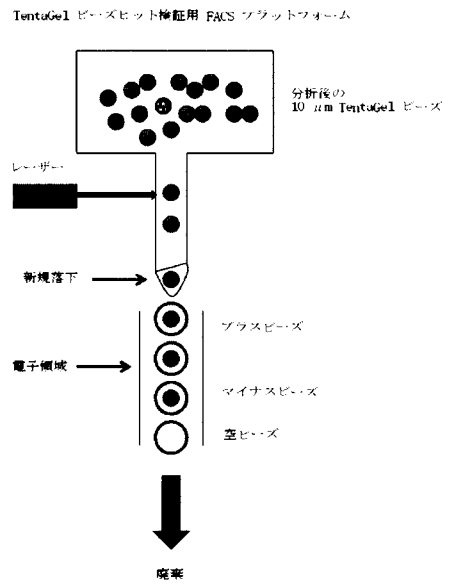
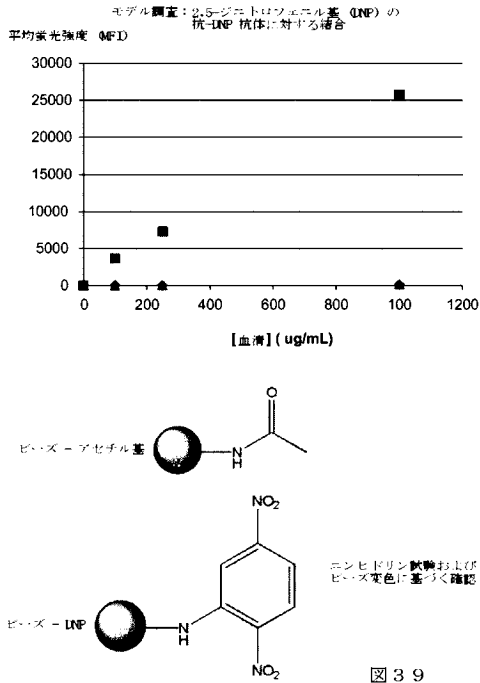
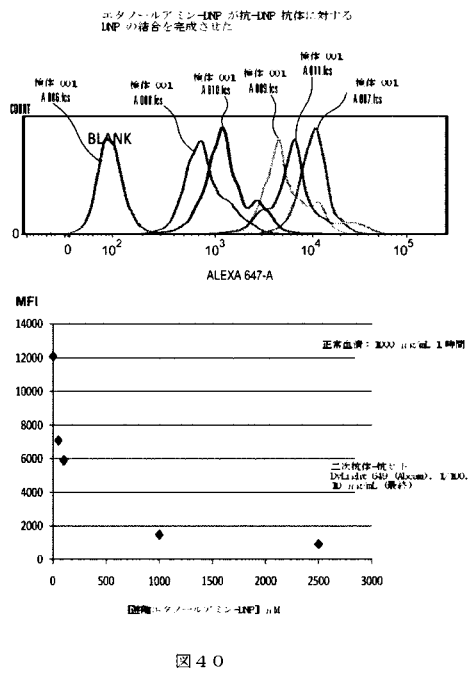


