

WO 2011/111804 A1

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2011年9月15日(15.09.2011)

PCT



(10) 国際公開番号

WO 2011/111804 A1

(51) 国際特許分類:

C07D 31/94 (2006.01) *A61K 31/702* (2006.01)
A61K 9/127 (2006.01) *A61K 31/7048* (2006.01)
A61K 31/155 (2006.01) *A61K 33/00* (2006.01)
A61K 31/352 (2006.01) *A61P 33/02* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2011/055715

(22) 国際出願日: 2011年3月10日(10.03.2011)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2010-055150 2010年3月11日(11.03.2010) JP

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 学校法人早稲田大学 (WASEDA UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒1698050 東京都新宿区戸塚町1丁目104番地 Tokyo (JP). 国立大学法人帯広畜産大学 (OBIHIRO UNIVERSITY OF AGRICULTURE AND VETERINARY MEDICINE) [JP/JP]; 〒0808555 北海道帯広市稻田町西2線11番地 Hokkaido (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 中尾 洋一 (NAKAO, Yoichi) [JP/JP]; 〒1698050 東京都新宿区戸塚町1丁目104番地 学校法人早稲田大

学内 Tokyo (JP). 石上 進太郎 (ISHIGAMI, Shin-taro) [JP/JP]; 〒1698050 東京都新宿区戸塚町1丁目104番地 学校法人早稲田大学内 Tokyo (JP). 後藤 康之 (GOTO, Yasuyuki) [JP/JP]; 〒1138657 東京都文京区弥生1-1-1 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 河津 信一郎 (KAWAZU, Shin-ichiro) [JP/JP]; 〒0808555 北海道帯広市稻田町西2線11番地 国立大学法人帯広畜産大学 原虫病研究センター内 Hokkaido (JP). 井上 昇 (INOUE, Noboru) [JP/JP]; 〒0808555 北海道帯広市稻田町西2線11番地 国立大学法人帯広畜産大学 原虫病研究センター内 Hokkaido (JP).

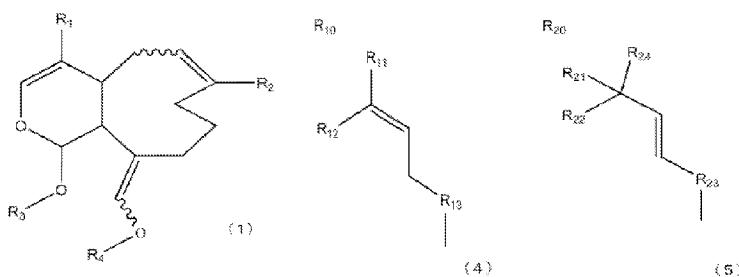
(74) 代理人: 牛木 譲 (USHIKI, Mamoru); 〒1050001 東京都港区虎ノ門一丁目14番1号 郵政福祉琴平ビル3階 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST,

[続葉有]

(54) Title: ANTIPROTOZOAL COMPOUND ORIGINATING IN COELENTERATA

(54) 発明の名称: 腔腸動物由来抗原虫化合物



(57) **Abstract:** The object is to develop an antiprotozoal therapeutic agent having a novel function mechanism. Provided is a compound represented by chemical formula (1) or a pharmaceutically acceptable salt thereof, characterized in that, in formula (1), R₁ represents R₁₀- of formula (4) or R₂₀- of formula (5); R₂ represents CHO-, etc.; R₃ represents a hydrogen atom, CH₃-C(=O)-, etc.; R₄ represents a hydrogen atom, CH₃-C(=O)-, etc.; R₁₁ and R₁₂ independently represent each a hydrogen atom, a methyl group, etc.; R₁₃ represents -CH₂-, -CH(-OH)- or -C(=O)-; R₂₁ and R₂₂ independently represent each a hydrogen atom, a methyl group, etc.; R₂₃ represents -CH₂-, -CH(-OH)- or -C(=O)-; and R₂₄ represents a hydrogen atom, a hydroxyl group, a methyl group, etc.

(57) **要約:** 新規な作用機序を有する、抗原虫治療薬を開発すること。以下の化学式(1)において、R₁は、式(4)のR₁₀-か、式(5)のR₂₀-かであり、R₂は、CHO-等であり、R₃は、水素原子か、CH₃-C(=O)-等であり、R₄は、水素原子か、CH₃-C(=O)-等であり、R₁₁及びR₁₂は、それぞれ独立に、水素原子、メチル基等であり、R₁₃は、-CH₂-か、-CH(-OH)-か、-C(=O)-か、-CH₂-C(=O)-かであり、R₂₁及びR₂₂は、それぞれ独立に、水素原子、メチル基等であり、R₂₃は、-CH₂-か、-CH(-OH)-か、-C(=O)-かであり、R₂₄は、水素原子、ヒドロキシル基、メチル基等であることを特徴とする、化合物又は薬学的に許容できる塩を提供する。



SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW,
MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ヨーロッパ
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ
(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,

GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT,
NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR,
NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告(条約第21条(3))

明 細 書

発明の名称：腔腸動物由来抗原虫化合物

技術分野

[0001] 本発明は、腔腸動物由来の抗原虫化合物に関し、より具体的には、腔腸動物ヤギ Acanthoprimnoa cristata 由来の抗原虫化合物に関する。

背景技術

[0002] 原虫感染症は未解決の重要な疾患である。例えば、リーシュマニア症はサシチョウバエが媒介する節足動物媒介性人畜共通感染症で、100種類以上の脊椎動物が保虫宿主となる動物由来原虫性疾患である。ヒトへの伝播にはイヌと齧歯類がとくに重要であり、患者数は88カ国で約1,200万人にも達し、3億5千万人が感染の危険に曝されている。近年、患者数は増加傾向にあり、年間約200万人が新規に発症し、アフガニスタンでは難民を含めた20万人以上の大発生が認められている。リーシュマニアはマクロファージの細胞内で増殖する偏性細胞内寄生性原虫で、人体に感染する種類は20種以上知られている。ヒトの臨床症状は3つに大きく分かれ、内臓型では造血機能の低下に伴った致死的経過をとり、皮膚型と皮膚・粘膜型での皮膚病変の醜悪さは著しい精神的苦痛をあたえる。このうち最も重篤な症状となる内臓型リーシュマニア症の大多数が発展途上国で見られ、90%以上の症例がインド、バングラデシュ、ブラジル、スーダンの4カ国だけで占められている。こうした事情から、WHOはリーシュマニア症を対策の最も困難な熱帯感染症（カテゴリーI）として位置づけ、重点対策10大熱帯感染症の1つに指定している。

[0003] 海洋無脊椎動物からは、強い生理活性を有し、独特な構造を有する化合物が多く発見されており、医薬品の探索源として期待されている（特許文献1）。本発明の発明者らは、感染症であるリーシュマニア症に対して有効な治療薬の開発を目指して、日本各地で採集した海洋生物について抗原虫活性ス

クリーニングを行った。前記スクリーニングの結果、深海より採取した腔腸動物ヤギ Acanthoprimnoa cristata が抗原虫活性物質を含むことが発見された。本発明は、かかる発見に基づいて完成された。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開2007-161902号公開公報

発明の開示

発明が解決しようとする課題

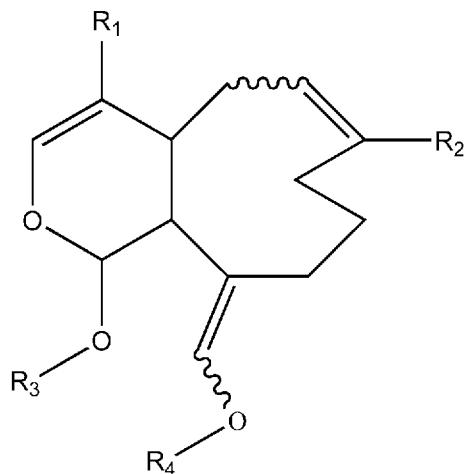
[0005] リーシュマニア症の治療にはすべての病型に対して5価アンチモン剤が第1選択薬である。WHOが推奨する、本剤の使用法は、20mgアンチモン/kg/日で30日間となっている。WHOは、5価アンチモン剤による初回治療コースで症状の改善を認めない場合は、ペニタミジン、アミノサイジン、アムホテリシンB、リポソームアムホテリシンB等の第2選択薬に移行することを推奨する。かかるリーシュマニア症の処方の問題の1つは、第1選択薬及び第2選択薬の両方とも注射によって投与しなければならないことである。医療設備が不備な僻地の患者にアンチモン剤を1か月間連続して注射することはきわめて困難と考えられる。そこで、注射によらずに投与することができる新規の抗リーシュマニア症治療薬を開発する必要がある。また、前記アンチモン剤に対する耐性原虫が出現しており、第2選択薬に対する耐性原虫の出現も時間の問題である。そこで、新規な作用機序を有する、抗リーシュマニア治療薬を開発する必要がある。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明は、以下の化学式(1)ないし(3)のいずれか1つの構造を有し、式(1)ないし(3)において、R₁は、式(4)のR₁₀-か、式(5)のR₂₀-かであり、R₂は、CHO-か、HO-CH₂-か、CH₃-C(=O)-か、CH₃-CH(-OH)-かであり、R₃は、水素原子か、CH₃-C(=O)-か、CH₃-CH₂-C(=O)-か、CH₃-CH(-OH)-か、

