



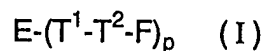
PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類6 A61K 47/48, C08B 37/00	A1	(11) 国際公開番号 WO98/55149 (43) 国際公開日 1998年12月10日(10.12.98)
(21) 国際出願番号 PCT/JP98/02373 (22) 国際出願日 1998年5月29日(29.05.98) (30) 優先権データ 特願平9/145011 1997年6月3日(03.06.97) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 塩野義製薬株式会社(SHIONOGI & CO., LTD.)[JP/JP] 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町3丁目1番8号 Osaka, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてののみ) 堀江和敏(HORIE, Kazutoshi)[JP/JP] 〒639-1123 奈良県大和郡山市筒井町603-1 Nara, (JP) 益田和義(MASUDA, Kazuyoshi)[JP/JP] 〒573-0163 大阪府枚方市長尾元町7-78-1 Osaka, (JP) 阪上昌浩(SAKAGAMI, Masahiro)[JP/JP] 〒589-0023 大阪府大阪狭山市大野台2-27-20 Osaka, (JP) (74) 代理人 弁理士 山内秀晃(YAMAUCHI, Hideaki) 〒553-0002 大阪府大阪市福島区鷺洲5丁目12番4号 Osaka, (JP)		(81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). 添付公開書類 国際調査報告書
(54)Title: USE OF DRUG CARRIERS FOR PRODUCING LYMPHNODE MIGRATING DRUGS (54)発明の名称 リンパ節移行性薬剤を製造するための薬物担体の使用 (57) Abstract Use of drug carriers represented by the following general formula (I) for producing lymphnode migrating drugs: $E-(T^1-T^2-F)_p$, wherein E represents a polysaccharide such as CM chitosan, CM pullulan or CM dextran or a derivative thereof; T^1 represents -NH-, -NHCO-, -CONH- or -NHCONH-; T^2 represents $-CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_m-$, $-(CH_2)_n-$, etc.; F represents a monosaccharide optionally N- or O-acetylated, O-alkylated or esterified, or an oligosaccharide consisting of 2 to 6 molecules of the monosaccharide or is derivative; and p is an integer of from 0 to 1,000.		

(57)要約

リンパ節移行性薬剤を製造するための、下記一般式 (I) で示される薬物担体の使用。



[式中、EはCMキトサン、CMプルラン、CMデキストランなどの多糖または該多糖の誘導体；T¹は-NH-、-NHCO-、-CONH-または-NHCONH-；T²は、-CH₂CH₂(OCH₂CH₂)_m-、-(CH₂)_n-など；Fは単糖、単糖のN-もしくはO-アシル誘導体、単糖のO-アルキル誘導体もしくはエステル誘導体を表わすか、または該単糖もしくは単糖の誘導体の2～6個からなるオリゴ糖；pは0～1000の整数を表わす。]

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AL	アルバニア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア
AM	アルメニア	FR	フランス	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AT	オーストリア	GA	ガボン	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AU	オーストラリア	GB	英国	LT	リトアニア	SN	セネガル
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BG	ブルガリア	GW	ギニア・ビサオ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TR	トルコ
BJ	ベナン	GR	ギリシャ			TT	トリニダード・トバゴ
BR	ブラジル	HR	クロアチア	ML	マリ	UA	ウクライナ
BY	ベラルーシ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UG	ウガンダ
CA	カナダ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	US	米国
CF	中央アフリカ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UZ	ウズベキスタン
CG	コンゴ	IL	イスラエル	MX	メキシコ	VN	ヴェトナム
CH	スイス	IN	インド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラビア
CI	コートジボアール	IS	アイスランド	NL	オランダ	ZW	ジンバブエ
CM	カメルーン	IT	イタリア	NO	ノルウェー		
CN	中国	JP	日本	NZ	ニュージーランド		
CU	キューバ	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CY	キプロス	KG	キルギスタン	PT	ポルトガル		
CZ	チェコ	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
DE	ドイツ	KR	韓国	RU	ロシア		
DK	デンマーク	KZ	カザフスタン	SD	スーダン		
EE	エストニア	LC	セントルシア	SE	スウェーデン		
ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール		

明細書

リンパ節移行性薬剤を製造するための薬物担体の使用

5 技術分野

本発明は、リンパ節移行性薬剤を製造するための一般式（I）で表わされる薬物担体の使用、該薬物担体に医薬化合物が結合したリンパ節移行性薬剤、および該薬物担体を用いたリンパ節移行性薬剤の製造法に関する。

10 背景技術

近年、多糖型水溶性高分子を担体として利用し、これに薬物を化学結合させて特定器官へ薬物供給を行う試みがなされている。特開平 8 - 8 5 7 0 3 号には、臓器指向性を示す多糖誘導体が開示されており、とくに肝臓や炎症部位へ移行する性質や細網内皮系組織（肝臓、脾臓等）を回避する性質を有していることから、

15 抗腫瘍剤や抗炎症剤の薬物担体として有用であることが示されている。

発明の開示

本発明者らは上記目的を達成すべく鋭意研究を重ねた結果、下記一般式（I）で示される化合物がリンパ節に特異的に集積することを見出し、該化合物を薬物
20 担体として医薬化合物と複合体化させることにより、リンパ節に選択的に移行する薬剤（以下、リンパ節移行性薬剤と称す）を製造することに成功した。

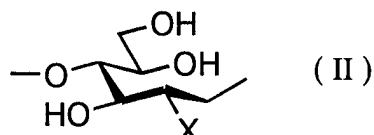
すなわち本発明は、リンパ節移行性薬剤を製造するための、下記一般式（I）で示される薬物担体の使用に関するものである。



〔式中、E は CM キトサン、CM プルラン、CM デキストラン、CM マンノグル

カン、ヘパリン、ヒアルロン酸、およびコンドロイチン硫酸から選択される多糖または該多糖の誘導体； T^1 は $-NH-$ 、 $-NHCO-$ 、 $-CONH-$ または $-NHCONH-$ ； T^2 は、 $-CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_m-$ （ m は1～10の整数を表わす）、 $-(CH_2)_n-$ （ n は2～16の整数を表わす）または下記

5 式（II）で示される基：



（式中、 X は $-NHCOCH_3$ 、 $-OH$ または $-NH_2$ を表わす）； F は単糖、単糖の $N-$ もしくは $O-$ アシル誘導体、単糖の $O-$ アルキル誘導体もしくはエステル誘導体を表わすか、または該単糖もしくは単糖の誘導体の2～6個からなるオリゴ糖（ただし、該単糖および該オリゴ糖の末端はガラクトース、マンノース、ガラクトサミンおよび N -アセチルガラクトサミンではない）； p は0～1000の整数を表わす。]

図面の簡単な説明

15 図1は、ラットアジュバント関節炎モデルにおける、一次炎症時の一般式（I）で示される薬物担体の体内分布を表わしたグラフである。

図2は、ラットアジュバント関節炎モデルにおける、二次炎症時の一般式（I）で示される薬物担体の体内分布を表わしたグラフである。

20 図3は、シアリルルイス X で修飾したCMプルラン、シアル酸とルイス X のガラクトースが α 2-6結合した糖鎖で修飾したCMプルランおよび非修飾のCMプルランについて体内分布実験の結果を表したグラフである。

図4は、シアリルルイス X の導入率が $d_s = 0.13$ および 0.025 の化合物No. 3のラット体内分布を表わしたグラフである。

図5は、図4の拡大図である。

発明を実施するための最良の形態

前記一般式 (I) において、E は、カルボキシメチルキトサン (CMキトサン)、カルボキシメチルプルラン (CMプルラン)、カルボキシメチルデキストラン (CMデキストラン)、カルボキシメチルマンノグルカン (CMマンノグルカン)、ヘパリン、ヒアルロン酸およびコンドロイチン硫酸等の多糖を表わす。これら多糖は誘導体であってもよく、例えば、脱硫酸化誘導体 (脱N硫酸化ヘパリン等)、ポリアルコール化誘導体 (ポリアルコール化マンノグルカン等) が挙げられる。また、これら以外にも、更にカルボキシル基またはアミノ基を有するように変換されたものも多糖誘導体に含まれるものとする。