図 3 8

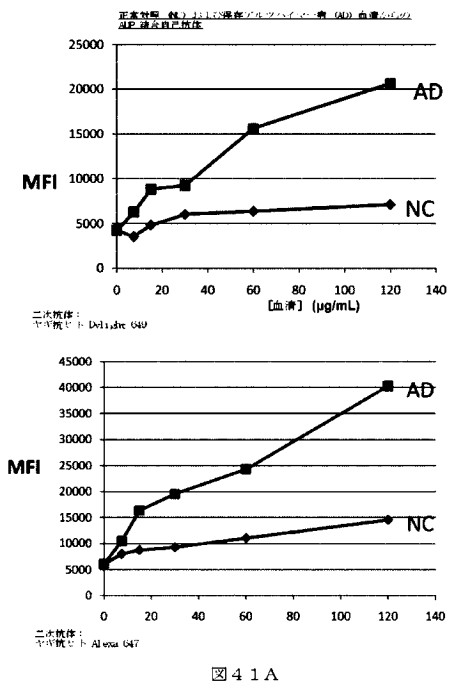
【 図 3 9 】



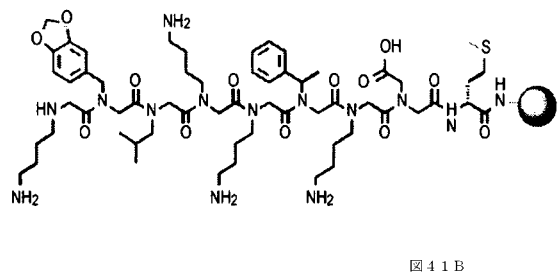
【 図 4 0 】



【 図 4 1 A 】



【 図 4 1 B 】



【 図 4 2 】

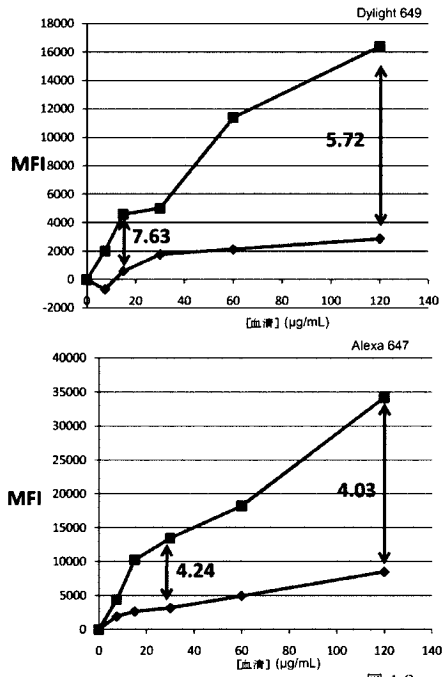


図 4 2

【 図 4 3 A 】

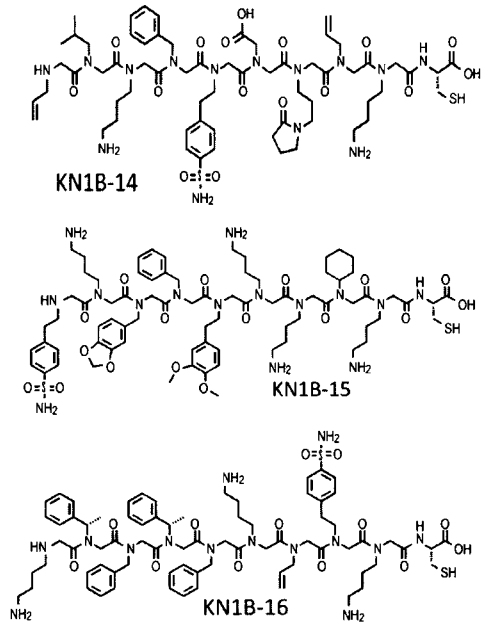


図 4 3 A

【 図 4 3 B 】

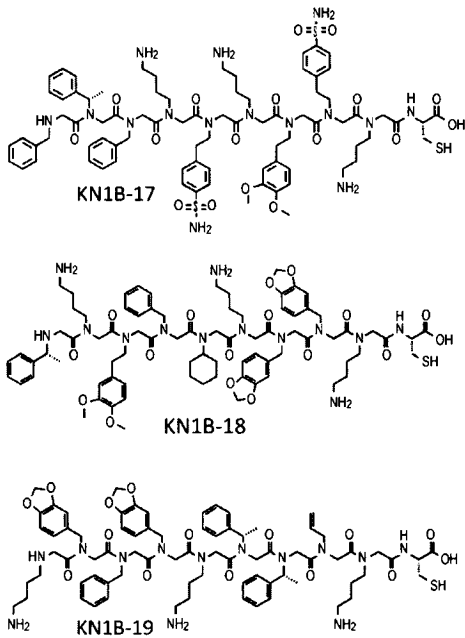


図 4 3 B

【 図 4 4 】

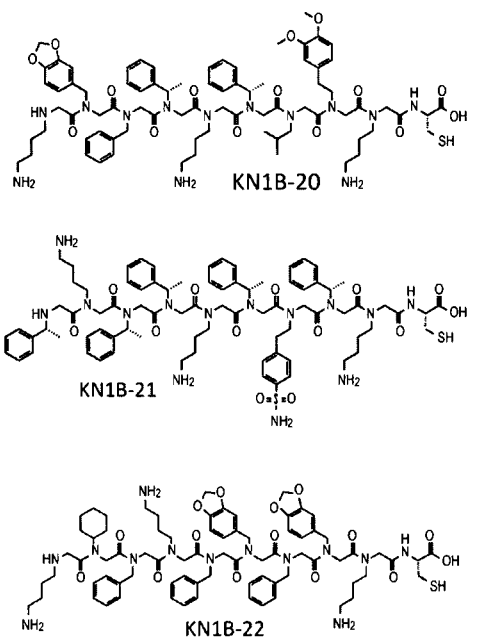
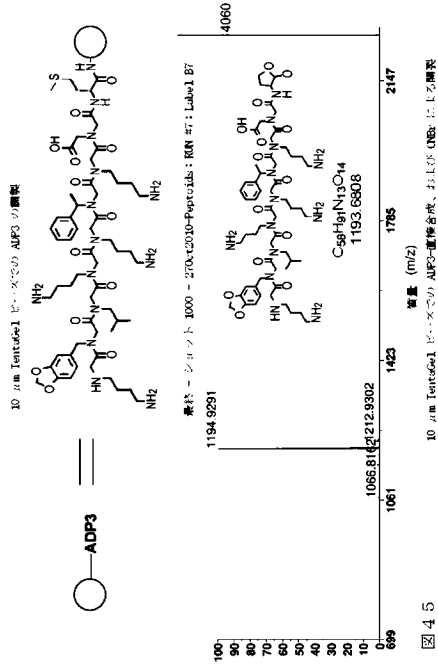
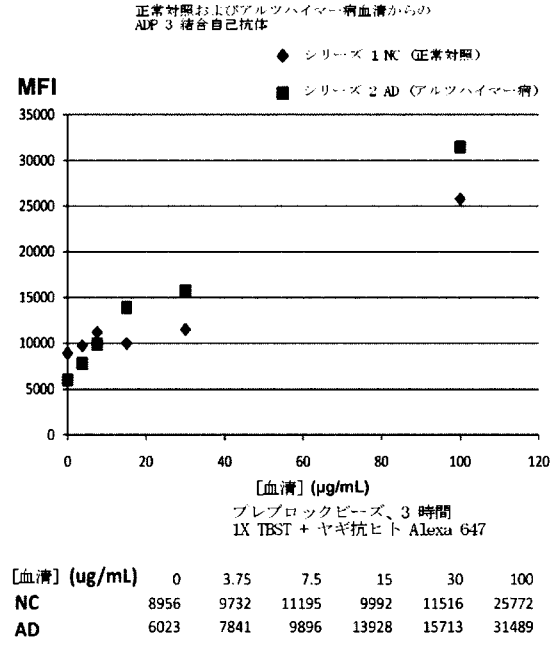


図 4 4

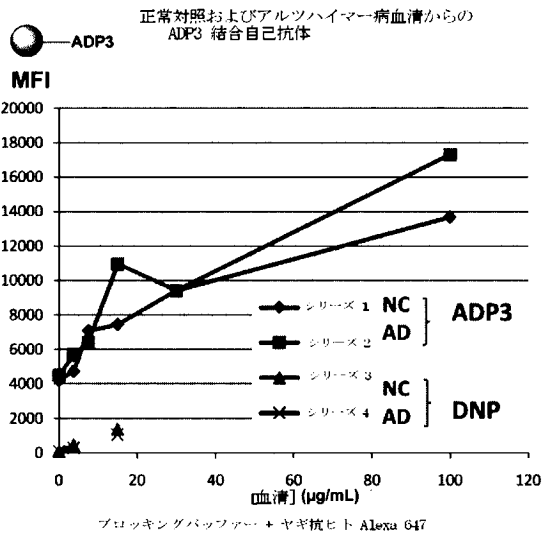
【 図 4 5 】



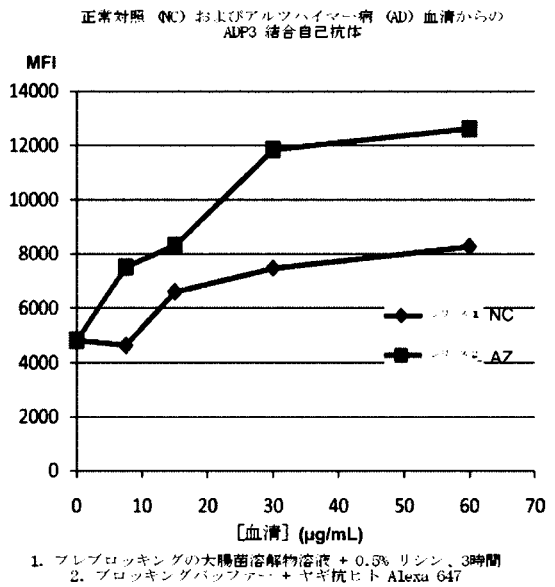
【 図 4 6 】



【 図 4 7 】



【 図 4 8 】





【 図 5 3 】

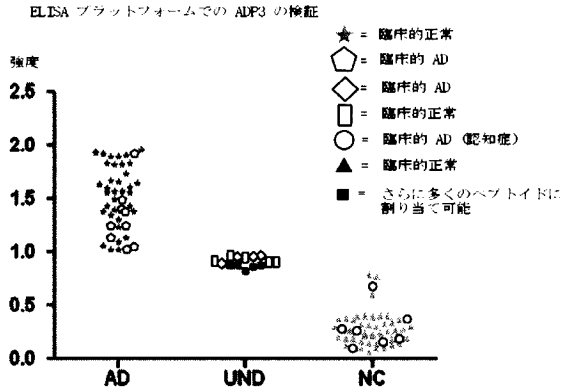


図 5 3

【 図 5 4 】

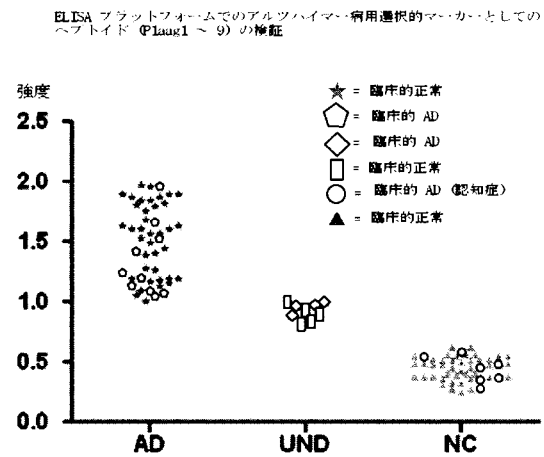


図 5 4

【 図 5 5 】

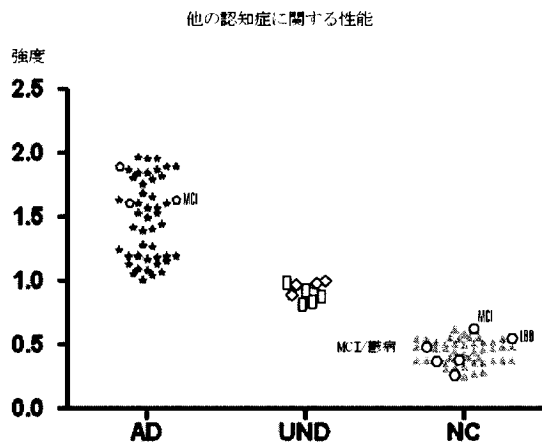
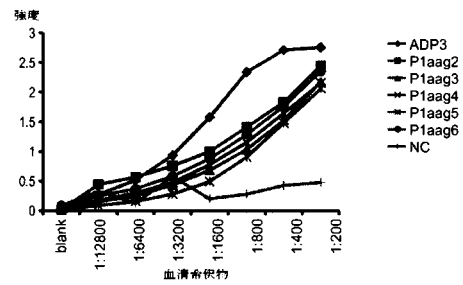


図 5 5

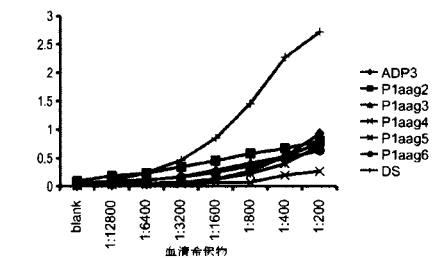
【 図 5 6 B 】



臨床的に正常 (非認知症)  
Opko: 1 点のみ, pre-AD

図 5 6 B

【 図 5 6 C 】



臨床的 AD (認知症)  
Opko: AD ではない, 他の認知症に違いなし

図 5 6 C

【 図 5 6 A 】

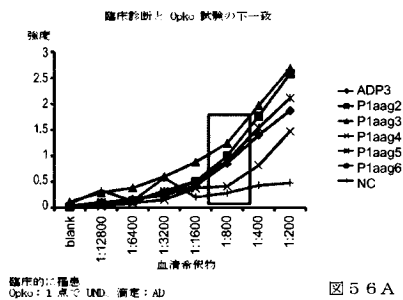


図 5 6 A

【 図 5 6 D 】

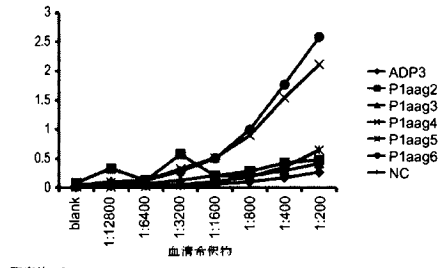


図 5 6 D

【 図 5 8 】

ELISA 分析の要約  
試験実施血漿試料の総数 = 106

臨床診断	我々の予測	差
49 アルツハイマー病	42	7 (14%)
57 正常	47	10 (17%)