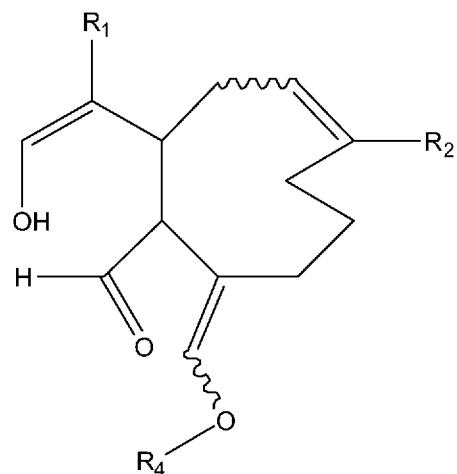
$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}(-\text{OH})$ 一かであり、 R_4 は、水素原子か、 $\text{CH}_3-\text{C}(=\text{O})$ 一か、 $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})$ 一か、 $\text{CH}_3-\text{CH}(-\text{OH})$ 一か、 $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}(-\text{OH})$ 一かであり、 R_{11} 及び R_{12} は、それぞれ独立に、水素原子、メチル基、又はハロゲン原子であり、 R_{13} は、 $-\text{CH}_2-$ か、 $-\text{CH}(-\text{OH})$ 一か、 $-\text{C}(=\text{O})$ 一かであり、 R_{21} 及び R_{22} は、それぞれ独立に、水素原子、メチル基、又はハロゲン原子であり、 R_{23} は、 $-\text{CH}_2-$ か、 $-\text{CH}(-\text{OH})$ 一か、 $-\text{C}(=\text{O})$ 一かであり、 R_{24} は、水素原子、ヒドロキシル基、メチル基、又はハロゲン原子である、化合物又はその薬学的に許容できる塩を提供する。

[化1]



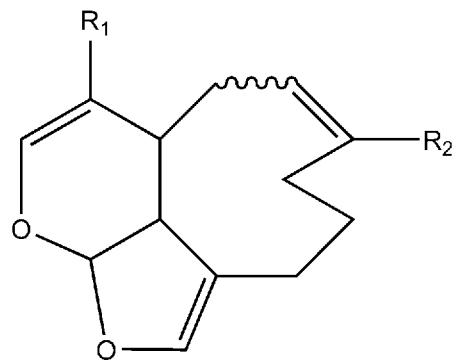
(1)

[化2]



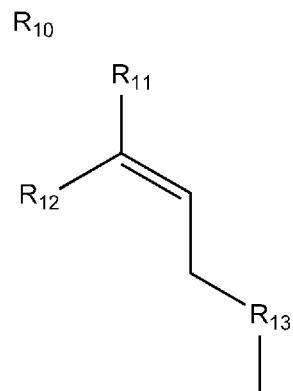
(2)

[化3]



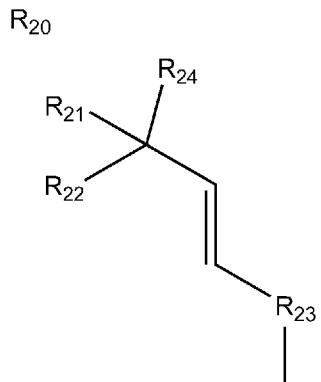
(3)

[化4]



(4)

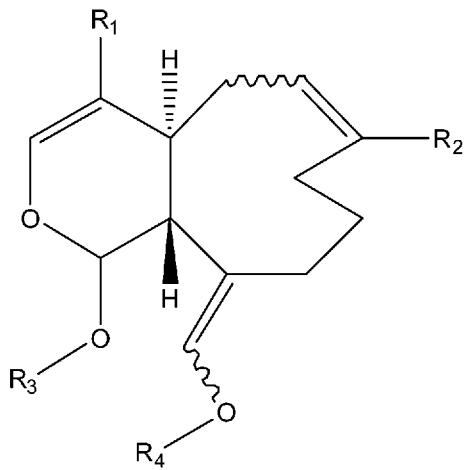
[化5]



(5)

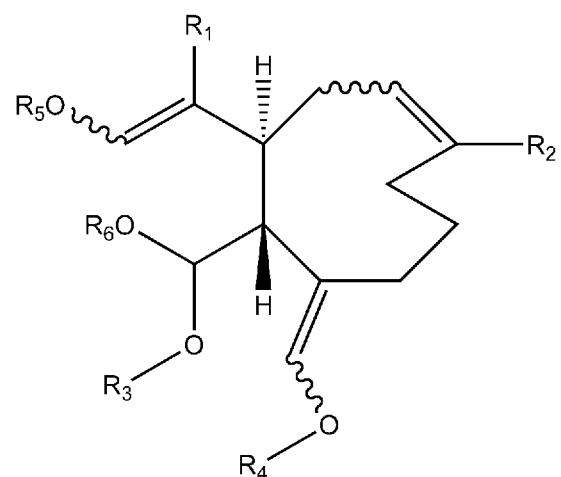
[0007] 本発明は、以下の化学式(6)又は(7)の構造を有し、式(6)又は(7)において、R₁は、式(8)のR₁₀ーか、式(9)のR₂₀ーかであり、R₂は、CHOーか、HO—CH₂ーか、CH₃—C(=O)ーか、CH₃—CH(—OH)ーかであり、R₃は、水素原子か、CH₃—C(=O)ーか、CH₃—CH₂—C(=O)ーか、CH₃—CH(—OH)ーか、CH₃—CH₂—CH(—OH)ーかであり、R₄は、水素原子か、CH₃—C(=O)ーか、CH₃—CH₂—C(=O)ーか、CH₃—CH(—OH)ーか、CH₃—CH₂—CH(—OH)ーかであり、R₅は、水素原子か、CH₃—C(=O)ーか、CH₃—CH₂—C(=O)ーかで、R₆は、水素原子か、CH₃—C(=O)ーか、CH₃—CH₂—C(=O)ーかであり、R₁₁及びR₁₂は、それぞれ独立に、水素原子、メチル基、又はハロゲン原子であり、R₁₃は、—CH₂ーか、—CH(—OH)ーか、—C(=O)ーかであり、R₂₁及びR₂₂は、それぞれ独立に、水素原子、メチル基、又はハロゲン原子であり、R₂₃は、—CH₂ーか、—CH(—OH)ーか、—C(=O)ーかであり、R₂₄は、水素原子、ヒドロキシル基、メチル基又はハロゲン原子である、化合物又はその薬学的に許容できる塩を提供する。

[化6]



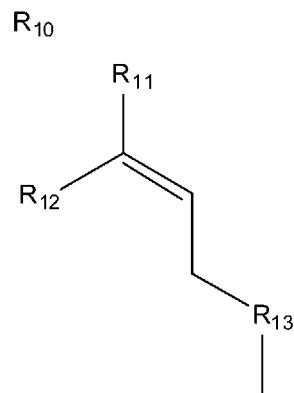
(6)

[化7]



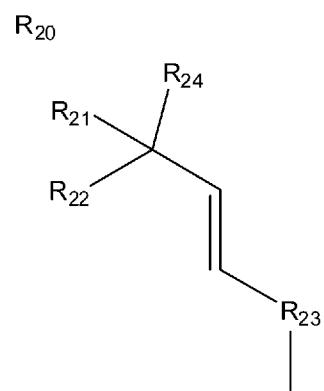
(7)

[化8]



(8)

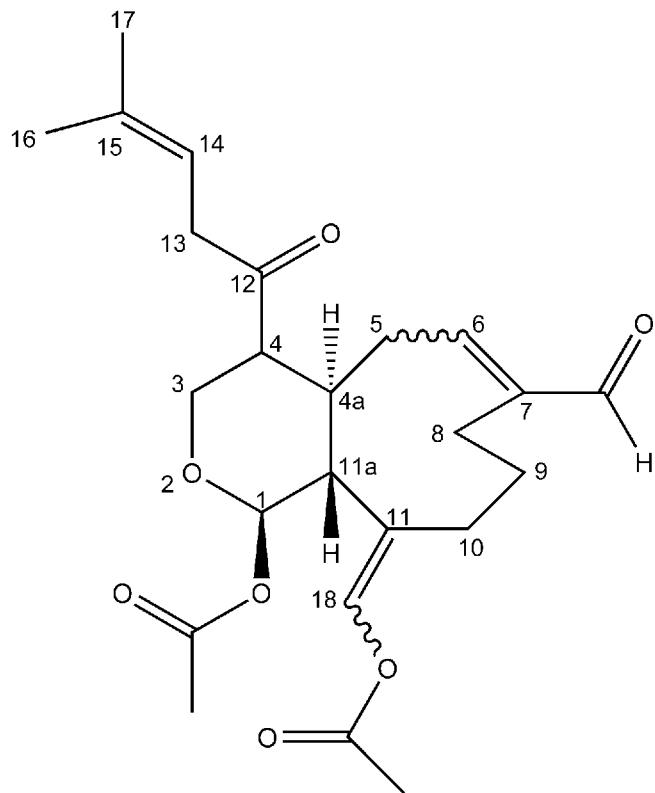
[化9]



(9)

[0008] 本発明は、以下の化学式（10）の構造を有する化合物又はその薬学的に許容できる塩を提供する。

[化10]



(10)

[0009] 本発明は、本発明の化合物又はその薬学的に許容できる塩を生成する薬物前駆体である化合物又はその薬学的に許容できる塩を提供する。

[0010] 本発明は、本発明の化合物又はその薬学的に許容できる塩を含む、原虫感染症治療用医薬品組成物を提供する。

[0011] 本発明の原虫感染症治療用医薬品組成物は、5価アンチモン剤、ペニタミジン、アミノサイジン、アムホテリシンB、リポソームアムホテリシンBからなるグループから選択される少なくとも1種類の医薬と、本発明の化合物又はその薬学的に許容できる塩とを含み、前記少なくとも1種類の医薬と、前記本発明の化合物又はその薬学的に許容できる塩とを、同時に、あるいは、逐次的に投与する場合がある。

