

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2005年3月31日 (31.03.2005)

PCT

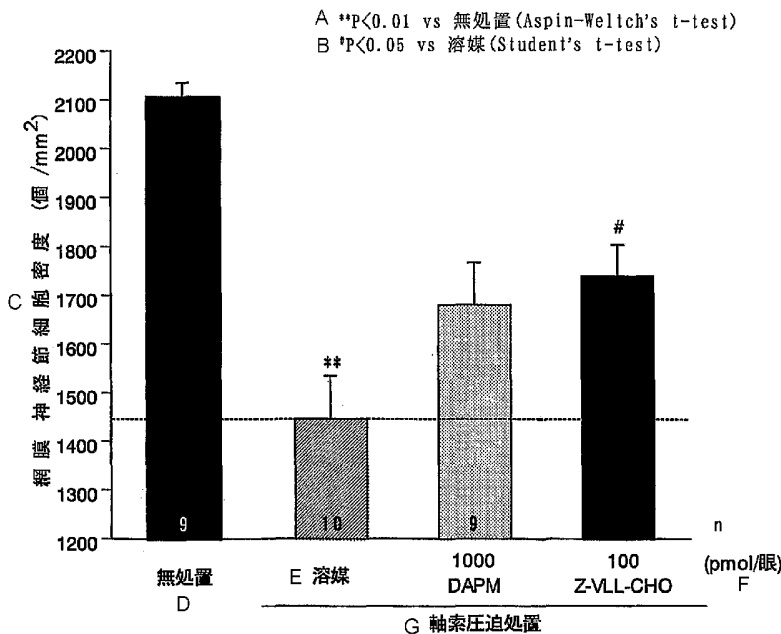
(10) 国際公開番号  
WO 2005/027969 A1

- (51) 国際特許分類: A61K 45/00, 38/05, 38/06, 38/08, A61P 9/10, 25/02, 27/02, 27/06, 43/00
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2004/014446
- (22) 国際出願日: 2004年9月24日 (24.09.2004)
- (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2003-331122 2003年9月24日 (24.09.2003) JP  
特願2004-128218 2004年4月23日 (23.04.2004) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 参天製薬株式会社 (SANTEN PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒5338651 大阪府大阪市東淀川区下新庄3丁目9番19号 Osaka (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 米田 信次 (YONEDA, Shinji) [JP/JP]; 〒6300101 奈良県生駒市高山町8916-16 参天製薬株式会社内 Nara (JP). 山本理恵 (YAMAMOTO, Rie) [JP/JP]; 〒6300101 奈良県生駒市高山町8916-16 参天製薬株式会社内 Nara (JP). 原英彰 (HARA, Hideaki) [JP/JP]; 〒6300101 奈良県生駒市高山町8916-16 参天製薬株式会社内 Nara (JP).
- (74) 代理人: 日比 紀彦, 外 (HIBI, Norihiko et al.); 〒5420086 大阪府大阪市中央区西心斎橋1丁目13番18号イナビル3階 キシモト特許事務所内 Osaka (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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,

[続葉有]

(54) Title: REMEDY FOR EYE DISEASES ACCOMPANIED BY OPTIC NERVE INJURIES

(54) 発明の名称: 視神経障害を伴う眼疾患の治療剤



(57) Abstract: It is intended to search for a novel medicinal use of a compound having an activity of inhibiting secretase. Because of having a remarkable effect of inhibiting retinal nerve cell death, a compound having an activity of inhibiting secretase is useful as a remedy for retinal diseases typified by retinal vaso-occlusion, diabetic retinopathy, ischemic optic neurosis, macular degeneration, retinitis pigmentation and Leber's disease and eye diseases accompanied by optic nerve injuries such as glaucoma.

(57) 要約: 本発明は、セクレターゼ阻害活性を有する化合物の新たな医薬用途を探索することを目的とする。セクレターゼ阻害活性を有する化合物は、顕著な網膜神経細胞死抑制作用を有するので、網膜血管閉塞症、糖尿病網膜症、虚血性視神経症、黄斑変性症、網膜色素変性症およびレーベル病に代表される網膜疾患や緑内障などの視神経障害を伴う眼疾患の治療剤として有用である。

- A... \*\* P<0.01 VS. UNTREATED (ASPIN-WELICH'S T-TEST)
- B... # P<0.05 VS. SOLVENT (STUDENT'S T-TEST)
- C... RETINAL GANGLIOCYTE DENSITY (CELLS/mm<sup>2</sup>)
- D... UNTREATED
- E... SOLVENT
- F... (pmol/EYE)
- G... AXON COMPRESSION TREATMENT

WO 2005/027969 A1



ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

- (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, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF,

添付公開書類:

— 国際調査報告書

— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

## 明 細 書

## 視神経障害を伴う眼疾患の治療剤

技術分野

- 5 本発明は、セクレターゼ阻害剤を有効成分とする網膜神経細胞の保護剤であり、特に網膜疾患や緑内障などの視神経障害を伴う眼疾患の治療剤に関する。

背景技術

- 網膜は、外部からの光を受容する機能を有しており、視機能に関して重要な役割を果たしている。構造的には網膜色素上皮層を始め、内網状層、神経節細胞層、神経線維層等の10層から成る、厚さ0.1～0.5mmの組織である。内網状層には、アマクリン細胞という神経節細胞突起と対をなしてシナプスを形成する神経細胞が存在するが、光の照射開始時と終了時によく応答することから、この神経細胞は光強度の検出器として働くと考えられている。神経節細胞層には、  
10 網膜のもっとも内側に位置する神経節細胞（以下「RGC」とする。）が存在しており、運動視、周辺視、色覚、形態覚などに深く関与している。また、神経線維層には、網膜中心動静脈の分枝である網膜血管が走行しており、網膜神経細胞に酸素および栄養を供給する役割を担っている。  
15

- ところで、網膜血管が攣縮、血栓、動脈硬化等の要因により閉塞または狭窄すると網膜循環に障害が生じ、網膜神経細胞への酸素ならびに栄養の供給が閉ざされる。網膜循環障害は、網膜疾患の中でも特に重要な位置を占めており、網膜循環障害により酸素や栄養の供給が不足すれば、最終的には網膜神経細胞は死に至り、視神経障害が引き起こされる。視神経障害を伴う症状の代表的な例として、網膜静脈や網膜動脈が閉塞あるいは狭窄した網膜血管閉塞症、網膜剥離まで引き  
20 起こす可能性のある糖尿病網膜症、視機能の障害が出現する虚血性視神経症がある。さらに、黄斑変性症、網膜色素変性症、レーベル病などにおいても、この網膜神経細胞死が発症に深く関与すると考えられている。  
25