図 5 8

【 図 5 7 】

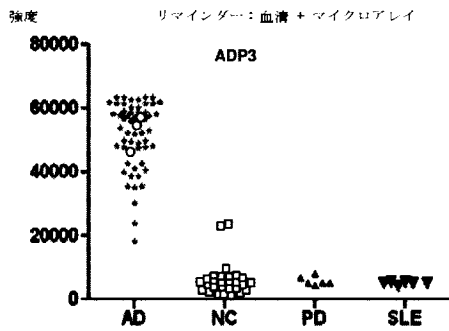
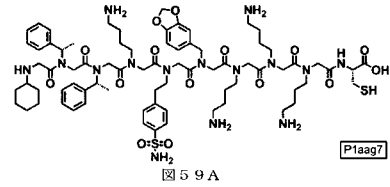
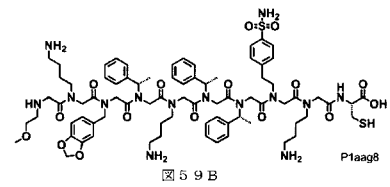


図 5 7

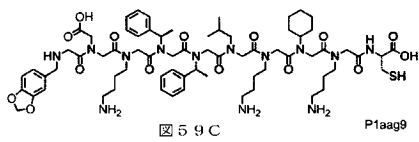
【 図 5 9 A 】



【 図 5 9 B 】



【 図 5 9 C 】



## 【手続補正書】

【提出日】平成25年11月20日(2013.11.20)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

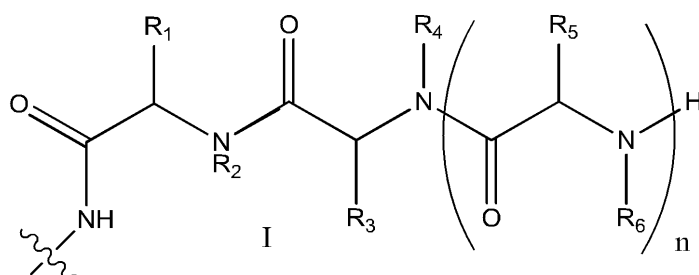
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

複合体液をスクリーニングするためのランダムリガンドライブラリーであって、支持体上に下記の式1で化合物を含む、ランダムリガンドライブラリー。

【化1】



式中、

R<sub>1</sub> は電子が豊富なアミノ酸側鎖 Y から選択され；R<sub>2</sub> は H から選択され；

R<sub>3</sub> ~ R<sub>6</sub> は、独立して、H、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルSCH<sub>3</sub>、-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>アルキルC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>アルキルC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルキニル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>COOH、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルOH、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルN(R)<sub>2</sub>、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>シクロアルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルアリール、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルヘテロアリール、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルNC(O)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルシクロアミドからなる群から選択され；

アリール及びヘテロアリール基は、互いに独立して、-OH、Cl、F、Br、-OCH<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、または-O-CH<sub>2</sub>-O-で置換されてもよい。

【請求項2】

請求項1に記載の、複合体液をスクリーニングするためのランダムリガンドライブラリーであって、

下記の(A)~(E)の群から選択される反応物の使用を含む処理によって生成された、下記の式1で表される化合物を支持体上に含むランダムリガンドライブラリー。

(A) フルフリルアミン；3,4-ジメトキシエタノールアミン；ベンジルアミン；N-(2-アミノエチル)アセトアミド；N-(3-アミノプロピル)-2-ピロリジノン；エタノールアミン；グリシン；ジアミノブタン；アリルキルアミン；ピペロニルアミン；メチルベンジルアミン；イソブチルアミン；4-(2-アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド、またはシクロヘキシルアミン；または

(B) メトキシエチルアミン；ピペロニルアミン；シクロヘキシルアミン；ジアミノブタン；メチルベンジルアミン；イソブチルアミン；フルフリルアミンまたは4-(2-アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド；または

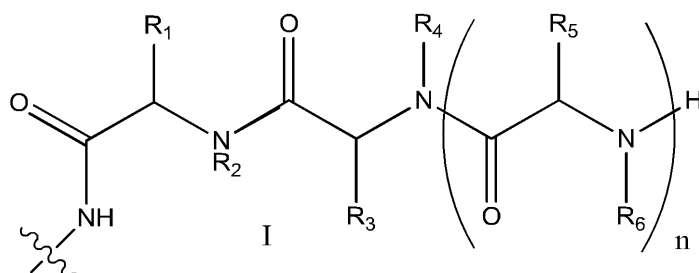
(C) フルフリルアミン、エタノールアミン；グリシン；ジアミノブタン；アリルアミン；ピペロニルアミン；メチルベンジルアミン；イソブチルアミンまたは4-(2-アミノエチル)ベンゼンスルホンアミド；または

(D) フルフリルアミン、N-(2-アミノエチル)アセトアミド；N-(3-アミノ

エチル) - 2 - ピロリジノン; エタノールアミン; グリシン; ジアミノブタン; アリルアミン; ピペロニルアミン; メチルベンジルアミン; イソブチルアミン; 4 - (2 - アミノエチル) ベンゼンスルホンアミド; または

(E) システイン、グリシン、アリルアミン、エタノールアミン、イソブチルアミン、メチルベンジルアミン、ピペロニルアミン、メチオニン、シクロヘキシルアミン、3, 4 - ジメトキシフェネチルアミン、ベンジルアミン、N - (2 - アミノエチル) アセトアミド、N - (3 - アミノプロピル) - 2 - ピロリドン、4 - (2 - アミノエチル) ベンゼンスルホンアミド、およびフルフリルアミン。

【化 1】



式中、

$R_1$  は、 $-(C_1 - C_6)SCH_3$  からなる群から選択され;

$R_2$  は H から選択され;

$R_3$  および  $R_5$  は、互いに独立して、H、 $-C_1 - C_6$  アルキル、 $-C_1 - C_6$  アルキル  $SCH_3$ 、 $-C_0 - C_6$  アルキル  $C_2 - C_6$  アルケニル、 $-C_0 - C_6$  アルキル  $C_2 - C_6$  アルキニル、 $-C_1 - C_6 COOH$ 、 $-C_1 - C_6$  アルキル  $OH$ 、 $-C_1 - C_6$  アルキル  $N(R)_2$ 、 $-C_3 - C_8$  シクロアルキル、 $-C_1 - C_6$  アルキルアリール、 $-C_1 - C_6$  アルキルヘテロアリール、 $-C_1 - C_6$  アルキル  $NC(O)C_1 - C_6$  アルキル、 $-C_1 - C_6$  アルキルシクロアミドからなる群から選択され、ここで、アリールまたはヘテロアリール基のいずれも、独立して、 $-OH$ 、 $Cl$ 、 $F$ 、 $Br$ 、 $-OCH_3$ 、 $-SO_2NH_2$ 、または  $-O - CH_2 - O -$  で置換されてもよく;

$R_4$  は、フルフリルまたは  $-(C_1 - C_6 \text{ アルキル})NR_7R_8$  を含む群から選択され、

$R_6$  は、H、1 - イル - アリル、1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル、イソブチル、1 - イル -  $n$  - ブチルアミン、メチルベンジル、ピペロニル、シロヘキシル、1 - イル - 2 - (3, 4 - ジメトキシフェニル) エチル、ベンジル、1 - イル - 2 - (アセトアミド) エチル、1 - イル - 3 - 2 - ピロリジノン、1 - イル - 2 - (4 - ベンゼンスルホンアミド) エチル、またはフルフリルからなる群から選択され;

$n$  は、3 ~ 11 である。

【請求項 3】

約 200,000 ~ 約 150,000,000 の異なるリガンドを含む、請求項 2 に記載のリガンドライブラリー。

【請求項 4】

前記支持体がビーズまたは樹脂から選択される、請求項 3 に記載のリガンドライブラリー。

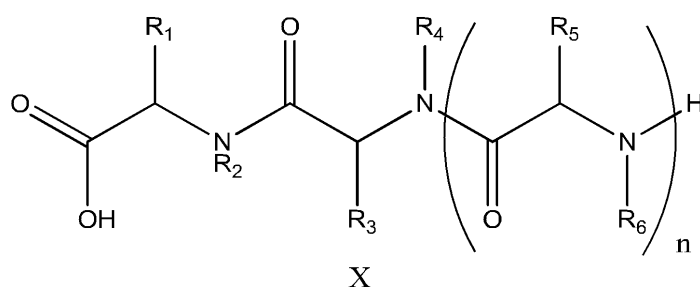
【請求項 5】

前記ビーズまたは樹脂が 10 モノマー単位未満の PEG リンカーを含む、請求項 4 に記載のリガンドライブラリー。

【請求項 6】

下記の式 X で表される化合物。

## 【化2】



式中、

R<sub>1</sub> は電子が豊富なアミノ酸側鎖 Y から選択され；

R<sub>2</sub> は H から選択され；

R<sub>3</sub> ~ R<sub>6</sub> は、互いに独立して、H、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルSCH<sub>3</sub>、-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>アルキルC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルケニル、-C<sub>0</sub>-C<sub>6</sub>アルキルC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>アルキニル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>COOH、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルOH、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルN(R)<sub>2</sub>、-C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>シクロアルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルアリール、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルヘテロアリール、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルNC(O)C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルシクロアミドからなる群から選択され、ここで、アリールまたはヘテロアリール基のいずれも、独立して、-OH、Cl、F、Br、-OCH<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、または-O-CH<sub>2</sub>-O-で置換されてもよく；

n は、3 ~ 10 である。

## 【請求項7】

R<sub>4</sub> が -n-ブチルアミンから選択される、請求項6に記載の化合物。

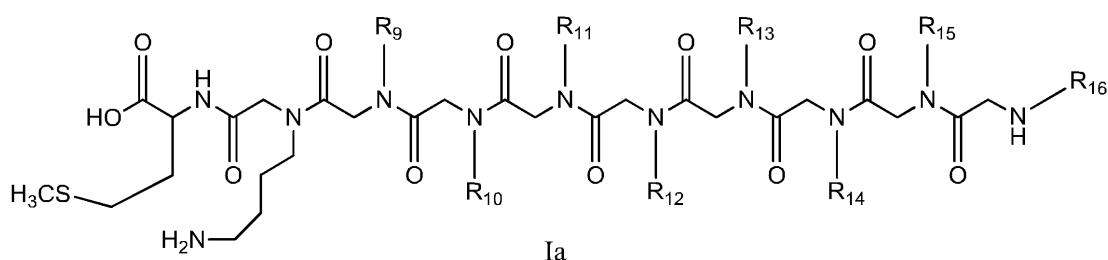
## 【請求項8】

R<sub>1</sub> が -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub> または -CH<sub>2</sub>SH から選択される、請求項7に記載の化合物。