[0012] 本発明の原虫感染症治療用医薬品組成物は、リーシュマニア、トリパノソーマ及びマラリアからなるグループから選択される少なくとも1種類の原虫

感染症治療用医薬品組成物の場合がある。

- [0013] 本発明の化合物の化学式において、立体異性体及び／又は幾何学的異性体を区別しない表記の場合には、可能ないずれか 1 つの立体異性体及び／又は幾何学的異性体か、2 つ以上の立体異性体及び／又は幾何学的異性体の混合物かの場合がある。すなわち、本発明の化合物は、特別な立体構造についての記載がある化学結合を例外として、他の化学結合について任意の光学活性体又はラセミ体、ジアステレオ異性体又はそれらの任意の混合物がすべて含まれる。
- [0014] 本発明の化合物における「ハロゲン」は、フッ素、塩素、臭素又はヨウ素のいずれでもよい。
- [0015] 本発明の化合物の薬学的に許容できる塩の好ましい例としては、塩酸塩、酢酸塩、又はパラトルエンスルホン酸などの酸付加塩、アンモニウム塩又是有機アミン塩などの塩基付加塩、遊離形態及び塩の形態のペプチド誘導体の任意の水和物及び溶媒和物等があるが、これらに限られない。
- [0016] 本発明の医薬品組成物は、本発明の化合物又はその薬学的に許容できる塩の少なくとも 1 つを有効成分として含む。本発明の医薬品組成物は、少なくとも 1 つの本発明の化合物又はその薬学的に許容できる塩と、少なくとも 1 つの薬学的に許容できる担体とを含む場合がある。本発明の化合物又はその薬学的に許容できる塩を有効成分として含む本発明の医薬品組成物は、リーシュマニア症の予防及び／又は治療を目的として使用することができ、静脈内投与、皮下投与、直腸内投与などの非経口投与のほか、経口投与、経粘膜投与、又は経皮投与により適用可能である。これらの投与経路に適する剤形は当業者に種々知られており、当業者は所望の投与形態に適する剤形を選択し、必要に応じて当業界で利用可能な 1 種類又は 2 種類以上の薬学的に許容できる担体又は製剤用添加物を用いて医薬用組成物の形態の製剤を製造することが可能である。例えば、経皮投与には、軟膏その他の塗布剤、湿布その他の貼付剤などが好適である。本発明の医薬の有効成分として、本発明の化合物又はその薬学的に許容できる塩の水和物又は溶媒和物が用いられる

場合がある。投与量は特に限定されないが、例えば、経皮投与又は経粘膜投与の場合には単回投与量を0.1～10mgとし、経口投与の場合には単回投与量を1～100mgとして、一日あたり2～3回投与することができる。あるいは、通常成人1日あたり約0.1～1,000mg、好ましくは、約1～300mg投与することができる。また、投与量を患者の体重、年齢、遺伝子型、病状等のパラメータと関連づけて設定することができる。

- [0017] 本発明の医薬品組成物は、錠剤、顆粒剤（細粒）、カプセル剤、注射剤（点滴静注剤）、貼布剤、坐剤、懸濁液及びエマルジョン、ペースト、軟膏、クリーム、ローション、点鼻剤、点眼剤等の剤形で提供される場合があるが、これらに限られない。本発明の医薬品組成物は、持続時間を長時間維持することを目的として徐放化される場合がある。
- [0018] 本発明の医薬品組成物に含まれる薬学的に許容できる担体又は製剤用添加物には、安定化剤、界面活性剤、可溶化剤、吸着剤等が含まれるが、これらに限られない。本発明の医薬品組成物に含まれる薬学的に許容できる担体又は製剤用添加物は、上記に列挙される本発明の医薬品組成物の剤形に対応して選択される。
- [0019] 本発明において原虫とは、ヒトその他のほ乳類に感染し、人間に害を及ぼすいすれかの原生生物をいい、リーシュマニア、マラリア原虫、トキソプラズマ及びトリパノソーマと、アーベバ赤痢、シャーガス病その他の原虫感染症の病原体とを含むが、これらに限定されない。

図面の簡単な説明

- [0020] [図1]腔腸動物由来の抗原虫活性物質の分離手順を示すフロー・チャート図。
[図2]腔腸動物由来の抗原虫活性物質の分離手順を示すフロー・チャート図。
[図3]画分3-2成分の逆相HPLC分離パターンを示す波形図。
[図4]画分3-3成分の逆相HPLC分離パターンを示す波形図。
[図5]画分12-3成分の逆相HPLC分離パターンを示す波形図。
[図6]画分12-10成分の逆相HPLC分離パターンを示す波形図。
[図7]cristaxenicin AのCOSY及びHMBIC相関の結果を

示す図。

[図8] *cristaxenicin A* の NMR (400MHz, CD₃OD) 分析結果のデータを示す表。

発明を実施するための形態

[0021] 以下の実施例によって本発明について詳細な説明を行なうが、本発明はこれらの実施例により何ら限定されるものではない。

実施例 1

[0022] 1. 日本近海産海洋無脊椎動物由来抗原虫活性物質のスクリーニング

日本近海で採取された海洋無脊椎動物について、同じ生物種の検体ごとに個体がメタノールで抽出され、濃縮後水とクロロホルムとで二層分配された。得られた水溶性画分及び脂溶性画分の粗抽出物の乾燥重量が測定された。また、以下の生理活性試験から、リーシュマニア原虫に対する抗原虫活性と、ヒト子宮頸癌由来のHeLa細胞及びマウスリンパ腫由来のP388細胞での細胞毒性とが測定された。

[0023] 2. 生理活性試験

2-1 抗リーシュマニア活性試験

96穴プレートに 1×10^5 個のEGFP遺伝子導入リーシュマニア原虫 (LaEGFP, Okuno Tら, Exp. Anim. 52: 109 (2003)) が播種され、培地で希釈されたサンプルを加えて72時間培養された。その後、蛍光プレートリーダーで各ウェルの蛍光強度が測定され、試験サンプルの抗リーシュマニア活性が算出された。

[0024] 2-2 細胞毒性試験

ヒト子宮頸癌由来のHeLa細胞及びマウスリンパ腫由来のP388細胞の懸濁液 (1×10^4 個/mL) が96穴マイクロプレートのA~H行1~11列のウェルに $200\mu L$ ずつ分注され、24時間37°Cで培養された。その後サンプルのメタノール溶液 (1mg/mL) が96穴マイクロプレートのA行1~10列のウェルに $2\mu L$ ずつ添加され、A行11列のウェルには陽性対照としてアドリアマイシン (1mg/mL) が $2\mu L$ 添加された。

A～D行12列のウェルには培地のみが200μLずつ添加され、E～H行12列のウェルには1×10⁴個/mLの前記細胞の懸濁液が200μLずつ添加された。マルチチャンネルピペットを用いて、A行の各列のウェルの培養液が50μL吸引され、B行の各列のウェルに添加され、次に、B行の各列のウェルの培養液が50μL吸引され、C行の各列のウェルに添加され、というように5倍希釀をA列からH列まで順に行って、サンプルが8段階に希釀された。72時間の培養後、MTT（臭化3-[4,5-ジメチルチアゾール-2-イル]-2,5-ジフェニル・テトラゾリウム）1mg/mLのPBS溶液が各ウェルに50μLずつ添加された。3時間の培養後、各ウェルの培養液が全て除去され、DMSOが150μLずつ添加された。各ウェルでDMSOに溶出した色素の吸光度がマルチウェルプレートリーダによって測定され、細胞の半数が死滅する濃度IC₅₀値が決定された。

[0025] 3. 結果

腔腸動物ヤギ*Acanthoprimnoa cristata*の検体（検体コード番号：C07110）は、鹿児島県屋久島新曾根（北緯29°46'55"、東経130°21'92"水深138m～北緯29°46'71"、東経130°22'06"、水深135m）でドレッジ採取された。検体C07110と、同時にスクリーニングされた種名未同定の海綿動物の検体（検体コード番号：S07161）についてのスクリーニング結果を表1に示す。

[0026] [表1]

	IC ₅₀ (μg/mL)		
	HeLa	P388	LaEGFP
C07110 水溶性画分	50	50	26.4
C07110 脂溶性画分	10	10	1.1
S07161 水溶性画分	0.4	0.4	6.4
S07161 脂溶性画分	0.08	0.08	0.6

[0027] 表1に示すとおり、検体C07110の脂溶性画分のリーシュマニア原虫に対するIC₅₀値は1.1μg/mLだが、ヒトHeLa細胞及びマウスP388細胞に対するIC₅₀値は10μg/mLであった。すなわちこの画分の抗原虫活性は、ヒト及びマウスに対する細胞毒性に比べて約10倍選択性が高い。これに対し、検体S07161の脂溶性画分のリーシュマニア原虫に対するIC₅₀値は0.6μg/mLでC07110より高いが、ヒトHeLa細胞及びマウスP388細胞に対するIC₅₀値が0.08μg/mLで抗原虫活性より高いため、選択性に問題があった。そこで以下では、C07110からの抗リーシュマニア原虫活性物質単離を行った。

実施例 2

[0028] 新規抗原虫活性物質の単離

1. 画分5-10

検体C07110の腔腸動物ヤギ類90g由来の抗原虫活性物質の分離手順が図1及び図2に示される。図1を参照して、動物個体がメタノールで抽出され、濃縮後水とクロロホルムとで二層分配された。水層はさらにn-ブタノールで抽出され、得られたn-ブタノール層はクロロホルム層と混合され、濃縮された。このエキス画分がKupchan分画(Kupchan, S. M. ら、J. Org. Chem.、38: 178-179 (1973))に付され、n-ヘキサン、クロロホルム、60%メタノール可溶性画分2-3が得られた。前記2-3画分が、ODSフラッシュカラムクロマトグラフィー[50%メタノール、70%メタノール、70%アセトニトリル、85%アセトニトリル、メタノール、クロロホルム/メタノール/水(6:4:1)]にて分画された。この画分の中で強い抗リーシュマニア活性を示した70%メタノール画分(3-2画分、76.8mg、このうち71.2mgがさらなる分離に用いられた。)が、最終的にC₁₈カラム(70-90%メタノール)を用いる逆層HPLCで分画された。図3は、画分3-2がCOSMOSIL-5C₁₈-AR-IIが充填された直径2cm、長さ25cmのカラムに適用され、流速毎分6mLの70%から90%までのメタノ