ここで「CMキトサン」とは、キトサンを構成するD-グルコサミンあるいはN-アセチル-D-グルコサミンの約1~200%がカルボキシメチル化されているものを意味する。「CMプルラン」とは、プルランを構成するD-グルコースの約1~300%、好ましくは約20~120%がカルボキシメチル化されているものを意味する。「CMデキストラン」とは、デキストランを構成するD-グルコースの約1~300%がカルボキシメチル化されているものを意味する。、「CMマンノグルカン」とは、マンノグルカンを構成するD-マンノースの約1~300%、好ましくは約20~120%がカルボキシメチル化されているものを意味する。

Eにおける多糖およびその誘導体は、構成単糖のうちT¹との結合に用いられる官能基 (例えば、アミノ基、カルボキシル基、水酸基等) が除かれた一価の単糖を1またはそれ以上 (p個まで) を含む多糖またはその誘導体を意味する。

前記一般式 (I) において、Fで示される単糖としては、ガラクトース、マンノース、ガラクトサミン、N-アセチルガラクトサミン以外の単糖、例えばグル

コース、フルクトース、フコース、ノイラミン酸、ウロン酸等のヘキソース；グルコサミン等のヘキソサミン；リボース、デオキシリボース、アラビノース、キシロース等のペントースなどが挙げられる。ここで単糖はその誘導体であってもよく、上記単糖のN-またはO-アシル誘導体、O-アルキル誘導体、硫酸、リン酸等とのエステル誘導体などが挙げられる。

これらの誘導体の具体例としては、ノイラミン酸のN-および/またはO-アシル誘導体であるシアル酸（例えば、N-アセチルノイラミン酸など）；ヘキソサミンN-アシル誘導体であるN-アセチルグルコサミン；グルコースの6位がベンゾイル化された6-O-ベンゾイル-グルコース；N-アセチルグルコサミンの6位の水酸基がカルボキシメチル化された6-O-カルボキシメチル-N-アセチルグルコサミン；グルコサミンの2位のアミノ基がモノベンジル化された2-N-ベンジル-グルコサミン等が挙げられる。

Fで示されるオリゴ糖とは、ガラクトース、グルコース、フルクトース、マンノース、フコース、ノイラミン酸、ウロン酸、ガラクトサミン、グルコサミン、リボース、デオキシリボース、アラビノースおよびキシロースからなる群から選択される単糖もしくは単糖の誘導体（例えば、上記に例示した誘導体）の2～6個、好ましくは2～4個から構成される直鎖状または分枝状のヘテロオリゴマーまたはホモオリゴマーをいう。このようなオリゴ糖としては、例えば、シュークロース、ルイスXあるいはルイスAのガラクトースが有するいずれかの水酸基がシアリル化された糖類（例えば、シアリルルイスA、シアリルルイスX及び α 2-6シアリルルイスX（シアル酸の2位がガラクトースの6位とエーテル結合した糖類）などが例示できる）、シアリルN-アセチラクトサミン、ラクトース、マルトース、ルイスX、硫酸化ルイスX等が挙げられる。ただし、該オリゴ糖の非還元末端は、マンノース、ガラクトース、ガラクトサミンおよびN-アセチラクトサミンではない。

ここで、上記「単糖」および「オリゴ糖」とは、その糖分子（オリゴ糖の場合、 T^2 に結合する糖分子）が有する水酸基（好ましくはアノマー位の水酸基）の水素原子が一つ除かれたものを意味するものとする。

- 5 一般式（I）において、Fと T^2 とは、 $O-\alpha$ -グリコシド結合または $O-\beta$ -グリコシド結合によって結合している。

T^2 において、mは1～10の整数を表わし、好ましくは2～5である。また、nは2～16の整数を表わし、好ましくは2～8である。

10

- 一般式（I）で示される薬物担体の分子量は、50～500Kが好ましく、150～400Kが特に好ましい。例えば、EがCMプルランであり、pが0である化合物、すなわち一般式（I）で示される化合物がCMプルランである場合、その分子量は約190Kのものが好ましい。また、EがCMプルラン、pが0以
15 外の整数、 T^1 が $-\text{CONH}-$ 、 T^2 が $-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_5-$ およびFがシアリルルイスX、 $\alpha 2-6$ シアリルルイスXまたはシアリルN-アセチルラクトサミンである化合物は、分子量約240K～約350Kであるものが好ましい。

- 20 一般式（I）の薬物担体のうち好ましいものとしては、EがCMプルラン；pが20以上の整数；FがシアリルルイスX、 $\alpha 2-6$ シアリルルイスXまたはシアリルN-アセチルラクトサミン； T^1 が $-\text{CONH}-$ ；および T^2 が $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_5-$ であるものが挙げられる。

- 25 一般式（I）の薬物担体において、Eで示される多糖またはその誘導体に対する、Fで示される単糖、その誘導体または単糖もしくはその誘導体からなるオリ

ゴ糖の導入率（ d_s ）は、後述の参考例で示すように、例えばEがCMプルランの場合、 $d_s = 0.05$ （すなわちプルランを構成するグルコースの100残基のうち5残基がFで修飾されていることを意味する）あるいはそれ以上が好ましい。

5

一般式（I）で示される化合物はリンパ節に選択的に移行する性質を有する。ここでリンパ節とは、動物体内中に存在する全てのリンパ節を意味し、例えば、腸間膜リンパ節、膝下リンパ節、頸部リンパ節などが挙げられる。一般式（I）で示される化合物は、これらリンパ節の髄洞マクロファージおよび辺縁洞マクロ

10 ファージに取り込まれる。

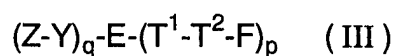
従って、一般式（I）で示される化合物は、リンパ節に薬剤を供給する薬物担体として用いることができる。用いられる薬剤としては、免疫抑制剤、癌のリンパ節転移を対象とした抗癌剤、HIVの増殖抑制を対象として抗HIV剤などが

15 挙げられる。また免疫アジュバントとしてワクチンへの応用やリンパ節のイメージングを目的とした診断薬への応用にも用いることができる。

一般式（I）に含まれる化合物は全て公知化合物であり、特開平8-85703に記載の方法に従って製造することができる。

20

本発明は別の態様として、一般式（I）で示される薬物担体に直接またはスパーサーを介して医薬化合物を複合体化した、下記一般式（III）で示されるリンパ節移行性薬剤、および該薬剤の製造法を提供する。



25

[式中、E、 T^1 、 T^2 およびFは前記と同意義；Zは医薬化合物；Yは結合また

はスペーサー； $p + q = 1 \sim 1000$ の整数を表わす（ただし、 Z が抗腫瘍剤および抗炎症剤のとき p は0である）]

一般式（I I I）において、 Z で示される医薬化合物としては、例えばブレキ
5 ナール、メトトレキサート、FK506、シクロスポリン、NL9C（特開平5
ー310726に記載の化合物PA-48153C）などの免疫抑制物質；ドキ
ソルビシン、5-FU、シスプラチン、アクリンなどの癌のリンパ節転移を対象
とした抗腫瘍剤；逆転写酵素阻害剤、HIVプロテアーゼ阻害剤、インテグラー
ス阻害剤などのHIVの増殖抑制を対象とした抗HIV剤（例、AZT、ddI
10 など）などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

一般式（I I I）において、 Y で示されるスペーサーとは、薬物と担体との複
合体化を容易にする基であり、リンパ節内で医薬化合物を一定の望まれる速度で
放出させる役割も果たすことができる。スペーサーとしては特に限定されるもの
15 ではないが、前述のように一般式（I）で示される化合物がリンパ節の髄洞マク
ロファージと辺縁洞マクロファージに取り込まれていることから、これらマクロ
ファージにより切断されるスペーサーが好ましい。このようなスペーサーの具体
例としては、炭素数2～18、好ましくは2～8のアルキル鎖、エーテル類（例、
ヘキサエチレングリコール、エチレングリコール、ジエチレングリコール、トリ
20 エチレングリコールなど）、ペプチドなどが挙げられる。ペプチドは、アミノ酸
数2～10個のものが好ましく、より好ましくは、2～4個のものである。ペプ
チドを構成するアミノ酸は、中性アミノ酸、塩基性アミノ酸、酸性アミノ酸のい
ずれであってもよく、また脂肪族アミノ酸でも芳香族アミノ酸であっても良い。