## 【請求項9】

下記の式Iaで表される化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

## 【化3】



式中、

(a) R<sub>9</sub> は n-ブチルアミン；R<sub>10</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>11</sub> はピペロニル；R<sub>12</sub> はメチルベンジル；R<sub>13</sub> はピペロニル；R<sub>14</sub> はメチルベンジル；R<sub>15</sub> は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および R<sub>16</sub> は 1-イル-2-メトキシエチルである；

(b) R<sub>9</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>10</sub> は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)；R<sub>11</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>12</sub> はシクロヘキシル；R<sub>13</sub> は 1-イル-2-メトキシエチル；R<sub>14</sub> は 1-イル-2,2-ジメチルエチル(イソブチル)；R<sub>15</sub> は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである；

(c) R<sub>9</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン；R<sub>10</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン；R

$R_{11}$  はピペロニル； $R_{12}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{13}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および $R_{16}$  はシクロヘキシルである；

(d)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$  はイソブチル； $R_{12}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はイソブチルであり、および $R_{16}$  は1-イル-n-ブチルアミンである；

(e)  $R_9$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{13}$  はシクロヘキシル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および $R_{16}$  はピペロニルである；

(f)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$  はイソプロピル； $R_{12}$  はイソプロピル； $R_{13}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および $R_{16}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルである；

(g)  $R_9$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$  はピペロニル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および $R_{16}$  はシクロヘキシルである；

(h)  $R_9$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{13}$  はシクロヘキシル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および $R_{16}$  はピペロニルである；

(i)  $R_9$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および $R_{16}$  はシクロヘキシルである；

(j)  $R_9$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はシクロヘキシル； $R_{13}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  はイソブチルであり、および $R_{16}$  は1-イル-n-ブチルアミンである；

(k)  $R_9$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{10}$  はイソブチル； $R_{11}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{12}$  はピペロニル； $R_{13}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および $R_{16}$  は1-イル-2-メトキシエチルである；

(l)  $R_9$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{11}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$  はシクロヘキシル； $R_{13}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{14}$  はイソブチル； $R_{15}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および $R_{16}$  はメチルベンジルである；

(m)  $R_9$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{10}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  はフルフリルであり、および $R_{16}$  はフルフリルである；

(n)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$  はフルフリル； $R_{13}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{14}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{15}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および $R_{16}$  はフルフリルである；

(o)  $R_9$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$  はピペロニル； $R_{11}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{12}$  は1-イル-2-メトキシエチル；

R<sub>13</sub> はメチルベンジル； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである；

(p) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル； R<sub>10</sub> はシクロヘキシル； R<sub>11</sub> はピペロニル； R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> はイソブチルである；

(q) R<sub>9</sub> はピペロニル； R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>11</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； R<sub>13</sub> はピペロニル； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである；

(r) R<sub>9</sub> はメチルベンジル； R<sub>10</sub> はメチルベンジル； R<sub>11</sub> はメチルベンジル； R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>13</sub> はピペロニル； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>15</sub> はピペロニルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(s) R<sub>9</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>11</sub> はメチルベンジル； R<sub>12</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>13</sub> はメチルベンジル； R<sub>14</sub> はメチルベンジル； R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルであり、および R<sub>16</sub> はピペロニルである；

(t) R<sub>9</sub> はメチルベンジル； R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； R<sub>13</sub> はイソブチル； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

(u) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>11</sub> はイソブチル； R<sub>12</sub> はイソブチル； R<sub>13</sub> はシクロヘキシル； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)であり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである；

(v) R<sub>9</sub> はイソブチル； R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>11</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>12</sub> はメチルベンジル； R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>15</sub> はピペロニルであり、および R<sub>16</sub> はピペロニルである；

(w) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； R<sub>10</sub> はイソブチル； R<sub>11</sub> はメチルベンジル； R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； R<sub>13</sub> は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； R<sub>14</sub> はイソブチル； R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルであり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである；

(x) R<sub>9</sub> はフルフリル； R<sub>10</sub> はフルフリル； R<sub>11</sub> はピペロニル； R<sub>12</sub> はシクロヘキシル； R<sub>13</sub> はピペロニル； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>15</sub> は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)であり、および R<sub>16</sub> はシクロヘキシルである；

(y) R<sub>9</sub> はピペロニル； R<sub>10</sub> はピペロニル； R<sub>11</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>15</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

(z) R<sub>9</sub> はピペロニル； R<sub>10</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>11</sub> はイソブチル； R<sub>12</sub> は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； R<sub>13</sub> はメチルベンジル； R<sub>14</sub> はシクロヘキシル； R<sub>15</sub> はイソブチルであり、および R<sub>16</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(aa) R<sub>9</sub> は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； R<sub>10</sub> は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； R<sub>11</sub> はメチルベンジル； R<sub>12</sub> はメチルベンジル； R<sub>13</sub> は 1 - イル - n - ブチルアミン； R<sub>14</sub> は 1 - イル - n - ブチル

アミン； $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルである；

( b b )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  はイソブチル； $R_{13}$  はシクロヘキシル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである；

( c c )  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はシクロヘキシル； $R_{12}$  はピペロニル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

( d d )  $R_9$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである；

( e e )  $R_9$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  はイソブチル； $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

( f f )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである；

( g g )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

( h h )  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

( i i )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  はフルフリル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{13}$  はフルフリル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである；

( j j )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである；

( k k )  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

( l l )  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(mm)  $R_9$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル);  $R_{11}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル);  $R_{12}$  は 1-イル-2-メトキシエチル;  $R_{13}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{14}$  はシクロヘキシル;  $R_{15}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである;

(nn)  $R_9$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{11}$  はピペロニル;  $R_{12}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル);  $R_{13}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{14}$  はメチルベンジル;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである;

(oo)  $R_9$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル);  $R_{10}$  はメチルベンジル;  $R_{11}$  はメチルベンジル;  $R_{12}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{13}$  はメチルベンジル;  $R_{14}$  はピペロニル;  $R_{15}$  は 1-イル-n-ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-2-メトキシエチルである;

(pp)  $R_9$  はピペロニル;  $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{11}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{12}$  はメチルアミン;  $R_{13}$  はピペロニル;  $R_{14}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{15}$  はピペロニルであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-2-メトキシエチルである;

(qq)  $R_9$  はシクロヘキシル;  $R_{10}$  はシクロヘキシル;  $R_{11}$  はフルフリル;  $R_{12}$  は 1-イル-2-メトキシエチル;  $R_{13}$  はイソブチル;  $R_{14}$  はシクロヘキシル;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである;

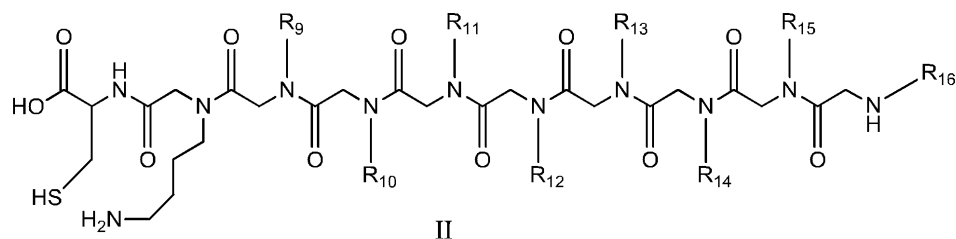
(rr)  $R_9$  はピペロニル;  $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{11}$  はイソブチル;  $R_{12}$  はイソブチル;  $R_{13}$  は 1-イル-2-メトキシエチル;  $R_{14}$  はシクロヘキシル;  $R_{15}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および  $R_{16}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)である;あるいは

(ss)  $R_9$  はシクロヘキシル;  $R_{10}$  はシクロヘキシル;  $R_{11}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{12}$  はメチルベンジル;  $R_{13}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{14}$  はメチルベンジル;  $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである。