ール勾配で分離された結果を示す波形図である。図3の縦軸は220nmの紫外線の吸光度の相対値で、図3の横軸は右から左に保持時間の経過を示す。横軸の矢印は3分間を示す。太線で示されたピーク画分5-10の収量は19.7mgであった。画分5-10はさらなる分析により单一物質からなることが示された。そこで画分5-10は機器分析に供された。

[0029] 2. 画分13-2及び13-4

前記ODSフラッシュカラムクロマトグラフィーの70%アセトニトリル画分(3-3)にも前記70%メタノール画分(3-2)と同等の活性が認められた。C₁₈カラム(70-90%メタノール)を用いる逆層HPLCで分画された結果を図4に示す。図4は、画分3-3がCOSMOSIL-5 C₁₈-AR-IIが充填された直径2cm、長さ25cmのカラムに適用され、流速毎分8mLの70%から90%までのメタノール勾配で分離された結果を示す波形図である。図4の縦軸は220nmの紫外線の吸光度の相対値で、図4の横軸は右から左に保持時間の経過を示す。横軸の矢印は6分間を示す。太線で示されたピーク画分12-3、12-7及び12-10の収量は、それぞれ、2.5mg、3.4mg及び1.2mgであった。画分12-3、12-7及び12-10からの抗原虫活性成分の分離手順は図2に示される。図4を参照して、画分12-3、12-7及び12-10がC₁₈カラムを用いる逆層HPLCで分画された。画分12-3はCOSMOSIL-5 C₁₈-AR-IIが充填された直径1cm、長さ25cmのカラムに適用され、流速毎分2mLの50%から70%までのメタノール勾配で分離された。図5は、画分12-3がCOSMOSIL-5 C₁₈-AR-IIが充填された直径1cm、長さ25cmのカラムに適用され、流速毎分2mLの50%から70%までのメタノール勾配で分離された結果を示す波形図である。図5の縦軸は220nmの紫外線の吸光度の相対値で、図5の横軸は右から左に保持時間の経過を示す。横軸の矢印は6分間を示す。画分12-3の収量の約半分がカラム分離に用いられ、太線で示されたピーク画分13-2及び13-4の収量は、それぞれ、0.2mg及び0.3mgであった。

。ピーク画分 13-2 及び 13-4 には抗原虫活性が認められた。画分 13-2 及び 13-4 はさらなる分析により単一物質からなることが示された（図示されない）。そこで画分 13-2 及び 13-4 は機器分析に供された。

[0030] 3. 画分 12-7

画分 12-7 はさらなる分析により単一物質からなることが示された（図示されない）。そこで画分 12-7 は機器分析に供された。

[0031] 4. 画分 14-1 及び 14-2

画分 12-10 は COSMOSIL-5C₁₈-AR-II が充填された直 径 1 cm、長さ 25 cm のカラムに適用され、流速毎分 2 mL の 65% から 75%までのメタノール勾配で分離された。図 6 は、画分 12-10 が COSMOSIL-5C₁₈-AR-II が充填された直 径 1 cm、長さ 25 cm のカラムに適用され、流速毎分 2 mL の 65% から 75%までのメタノール勾配で分離された結果を示す波形図である。図 6 の縦軸は 220 nm の紫外線の吸光度の相対値で、図 6 の横軸は右から左に保持時間の経過を示す。横軸の矢印は 6 分間を示す。画分 12-10 の収量の約半分がカラム分離に用いられ、太線で示されたピーク画分 14-1 及び 14-2 の収量は、それぞれ、0.8 mg 及び 0.2 mg であった。画分 14-1 及び 14-2 には抗原虫活性が認められた。画分 14-1 及び 14-2 はさらなる分析により単一物質からなることが示された（図示されない）。そこで画分 14-1 及び 14-2 は機器分析に供された。

実施例 3

[0032] 新規抗原虫活性物質の構造解析

1. 画分 5-10

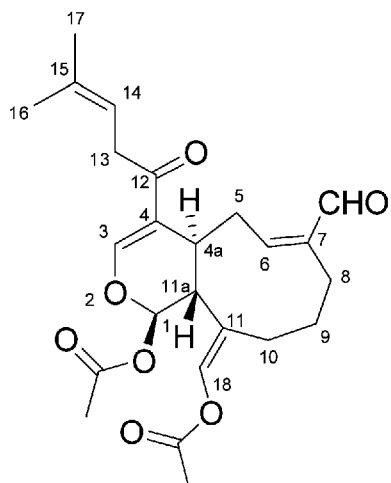
抗リーシュマニア活性物質画分 5-10 の機器分析データは以下のとおりであった。 $[\alpha]^{21.7D} +90.5^\circ$ (c 0.22, MeOH) ; IR 2931, 1755, 1681, 1616, 1454, 1371, 1340, 1209, 1176, 1108, 1076, 1015 cm⁻¹; UV (MeOH) 231 nm ($\log \epsilon$ 4.28); FABMS m

m/z 431 [M+H]⁺, 453 [M+Na]⁺: HRFABMS m/z 431.2089 (calcd for C₂₄H₃₁O₇ 431.2070)

[0033] 高解像高速原子衝撃質量分析（HRFABMS）の結果、画分5-10として単離された抗リーシュマニア活性物質の分子式はC₂₄H₃₀O₇であることがわかった。¹H NMRスペクトル分析の結果、前記抗リーシュマニア活性物質は、2個のアセチル基 (δ_{H} 2.10, 2.05) と、1個のアルデヒド基 (δ_{H} 9.27) と、2個のメチル基 (δ_{H} 1.75, 1.68) を有することが示された。¹³C NMRスペクトル分析結果から、24本のスペクトルが確認され、前記抗リーシュマニア活性物質は共役ケトン基 (δ 198.2) を有することがわかった。¹H-¹H相関2次元NMRスペクトル分析(COSY)の結果、3つのスピニ系が得られた。HMB C分析の結果、前記アルデヒド基からC-6 (δ 153.4)、C-7 (δ 144.9)、C-8 (δ 21.2) に相関がみられたことから、前記抗リーシュマニア活性物質において、前記アルデヒド基はC-7に結合していることがわかった。また、H-18 (δ_{H} 6.98) からアセチル基のカルボニル炭素へ相関が見られることから、前記抗リーシュマニア活性物質の前記アセチル基の1個は酸素原子を介してC-18に結合していることがわかった。また、H-18からC-10 (δ 28.8)、C-11 (δ 120.6)、C-11aに相関が見られることから、2つのスピニ相関系がつながり、9員環を形成することがわかった。一方、H-1 (δ 5.86) からアセチル基へ相関が見られたことから、前記アセチル基のもう1個は酸素原子を介してC-1に結合していることがわかった。H-3からC-4 (δ 120.2)、C-4a (δ 35.9)、C-1 (δ 94.5)への相関と、H-3 (δ_{H} 7.68) 及びH-1 (δ_{H} 5.86) のケミカルシフトとから、前記抗リーシュマニア活性物質はジヒドロピラン環構造を持つことがわかった。前記2個のメチル基 (H-16及びH-17) からC-15 (δ 134.9)、C-14 (δ 116.9)への相関が見られること

から、前記2個のメチル基はC-15へ結合していることがわかった。H-3、H-13a、H-13bからC-12 (δ 198.2)への相関が見られることから、前記共役ケトン基はC-13とC-4の間に位置していることがわかった。図7はCOSY及びHMBC相関の結果を示す。図8は前記抗リーシュマニア活性物質のNMR (400MHz, CD₃OD) 分析結果のデータを示す。以上の分析結果に基づいて、前記抗リーシュマニア活性物質は、以下の化学式(11)で表される構造を有する新規Xenican型テルペノイドと決定された。この物質は出所の生物種名から、cristaxenicin Aと命名された。

[0034] [化11]



[0035] 前記抗リーシュマニア活性物質の相対配置について、H-11aとH-1及びH-4aとの間の結合定数が大きい ($J = 9, 5, 11, 4\text{ Hz}$) ことから、これらはアキシャルプロトンであり、互いにantiの関係にあることが示唆された。

[0036] 2. 画分12-7

実施例2で説明されたC₁₈カラムを用いる逆層HPLCによって、画分12-7はcristaxenicin Aと保持時間が同じであるため、構造も同一であると結論された。

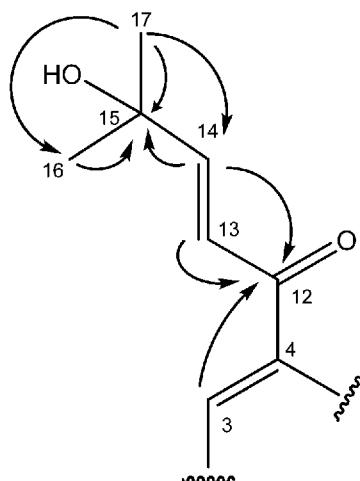
[0037] 3. 画分13-2及び13-4

画分13-2及び13-4は収量が少なかった。図5から、画分12-3には画分13-2及び13-4以外の主要成分が含まれないことが明かなので、画分13-2及び13-4の混合物として、画分12-3の¹H NMRスペクトルを測定した。なお、以下では、画分13-2及び13-4の成分は、それぞれ、化合物A及び化合物Bという。その結果、画分12-3でcristaxenicin Aに類似したピーク群が観測されたので、画分12-3の成分、すなわち、化合物A及びBはcristaxenicin Aの類縁体であることが示唆された。ESIMSを測定した結果、469.2 [M+Na]⁺と、485.2 [M+K]⁺とのピークが観測され、分子式はcristaxenicin Aより酸素が1つ多いC₂₄H₃₀O₈と推定された。cristaxenicin Aの¹H NMRスペクトルと比較した結果、cristaxenicin AにみられたH-13 (δ_H 3.33/3.40)、H-14 (δ_H 5.30) のピークが消失し、代わりに低磁場側に2つのダブレットオレフィンのピーク [δ_H 6.68 d (15.8 Hz)、6.91 d (15.8 Hz)] が観察された。また、cristaxenicin Aの側鎖末端の2つのシングレットのメチル基が高磁場シフト (1.36 s、1.37 s) をしていることが明らかとなつた。これらの解析の結果、化合物AおよびBは、cristaxenicin Aの類縁体ではあるが、cristaxenicin Aとはピラン環に結合している側鎖の部分構造が異なることが示唆された。