緑内障は、適切に治療されなければ失明に至る重篤な視機能障害をもたらす眼疾患のひとつである。緑内障においては網膜神経細胞のうち特にRGCが選択的に障害を受け、視神経障害が引き起こされる結果、視野障害へと進行していくことから、RGC障害を予防あるいは最小限に抑える治療を考えることが究極的な

5 緑内障治療につながるという、いわゆる「ニューロプロテクション」という考え方が確立されつつある（眼科，40，251-273, 1998）。

緑内障性視神経障害の詳細なメカニズムは未だ明らかではないが、眼圧上昇により視神経が直接圧迫され、視神経萎縮が生ずるという機械的障害説と視神経乳頭の循環障害が視神経萎縮の主因であるという循環障害説が提唱されており、これら機械的障害と循環障害に基づく両メカニズムが複雑に関与していると考えられている。そして、機械的障害および循環障害は、いずれも視神経軸索輸送障害を引き起こし、この軸索輸送障害に伴って神経栄養因子の供給が途絶することがRGC障害の一因になっていると考えられている（眼科，44，1413-1416, 2002）。

10 ）。また、グルタミン酸は網膜内の神経伝達物質の一つであるが、何らかの原因によりこのグルタミン酸シグナルカスケードが過度に活性化することもRGC障害の一因であると考えられている（Surv. Ophthalmol. 48，S38-S46, 2003）。

以上のことから、RGCなどの網膜神経細胞に対して保護効果を有する薬物が存在すれば、網膜血管閉塞症、糖尿病網膜症、虚血性視神経症、黄斑変性症、網

20 膜色素変性症およびレーベル病に代表される網膜疾患や緑内障などの視神経障害を伴う眼疾患の治療に有用であることが期待される。

他方、セクレターゼとしては、 $\alpha$ -、 $\beta$ -および $\gamma$ -のサブタイプが知られているが、それらのうち $\beta$ -または $\gamma$ -セクレターゼに対して阻害活性を有する化合物は、 $\beta$ -アミロイドペプチドの生成を抑制し、アルツハイマー病の治療に有効であることが報告されている（特表2001-503782号公報、特表平1

25 1-506923号公報）。しかしながら、網膜疾患や緑内障などの眼疾患に関して、セクレターゼ阻害活性を有する化合物がいかなる薬理作用を示すかについ

ては全く検討されていない。

### 発明の開示

5 セクレターゼ阻害活性を有する化合物の新たな医薬用途を探索することは非常に興味ある課題である。

本発明者は、 $\beta$ -セクレターゼ阻害剤や $\gamma$ -セクレターゼ阻害剤などのセクレターゼ阻害剤について初代培養した網膜神経細胞、RGCおよびラットを用いて薬理試験を実施したところ、セクレターゼ阻害剤が優れた細胞死抑制効果を発揮することを見出し、本発明に至った。

10 すなわち、本発明は、セクレターゼ阻害剤を有効成分とするRGCなどの網膜神経細胞の保護剤であり、かかるセクレターゼ阻害剤は網膜血管閉塞症、糖尿病網膜症、虚血性視神経症、黄斑変性症、網膜色素変性症およびレーベル病に代表される網膜疾患や緑内障などの視神経障害を伴う眼疾患の治療剤として有用である。

15 本発明において、セクレターゼ阻害剤は、セクレターゼ阻害活性を有する化合物であれば特に制限されず、例えば $\beta$ -セクレターゼ阻害剤であっても、 $\gamma$ -セクレターゼ阻害剤であってもよい。セクレターゼ阻害剤は、US 2003/0125257、特表2001-503782、Biochem. Biophys. Res. Commun., 268, 133-135 (2000)、Int. J. Pept. Protein Res., 20, 16-25 (1982)、特開2002-37731、US 2002/0013315、US 2002/0115616、US 2003/0055005、US 2003/0109559、US 2003/0135044などに記載されており、具体例としては、グルタミル-バリル-アスパラギル-3-ヒドロキシ-6-メチル- $\gamma$ -アミノヘプタノイル-バリル-アラニル-グルタミル-フェニルアラニンアミド、N-ベンジルオキシカルボニル-バリル-ロイシル-ロイシナールなどの $\beta$ -セクレターゼ阻害  
25 剤、N-(3,5-ジフルオロフェニルアセチル)-L-アラニル-(S)-フェニルグリシン-メチルエステル、N-ベンジルオキシカルボニル-S-(t-ブ

チル)システイルーイソロイシルーロイシナルなどの $\gamma$ -セクレターゼ阻害剤などが挙げられる。

本発明のセクレターゼ阻害剤による網膜神経細胞の保護作用は、後述する血清除去によって細胞死を惹起したラット胎児培養網膜神経細胞を用いた薬理試験、

5 グルタミン酸によって細胞死を惹起したラット培養RGCを用いた薬理試験、およびラットの軸索圧迫誘発網膜障害に対する薬理試験において、 $\beta$ -セクレターゼ阻害剤、 $\gamma$ -セクレターゼ阻害剤などのセクレターゼ阻害剤が優れた網膜神経細胞死抑制効果を発揮することに基づくものである。

本発明のセクレターゼ阻害剤は、必要に応じて、医薬として許容される添加剤

10 を加え、単独製剤または配合製剤として汎用されている技術を用いて製剤化することができる。

本発明に係るセクレターゼ阻害剤は、非経口でも、経口でも投与することができる。非経口投与の剤型としては、点眼剤、注射剤、点鼻剤などが、経口投与の剤型としては、錠剤、カプセル剤、細粒剤、顆粒剤、散剤などが挙げられ、汎用

15 される技術を用いて製剤化することができる。例えば、点眼剤であれば、添加物として、等張化剤、緩衝剤、pH調節剤、可溶化剤、増粘剤、安定化剤、保存剤等を適宜配合することができる。また、pH調節剤、増粘剤、分散剤などを添加することにより、薬物を懸濁化させて、安定な点眼剤を得ることもできる。

等張化剤としては、例えばグリセリン、プロピレングリコール、塩化ナトリウム、塩化カリウム、ソルビトール、マンニトール等を挙げることができる。

20

緩衝剤としては例えば、リン酸、リン酸塩、クエン酸、酢酸、 $\epsilon$ -アミノカプロン酸等を挙げるることができる。

pH調節剤としては、例えば塩酸、クエン酸、リン酸、酢酸、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、ホウ酸、ホウ砂、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム等

25 を挙げるることができる。

可溶化剤としては、例えばポリソルベート80、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60、マクロゴール4000等を挙げるることができる。