【請求項10】

下記の式IIで表される化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

【化4】



式中、

(a)  $R_9$  は n-ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{11}$  はピペロニル;  $R_{12}$  はメチルベンジル;  $R_{13}$  はピペロニル;  $R_{14}$  はメチルベンジル;  $R_{15}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および  $R_{16}$  は 1-イル-2-メトキシエチルである;

(b)  $R_9$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル);  $R_{11}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{12}$  はシクロヘキシル;  $R_{13}$  は 1-イル-2-メトキシエチル;  $R_{14}$  は 1-イル-2,2-ジメチルエチル(イソブチル);  $R_{15}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである;

(c)  $R_9$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{11}$  はピペロニル;  $R_{12}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル);  $R_{13}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{14}$  はメチルベンジル;  $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである。

$R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  はメチルベンジル ;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである ;

(d)  $R_9$  はピペロニル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{11}$  はイソブチル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{13}$  はメチルベンジル ;  $R_{14}$  はシクロヘキシル ;  $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

(e)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{13}$  はシクロヘキシル ;  $R_{14}$  はシクロヘキシル ;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである ;

(f)  $R_9$  はピペロニル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{11}$  はイソプロピル ;  $R_{12}$  はイソプロピル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{14}$  はシクロヘキシル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルである ;

(g)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{11}$  はピペロニル ;  $R_{12}$  はメチルベンジル ;  $R_{13}$  はピペロニル ;  $R_{14}$  はメチルベンジル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである ;

(h)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{13}$  はシクロヘキシル ;  $R_{14}$  はシクロヘキシル ;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである ;

(i)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  はシクロヘキシル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである ;

(j)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  はシクロヘキシル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  はメチルベンジル ;  $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

(k)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{10}$  はイソブチル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{12}$  はピペロニル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  はシクロヘキシル ;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである ;

(l)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  はシクロヘキシル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{14}$  はイソブチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである ;

(m)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{13}$  はメチルベンジル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  はフルフリルであり、および  $R_{16}$  はフルフリルである ;

(n)  $R_9$  はシクロヘキシル ;  $R_{10}$  はシクロヘキシル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  はフルフリル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチルであり、および  $R_{16}$  はフルフリルである ;

(o)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  はピペロニル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{13}$  はメチルベンジル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2

- メトキシエチルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；
- (p)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はピペロニル； $R_{12}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  は1-イル-n-ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである；
- (q)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{12}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；
- (r)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  はピペロニルであり、および  $R_{16}$  は1-イル-n-ブチルアミンである；
- (s)  $R_9$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は1-イル-2-メトキシエチルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである；
- (t)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{11}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{13}$  はイソブチル； $R_{14}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は1-イル-2-メトキシエチルである；
- (u)  $R_9$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{10}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$  はイソブチル； $R_{12}$  はイソブチル； $R_{13}$  はシクロヘキシル； $R_{14}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである；
- (v)  $R_9$  はイソブチル； $R_{10}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  はピペロニルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである；
- (w)  $R_9$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{10}$  はイソブチル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{13}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{14}$  はイソブチル； $R_{15}$  は1-イル-2-メトキシエチルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである；
- (x)  $R_9$  はフルフリル； $R_{10}$  はフルフリル； $R_{11}$  はピペロニル； $R_{12}$  はシクロヘキシル； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである；
- (y)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  はピペロニル； $R_{11}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{12}$  は1-イル-2-メトキシエチル； $R_{13}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  は1-イル-n-ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は1-イル-2-メトキシエチルである；
- (z)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$  はイソブチル； $R_{12}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は1-イル-n-ブチルアミンである；
- (aa)  $R_9$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{10}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$  は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$  は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチルであり、および

$R_{16}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) エチルである ;

( b b )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  はイソブチル ;  $R_{13}$  はシクロヘキシル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである ;

( c c )  $R_9$  はシクロヘキシル ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  はシクロヘキシル ;  $R_{12}$  はピペロニル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) エチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである ;

( d d )  $R_9$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) エチル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) エチル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである ;

( e e )  $R_9$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  はピペロニル ;  $R_{14}$  はイソブチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) エチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( f f )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) エチル ;  $R_{12}$  はメチルベンジル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) エチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) エチルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである ;

( g g )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) エチル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである ;

( h h )  $R_9$  はシクロヘキシル ;  $R_{10}$  はシクロヘキシル ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  はメチルベンジル ;  $R_{14}$  はシクロヘキシル ;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( i i )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  はフルフリル ;  $R_{11}$  はメチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) エチル ;  $R_{13}$  はフルフリル ;  $R_{14}$  はシクロヘキシル ;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである ;

( j j )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  はメチルベンジル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) エチル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル ;  $R_{14}$  はメチルベンジル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである ;

( k k )  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) エチル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  はメチルベンジル ;  $R_{13}$  はメチルベンジル ;  $R_{14}$  はシクロヘキシル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) エチルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである ;

( l l )  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) エチル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ) エチル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  はメチルベンジル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである ;

( m m )  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼン

スルホンアミド)エチル;  $R_{11}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル);  $R_{12}$  は 1-イル-2-メトキシエチル;  $R_{13}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{14}$  はシクロヘキシル;  $R_{15}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである;

(nn)  $R_9$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{11}$  はピペロニル;  $R_{12}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル);  $R_{13}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{14}$  はメチルベンジル;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである;

(oo)  $R_9$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル);  $R_{10}$  はメチルベンジル;  $R_{11}$  はメチルベンジル;  $R_{12}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{13}$  はメチルベンジル;  $R_{14}$  はピペロニル;  $R_{15}$  は 1-イル-n-ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-2-メトキシエチルである;

(pp)  $R_9$  はピペロニル;  $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{11}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{12}$  はメチルアミン;  $R_{13}$  はピペロニル;  $R_{14}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{15}$  はピペロニルであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-2-メトキシエチルである;

(qq)  $R_9$  はシクロヘキシル;  $R_{10}$  はシクロヘキシル;  $R_{11}$  はフルフリル;  $R_{12}$  は 1-イル-2-メトキシエチル;  $R_{13}$  はイソブチル;  $R_{14}$  はシクロヘキシル;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである;

(rr)  $R_9$  はピペロニル;  $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{11}$  はイソブチル;  $R_{12}$  はイソブチル;  $R_{13}$  は 1-イル-2-メトキシエチル;  $R_{14}$  はシクロヘキシル;  $R_{15}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および  $R_{16}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)である;あるいは

(ss)  $R_9$  はシクロヘキシル;  $R_{10}$  はシクロヘキシル;  $R_{11}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{12}$  はメチルベンジル;  $R_{13}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{14}$  はメチルベンジル;  $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである。

#### 【請求項 11】

式 I I の前記化合物の  $R_9 \sim R_{16}$  が下記の群から選択される、請求項 10 に記載の化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

(a)  $R_9$  は n-ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{11}$  はピペロニル;  $R_{12}$  はメチルベンジル;  $R_{13}$  はピペロニル;  $R_{14}$  はメチルベンジル;  $R_{15}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および  $R_{16}$  は 1-イル-2-メトキシエチルである;

(b)  $R_9$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル);  $R_{11}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{12}$  はシクロヘキシル;  $R_{13}$  は 1-イル-2-メトキシエチル;  $R_{14}$  は 1-イル-2,2-ジメチルエチル(イソブチル);  $R_{15}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである;

(c)  $R_9$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{11}$  はピペロニル;  $R_{12}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル);  $R_{13}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{14}$  はメチルベンジル;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである;

(d)  $R_9$  はピペロニル;  $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{11}$  はイソブチル;  $R_{12}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル);  $R_{13}$  はメチルベンジル;  $R_{14}$  はシクロヘキシル;  $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-n-ブチルアミンである;

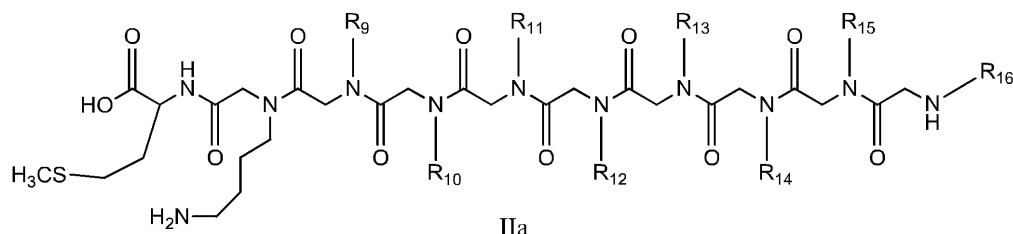
(e)  $R_9$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{11}$  はメチルベンジル;  $R_{12}$  は 1-イル-2-メトキシエチル;  $R_{13}$  はシクロヘキシル;  $R_{14}$  はシクロヘキシル;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである;あるいは

(f) R<sub>9</sub> はピペロニル; R<sub>10</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>11</sub> はイソプロピル; R<sub>12</sub> はイソプロピル; R<sub>13</sub> は 1-イル-2-メトキシエチル; R<sub>14</sub> はシクロヘキシル; R<sub>15</sub> は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)であり、および R<sub>16</sub> は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル)である。

【請求項 12】

下記の式 II a で表される化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

【化 5】



式中、

(m) R<sub>9</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>10</sub> はピペロニル; R<sub>11</sub> はメチルベンジル; R<sub>12</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>13</sub> はシクロヘキシル; R<sub>14</sub> はイソブチル; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> は 1-イル-n-ブチルアミンである;