[0038] 化合物AおよびBの¹³C NMR及びHMQC、HMBCスペクトル解析の結果、ケトン基のスペクトルが高磁場シフト (δ 190付近) しており、ダブルトオレフィンピーク [δ_H 6.68 d (15.8 Hz)、6.91 d (15.8 Hz)] からケトン基へHMBC相関が確認されたことから、12C-13およびC-14間で2重結合を形成し、C-12のケトンと共役していることが明らかになった。C-14および2つのシングレットメチル基C-16、C-17のプロトンから δ 82.5のカーボンシグ

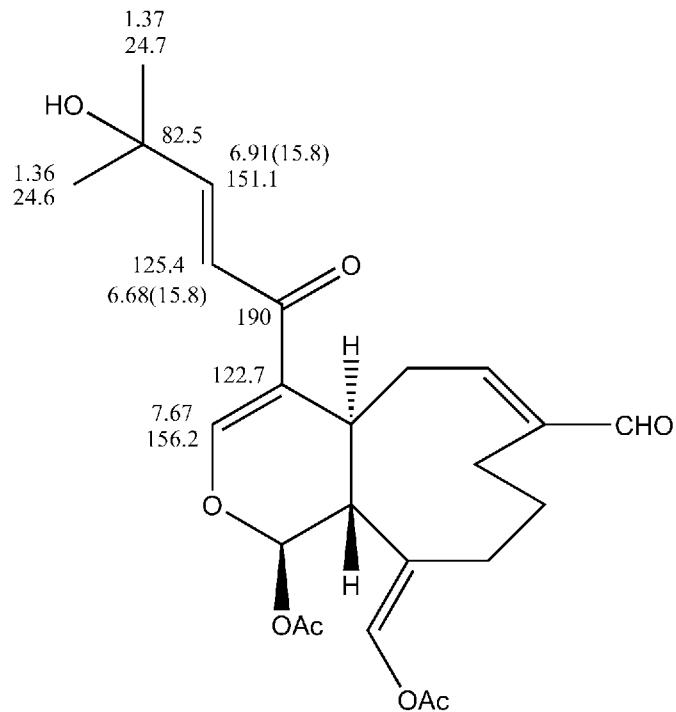
ナルにHMB C相関が観測されたことから、このカーボンシグナルはC-15に位置することが明らかになった。以下の化学式12に前記HMB C相関を示す。化学シフトの値 (δ 82.5) から、C-15にはヒドロキシリル基が結合していると示唆された。以前に報告されている *t s i t s i x e n i c i n C* (Hooper, G. J. 及び Davies-Coleman, M.、*Tetrahedron*, 51: 9973 (1995)) には推定された部分構造と同じユニットが存在しており、¹H NMRおよび¹³C NMRスペクトルを比較したところ、スペクトルがほぼ一致した（化合物A又はBについて化学式13、*t s i t s i x e n i c i n C*について化学式14）。以上の結果から、化合物A又はBのいずれか一方は以下の化学式15の構造を有する。

[0039] [化12]

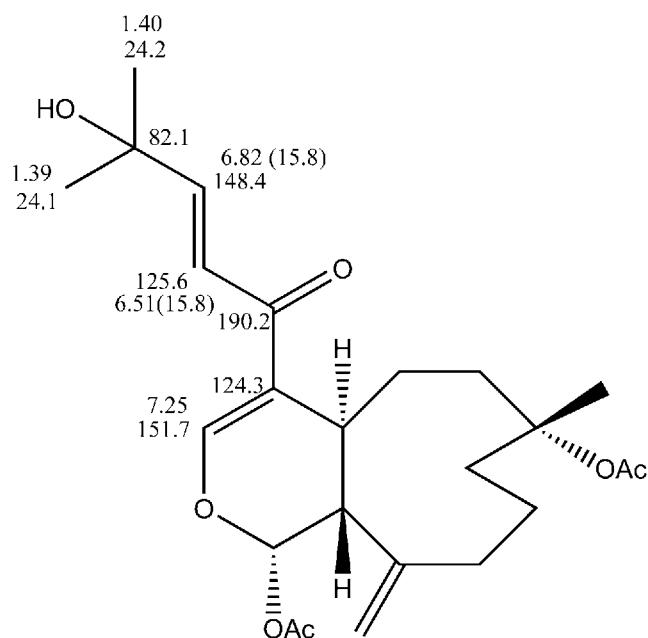


[0040]

[化13]

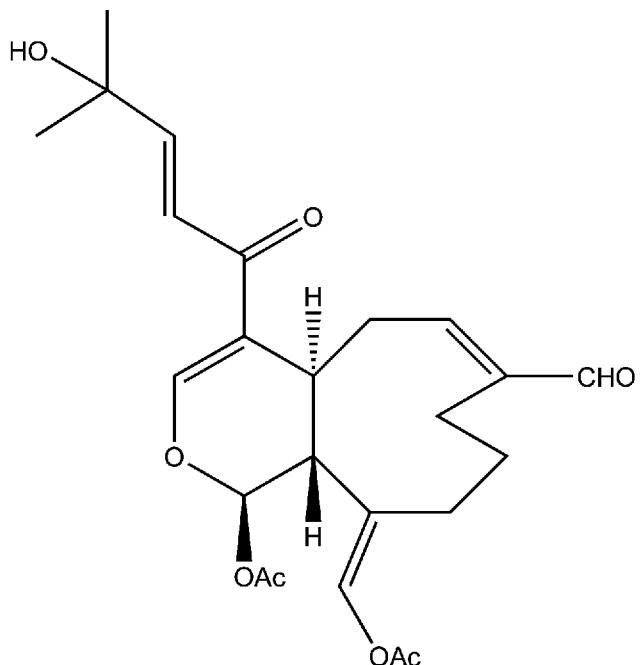


[0041] [化14]



[0042]

[化15]



[0043] 4. 画分14-1及び14-2

画分14-1はNMR解析結果の比較により、cristaxenici
n Aと同一であることが確認された。画分14-2は、プロトンNMRの
解析結果が画分14-1とは異なるので、画分14-2の成分（以下、化合
物Cという。）の構造は画分14-1と同一ではない。

実施例 4

[0044] 新規抗原虫活性物質の生理活性

1. 抗リーシュマニア活性試験

96穴プレートに 1×10^5 個のEGFP遺伝子導入リーシュマニア原虫（LaEGFP、Okuno Tら、Exp. Anim. 52:109 (2003)）が播種され、培地で希釈されたサンプルを加えて72時間培養された。その後、蛍光プレートリーダーで各ウェルの蛍光強度が測定され、試験サンプルの抗リーシュマニア原虫活性が算出された。

[0045] 2. 抗トリパノソーマ原虫活性試験

96穴プレートに 2×10^5 個のアフリカトリパノソーマ原虫Trypanosoma congoense（血流型）が播種され、培地で希釈されたサンプルを加えて48時間培養された。その後、生細胞数の計測のため**ETRA Color ONE**（生化学バイオビジネス株式会社）が各ウェルに $10 \mu L$ ずつ添加され、4時間後に450nmの吸光度が測定された。

[0046] 3. 抗マラリア原虫活性試験

96穴プレートに同調化された0.5% ring stageマラリア原虫Plasmodium falciparum K-1株が $90 \mu L$ ずつ添加された後、培地で希釈されたサンプルを加えて48時間培養された。その後、lysis buffer (20mM Tris (pH 7.5)、5mM EDTA、0.008% (wt/vol) サポニン、0.08% (vol/vol) Triton X-100) 1mLに対してSYBR GREEN $0.2 \mu L$ を添加した混合液が $100 \mu L$ ずつ添加され、ヴォルテックスミキサーにより攪拌された。暗所に1時間静置された後、励起波長485nm、検出波長530nmの蛍光プレートリーダーで測定された。

[0047] 4. 細胞毒性試験

ヒト子宮頸癌由来のHeLa細胞、ヒト前骨髄球性白血病由来のHL-60細胞及びマウスリンパ腫由来のP388細胞の懸濁液 (1×10^4 個/mL) が96穴マイクロプレートのA~H行1~11列のウェルに $200 \mu L$ ずつ分注され、24時間37°Cで培養された。その後サンプルのメタノール溶液 (1mg/mL) が96穴マイクロプレートのA行1~10列のウェルに $2 \mu L$ ずつ添加され、A行11列のウェルには陽性対照としてアドリアマイシン (1mg/mL) が $2 \mu L$ 添加された。A~D行12列のウェルには培地のみが $200 \mu L$ ずつ添加され、E~H行12列のウェルには 1×10^4 個/mLの前記細胞の懸濁液が $200 \mu L$ ずつ添加された。マルチチャンネルピペットを用いて、A行の各列のウェルの培養液が $50 \mu L$ 吸引され、B行の各列のウェルに添加され、次に、B行の各列のウェルの培養液が $50 \mu L$