増粘剤、分散剤としては、例えばヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースなどのセルロース系高分子、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン等を、また、安定化剤としては、例えばエデト酸、エデト酸ナトリウム等を挙げることができる。

- 5 保存剤（防腐剤）としては、例えば汎用のソルビン酸、ソルビン酸カリウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸プロピル、クロロブタノール等が挙げられ、これらの保存剤を組み合わせて使用することもできる。

- 10 点眼剤のpHは眼科製剤に許容される範囲内にあればよいが、4.0～8.5の範囲が好ましく、また、浸透圧比を1.0付近に設定することが望ましい。また、注射剤には、溶液、懸濁液、乳濁液および用時液中に溶解または懸濁して用いる固形の注射剤が包含され、例えば薬物を液中に溶解、懸濁または乳化させて用いられる。

- 15 投与量は症状、年齢、剤型等によって適宜選択できるが、点眼剤であれば0.001～10%（w/v）のものを1日1回～数回点眼すればよく、注射剤であれば通常1日0.0001～1mgを1回または数回に分けて投与すればよい。また、経口剤であれば通常1日当たり10μg～1gを1回または数回に分けて投与することができる。

- 20 後述する薬理試験の項で詳細に説明するが、培養液中にセクレターゼ阻害薬を添加すれば培養網膜神経細胞死および培養RGC死を顕著に抑制することができた。またラットの軸索圧迫誘発網膜障害に対する作用を検討したところ、セクレターゼ阻害薬はRGCに対して顕著な細胞死抑制作用を示した。これらのことから、本発明のセクレターゼ阻害剤は、網膜神経細胞の保護剤、および網膜血管閉  
25 塞症、糖尿病網膜症、虚血性視神経症、黄斑変性症、網膜色素変性症、レーベル病等に代表される網膜疾患や緑内障などの視神経障害を伴う眼疾患の治療剤として有用であることがわかる。

図面の簡単な説明

図1は、血清除去による、GL-189を用いた場合の各群の生存率を示すグラフである。

- 5 図2は、血清除去による、Z-VLL-CHOを用いた場合の各群の生存率を示すグラフである。

図3は、血清除去による、DAPMを用いた場合の各群の生存率を示すグラフである。

- 10 図4は、血清除去による、 $\gamma$ XIVを用いた場合の各群の生存率を示すグラフである。

図5は、グルタミン酸添加による、GL-189を用いた場合の各群の生存率を示すグラフである。

図6は、グルタミン酸添加による、Z-VLL-CHOを用いた場合の各群の生存率を示すグラフである。

- 15 図7は、グルタミン酸添加による、DAPMを用いた場合の各群の生存率を示すグラフである。

図8は、グルタミン酸添加による、 $\gamma$ XIVを用いた場合の各群の生存率を示すグラフである。

- 20 図9は、DAPMおよびZ-VLL-CHOのラット軸索圧迫誘発網膜障害に対する作用を示すグラフである。

発明を実施するための最良の形態

- 以下に、薬理試験および製剤例を掲げて、本発明を詳しく説明するが、これらは本発明をよりよく理解するためのものであり、本発明の範囲を限定するものではない。

[薬理試験]

セクレターゼ阻害活性を有する化合物の網膜神経細胞保護作用を検討するべく



、 $\beta$ セクレターゼ阻害薬であるグルタミル-バリル-アスパラギル-3-ヒドロキシ-6-メチル- $\gamma$ -アミノヘプタノイル-バリル-アラニル-グルタミル-フェニルアラニンアミド（以下「GL-189」とする。CALBIOCHEM社製）、 $\beta$ セクレターゼ阻害薬であるN-ベンジルオキシカルボニル-バリル-ロイシル-ロイシナール（以下「Z-VLL-CHO」とする。CALBIOCHEM社製）、 $\gamma$ セクレターゼ阻害薬であるN-(3,5-ジフルオロフェニルアセチル)-L-アラニル-(S)-フェニルグリシン-メチルエステル（以下「DAPM」とする。CALBIOCHEM社製）、 $\gamma$ セクレターゼ阻害薬であるN-ベンジルオキシカルボニル-S-(*t*-ブチル)システイル-イソロイシル-ロイシナール（以下「 $\gamma$ XIV」とする。CALBIOCHEM社製）を用いて、（A）血清除去によって惹起したラット胎児網膜神経培養細胞死に対する作用、（B）グルタミン酸添加によって惹起したラット新生児培養RGCに対する作用、（C）ラット軸索圧迫誘発網膜障害に対する作用を以下の方法で検討した。

- 15 (A) 血清除去によって惹起したラット胎児網膜神経培養細胞死に対する作用  
(1) GL-189の作用

Brain Res., 967, 257-66, 2003に記載された試験方法に準じて、ラット胎児（18日齢）の網膜神経細胞を単離し、ポリエチレンイミンコートされたプラスチックカバースリップ上に播種後、10%ウシ胎児血清を含有させたイーグル基礎培地中にて5日間培養した。培養6日目よりシトシンアラビノシド（培地中濃度10 $\mu$ M）を添加した10%ウシ胎児血清を含有させたイーグル基礎培地中で培養をすることにより非ニューロン性の細胞の増殖を抑制した。培養8日目に培地を10%ウマ血清を含有させたイーグル基礎培地に変更し24時間培養した後、試験に用いた。なお、培養は37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>条件下で行った。培養9日目に溶媒（0.1%ジメチルスルホキシド）あるいはGL-189（1 $\mu$ M、10 $\mu$ M）を含有し、かつ、血清を含まないイーグル基礎培地中にて網膜神経細胞を24時間インキュベート（37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>）した

後、細胞の生死判定を行い、0.1%ジメチルスルホキシドを添加した10%ウマ血清を含有させたイーグル基礎培地中で24時間インキュベートした対照群(100%)に対する各群の生存率を算出した。細胞の生死判定はトリパンブルー染色法により実施した。すなわち、1.5%トリパンブルー溶液で10分間細胞を染色した後、10%中性ホルマリン溶液にて固定し、生理食塩液で洗浄した後、染色細胞は死細胞として、また、非染色細胞は生存細胞として判定し、顕微鏡下で死細胞数および生存細胞数(総計数細胞数200以上)を計数した。実験結果を図1のグラフに示す。なお、グラフ中の棒は各群の平均値を、誤差線は標準誤差を示す。