25 ペプチドの配列は、本発明においては好ましくは以下の配列が挙げられる：

—Gly—Phe—、—Phe—Gly—、—Gly—Phe—Gly—Gly—

G l y - G l y - P h e - G l y - など。

一般式 (I) の薬物担体に医薬化合物を導入して一般式 (III) の薬剤を製造する方法は、複合体化する医薬化合物により異なるが、例えば次のような方法
5 が挙げられる。

1. 一般式 (I) の化合物に医薬化合物を直接結合する

(1) 一般式 (I) の E で示される多糖がアミノ基を有する場合、

i) カルボキシル基を有する薬物のカルボキシル基を活性エステルに変換した後、反応に関与しない溶媒 (例えば、炭酸水素ナトリウム水溶液、炭酸水素カリウム水溶液、pH 7.4 のリン酸緩衝液などの中性または弱塩基性溶液) 中、
10 一般式 (I) で示される化合物のアミノ基を有する多糖部分と反応させることによって、

ii) 脱離基を有する薬物または脱離基を有するよう変換された薬物と、一般式 (I) で示される化合物のアミノ基を有する多糖部分とを、反応に関与しない
15 溶媒 (例えば炭酸水素ナトリウム水溶液、炭酸水素カリウム水溶液などの弱塩基性溶液) 中で反応させることによって、または

iii) ホルミル基を有する薬物またはホルミル基を有するよう変換された薬物と、一般式 (I) で示される化合物のアミノ基を有する多糖部分とを、反応に関与しない溶媒 (例えば酢酸水溶液など) 中、水素化シアノホウ素ナトリウムの
20 存在下、室温 ~ 80 °C で反応させることによって、得ることができる。

(2) 一般式 (I) の E で示される多糖がカルボキシル基を有する場合、該カルボキシル基を有する多糖とアミノ基を有する薬物とを縮合剤の存在下で反応させることによって得ることができる。

25

2. 一般式 (I) の化合物にスペーサーを介して医薬化合物を結合する

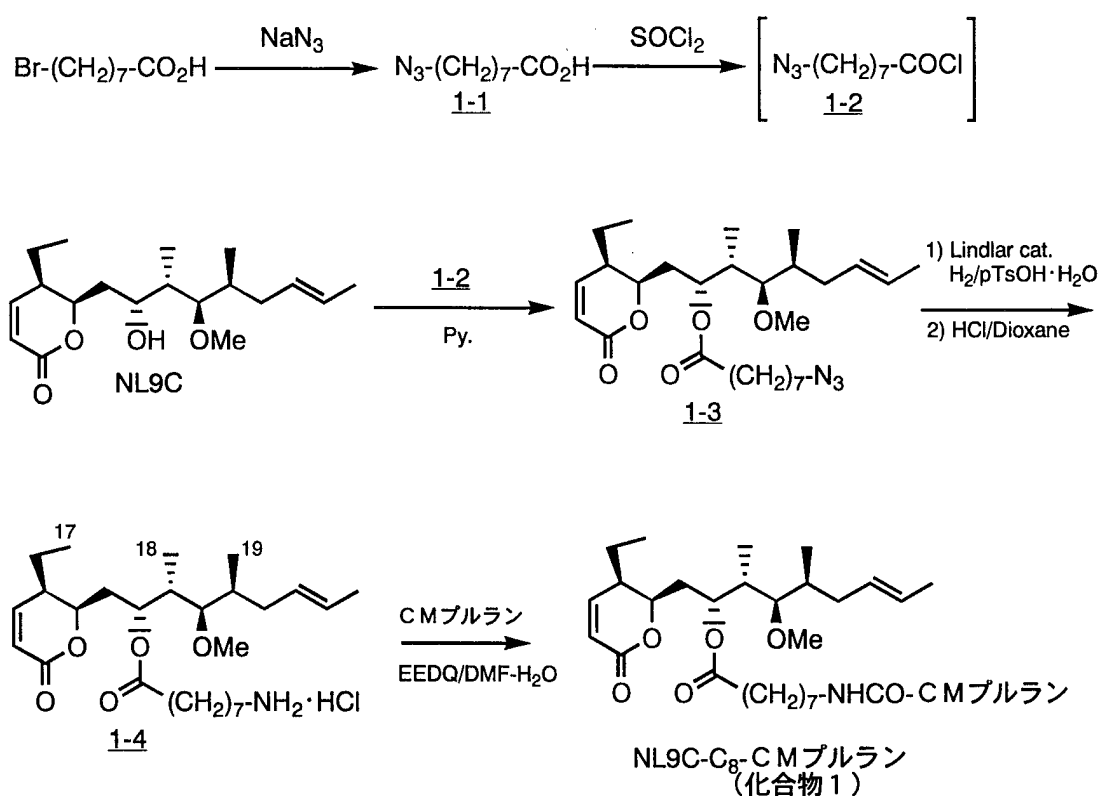
一般式 (I) の E で示される多糖にスペーサーが結合したもの、または医薬化合物にスペーサーが結合したものをを用いて上記 i) ~ iii) と同様に合成することができる。

5 実施例

本発明を以下の実施例によってさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

実施例 1 : リンパ節移行性薬剤の製造

(1) NL9C-C8-CMプルラン (化合物 1) の合成



1) 化合物 1-1 の合成

8-ブロモオクタン酸 (4.46 g、20 mmol) が溶解したジメチルホルムアミド溶液 (50 ml) に、アジ化ナトリウム (1.95 g、30 mmol)

を加え、70℃で12時間攪拌した。反応液を室温まで冷却し、ジエチルエーテ

ル (150 ml) を加えた後、析出物をろ別し、そのろ液を減圧下濃縮した。残渣をシリカゲル (330 g) を用いるカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン-酢酸エチル 5:2) にて精製することにより、化合物 1-1 (3.20 g, 87%) を無色油状物として得た。

- 5 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$: 3.26 (2H, t, $J=7\text{Hz}$), 2.36 (2H, t, $J=7.5\text{Hz}$), 1.75-1.51 (3H, m), 1.48-1.30 (7H, m).

2) 化合物 1-2 の合成

- 10 化合物 1-1 (278 mg, 1.50 mmol) を塩化チオニル (3 ml) に溶解し、2時間加熱還流した後、反応液を減圧下濃縮することにより化合物 1-2 を粗生成物として得た。化合物 1-2 は、これ以上の精製をすることなく、次の反応に用いた。

3) 化合物 1-3 の合成

- 15 NL9C (325 mg, 1.00 mmol) が溶解したトルエン (2.5 ml) -ピリジン (2.5 ml) 溶液に、化合物 1-2 (1.50 mmol) を加え、室温で20時間攪拌した。反応液をジエチルエーテルで希釈した後、7%塩酸および飽和炭酸水素ナトリウム水溶液にて洗浄、次いで硫酸マグネシウムで乾燥して、溶媒を減圧下留去した。

- 20 得られた残渣をシリカゲル (30 g) を用いるカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン-酢酸エチル 5:1) で精製することにより化合物 1-3 (440 mg, 90%) を無色油状物として得た。

- 25 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$: 7.01 (1H, dd, $J=9.5, 6.5\text{Hz}$), 6.02 (1H, d, $J=9.5\text{Hz}$), 5.50-5.32 (2H, m), 5.27 (1H, ddd, $J=8.5, 8.5, 1.0\text{Hz}$), 4.46 (1H, ddd, $J=9.5, 6.0, 3.5\text{Hz}$), 3.39 (3H, s), 3.26 (2H, t, $J=7.0\text{Hz}$), 2.88 (1H, dd, $J=9.5, 2.0\text{Hz}$), 2.32 (2H, t, $J=7.5\text{Hz}$), 2.28 (1H, m), 1.67 (3H, d, $J=5.0\text{Hz}$), 0.98 (3H, t, $J=8.0\text{Hz}$), 0.89 (3H,

d, J=7.0Hz), 0.81 (3H, d, J=6.5Hz).