(n) R<sub>9</sub> はメチルベンジル; R<sub>10</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>11</sub> は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル); R<sub>12</sub> は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル); R<sub>13</sub> はイソブチル; R<sub>14</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> は 1-イル-n-ブチルアミンである;

(o) R<sub>9</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>10</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>11</sub> は 1-イル-2-メトキシエチル; R<sub>12</sub> は 1-イル-2-メトキシエチル; R<sub>13</sub> はイソブチル; R<sub>14</sub> は 1-イル-2-メトキシエチル; R<sub>15</sub> は 1-イル-n-ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> は 1-イル-2-メトキシエチルである;

(p) R<sub>9</sub> はメチルベンジル; R<sub>10</sub> は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル); R<sub>11</sub> は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル); R<sub>12</sub> はメチルベンジル; R<sub>13</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>14</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> はシクロヘキシルであり、および R<sub>16</sub> はイソブチルである;

(q) R<sub>9</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>10</sub> はメチルベンジル; R<sub>11</sub> はメチルベンジル; R<sub>12</sub> はメチルベンジル; R<sub>13</sub> は 1-イル-2-メトキシエチル; R<sub>14</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>15</sub> はシクロヘキシルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである;

(r) R<sub>9</sub> はシクロヘキシル; R<sub>10</sub> はシクロヘキシル; R<sub>11</sub> はメチルベンジル; R<sub>12</sub> は 1-イル-2-メトキシエチル; R<sub>13</sub> はメチルベンジル; R<sub>14</sub> はメチルベンジル; R<sub>15</sub> は 1-イル-n-ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> は 1-イル-n-ブチルアミンである;

(s) R<sub>9</sub> はフルフリル; R<sub>10</sub> はフルフリル; R<sub>11</sub> はイソブチル; R<sub>12</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>13</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>14</sub> はメチルベンジル; R<sub>15</sub> はメチルベンジルであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである;

(t) R<sub>9</sub> はメチルベンジル; R<sub>10</sub> は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル); R<sub>11</sub> はシクロヘキシル; R<sub>12</sub> はシクロヘキシル; R<sub>13</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>14</sub> は 1-イル-2-メトキシエチル; R<sub>15</sub> は 1-イル-n-ブチルアミンであり、および R<sub>16</sub> はメチルベンジルである;

(u) R<sub>9</sub> はイソブチル; R<sub>10</sub> はメチルベンジル; R<sub>11</sub> はメチルベンジル; R<sub>12</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>13</sub> は 1-イル-n-ブチルアミン; R<sub>14</sub> はイソブチル; R<sub>15</sub> はイソブチルであり、および R<sub>16</sub> は 1-イル-n-ブチルアミンである;

(v)  $R_9$  はイソブチル； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はシクロヘキシル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

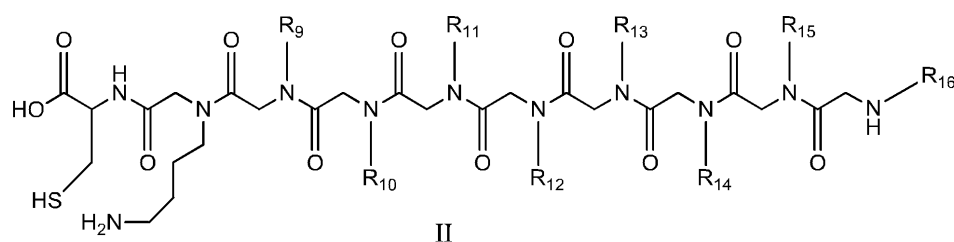
(w)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はイソブチル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである；あるいは

(x)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はイソブチル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである。

【請求項 13】

下記の式 I I で表される化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

【化 4】



式中、

(m)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  はピペロニル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  はシクロヘキシル； $R_{14}$  はイソブチル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(n)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{13}$  はイソブチル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(o)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{13}$  はイソブチル； $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチルである；

(p)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{11}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである；

(q)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

(r)  $R_9$  はシクロヘキシル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - メトキシエチル； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(s)  $R_9$  はフルフリル； $R_{10}$  はフルフリル； $R_{11}$  はイソブチル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

(t)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド

) エチル;  $R_{11}$  はシクロヘキシル;  $R_{12}$  はシクロヘキシル;  $R_{13}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{14}$  は 1-イル-2-メトキシエチル;  $R_{15}$  は 1-イル-n-ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである;

(u)  $R_9$  はイソブチル;  $R_{10}$  はメチルベンジル;  $R_{11}$  はメチルベンジル;  $R_{12}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{13}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{14}$  はイソブチル;  $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-n-ブチルアミンである;

(v)  $R_9$  はイソブチル;  $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{11}$  はメチルベンジル;  $R_{12}$  はメチルベンジル;  $R_{13}$  はメチルベンジル;  $R_{14}$  はシクロヘキシル;  $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-n-ブチルアミンである;

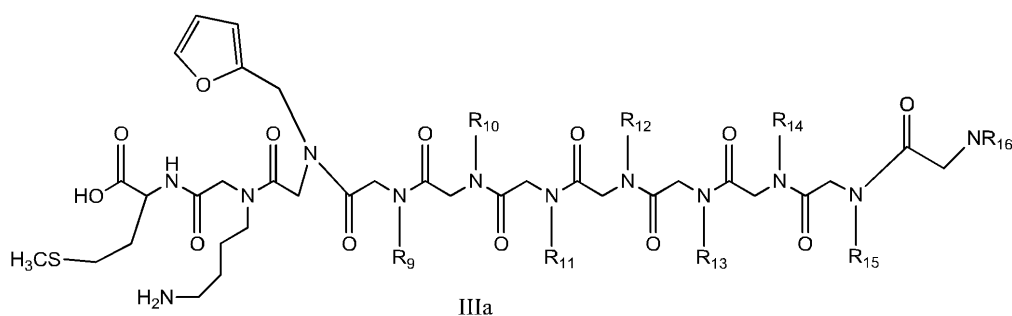
(w)  $R_9$  はシクロヘキシル;  $R_{10}$  はシクロヘキシル;  $R_{11}$  はメチルベンジル;  $R_{12}$  はメチルベンジル;  $R_{13}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{14}$  はイソブチル;  $R_{15}$  は 1-イル-n-ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである; あるいは

(x)  $R_9$  はシクロヘキシル;  $R_{10}$  はシクロヘキシル;  $R_{11}$  はイソブチル;  $R_{12}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{13}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{14}$  はメチルベンジル;  $R_{15}$  は 1-イル-n-ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-2-メトキシエチルである。

【請求項 14】

下記の式 III a で表される化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

【化 6】



式中、

(a)  $R_9$  はピペロニル;  $R_{10}$  はシクロヘキシル;  $R_{11}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{12}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{13}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル);  $R_{14}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-n-ブチルアミンである;

(b)  $R_9$  はピペロニル;  $R_{10}$  はピペロニル;  $R_{11}$  はシクロヘキシル;  $R_{12}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{13}$  は 1-イル-アリル;  $R_{14}$  はイソブチル;  $R_{15}$  はシクロヘキシルであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-n-ブチルアミンである;

(c)  $R_9$  はメチルベンジル;  $R_{10}$  はピペロニル;  $R_{11}$  はシクロヘキシル;  $R_{12}$  はピペロニル;  $R_{13}$  はピペロニル;  $R_{14}$  はメチルベンジル;  $R_{15}$  は 1-イル-n-ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  は 1-イル-n-ブチルアミンである;

(d)  $R_9$  はイソブチル;  $R_{10}$  はシクロヘキシル;  $R_{11}$  はイソブチル;  $R_{12}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル);  $R_{13}$  は 1-イル-アリル;  $R_{14}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{15}$  は 1-イル-アリルであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである;

(e)  $R_9$  はピペロニル;  $R_{10}$  はイソブチル;  $R_{11}$  はピペロニル;  $R_{12}$  はシクロヘキシル;  $R_{13}$  は 1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル);  $R_{14}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{15}$  は 1-イル-n-ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである;

(f)  $R_9$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{10}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{11}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{12}$  はピペロニル;  $R_{13}$  はメチルベンジル;  $R_{14}$  は 1-イル-n-ブチルアミン;  $R_{15}$  は 1-イル-n-ブチルアミンであり、およ

び  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチルである；

(g)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はシクロヘキシル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  はメチルベンジル； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(h)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  はピペロニル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  はメチルベンジル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである；

(i)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  は 1 - イル - アリル； $R_{11}$  はピペロニル； $R_{12}$  はピペロニル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はメチルベンジルである；

(j)  $R_9$  はメチルベンジル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はピペロニル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はメチルベンジルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(k)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  はメチルベンジル； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はイソブチルである；

(l)  $R_9$  は 1 - イル - アリル； $R_{10}$  はメチルベンジル； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  はシクロヘキシル； $R_{13}$  はピペロニル； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はピペロニルである；