10 (2) Z-VLL-CHOの作用

GL-189に代えて、Z-VLL-CHO(1nM、10nM)を用いる以外は、上記(1)と同様の操作を行い、各群の生存率を算出した。実験結果を図2のグラフに示す。

(3) DAPMの作用

15 GL-189に代えて、DAPM(10nM、100nM)を用いる以外は、上記(1)と同様の操作を行い、各群の生存率を算出した。実験結果を図3のグラフに示す。

(4)  $\gamma$ XIVの作用

20 GL-189に代えて、 $\gamma$ XIV(1nM、10nM)を用いる以外は、上記(1)と同様の操作を行い、各群の生存率を算出した。実験結果を図4のグラフに示す。

(B) グルタミン酸添加によって惹起したラット新生児培養RGCに対する作用

(1) GL-189の作用

25 Brain Res., 967, 257-66, 2003に記載された試験方法に準じて、ラット新生児(7日齢)のRGCを2ステップパンニング法により単離した。培養培地としては、脳由来神経栄養因子(BDNF、50ng/ml)、織毛様神経栄養因子(CNTF、50ng/ml)、L-グルタミン(2

mM)、ペニシリン-ストレプトマイシン(100単位/ml-100 $\mu$ g/ml)、フォルスコリン(5 $\mu$ M)、およびB-27添加物を含有させた神経細胞培養用培地を用いた。RGCを単離後、溶媒(0.1%ジメチルスルホキシド)あるいはGL-189(1 $\mu$ M)を含有する培養培地中で24時間インキュベートした後、培養液中の濃度が25 $\mu$ Mになるようにグルタミン酸を添加し、さらに2日間インキュベートした。インキュベートは(37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>)の条件下で行った。対照群は同期間溶媒(0.1%ジメチルスルホキシド)含有培養培地中でインキュベートした。グルタミン酸処置後、Calcein-AMを用いて生存RGCの同定を行った。すなわち、1 $\mu$ g/mlのCalcein-AM溶液中で15分間インキュベートし、リン酸緩衝食塩水で洗浄した後、Calcein陽性かつ細胞直径以上の長さの突起を有する細胞を生存RGCとみなし、蛍光顕微鏡下で生存RGC数を計数し、対照群と同数のRGCが生存していた際を100%とする生存率を算出した。実験結果を図5のグラフに示す。なお、グラフ中の棒は各群の平均値を、誤差線は標準誤差を示す。

#### 15 (2) Z-VLL-CHOの作用

GL-189に代えて、Z-VLL-CHO(100nM)を用いる以外は、上記(1)と同様の操作を行い、各群の生存率を算出した。実験結果を図6のグラフに示す。

#### (3) DAPMの作用

20 GL-189に代えて、DAPM(10nM)を用いる以外は、上記(1)と同様の操作を行い、各群の生存率を算出した。実験結果を図7のグラフに示す。

#### (4) $\gamma$ XIVの作用

GL-189に代えて、 $\gamma$ XIV(10nM)を用いる以外は、上記(1)と同様の操作を行い、各群の生存率を算出した。実験結果を図8のグラフに示す。

25 (C) DAPMおよびZ-VLL-CHOのラット軸索圧迫誘発網膜障害に対する作用

J. Ocul. Pharmacol. Ther., 18, 241-9, 2

002に記載された試験方法に準じ、5%フルオロゴールドをラット中脳上丘へ注入することにより、RGCを逆行性標識した。フルオロゴールド注入の7日後、ラットをアトロピン点眼液で散瞳させ、3%ハロタンで麻酔導入し、1%ハロタンで維持した。(ハロタンは、酸素0.5L/分、笑気1.5L/分で気化させた)。実体顕微鏡下で視神経を露出させ、眼球から1~2mmの位置にある軸索を60gの圧力のクリップで30秒間挟むことにより軸索圧迫処置を行った。軸索圧迫処置の5分後に溶媒(0.1%ジメチルスルホキシド)、DAPM(1000pmol/眼)あるいはZ-VLL-CHO(100pmol/眼)を硝子体内投与した。軸索圧迫処置の7日後に眼球を摘出し、4%パラフォルムアルデヒド液中4℃で1時間固定した。角膜、虹彩、水晶体を除去し、4%パラフォルムアルデヒド液中4℃でさらに30分固定した後、網膜を花卉状に6分割し、フラットマウント標本を作製した。蛍光顕微鏡およびCCDカメラを用いて、6分割した各区画の視神経乳頭部から約1.5mmの部位および網膜の端から0.5mmの部位それぞれを中心とした画像を取得し(各網膜につき計12枚)、画像解析ソフトOptimasを用いて解析を行い、平均RGC密度を算出した。実験結果を図9のグラフに示す。なお、グラフ中の棒は各群の平均値を、誤差線は標準誤差を示す。

[製剤例]

製剤例1(点眼剤)

20	処方: GL-189	1mg
	濃グリセリン	250mg
	ポリソルベート80	200mg
	リン酸二水素ナトリウム二水和物	20mg
	1N水酸化ナトリウム	適量
25	1N塩酸	適量
	滅菌精製水	適量
	合計	1.0ml

滅菌精製水にGL-189およびそれ以外の上記成分を加え、十分に混合して点眼剤とする。

5 製剤例 2 (錠剤)

	処方：DAPM	1 mg
	乳糖	66.4 mg
	トウモロコシデンプン	20 mg
	カルボキシメチルセルロースカルシウム	6 mg
10	ヒドロキシプロピルセルロース	6 mg
	<u>ステアリン酸マグネシウム</u>	<u>0.6 mg</u>
	合計	100 mg

DAPM、乳糖およびトウモロコシデンプンを混合機中で混合し、その混合物  
 15 にカルボキシメチルセルロースカルシウムおよびヒドロキシプロピルセルロース  
 を加えて造粒し、得られた顆粒を乾燥後整粒し、その整粒顆粒にステアリン酸マ  
 グネシウムを加えて混合し、打錠機で打錠する。

産業上の利用可能性

20 本発明は、セクレターゼ阻害剤を有効成分とする網膜神経細胞の保護剤であり、  
 特に網膜血管閉塞症、糖尿病網膜症、虚血性視神経症、黄斑変性症、網膜色素  
 変性症およびレーベル病に代表される網膜疾患や緑内障などの視神経障害を伴う  
 眼疾患の治療に有用な治療剤を提供する。

## 請求の範囲

1. セクレターゼ阻害剤を有効成分とする網膜神経細胞の保護剤。
2. セクレターゼ阻害剤を有効成分とする視神経障害を伴う眼疾患の治
- 5 療剤。
3. セクレターゼ阻害剤が $\beta$ -セクレターゼ阻害剤または $\gamma$ -セクレターゼ阻害剤である請求項2記載の治療剤。
4. 眼疾患が緑内障である請求項2記載の治療剤。
5. 眼疾患が網膜疾患である請求項2記載の治療剤。
- 10 6. 網膜疾患が網膜血管閉塞症、糖尿病網膜症、虚血性視神経症、黄斑変性症、網膜色素変性症またはレーベル病である請求項5記載の治療剤。