4) 化合物 1-4 の合成

化合物 1-3 (118 mg, 0.240 mmol) を溶解したメタノール (5
5 ml) 溶液に、リンドラー触媒 (100 mg) とパラトルエンスルホン酸一水和物 (48 mg) を加え、中圧水素気流下 (50 psi) 室温で、2時間攪拌した。リンドラー触媒 (100 mg) を加え、更に同条件で2時間攪拌した後、反応液より触媒を濾別し、濾液を減圧下濃縮した。残渣をクロロホルムで希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液にて洗浄、次いで硫酸マグネシウムで乾燥して、
10 溶媒を減圧下留去した後、得られた残渣を1N塩化水素-1, 4-ジオキサン溶液 (4 ml) に溶解した。

溶液を濃縮した後、シリカゲル (30 g) を用いるカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール-水 10:3:1 (溶媒には下層を使用)) で精製することにより化合物 1-4 (60 mg, 50%) を無色油状物として得た。

15 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$: 7.02 (1H, dd, J=10.0, 6.0Hz), 6.03 (1H, d, J=10.0Hz), 5.56-5.23 (3H, m), 4.45 (1H, m), 3.39 (3H, s), 2.98 (2H, t, J=7.0Hz), 2.87 (1H, dd, J=9.0, 2.0Hz), 2.31 (2H, t, J=7.5Hz), 1.66 (3H, d, J=5.0Hz), 0.98 (3H, t, J=7.5 Hz), 0.89 (3H, d, J=7.0Hz), 0.81 (3H, d, J=7.0Hz).

20 5) NL9C-C8-CMプルラン (化合物1) の合成

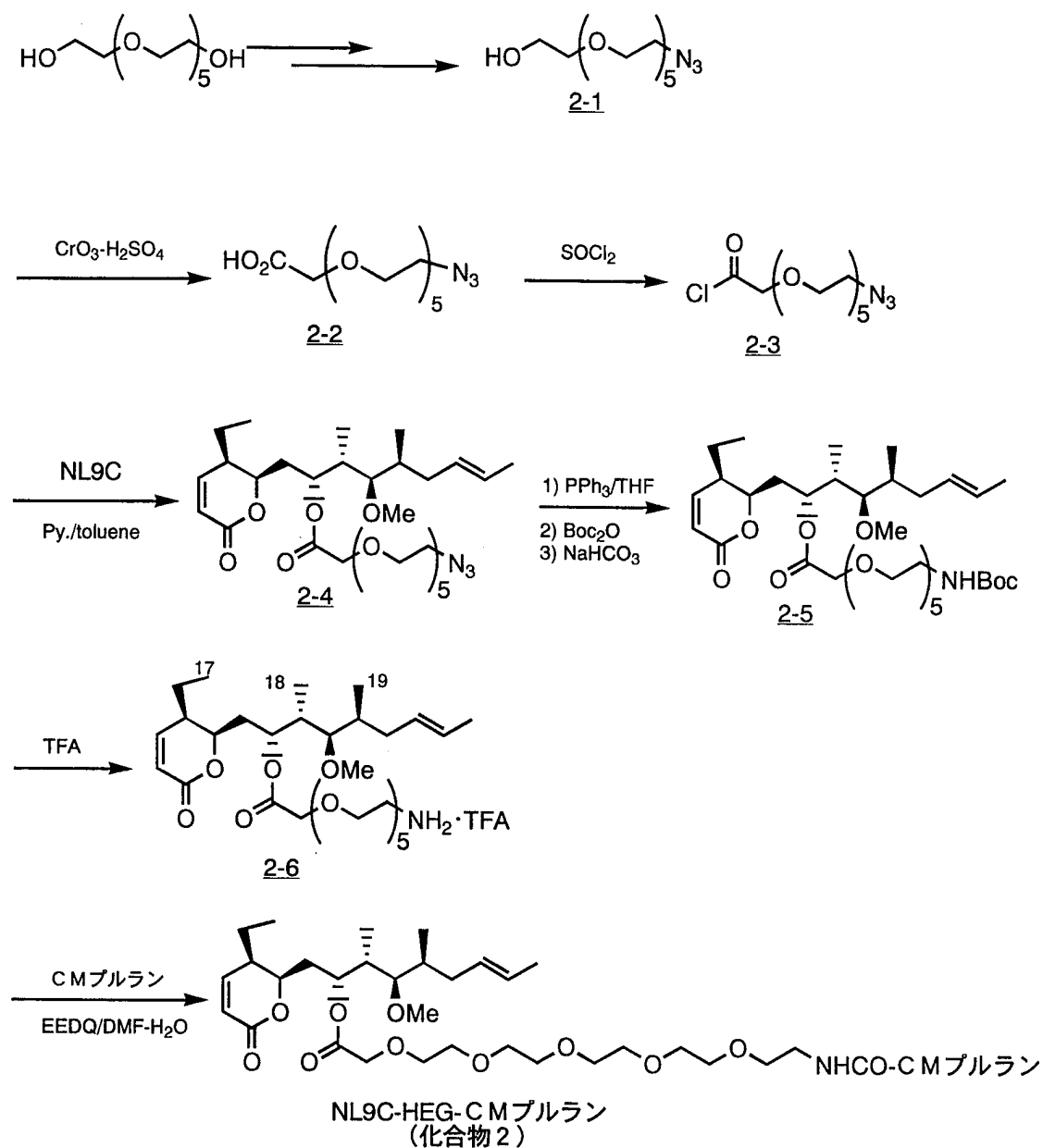
CMプルラン (750 mg) と化合物 1-4 (140 mg) を溶解した水 (2
3 ml) とN, N'-ジメチルホルムアミド (20 ml) の混合溶液に、1-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1, 2-ジヒドロキノリン (EEDQ, 75
0 mg) を加え、室温で10時間攪拌した。反応混合物を99.5%エタノール
25 (400 ml) に加えて粗生成物を析出させ、遠心分離 (3000 rpm) した後、粗生成物を濾取し、次いで減圧下乾燥した。

続いて、粗生成物を 300 ml の水に溶解した後、分子量排除限界 12000
～14000 の透析膜（スペクトラ／ポア社製）を用いて、精製水（10000
ml）を外液とした透析（15 時間／室温）を計 2 回行ない、透析内液を減圧下
5 g、ds : 0.04）を得た。なお、ds は ^1H -NMR における CM プルランのア
ノマー位のプロトン（5.20 – 5.96 ppm）と NL9C のメチル基由来の
プロトン（1.00 – 0.70 ppm）の積分値の比より算出した。

^1H -NMR(D_2O) δ : 7.23-7.18 (H-4 of NL9C), 6.08-5.96 (H-3 of NL9C), 5.96-5.20
(anomeric of Glc, H-8, 13, 14 of NL9C), 1.00-0.70 (H-17, 18, 19 of NL9C).

10

（2）NL9C-HEG-CM プルラン（化合物 2）の合成

1) 化合物 2-1 の合成

特開平 8-85703 号に記載の方法にて合成した。

5

2) 化合物 2-2 の合成

化合物 2-1 (1.23 g、4.00 mmol) が溶解した水 (34 ml) 溶液に、クロム酸-硫酸水溶液 (6.00 ml、2.67 mmol/ml、 c H_2

5 $\text{SO}_4 : \text{H}_2\text{O} = 1 : 3$) を加え、室温で 1 時間攪拌した。クロム酸－硫酸水溶液 (6.00 ml) を加え、更に室温で 1 時間攪拌した後、塩化メチレンで希釈し、飽和食塩水にて洗浄、次いで乾燥して溶媒を減圧下留去した。得られた残渣をシリカゲル (30 g) を用いるカラムクロマトグラフィー (塩化メチレン－メタノール－水 7 : 3 : 1 (下層)) に付すことにより化合物 2-2 (772 mg, 60%) を無色油状物として得た。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$: 3.75-3.63 (20H, m), 3.62-3.60 (2H, m), 3.39 (2H, t, $J=5.1\text{Hz}$).