L吸引され、C行の各列のウェルに添加され、というように5倍希釀をA列からH列まで順に行って、サンプルが8段階に希釀された。72時間の培養後、MTT（臭化3-[4,5-ジメチルチアゾール-2-イル]-2,5-ジフェニル・テトラゾリウム）1mg/mLのPBS溶液が各ウェルに50μLずつ添加された。3時間の培養後、各ウェルの培養液が全て除去され、DMSOが150μLずつ添加された。各ウェルでDMSOに溶出した色素の吸光度がマルチウェルプレートリーダによって測定され、細胞の半数が死滅する濃度IC₅₀値が決定された。

[0048] 5. 結果

前記LaEGFPに対するcristaxenicin AのIC₅₀値は36ng/mLであった。これはリーシュマニア症の第2選択薬であるアムホテリシンBのIC₅₀値（約20ng/mL）より高い。なお、リーシュマニア症の第1選択薬である5価アンチモン剤のリーシュマニアに対するIC₅₀値は9μg/mLとの報告（Vermeersch, M.ら、ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER. 53: 3855 (2009)）があり、cristaxenicin Aのほうがはるかに活性が高い。

[0049] T. congolenseに対するcristaxenicin AのIC₅₀値は107ng/mLであった。これはトリパノソーマ原虫に活性を有すると報告があるアムホテリシンBのIC₅₀値（811ng/mL）より低い。なお、家畜トリパノソーマ症の第1選択薬であるジミナゼンのT. congolenseに対するIC₅₀値は0.1~1μg/mLとの報告（Kaminskyら、Vet Parasitol 52: 235 (1994)）があり、cristaxenicin Aがトリパノソーマ原虫に対しても活性が高いことが示された。また、Plasmodium falci parum K-1株に対するcristaxenicin AのIC₅₀値は4.6μg/mLであった。なお、画分12-3（化合物A及びBの混合物）と、画分12-10（cristaxenicin A及び化合物Cの

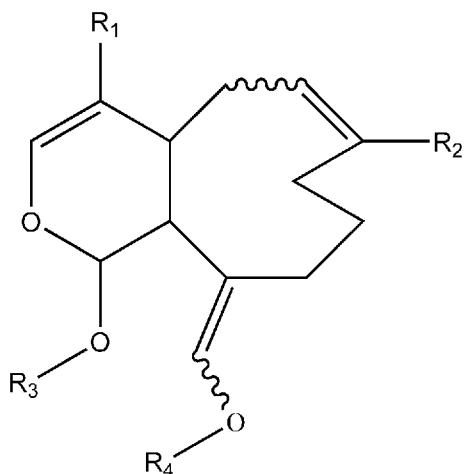
混合物)との抗リーシュマニア原虫活性IC₅₀値は、それぞれ、1, 209 ng/mLと、286 ng/mLとであった。

[0050] ヒト子宮頸癌由来のHeLa細胞、ヒト前骨髄球性白血病由来のHL-60細胞及びマウスリンパ腫由来のP388細胞に対するcristaxen incin AのIC₅₀値は、それぞれ、2.0 μg/mL、0.727 μg/mL及び0.89 μg/mLであった。したがってcristaxen incin Aは、ヒト培養細胞と比較して約20倍ないし約56倍の選択性をリーシュマニアに対して示した。

請求の範囲

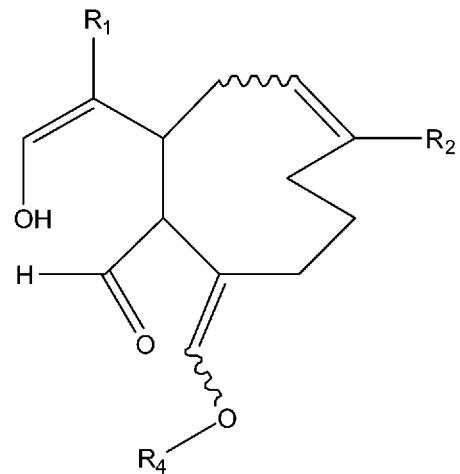
[請求項1] 以下の化学式（1）ないし（3）のいずれか1つの構造を有し、式（1）ないし（3）において、R₁は、式（4）のR₁₀ーか、式（5）のR₂₀ーかであり、R₂は、CHOーか、HO—CH₂ーか、CH₃—C(=O)ーか、CH₃—CH(—OH)ーかであり、R₃は、水素原子か、CH₃—C(=O)ーか、CH₃—CH₂—C(=O)ーか、CH₃—CH(—OH)ーか、CH₃—CH₂—CH(—OH)ーかであり、R₄は、水素原子か、CH₃—C(=O)ーか、CH₃—CH₂—C(=O)ーか、CH₃—CH(—OH)ーか、CH₃—CH₂—CH(—OH)ーかであり、R₁₁及びR₁₂は、それぞれ独立に、水素原子、メチル基、又はハロゲン原子であり、R₁₃は、—CH₂ーか、—CH(—OH)ーか、—C(=O)ーかであり、R₂₁及びR₂₂は、それぞれ独立に、水素原子、メチル基、又はハロゲン原子であり、R₂₃は、—CH₂ーか、—CH(—OH)ーか、—C(=O)ーかであり、R₂₄は、水素原子、ヒドロキシル基、メチル基、又はハロゲン原子であることを特徴とする、化合物又は薬学的に許容できる塩。

[化1]



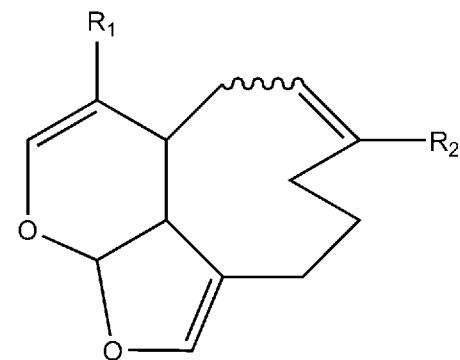
(1)

[化2]



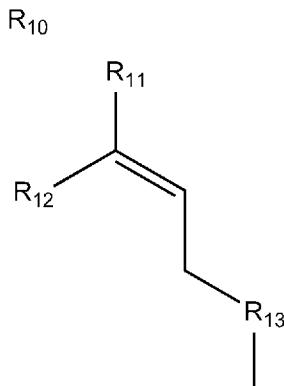
(2)

[化3]



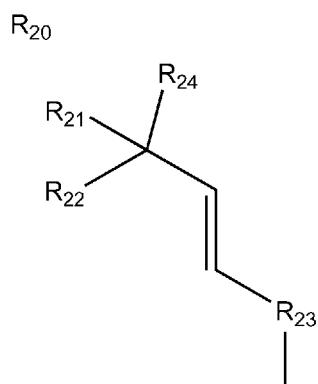
(3)

[化4]



(4)

[化5]



(5)

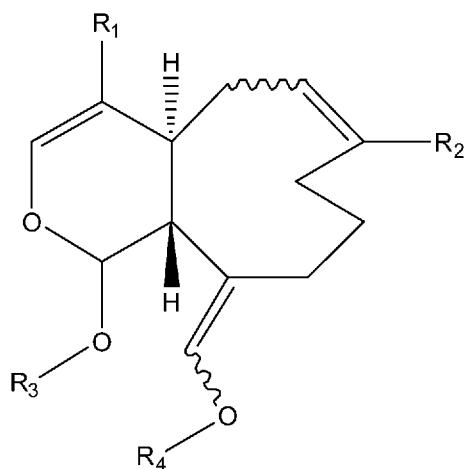
[請求項2]

以下の化学式(6)又は(7)の構造を有し、

式(6)又は(7)において、R₁は、式(8)のR₁₀ーか、式(9)のR₂₀ーかであり、R₂は、CHOーか、HO—CH₂ーか、CH₃—C(=O)ーか、CH₃—CH(—OH)ーかであり、R₃は、水素原子か、CH₃—C(=O)ーか、CH₃—CH₂—C(=O)ーか、CH₃—CH(—OH)ーか、CH₃—CH₂—CH(—OH)ーかであり、R₄は、水素原子か、CH₃—C(=O)ーか、CH₃—CH₂—C(=O)ーか、CH₃—CH(—OH)ーか、CH₃—CH₂—CH(—OH)ーか。

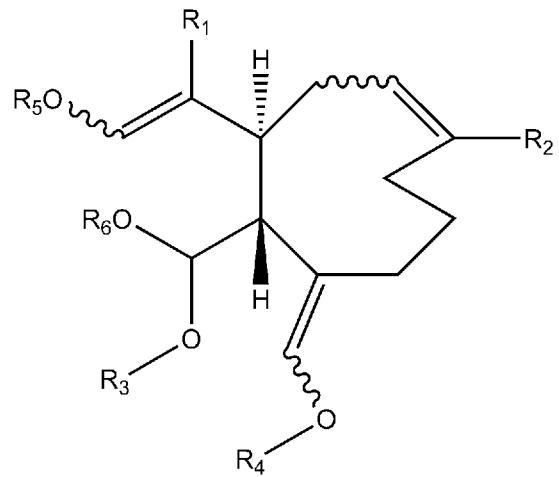
$-CH(-OH)$ 一かであり、 R_5 は、水素原子か、 $CH_3-C(=O)$ 一か、 $CH_3-CH_2-C(=O)$ 一かで、 R_6 は、水素原子か、 $CH_3-C(=O)$ 一か、 $CH_3-CH_2-C(=O)$ 一かであり、 R_{11} 及び R_{12} は、それぞれ独立に、水素原子、メチル基、又はハロゲン原子であり、 R_{13} は、 $-CH_2$ 一か、 $-CH(-OH)$ 一か、 $-C(=O)$ 一かであり、 R_{21} 及び R_{22} は、それぞれ独立に、水素原子、メチル基、又はハロゲン原子であり、 R_{23} は、 $-CH_2$ 一か、 $-CH(-OH)$ 一か、 $-C(=O)$ 一かであり、 R_{24} は、水素原子、ヒドロキシル基、メチル基又はハロゲン原子であることを特徴とする、化合物又は薬学的に許容できる塩。

[化6]