Fig. 1

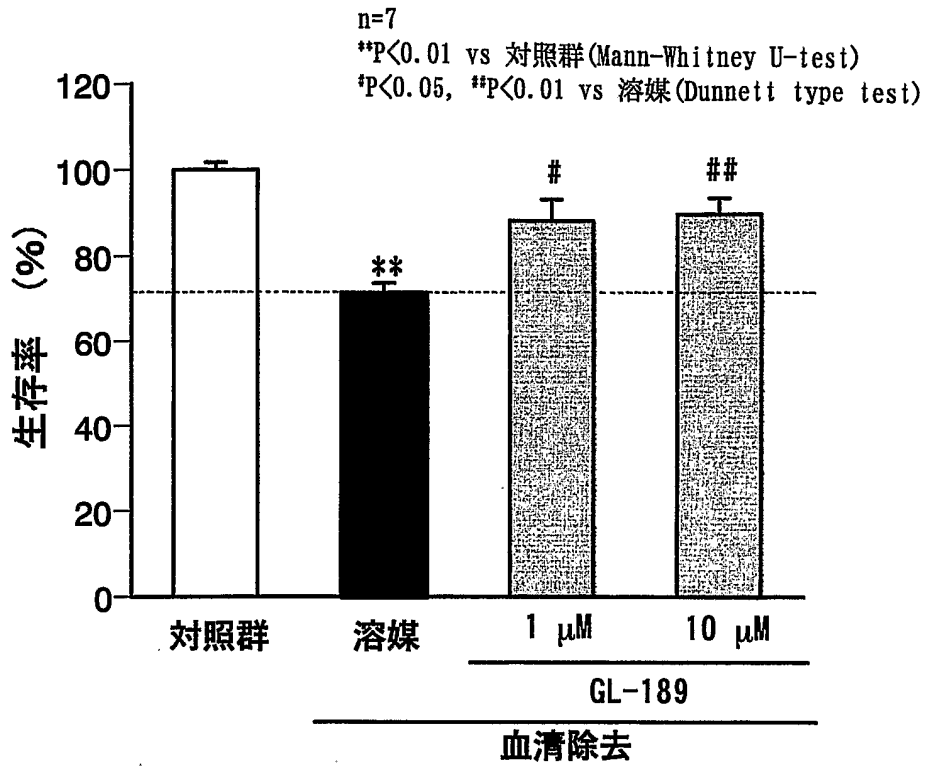


Fig. 2

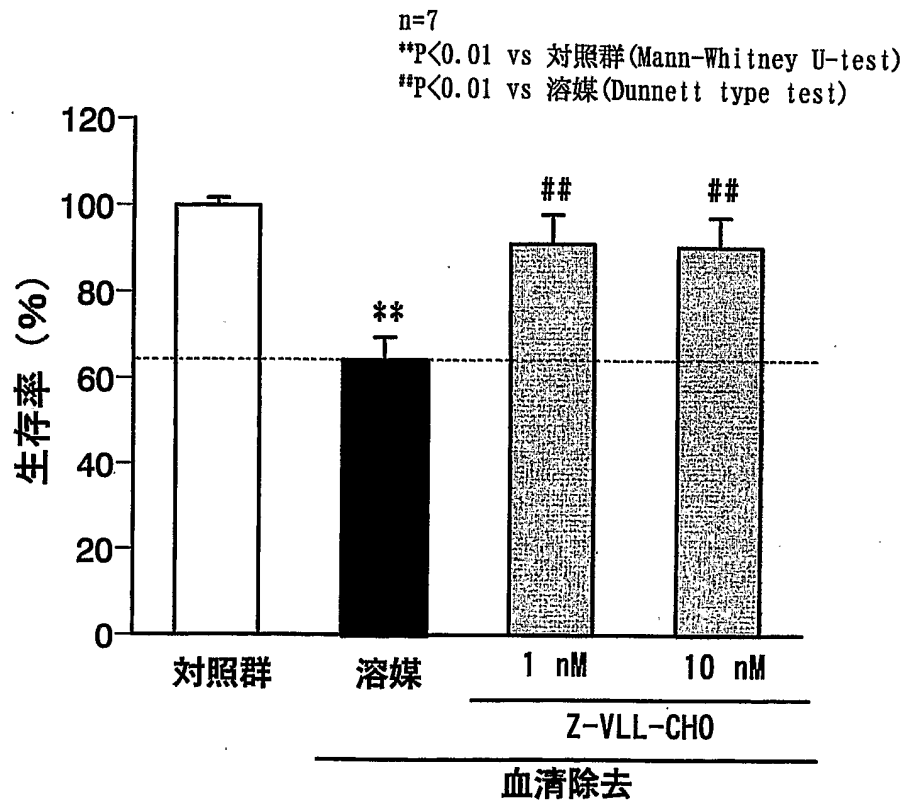


Fig. 3

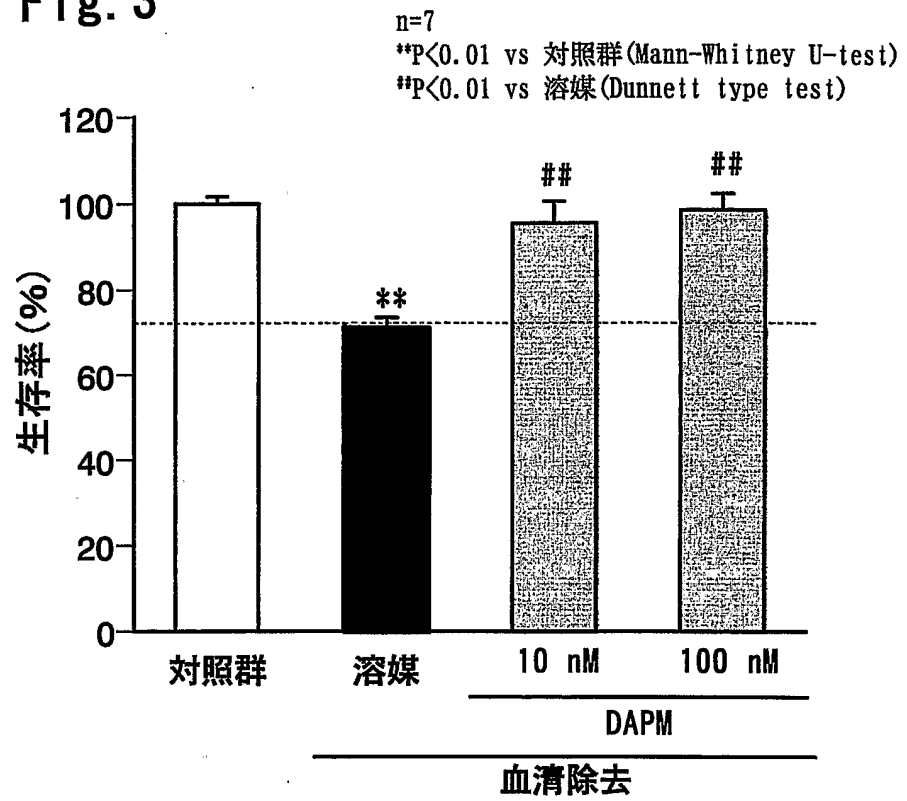