10 3) 化合物 2-3 の合成

化合物 2-2 (2.89 g, 9.00 mmol) を塩化チオニル (15 ml) に溶解し、60℃で 10 時間攪拌した後、反応液を減圧下濃縮することにより化合物 2-3 を粗生成物として得た。化合物 2-3 は、これ以上精製することなく、次の反応に用いた。

15

4) 化合物 2-4 の合成

NL9C (1.95 g, 6.00 mmol) が溶解したトルエン (10 ml) -ピリジン (10 ml) 溶液に、化合物 2-3 (9.00 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応液をジエチルエーテルで希釈した後、10% 塩酸および飽和炭酸水素ナトリウム水溶液にて洗浄、次いで硫酸マグネシウムで乾燥して、溶媒を減圧下留去した。

得られた残渣をシリカゲル (150 g) を用いるカラムクロマトグラフィー (トルエン－アセトン－メタノール 700 : 100 : 8) で精製することにより化合物 2-4 (3.41 g, 91%) を無色油状物として得た。

25 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3) \delta$: 7.01 (1H, dd, $J=10.0, 6.0\text{Hz}$), 6.02 (1H, d, $J=10.0\text{Hz}$), 5.52-5.32 (3H, m), 4.47 (1H, ddd, $J=8.5, 6.0, 3.5\text{Hz}$), 4.15 (2H, s), 3.76-3.58 (18H,

m), 3.39 (3H, s), 3.39 (2H, t, J=5.0Hz), 2.86 (1H, dd, J=9.5, 2.0Hz), 2.26 (1H, m), 1.67 (3H, d, J=5.0Hz), 0.97 (3H, t, J=7.5Hz), 0.89 (3H, d, J=7.0Hz), 0.81 (3H, d, J=7.0Hz).

5 5) 化合物 2-5 の合成

化合物 2-4 (2.18 g, 3.50 mmol) が溶解したテトラヒドロフラン (15 ml) 溶液に、トリフェニルホスフィン (1.84 g, 7.00 mmol) を加え、室温で10時間攪拌した後、-50℃でBoc₂O (2.29 g, 10.5 mmol) を加え、同温度で2時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (30 ml) を加え、室温で2時間攪拌した後、ジエチルエーテルで希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液にて洗浄、次いで硫酸マグネシウムで乾燥して、溶媒を減圧下留去した。

得られた残渣、シリカゲル (150 g) を用いるカラムクロマトグラフィー (トルエン-アセトン-メタノール 700 : 100 : 8) により精製して、化合物 2-5 (1.26 g, 52%) を無色油状物として得た。

¹H-NMR(CDCl₃) δ : 7.01 (1H, dd, J=10.0, 6.5Hz), 6.02 (1H, d, J=10.0Hz), 5.50-5.32 (3H, m), 5.06 (1H, Br.s), 4.48 (1H, m), 4.15 (2H, s), 3.76-3.58 (16H, m), 3.56 (2H, t, J=5.0Hz), 3.39 (3H, s), 3.39-3.26 (2H, m), 2.86 (1H, dd, J=9.5, 2.0Hz), 2.26 (1H, m), 1.66 (3H, d, J=5.0Hz), 1.44 (9H, s), 0.97 (3H, t, J=7.5Hz), 0.89 (3H, d, J=7.0Hz), 0.81 (3H, d, J=7.0Hz).

6) 化合物 2-6 の合成

化合物 2-5 (1.10 g, 1.59 mmol) が溶解したトルエン溶液 (10 ml) に、0℃でトリフルオロ酢酸 (5.0 ml) を加え、同温度で30分間攪拌した後、減圧下濃縮し、得られた残渣をシリカゲル (100 g) を用いるカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール-水 7 : 3 : 1 (下層))

に付することにより化合物 2-6 (1.10 g、98%) を無色油状物として得た。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3 : \text{D}_2\text{O}=10 : 1) \delta$: 7.04 (1H, dd, $J=10.0, 6.0\text{Hz}$), 6.00 (1H, d, $J=10.0\text{Hz}$), 5.50 (1H, m), 5.50-5.30 (2H, m), 4.47 (1H, ddd, $J=10.0, 3.0, 3.0\text{Hz}$),
 5 4.26 (1H, d, $J=16.5\text{Hz}$), 4.09 (1H, d, $J=16.5\text{Hz}$), 3.80 (2H, t, $J=5.0\text{Hz}$), 3.76-3.58 (16H, m), 3.39 (3H, s), 3.24-3.12 (2H, m), 2.85 (1H, dd, $J=8.5, 3.0\text{Hz}$), 2.30 (1H, m), 1.66 (3H, d, $J=5.0\text{Hz}$), 0.96 (3H, t, $J=7.5\text{Hz}$), 0.88 (3H, d, $J=7.0\text{Hz}$), 0.86 (3H, d, $J=7.0\text{Hz}$).

10 7) NL9C-HEG-CMプルラン (化合物2) の合成

CMプルラン (3.50 g) と化合物 2-6 (750 mg、1.06 mmol) を溶解した水 (100 ml) と N, N'-ジメチルホルムアミド (100 ml) の混合溶液に、1-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1, 2-ジヒドロキノリン (EEDQ、3.50 g) を加え、室温で10時間攪拌した。反応混合物を
 15 99.5%エタノール (1600 ml) に加えて粗生成物を析出させた後、その析出物を95%エタノール (560 ml)、アセトン (560 ml) およびジエチルエーテル (560 ml) の順で洗浄、次いで減圧下乾燥した。

続いて、粗生成物を360 mlの水に溶解した後、分子量排除限界12000~14000の透析膜 (スペクトラ/ポア社製) を用いて、精製水 (10000 ml) を外液とした透析 (15時間/室温) を計2回行ない、透析内液を減圧下で凍結乾燥することによりNL9C-HEG-CMプルラン (化合物2、2.80 g、ds : 0.04) を得た。なおdsは $^1\text{H-NMR}$ における、CMプルランのアノマー位のプロトン (5.30-5.90 ppm) とNL9Cのメチル基由来のプロトン (1.00-0.70 ppm) の積分値の比より算出した。

25 $^1\text{H-NMR}(\text{D}_2\text{O}) \delta$: 7.30-7.20 (H-4 of NL9C), 6.10-6.00 (H-3 of NL9C), 5.90-5.30 (anomeric of Glc, H-8, 13, 14 of NL9C), 3.10-3.00 (H-10 of NL9C), 1.00-0.70

(H-17, 18, 19 of NL9C).

実施例 2 : 一般式 (I) で示される薬物担体の体内分布に関する検討 (1)

一般式 (I) で示される薬物担体として、下記の表 1 で示される No. 1 (CMプルラン)、No. 2 (SLN-CMプルラン) および No. 3 (SL e X-CMプルラン) の化合物を用いて実験を行った。

表 1

$E-(T^1-T^2-F)_p$ (I)

No.	E	T ¹	T ²	F	p
1	CM ⁷ プルラン	—	—	—	0
2	CM ⁷ プルラン	-CONH-	-CH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) ₅ -	シアリルN-アセチルラクタサミン	1
3	CM ⁷ プルラン	-CONH-	-CH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) ₅ -	シアリルイスX	1

10

(1) ラットアジュバント関節炎モデルにおける一般式 (I) で示される薬物担体の体内分布実験

6 週令の雌性 Lewis ラットの右後肢足蹠に流動パラフィンに懸濁した *Mycobacterium butyricum* (1 % (w/v)) (FCA) を 50 μ l 投与した後、
 15 右足のみが腫れた一次炎症時 (FCA 接種後 4 日目) あるいは両足が腫れた二次炎症時 (FCA 接種後 18 日目) に ³H 標識した上記化合物 No. 1 ~ 3 を 1 mg / kg で尾静脈内に投与し、24 時間後に採血後、脱血し各臓器を摘出した。
 放射活性の測定は、足蹠の場合は自動試料燃焼装置 (Packard 306) を用いて ³H を H₂O として回収後、また足蹠以外の臓器に関しては脱色 (H₂O₂) ・溶解
 20 (soluene-350) 後、液体シンチレーションカウンターにより行った。

その結果、図 1 および図 2 に示すように、ラットの炎症状態とは無関係にいずれの化合物も腸間膜リンパ節、膝下リンパ節、頸部リンパ節に著しく集積しており、他の臓器への移行量は 2 % of dose / g 以下とかなり低くなっていた。