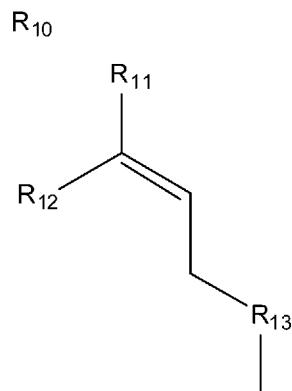
(6)

[化7]



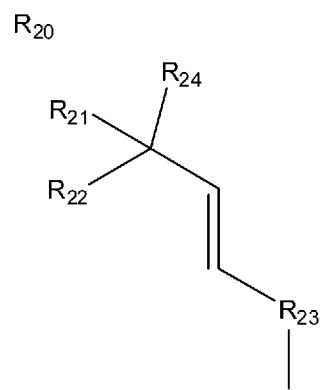
(7)

[化8]



(8)

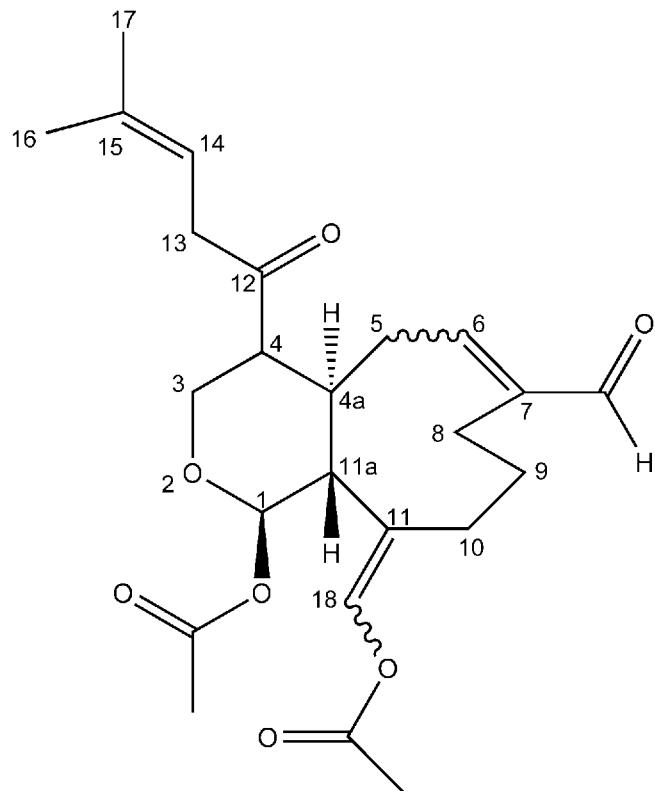
[化9]



(9)

[請求項3] 以下の化学式(10)の構造を有することを特徴とする、化合物又はその薬学的に許容できる塩。

[化10]



(10)

[請求項4] 請求項1ないし3のいずれか1つに記載の化合物又はその薬学的に許容できる塩を生成する薬物前駆体であることを特徴とする、化合物又はその薬学的に許容できる塩。

[請求項5] 請求項1ないし4のいずれか1つに記載の化合物又はその薬学的に許容できる塩を含むことを特徴とする、原虫感染症治療用医薬品組成物。

[請求項6] 5価アンチモン剤、ペンタミジン、アミノサイシン、アムホテリシンB、リポソームアムホテリシンBからなるグループから選択される

少なくとも 1 種類の医薬と、請求項 1ないし 4 のいずれか 1 つに記載の化合物又はその薬学的に許容できる塩とを含み、前記少なくとも 1 種類の医薬と、請求項 1 又は 4 のいずれか 1 つの化合物又はその薬学的に許容できる塩とを、同時に、あるいは、逐次的に投与することを特徴とする、原虫感染症治療用医薬品組成物。

[請求項7]

前記原虫はリーシュマニア、トリパノソーマ及びマラリアからなるグループから選択される少なくとも 1 種類の原虫であることを特徴とする、請求項 5 又は 6 に記載の原虫感染症治療用医薬品組成物。

[図1]

C07110 (*A.cristata* 90 g. wet wt)

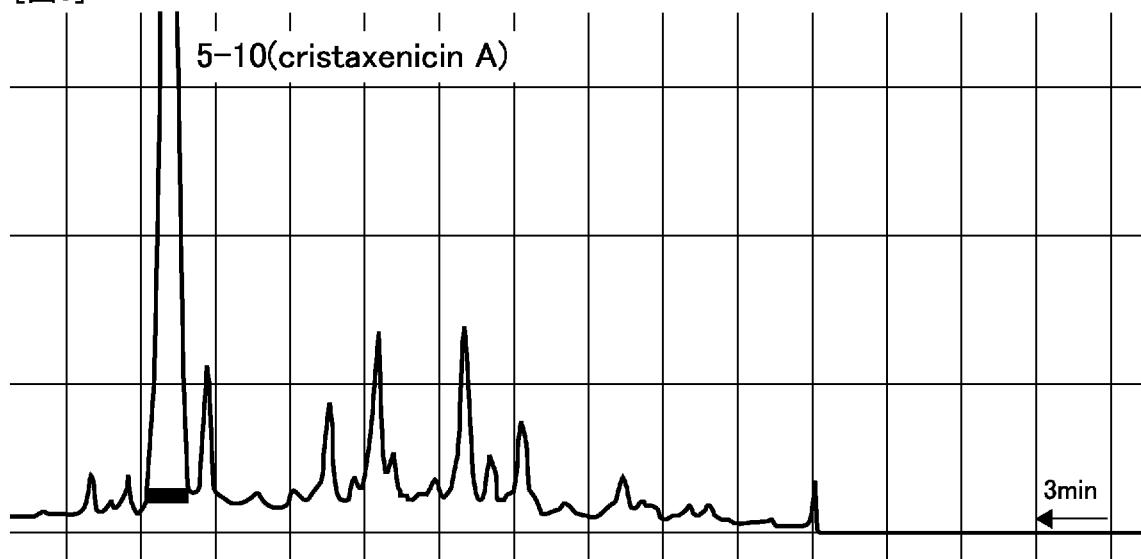
	MeOH
	H ₂ O / <u>CHCl₃, n-BuOH</u>
	90% MeOH / n-hex
	60% MeOH / <u>CHCl₃</u>
2-3	(315.9 mg)
	ODS flash column chromatog.
	50, 70% MeOH , 70, 85% MeCN
	MeOH, CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O (6:4:1)
3-2	(76.8 mg)
	※71.2 mgを分画
	RP-HPLC (COSMOSIL5C ₁₈ -AR-II φ 2×25cm, 6mL/min, 70-90% MeOH)
5-10	(cristaxenicin A 19.7 mg)

[図2]

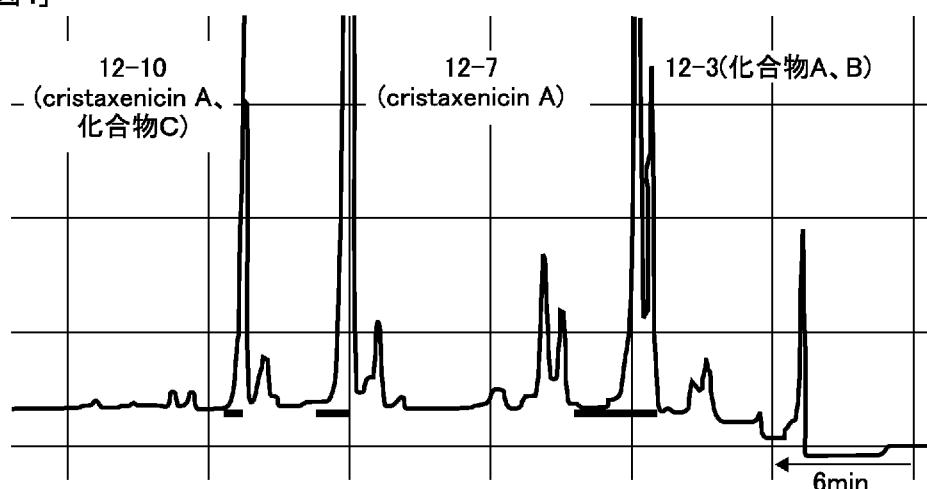
C07110 (*A.cristata* 90 g. wet wt)

	MeOH
	H ₂ O / <u>CHCl₃, n-BuOH</u>
	90% MeOH / n-hex
	60% MeOH / <u>CHCl₃</u>
2-3	(315.9 mg)
	ODS flash column chromatog.
	50, 70% MeOH, 70 , 85% MeCN
	MeOH, CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O (6:4:1)
3-3	(47.3 mg)
	RP-HPLC (COSMOSIL5C ₁₈ -AR-II φ 2×25cm, 8mL/min, 70-90% MeOH)
12-3	(2.5 mg) 12-7 (cristaxenicin A 3.4 mg) 12-10 (1.2 mg)
	※およそ半分を分画
	RP-HPLC
	(COSMOSIL5C ₁₈ -AR-II φ 1×25cm, 2mL/min, 50-70% MeOH)
13-2	(0.2 mg) 13-4 (0.3 mg) 14-1 (0.8 mg) 14-2 (0.2 mg)
	(化合物 A) (化合物 B) (cristaxenicin A) (化合物 C)