Fig. 4

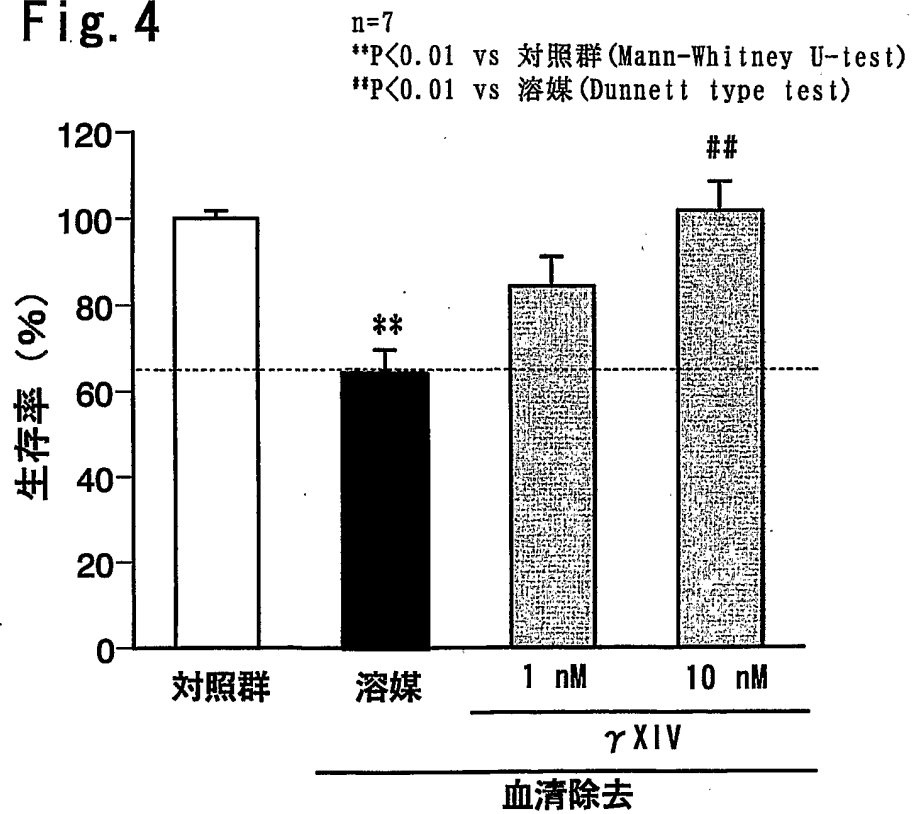




Fig. 5

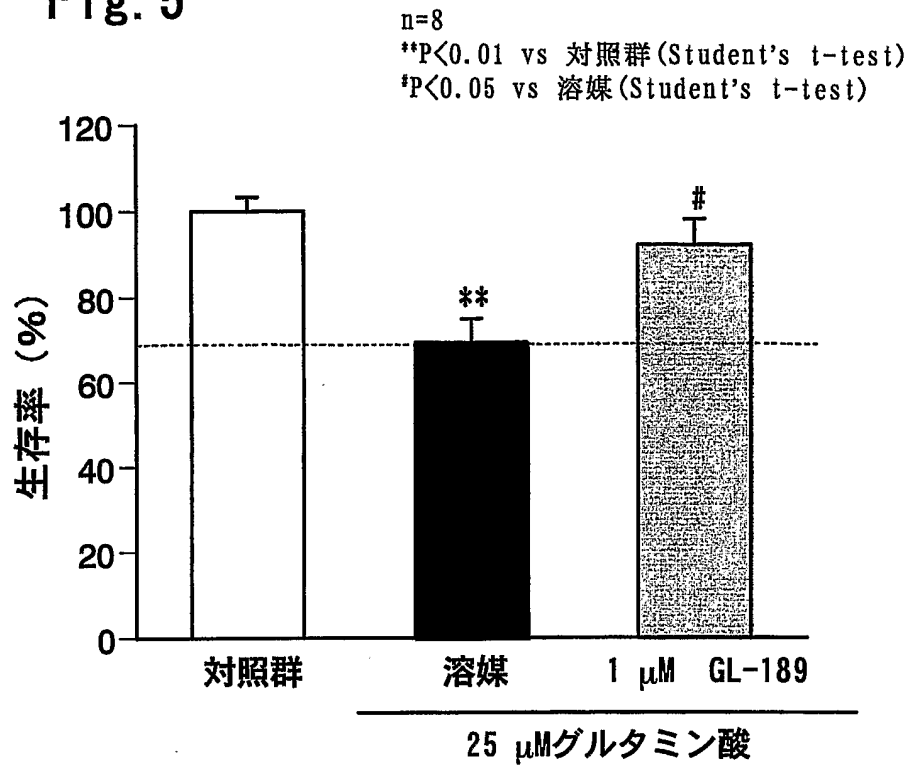
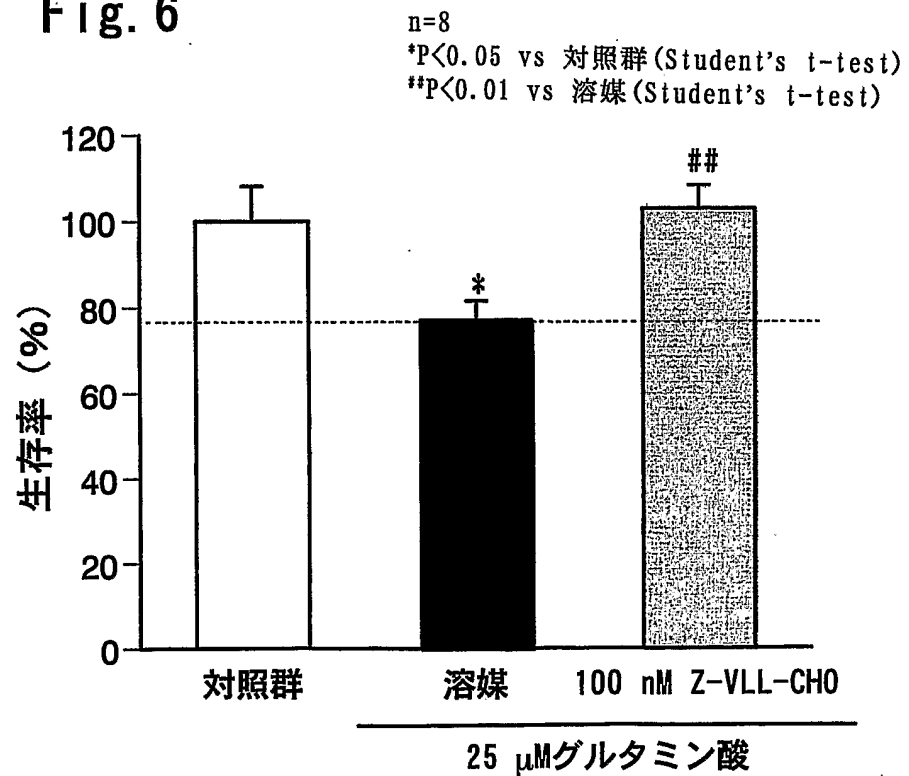