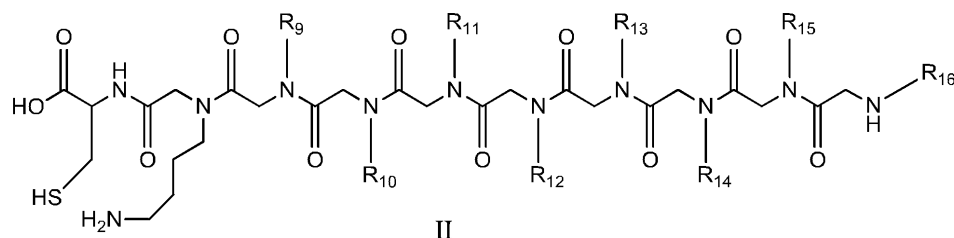
(m)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル； $R_{11}$  はイソブチル； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル； $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンであり、および  $R_{16}$  はシクロヘキシルである；あるいは

(n)  $R_9$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル； $R_{11}$  はメチルベンジル； $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチル； $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はピペロニルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - ヒドロキシエチルである。

【請求項 15】

下記の式 I I で表される化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

【化 4】



式中、

(a)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  はシクロヘキシル； $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{13}$  は 1 - イル - 2 - (4 (ベンゼンスルホンアミド) エチル)； $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン； $R_{15}$  はイソブチルであり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミンである；

(b)  $R_9$  はピペロニル； $R_{10}$  はピペロニル； $R_{11}$  はシクロヘキシル； $R_{12}$  は 1

-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$ は1-イル-アリル； $R_{14}$ はイソブチル； $R_{15}$ はシクロヘキシルであり、および $R_{16}$ は1-イル-n-ブチルアミンである；

(c)  $R_9$ はメチルベンジル； $R_{10}$ はピペロニル； $R_{11}$ はシクロヘキシル； $R_{12}$ はピペロニル； $R_{13}$ はピペロニル； $R_{14}$ はメチルベンジル； $R_{15}$ は1-イル-n-ブチルアミンであり、および $R_{16}$ は1-イル-n-ブチルアミンである；

(d)  $R_9$ はイソブチル； $R_{10}$ はシクロヘキシル； $R_{11}$ はイソブチル； $R_{12}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{13}$ は1-イル-アリル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ は1-イル-アリルであり、および $R_{16}$ はピペロニルである；

(e)  $R_9$ はピペロニル； $R_{10}$ はイソブチル； $R_{11}$ はピペロニル； $R_{12}$ はシクロヘキシル； $R_{13}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ は1-イル-n-ブチルアミンであり、および $R_{16}$ はピペロニルである；

(f)  $R_9$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{11}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$ はピペロニル； $R_{13}$ はメチルベンジル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ は1-イル-n-ブチルアミンであり、および $R_{16}$ は1-イル-2-ヒドロキシエチルである；

(g)  $R_9$ は1-イル-2-ヒドロキシエチル； $R_{10}$ はメチルベンジル； $R_{11}$ はシクロヘキシル； $R_{12}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$ はピペロニル； $R_{14}$ はメチルベンジル； $R_{15}$ はメチルベンジルであり、および $R_{16}$ は1-イル-n-ブチルアミンである；

(h)  $R_9$ はメチルベンジル； $R_{10}$ はピペロニル； $R_{11}$ はメチルベンジル； $R_{12}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$ はメチルベンジル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ は1-イル-n-ブチルアミンであり、および $R_{16}$ はピペロニルである；

(i)  $R_9$ はメチルベンジル； $R_{10}$ は1-イル-アリル； $R_{11}$ はピペロニル； $R_{12}$ はピペロニル； $R_{13}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{15}$ は1-イル-n-ブチルアミンであり、および $R_{16}$ はメチルベンジルである；

(j)  $R_9$ はメチルベンジル； $R_{10}$ はメチルベンジル； $R_{11}$ はピペロニル； $R_{12}$ はメチルベンジル； $R_{13}$ はピペロニル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ はメチルベンジルであり、および $R_{16}$ は1-イル-n-ブチルアミンである；

(k)  $R_9$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{10}$ はメチルベンジル； $R_{11}$ はメチルベンジル； $R_{12}$ はメチルベンジル； $R_{13}$ はピペロニル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ は1-イル-n-ブチルアミンであり、および $R_{16}$ はイソブチルである；

(l)  $R_9$ は1-イル-アリル； $R_{10}$ はメチルベンジル； $R_{11}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{12}$ はシクロヘキシル； $R_{13}$ はピペロニル； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ は1-イル-n-ブチルアミンであり、および $R_{16}$ はピペロニルである；

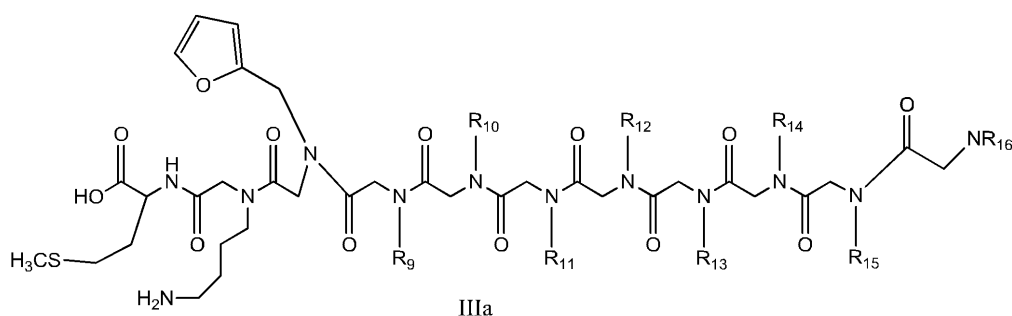
(m)  $R_9$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$ は1-イル-2-ヒドロキシエチル； $R_{11}$ はイソブチル； $R_{12}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{13}$ は1-イル-2-ヒドロキシエチル； $R_{14}$ は1-イル-2-(4(ベンゼンスルホンアミド)エチル； $R_{15}$ は1-イル-n-ブチルアミンであり、および $R_{16}$ はシクロヘキシルである；あるいは

(n)  $R_9$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{10}$ は1-イル-2-ヒドロキシエチル； $R_{11}$ はメチルベンジル； $R_{12}$ は1-イル-2-ヒドロキシエチル； $R_{13}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{14}$ は1-イル-n-ブチルアミン； $R_{15}$ はピペロニルであり、および $R_{16}$ は1-イル-2-ヒドロキシエチルである。

【請求項16】

下記の式 III a で表される化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

【化 6】



式中、

(a)  $R_9$  は 1 - イル - アリル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 3 N - ( 2 - ピロリジノン ) プロピル ;  $R_{11}$  は 酢酸 ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{13}$  は ベンジル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  は イソブチル であり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - アリル である ;

(b)  $R_9$  は シクロヘキシル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル ;  $R_{13}$  は ベンジル ;  $R_{14}$  は ピペロニル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン であり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル である ;

(c)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - アリル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は ベンジル ;  $R_{13}$  は メチルベンジル ;  $R_{14}$  は ベンジル ;  $R_{15}$  は メチルベンジル であり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン である ;

(d)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は ベンジル ;  $R_{15}$  は メチルベンジル であり、および  $R_{16}$  は ベンジル である ;

(e)  $R_9$  は ピペロニル ;  $R_{10}$  は ピペロニル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は シクロヘキシル ;  $R_{13}$  は ベンジル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン であり、および  $R_{16}$  は メチルベンジル である ;

(f)  $R_9$  は 1 - イル - アリル ;  $R_{10}$  は メチルベンジル ;  $R_{11}$  は メチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  は ピペロニル ;  $R_{14}$  は ベンジル ;  $R_{15}$  は ピペロニル であり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン である ;

(g)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル ;  $R_{10}$  は イソブチル ;  $R_{11}$  は メチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  は メチルベンジル ;  $R_{14}$  は ベンジル ;  $R_{15}$  は ピペロニル であり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン である ;

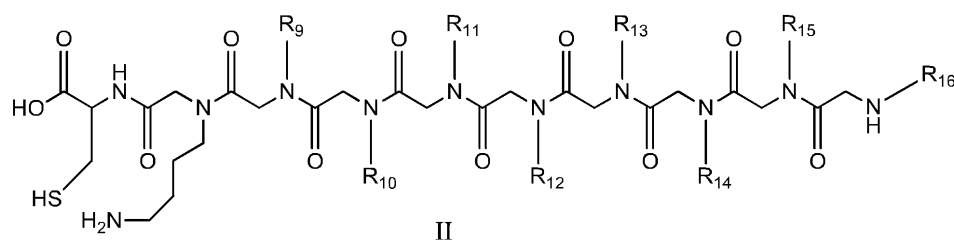
(h)  $R_9$  は メチルベンジル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{11}$  は メチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  は メチルベンジル ;  $R_{14}$  は メチルベンジル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン であり、および  $R_{16}$  は メチルベンジル である ; あるいは

(i)  $R_9$  は ピペロニル ;  $R_{10}$  は ベンジル ;  $R_{11}$  は ピペロニル ;  $R_{12}$  は ベンジル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は ベンジル ;  $R_{15}$  は シクロヘキシル であり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン である。