(2) ミクロオートラジオグラフィーによる取り込み細胞の検討

化合物 No. 1～3 がリンパ節に移行することから、分布の局在性、さらに局在性があるとすればこれに関与する細胞を明確にするためにミクロオートラジオ
5 グラフィーによる検討を行った。

6週令の雌性 Lewis ラットに ^3H 標識した化合物 No. 1～3 を 1 mg/kg で尾静脈内に投与し、2時間後および24時間後に採血後、脱血し各臓器を摘出した。臓器を剃刀で5mm角にした後、約15mlの2%パラホルムアルデヒド、0.5%グルタルアルデヒドを含む0.1Mリン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.2) に浸漬し、一晚放置した。さらに、7%シュークロースを含む0.1Mリン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.2) でリンスし (20分×2回)、エタノール系列 (50%
10 →70%→80%→90%→95%→100%→100%) による脱水操作を各20分行い、包埋剤の Technovit (商品名、Heraeus Kulzer GmbH より購入) で予備浸漬、包埋した。できたブロックを1.5 μmの切片にしスライドグラス上に
15 マウントし、オートラジオグラフィ用乳剤 (NR-M 2 (Konica)あるいはNTB-3 (Kodak)) を塗布した後、シリカゲルを入れた暗箱中で露出した (4℃)。露出時間は、経時的に現像を行うことにより設定した (約2週間)。

その結果、表2に示すように、各化合物は骨髓、肝臓には分布せずリンパ節に大量に分布しており、上記(1)の体内分布実験の結果を反映していた。また、
20 主要な取り込み細胞は、髄洞マクロファージであり、辺縁洞マクロファージも若干取り込むものと考えられた。しかし、濾胞マクロファージには全く取り込まれていなかった。

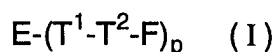
表 2

組 織		化合物 No.3		化合物 No.2		化合物 No.1	
		2h	24h	2h	24h	2h	24h
腸間膜リンパ節	髄洞マクロファージ	+	++	±	+	+	++
	辺縁洞マクロファージ	±	+	—	—	±	±
	HEV 周辺	±	—	—	—	—	—
	濾胞マクロファージ	—	—	—	—	—	—
頸部リンパ節	髄洞マクロファージ	—	+	—	+	—	+
	辺縁洞マクロファージ	—	—	—	—	—	±
	HEV 周辺	—	—	—	—	—	—
	濾胞マクロファージ	—	—	—	—	—	—
肝臓		—	—	—	—	—	—
骨髄		—	—	—	—	—	—

実施例 3：一般式 (I) で示される薬物担体の体内分布に関する検討 (2)

シアリルルイス X のシアル酸とガラクトースの結合位置が動態に与える影響について検討するため、シアリルルイス X で修飾した CM プルラン (α 2-3SLeX-Pul(ds=0.13))、シアル酸とルイス X のガラクトースが α 2-6 結合した糖鎖で修飾した CM プルラン (α 2-6SLeX-Pul(ds=0.08)) および非修飾の CM プルラン (CM-Pul) について体内分布実験を行なった (表 3、図 3)。

表 3



	E	T ¹	T ²	F
α 2-3SLeX-Pul	CMプルラン	-CONH-	-CH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) ₅ -	α 2-3シアリルルイスX
α 2-6SLeX-Pul	CMプルラン	-CONH-	-CH ₂ CH ₂ (OCH ₂ CH ₂) ₅ -	α 2-6シアリルルイスX
CM-Pul	CMプルラン	—	—	—

実験方法としては、7 週齢の雌性 Lewis ラットに ³H 標識した検体を 1mg/kg で尾静脈内に投与し、24 時間後に採血後、脱血し、各臓器を摘出した。放射活性の測定は、各臓器約 0.1g を脱色(H₂O₂)・溶解(soluene-350)後、液体シンチレー

ションカウンターにより行なった。

その結果、シアリルルイスXのシアル酸とガラクトースの結合位置が α 2-3 から α 2-6 になることにより、若干、リンパ節、脾臓への移行量が減少したが、リンパ節に関しては、非修飾CMプルランと同等以上の高い集積性を示した。また、
5 α 2-6SLeX-Pul は、 α 2-3LeX-Pul や CM-Pul に比べて、高い血中滞留性を有していた（図3）。

実施例4：NL9C-CMプルラン複合体の薬効評価

（1）マウス皮膚移植実験

10 実施例1で合成した免疫抑制剤であるNL9CとCMプルランの複合体（NL9C-C8-CMプルラン）を用いて、本発明のリンパ節移行性薬剤の薬効評価を行った。評価は臓器移植への応用の観点から、骨髄に次いで強い拒絶反応が見られる皮膚移植の実験系を用いて検討した。

まず、6～8週令の雄性Balb/cマウス（donor）の尾部皮膚から約5mm×7
15 mm程度の皮膚を取り出して移植片を調製し、移植するまで氷冷下で乾燥しないように保存した。一方、7～8週令の雄性C3H/HeNマウス（recipient）をソムノペンチル麻酔下（1.3mg/mouse, i.p.）で、腰から脇までを全周毛を剃り、背部（脊椎から5mmくらい横で肋骨の下部から5mmくらい上）を眼下用ハサミで移植片よりやや大きく皮膚を切り抜いた。ここに、移植片をのせ白色ワ
20 セリンを塗布した絆創膏で固定した。5日後に絆創膏をはずし、体重測定と移植片の生着の経過観察を経時的に行った。移植片の拒絶に関しては、移植片の面積の75%以上が壊死を起こした時点で拒絶されたものとした。また、NL9C、NL9C-C8-CMプルランの投与は、5%Tween80/salineあるいは0.65% CremophorEL（商品名）/salineに溶解し、移植直後および移植後2、4、7、
25 9および11日目に尾静脈内を行った。

その結果、NL9C (2 mg/kg/day) を単独投与した場合、移植片の生着日数が平均 10.5 日であったのに対し、NL9C-C8-CMプルラン (16 mg/kg/day) を投与した場合は移植片の生着日数が平均 14.5 日であり、有意な移植片生着の延長が見られた ($p < 0.05$)。

- 5 また、NL9Cを単独投与した場合、その毒性のため 4 mg/kg 以上の投与量では 3～7 日でほとんどが死亡したが、NL9C-C8-CMプルランでは 16 mg/kg (NL9Cの量は単独投与の時と同じ) 投与した場合でも、7日目まで体重がやや減少したものの、その後急速に回復した。このように、NL9C-C8-CMプルランではNL9C単独に比べて約 4～8 倍毒性が軽減されていると考えられる。
- 10

参考例：CMプルランに対するシアリルルイスXの導入率の検討

- 図2に示したように、 $ds = 0.05$ (プルランを構成するグルコースの 100 残基のうち 5 残基がシアリルルイスXで修飾されていることを示す) の化合物
- 15 No. 3 の体内分布は、 $ds = 0.13$ のものとほぼ同一であった。そこでさらにシアリルルイスXの導入率を下げた $ds = 0.025$ の化合物 No. 3 について検討した。ただし、図1および2に示すように、化合物 No. 3 ($ds = 0.13$) のリンパ節への移行性はラットの炎症状態に影響されなかったことから、体内分布実験には未処置の Lewis ラット (7 週令、雌) を用いた。その結果、
- 20 シアリルルイスXの導入率が $ds = 0.025$ のものは、 $ds = 0.13$ のものに比べ、リンパ節への移行量が減少し (図4)、骨髓、肝臓、肺、腎臓への移行量が増大していた (図5：図4の拡大図)。また、RES系への移行が影響し、血漿中濃度は低下していた。これにより、シアリルルイスXの導入率は 0.05 以上にする必要があると考えられる。

25

産業上の利用可能性

本発明で使用されるリンパ節移行性薬物担体は、自己免疫疾患や臓器移植時の拒絶反応抑制を対象とした免疫抑制剤、癌のリンパ節転移を対象とした抗癌剤、H I V の増殖抑制を対象とした抗H I V 剤などの薬物供給システムに有用である。また、免疫アジュバントとしてワクチンへの応用やリンパ節のイメージングを目