Fig. 6



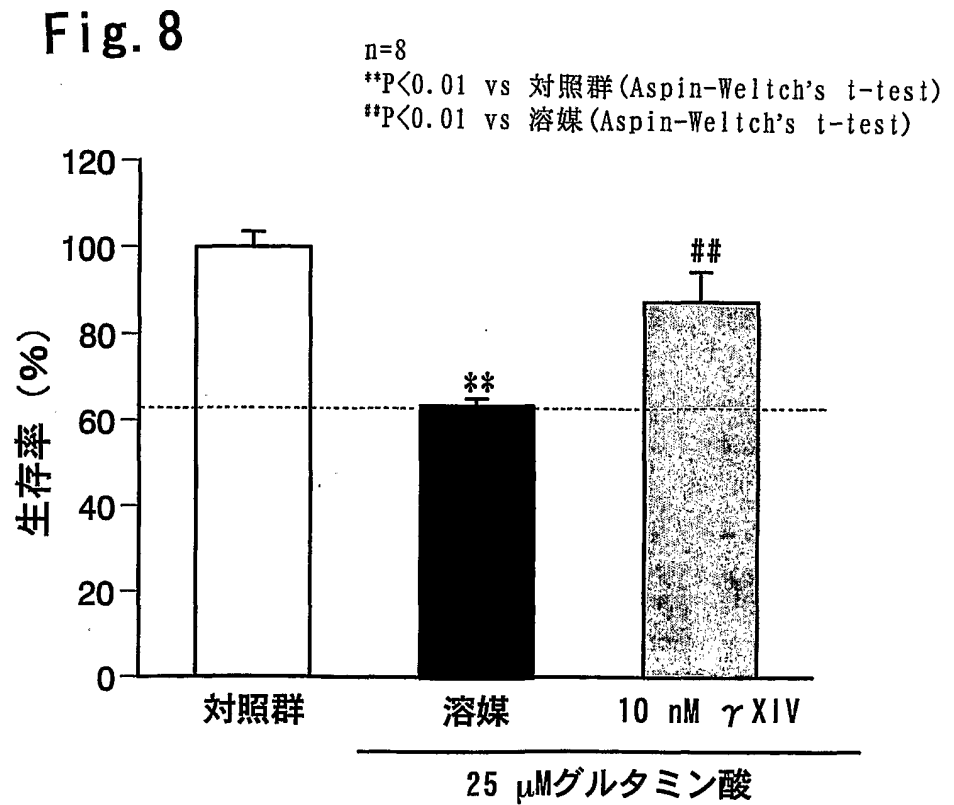
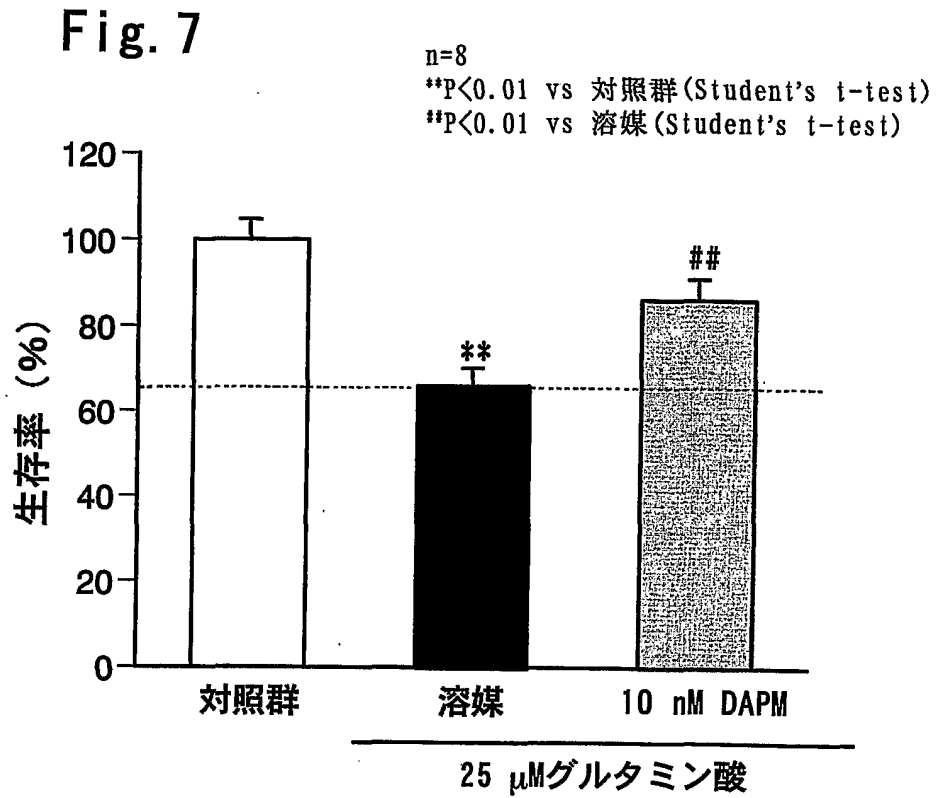
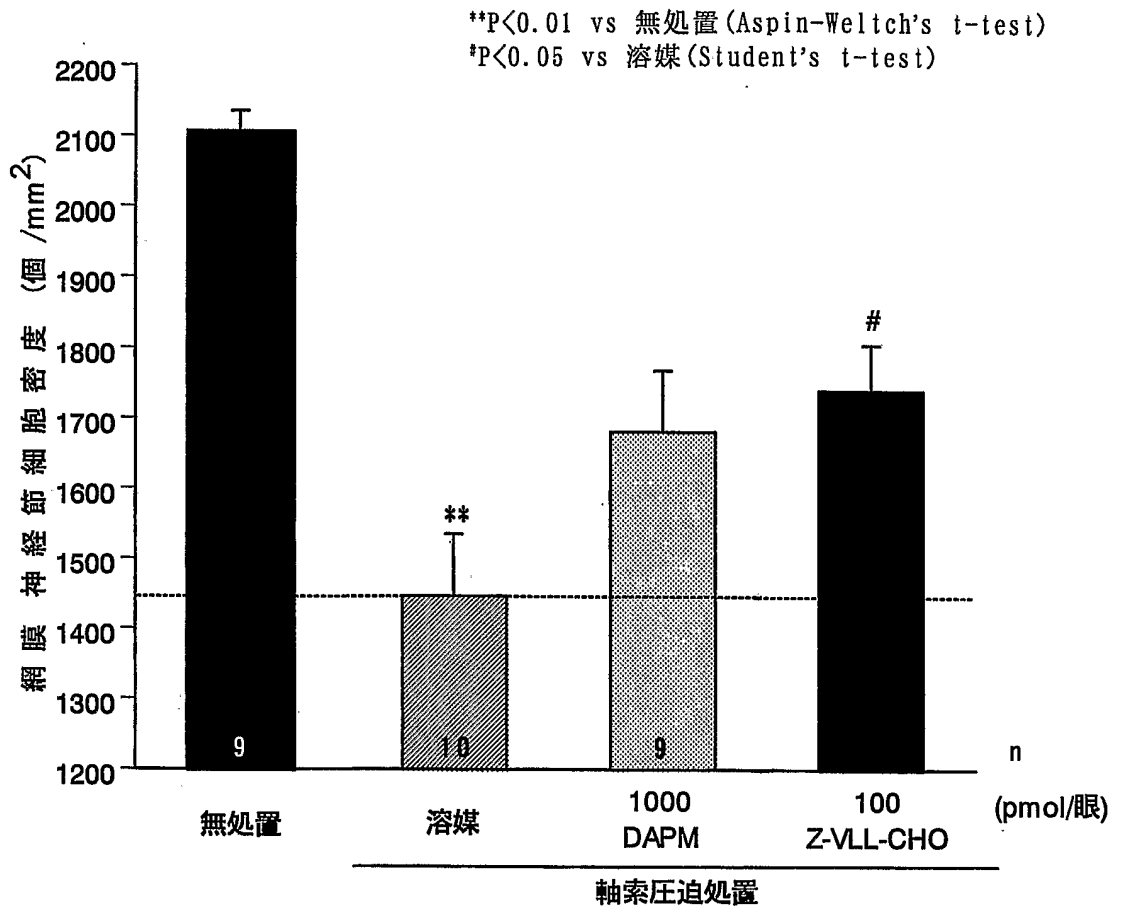