【請求項 17】

下記の式 II で表される化合物、並びにその薬学的に許容される塩。

## 【化 4】



## 式中、

(a)  $R_9$  は 1 - イル - アリル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 3 N - ( 2 - ピロリジノン ) プロピル ;  $R_{11}$  は 酢酸 ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{13}$  は ベンジル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{15}$  は イソブチル であり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - アリル である ;

(b)  $R_9$  は シクロヘキシル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル ;  $R_{13}$  は ベンジル ;  $R_{14}$  は ピペロニル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン であり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル である ;

(c)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - アリル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は ベンジル ;  $R_{13}$  は メチルベンジル ;  $R_{14}$  は ベンジル ;  $R_{15}$  は メチルベンジル であり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン である ;

(d)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は ベンジル ;  $R_{15}$  は メチルベンジル であり、および  $R_{16}$  は ベンジル である ;

(e)  $R_9$  は ピペロニル ;  $R_{10}$  は ピペロニル ;  $R_{11}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{12}$  は シクロヘキシル ;  $R_{13}$  は ベンジル ;  $R_{14}$  は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン であり、および  $R_{16}$  は メチルベンジル である ;

(f)  $R_9$  は 1 - イル - アリル ;  $R_{10}$  は メチルベンジル ;  $R_{11}$  は メチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  は ピペロニル ;  $R_{14}$  は ベンジル ;  $R_{15}$  は ピペロニル であり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン である ;

(g)  $R_9$  は 1 - イル - 2 - ( 3 , 4 - ジメトキシフェニル ) エチル ;  $R_{10}$  は イソブチル ;  $R_{11}$  は メチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  は メチルベンジル ;  $R_{14}$  は ベンジル ;  $R_{15}$  は ピペロニル であり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン である ;

(h)  $R_9$  は メチルベンジル ;  $R_{10}$  は 1 - イル - 2 - ( 4 ( ベンゼンスルホンアミド ) エチル ;  $R_{11}$  は メチルベンジル ;  $R_{12}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{13}$  は メチルベンジル ;  $R_{14}$  は メチルベンジル ;  $R_{15}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン であり、および  $R_{16}$  は メチルベンジル である ; あるいは

(i)  $R_9$  は ピペロニル ;  $R_{10}$  は ベンジル ;  $R_{11}$  は ピペロニル ;  $R_{12}$  は ベンジル ;  $R_{13}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン ;  $R_{14}$  は ベンジル ;  $R_{15}$  は シクロヘキシル であり、および  $R_{16}$  は 1 - イル - n - ブチルアミン である。

## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2012/030161
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(8) - C07K 17/14 (2012.01) USPC - 424/278.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8) - A61K 38/00, 38/02, 39/00, 39/02, 39/12, 39/395; C07K 7/02, 16/00, 16/08, 16/12, 16/18, 16/22, 16/24, 16/28, 17/14 (2012.01) USPC - 424/9.341, 184.1, 278.1; 530/323, 388.73, 389.1, 389.2, 389.4, 389.5, 389.7 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Patbase, Google Patent, PubMed		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X -- Y	US 2009/0246124 A1 (KODADEK et al) 01 October 2009 (01.10.2009) entire document	1-6, 9-11, 15-19, 22, 23, 26, 27 7, 8, 12-14, 20, 21, 24, 25
Y	US 2007/0111322 A1 (YANG) 17 May 2007 (17.05.2007) entire document	7, 25
Y	LIU et al. "A Potent Transactivation Domain Mimic with Activity in Living Cells", Journal of the American Chemical Society, 18 May 2006 (18.05.2006), Vol. 127, Pgs. 8254-8255. entire document	8
Y	US 2007/0054847 A1 (GOZES et al) 08 March 2007 (08.03.2007) entire document	12, 24
Y	US 2006/0121489 A1 (GORENSTEIN et al) 08 June 2006 (08.06.2006) entire document	13, 14
Y	US 7,354,584 B2 (REED et al) 08 April 2008 (08.04.2008) entire document	20, 21
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* 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 "J" 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 29 August 2012		Date of mailing of the international search report <b>19 SEP 2012</b>
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2012/030161

**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.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
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:

See extra sheet.

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.:  
1-27

**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.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2012/030161

## Continuation of Box III:

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I, claims 1-27 are drawn to methods for screening for biomarkers.

Group II, claims 28-71 are drawn to compositions having a base Formula I as shown in claims 28 and 29.

The inventions listed in Groups I and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The special technical features of Group I, methods for screening biomarkers including providing a random ligand library, removing supports from the ligand binding moieties, exposing the purified ligand solution to disease associated biomarkers and detecting and identifying ligands having disease associated biomarkers bound, are not present in Group II; and the special technical features of Group II, ligand libraries of base compound Formula I as shown in claims 28 and 29 on a support, are not present in Group I.

Groups I and II share the technical features of using a random ligand library for biomarker binding including the use of a support. However, these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

Specifically, US 5,834,318 A to Buettner teaches ligands that interact with a target (Abstract, binding a random library of peptides to a support material, allowing detection reagents to contact the peptides and the support material then identifying these interactions, then allowing the target protein to selectively bind to the peptides, allowing detection reagents to contact the bound target protein, and characterizing the peptide bound to the identified support material) including using a random ligand library (Abstract and claim 1) for biomarker binding (Col. 3, Lns. 2-9, invention is a procedure for determining which peptide in a combinatorial peptide library binds specifically with a target protein. The peptide library is bound to chromatographic supports and then incubated with the detecting reagents, resulting in a detectable change of the support where the peptides or the support binds with the detecting reagents) including the use of a support (Col. 3, Lns. 2-9).

Since none of the special technical features of the Group I and II inventions are found in more than one of the inventions, unity is lacking.

## 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 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/02	(2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 K 38/00	(2006.01)	A 6 1 K 37/02	

(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, 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, 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, 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, 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 シルキー、ジェシカ

アメリカ合衆国フロリダ州 3 3 4 5 8 ・ ジュピター ・ デューバル ストリート 1 3 1 5

F ターム (参考) 4C084 AA07 BA01 BA17 NA20 ZB082 ZB262 ZB272

4H045 AA10 BA15 BA57 BA62 EA50 FA33

专利名称(译)	使用珠子或基于粒子的文库，诊断试剂盒和疗法在复杂流体中发现生物标志物		
公开(公告)号	<a href="#">JP2014515739A</a>	公开(公告)日	2014-07-03
申请号	JP2014501248	申请日	2012-03-22
申请(专利权)人(译)	Opuko制药有限责任公司		
[标]发明人	モーラムラリダールレディ シルキージェシカ		
发明人	モーラ、ムラリダール、レディ シルキー、ジェシカ		
IPC分类号	C40B40/10 G01N33/53 C40B30/04 C07K7/06 A61P37/06 A61P35/00 A61P35/02 A61K38/00		
CPC分类号	C07K1/047 C07K7/06 C40B40/04 C40B40/10 C40B60/12 G01N33/566 G01N33/57438 G01N33/6845 G01N2800/104 G01N2800/2821 A61P13/12 A61P17/02 A61P19/02 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/20 A61P25/28 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P35/00 A61P35/02		
FI分类号	C40B40/10.ZCC G01N33/53.D C40B30/04 C07K7/06 A61P37/06 A61P35/00 A61P35/02 A61K37/02		
F-TERM分类号	4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/BA17 4C084/NA20 4C084/ZB082 4C084/ZB262 4C084/ZB272 4H045 /AA10 4H045/BA15 4H045/BA57 4H045/BA62 4H045/EA50 4H045/FA33		
优先权	61/491717 2011-05-31 US 61/583881 2012-01-06 US 61/467256 2011-03-24 US		
其他公开文献	JP6153921B2		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

本发明可用于筛选与任何其他疾病或状况相关的生物标记。 此类疾病和病症的范围从上文确定的神经系统疾病，自身免疫性疾病和癌症，以及具有生物标记物的任何其他疾病或病症，例如与疾病或疾病进展相关的抗体或其他表征性蛋白质或生物分子。 本发明的大配体文库可以在适当的实验条件下并根据本文所述的方法直接用于生物流体中以筛选此类标记物，而无需使用较少的支持元件（例如约100,000或更少）或无需在筛选生物液之前将此类类肽或配体转移至微阵列。 另外，配体库也可用于筛选与特定细胞表面标志物特别相关的基于细胞的受体。

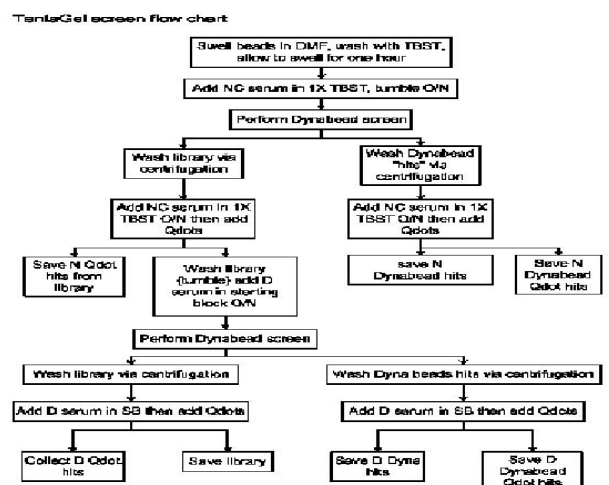


FIGURE 6