5 的とした診断薬への応用が考えられる。

請求の範囲

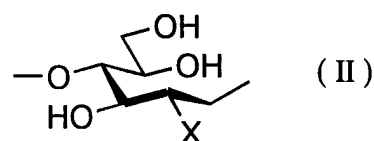
1. リンパ節移行性薬剤を製造するための、下記一般式 (I) で示される薬物担体の使用。



[式中、EはCMキトサン、CMプルラン、CMデキストラン、CMマンノグルカン、ヘパリン、ヒアルロン酸、およびコンドロイチン硫酸から選択される多糖または該多糖の誘導体；

T^1 は $-NH-$ 、 $-NHCO-$ 、 $-CONH-$ または $-NHCONH-$ ；

10 T^2 は、 $-CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_m-$ (m は1～10の整数を表わす)、 $-(CH_2)_n-$ (n は2～16の整数を表わす) または下記式 (II) で示される基：



(式中、Xは $-NHCOCH_3$ 、 $-OH$ または $-NH_2$ を表わす)；

15 Fは単糖、単糖のN-もしくはO-アシル誘導体、単糖のO-アルキル誘導体もしくはエステル誘導体を表わすか、または該単糖もしくは単糖の誘導体の2～6個からなるオリゴ糖 (ただし、該単糖および該オリゴ糖の非還元末端はガラクトース、マンノース、ガラクトサミンおよびN-アセチルガラクトサミンではない)；

20 p は0～1000の整数を表わす。]

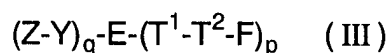
2. Fがグルコース、フルクトース、フコース、ノイラミン酸、ウロン酸、グルコサミン、リボース、デオキシリボース、アラビノースおよびキシロースからなる群から選択される単糖もしくは単糖の誘導体、またはシュークロース、ルイスXあるいはルイスAのガラクトースが有するいずれかの水酸基がシアリル化され

た糖類、シアリルN-アセチルラクトサミン、ラクトース、マルトース、ルイスXおよび硫酸化ルイスXから選択されるオリゴ糖である、請求項1記載の薬物担体の使用。

3. ルイスXあるいはルイスAのガラクトースが有するいずれかの水酸基がシアリル化された糖類が、シアリルルイスA、シアリルルイスXまたは α 2-6シアリルルイスXから選択されるオリゴ糖である、請求項2記載の薬物担体の使用。

4. EがCMプルラン、pが20以上の整数、FがシアリルルイスX、 α 2-6シアリルルイスXまたはシアリルN-アセチルラクトサミン、 T^1 が $-CONH-$ および T^2 が $-CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_5-$ である請求項1記載の薬物担体の使用。

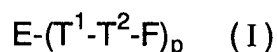
5. 下記一般式(III)で表わされるリンパ節移行性薬剤。



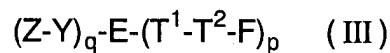
[式中、E、 T^1 、 T^2 およびFは請求項1と同意義；Zは医薬化合物；Yは結合またはスペーサー； $p+q=1\sim1000$ の整数を表わす（ただし、Zが抗腫瘍剤および抗炎症剤のときpは0である）]