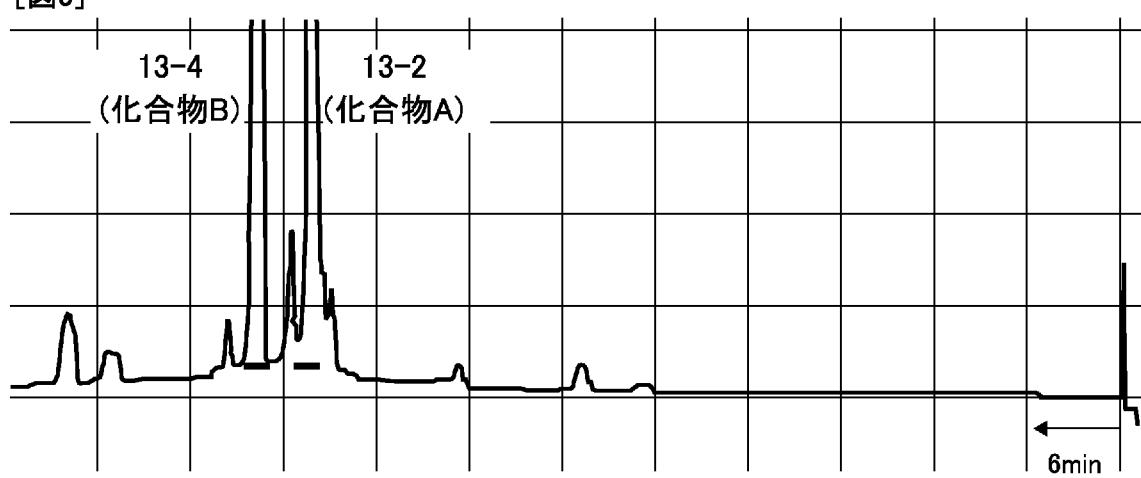
[図3]



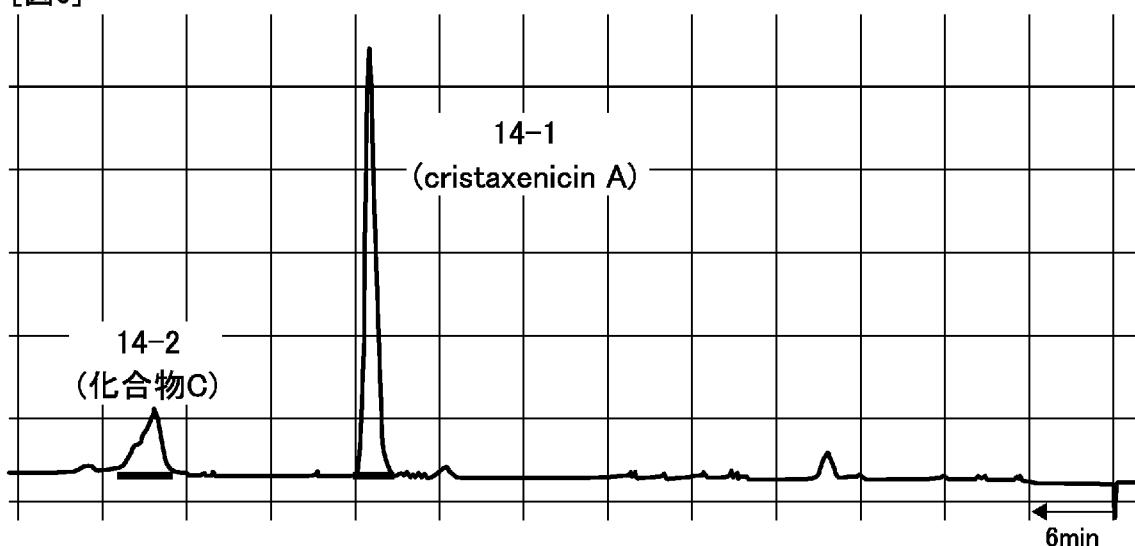
[図4]



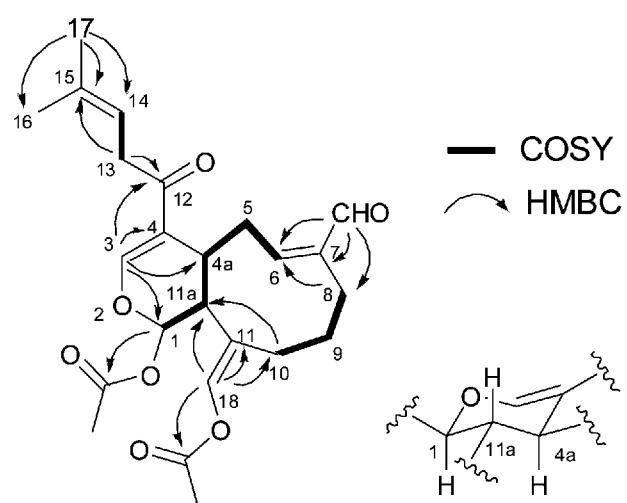
[図5]



[図6]



[図7]



[図8]

atom	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$, m(J, Hz)	COSY	HMBC
1	94.5	5.86 d (9.5)	H-11a	1-OAc
3	154.6	7.68 s		C-1,C-4,C-4a,C-12
4	120.2			
4a	35.9	3.04 m	H-5,H-5',H-11a	
5	30.0	2.86 ddd (8.5, 3.6, 13.0)	H-4a,H-5',H-6	
5'		2.65 ddd (8.5, 6.5, 13.0)	H-4a,H-5,H-6	
6	153.4	6.65 t (8.5)	H-5,H-5'	C-8,CHO
7	144.9			
8	21.2	2.39 dd (14.0, 6.8)	H-8',H-9	C-6,C-7,CHO
8'		2.32 dd (14.0, 5.9)	H-8,H-9	
9	22.5	1.83 m	H-8,H-8',H-10,H-1	C-7
			0'	
10	28.8	2.54 dd (14.3, 6.7)	H-9,H-10'	C-11a,C-11,C-8
10'		2.00 dd (14.3, 6.0)	H-9,H-10	
11	120.6			
11a	47	2.48 dd (11.4, 9.5)	H-1,H-4a	C-18
12	198.2			
13	37.6	3.40 dd (7.2, 16.1)	H-13',H-14	C-12,C-15
13'		3.33 dd (7.2, 16.1)	H-13,H-14	
14	116.9	5.30 t (7.2)	H-13,H-13'	
15	134.9			
16	16.7	1.68 s		C-14,C-15,C-17
17	24.5	1.75 s		C-14,C-15,C-16
18	136.0	6.98 s		C-10,C-11,C-11a,18-OAc
CHO	195.8	9.27 s		C-6,C-7,C-8
1-OAc	19.1	2.05 s		
	168.9			
18-OAc	19.0	2.10 s		
	167.8			

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/055715

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D311/94(2006.01)i, A61K9/127(2006.01)i, A61K31/155(2006.01)i, A61K31/352(2006.01)i, A61K31/702(2006.01)i, A61K31/7048(2006.01)i, A61K33/00(2006.01)i, A61P33/02(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D311/94, A61K9/127, A61K31/155, A61K31/352, A61K31/702, A61K31/7048, A61K33/00, A61P33/02

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2011
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2011	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2011

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

Caplus (STN), REGISTRY (STN), WPI, JSTPlus (JDreamII), JMEDPlus (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2008/109717 A1 (UNIV RUTGERS STATE NEW JERSEY, US), 12 September 2008 (12.09.2008), entire text; particularly, compounds (II), (III), (IV) (Family: none)	1-7
A	WO 96/032388 A1 (PHARMA MAR S.A.), 17 October 1996 (17.10.1996), entire text; particularly, compounds (I), (II) & AU 9653389 A	1-7
A	IWANAGA, T., et al, 'New xenia diterpenoids from Xenia species of a soft coral' Tetrahedron 1996, vol.52, No.41, p.13121-13128, entire text, particularly, compounds 5, 6, 11, 12	1-7

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 March, 2011 (28.03.11)

Date of mailing of the international search report

05 April, 2011 (05.04.11)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/055715

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GABRIELE, K. M., et al, 'Diterpenes from the brown alga <i>Dictyota divaricata</i> ' <i>Phytochemistry</i> 1991, vol.30, No.11, p.3679-82, entire text, particularly, compound 1	1-7
A	ROBERT, S. E., et al, 'The coraxeniolides, constituents of pink coral, <i>Corallium Sp</i> ' <i>Tetrahedron</i> 1981, vol.37, No.16, p.2725-33, entire text, particularly, pages 2727, 2729	1-7

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int.Cl. C07D311/94(2006.01)i, A61K9/127(2006.01)i, A61K31/155(2006.01)i, A61K31/352(2006.01)i, A61K31/702(2006.01)i, A61K31/7048(2006.01)i, A61K33/00(2006.01)i, A61P33/02(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

Int.Cl. C07D311/94, A61K9/127, A61K31/155, A61K31/352, A61K31/702, A61K31/7048, A61K33/00, A61P33/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2011年
日本国実用新案登録公報	1996-2011年
日本国登録実用新案公報	1994-2011年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

CAplus(STN), REGISTRY(STN), WPI, JSTPlus(JDreamII), JMEDPlus(JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	WO 2008/109717 A1 (UNIV RUTGERS STATE NEW JERSEY, US) 2008.09.12, 全文、特に化合物(II)(III)(IV) (ファミリーなし)	1-7
A	WO 96/032388 A1 (PHARMA MAR SA) 1996.10.17, 全文、特に化合物(I)(II) & AU 9653389 A	1-7

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」国際出願目前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 28.03.2011	国際調査報告の発送日 05.04.2011
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許序審査官（権限のある職員） 岡部 佐知子 電話番号 03-3581-1101 内線 3492 4P 4149

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	IWANAGA, T., et al, 'New xenia diterpenoids from Xenia species of a soft coral', <i>Tetrahedron</i> 1996, vol. 52, No. 41, p. 13121-13128 全文、特に化合物 5, 6, 11, 12	1-7
A	GABRIELE, K. M., et al, 'Diterpenes from the brown alga Dictyota divaricata', <i>Phytochemistry</i> 1991, vol. 30, No. 11, p. 3679-82 全文、特に化合物 1	1-7
A	ROBERT, S. E., et al, 'The coraxeniolides, constituents of pink coral, Corallium Sp', <i>Tetrahedron</i> 1981, vol. 37, No. 16, p. 2725-33 全文、特に p. 2727, 2729	1-7