6. Zが、免疫抑制剤、抗腫瘍剤（ただし、pは0）または抗HIV剤である請求項5記載のリンパ節移行性薬剤。

7. 一般式(I)：



[式中、各記号は請求項1と同意義]で表わされる薬物担体に、直接またはスペーサーを介して医薬化合物を導入することを特徴とする、一般式(III)：



[式中、各記号は請求項5と同意義]で表わされるリンパ節移行性薬剤の製造法。

図 1

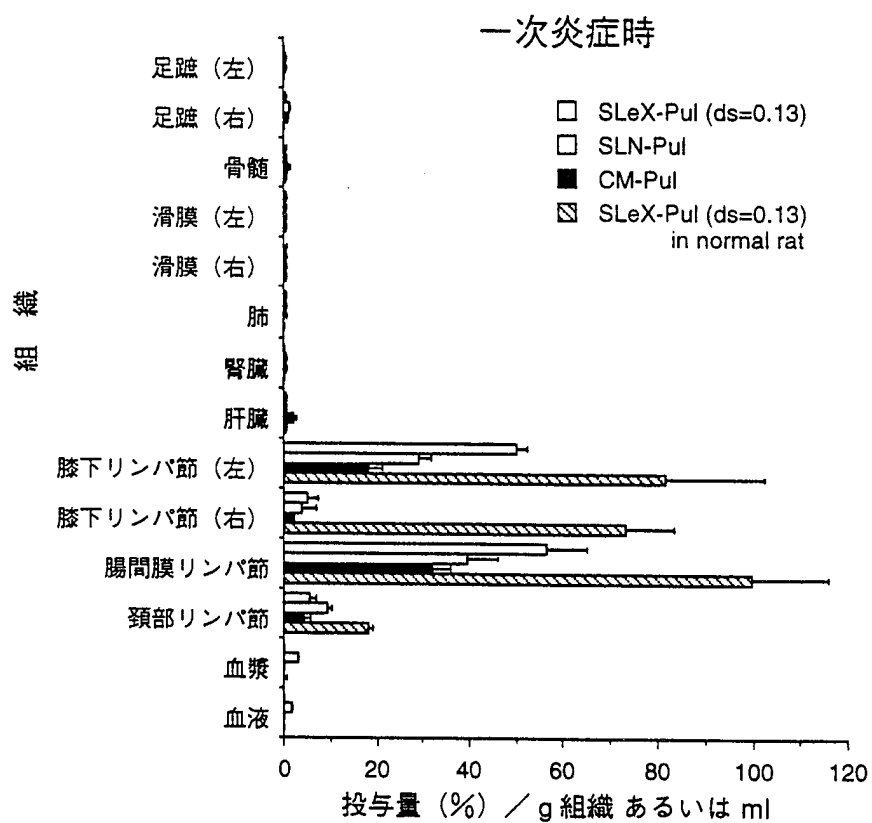


図 2

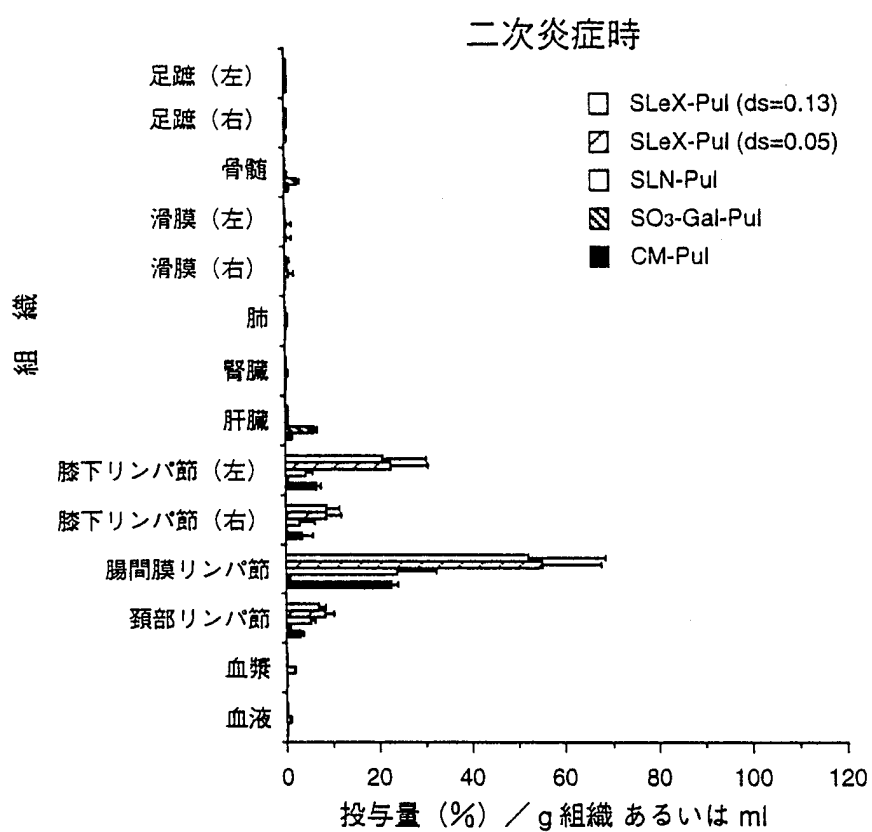


図 3

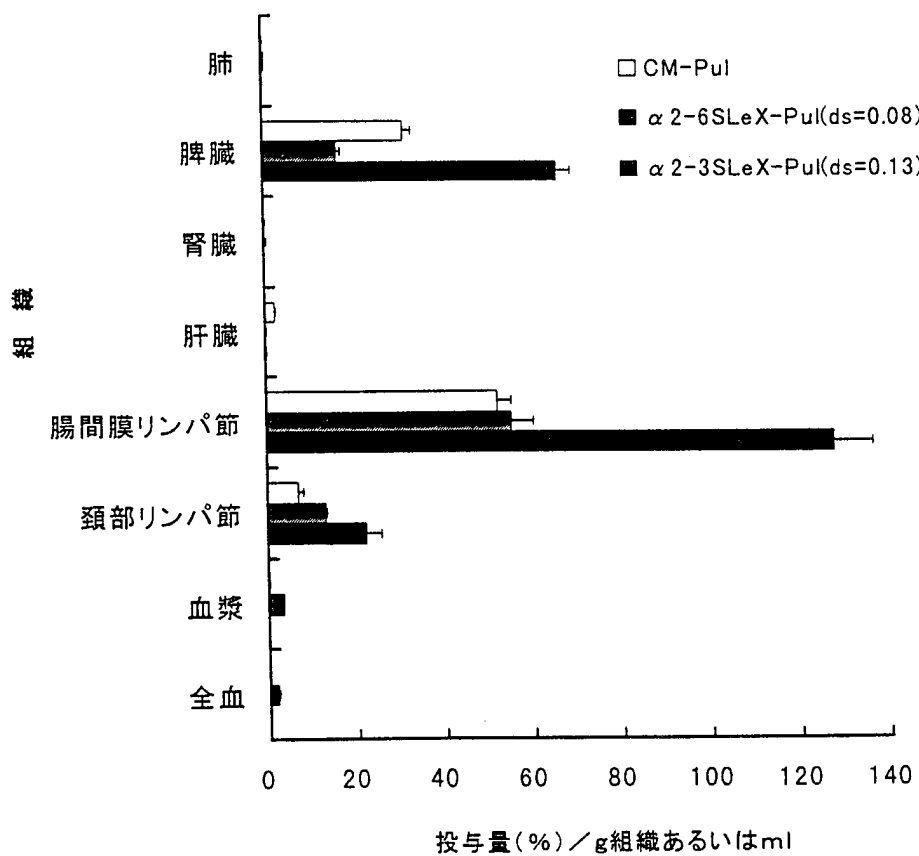


図4

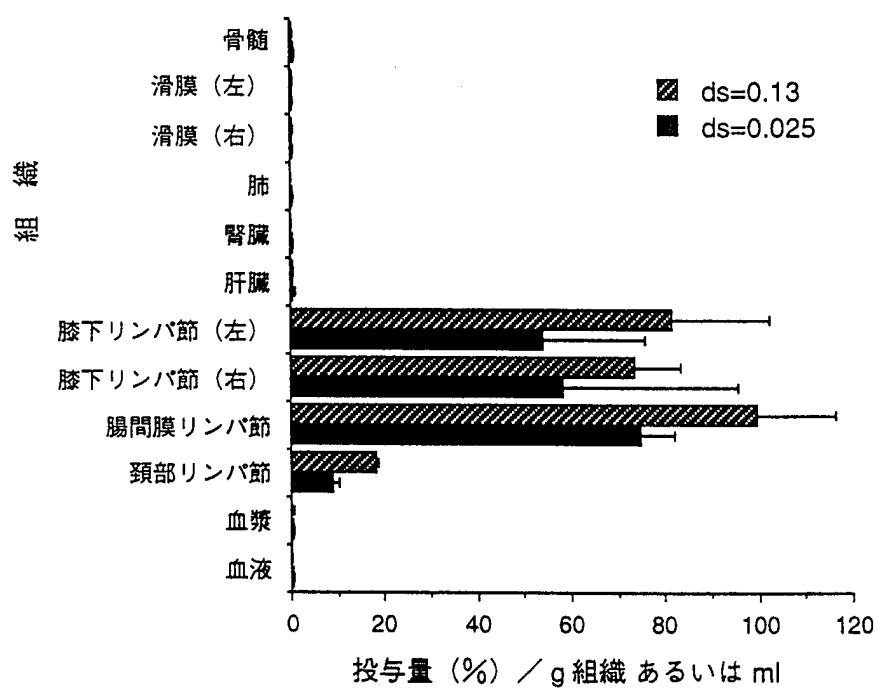
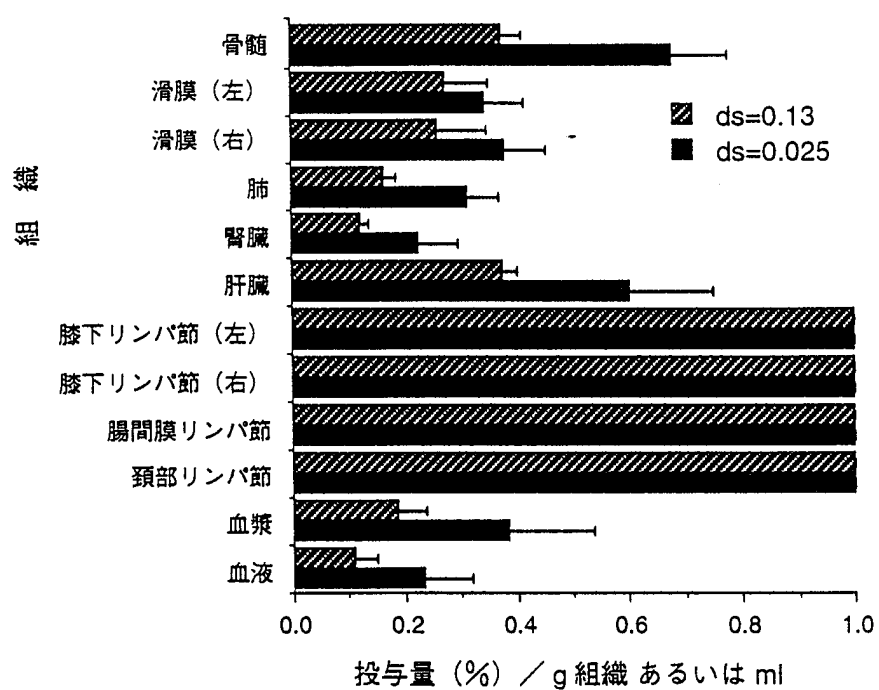


図 5



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP98/02373

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl ⁶ A61K47/48, C08B37/00		
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) Int.Cl ⁶ A61K47/48, C08B37/00		
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)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 8-85703, A (Drug Delivery System Institute, Ltd.), April 2, 1996 (02. 04. 96) (Family: none)	1-7
A	JP, 6-80705, A (Drug Delivery System Institute, Ltd.), March 22, 1994 (22. 03. 94) (Family: none)	1-7
A	JP, 5-39306, A (Drug Delivery System Institute, Ltd.), February 19, 1993 (19. 02. 93) (Family: none)	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 document 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 July 27, 1998 (27. 07. 98)		Date of mailing of the international search report August 4, 1998 (04. 08. 98)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ⁶ A61K47/48, C08B37/00		
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 ⁶ A61K47/48, C08B37/00		
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		
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)		
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 請求の範囲の番号
A	J P, 8-85703, A (株式会社ディ・ディ・エス研究所), 2.4月.1996(02.04.96)、(ファミリーなし)	1-7
A	J P, 6-80705, A (株式会社ディ・ディ・エス研究所), 22.3月.1994(22.03.94)、(ファミリーなし)	1-7
A	J P, 5-39306, A (株式会社ディ・ディ・エス研究所), 19.2月.1993(19.02.93)、(ファミリーなし)	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」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	27.07.98	国際調査報告の発送日
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 弘 實 謙 二 印 4 C 7 4 3 3 電話番号 03-3581-1101 内線 3452