Fig. 9



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2004/014446

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
 Int.Cl<sup>7</sup> A61K45/00, 38/05, 38/06, 38/08, A61P9/10, 25/02, 27/02, 27/06, 43/00

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<sup>7</sup> A61K45/00, 38/05, 38/06, 38/08, A61P9/10, 25/02, 27/02, 27/06, 43/00

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)  
 MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), CAPLUS (STN), EMBASE (STN)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2002-037731 A (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 06 February, 2002 (06.02.02), Full text; particularly, Claims; examples; page 4, left column, lines 36 to 41 & WO 2001/087293 A1 & EP 1283039 A1 & US 2004/0110734 A1 & KR 2002097484 A & CN 1438883 A	1-6
Y	JP 2003-252795 A (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 10 September, 2003 (10.09.03), Full text; particularly, Claims; examples; page 3, left column, lines 23 to 28 & WO 2003/05521 A1 & EP 1459764 A1 & AU 2002367106 A	1-6

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	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"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
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 19 January, 2005 (19.01.05)	Date of mailing of the international search report 08 February, 2005 (08.02.05)
--	--

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/014446

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2001-503782 A (Elan Pharmaceuticals, Inc.), 21 March, 2001 (21.03.01), Full text; particularly, Claims; examples & WO 98/22494 A2 & EP 942924 A2 & US 6207710 B1 & CN 1238779 A & KR 2000069064 A & ZA 9710470 A & NO 9902368 A	1-6
Y	JP 2003-261596 A (F. Hoffmann-La Roche AG.), 19 September, 2003 (19.09.03), Full text; particularly, table 1 & US 2003/0125257 A1 & DE 10259834 A & FR 2835255 A & GB 2385124 A	1-6
Y	US 2002/0115616 A1 (PFIZER INC.), 22 August, 2002 (22.08.02), Full text; particularly, Claims; examples & JP 2002-322198 A & EP 1233021 A2 & CA 2372377 A	1-6
Y	US 2003/0109559 A1 (ANDREA GAILUNAS), 12 June, 2003 (12.06.03), Full text; particularly, Claims; examples (Family: none)	1-6
Y	JP 2002-531405 A (Arukun Laboratories Inc.), 24 September, 2002 (24.09.02), Full text; particularly, Claims; Par. No. [0012] & WO 2000/032197 A1 & EP 1135134 A1 & CN 1325308 A & KR 2001075055 A & BR 9915803 A & ZA 200102714 A	1-6
Y	WO 98/10785 A1 (Shinseiro OKAMOTO), 19 March, 1998 (19.03.98), Full text; particularly, Claims & JP 10-513510 A & EP 958831 A1 & US 2001/0023245 A1 & CN 1233963 A & KR 2000036116 A	1-6
P,X	WO 2004/073630 A2 (ROSKAMP RESEARCH LLC), 02 September, 2004 (02.09.04), Full text; particularly, Claims; Par. No. [0023] & US 2004/229816 A1	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/014446

<Subject of search>

Claims 1 to 6 relate to a retinal nerve cell protecting agent or a remedy for eye diseases accompanied by retinal nerve injuries which contains, as the active ingredient, a compound defined by a desired property of having an effect of "inhibiting secretase", "inhibiting  $\beta$ -secretase" or "inhibiting  $\gamma$ -secretase". It is recognized that, among the compounds having these properties, only specific small part of compounds having an effect of "inhibiting  $\beta$ -secretase" or "inhibiting  $\gamma$ -secretase" are supported by the description in the meaning within PCT Article 6 and disclosed therein in the meaning within PCT Article 5.

Even though the common technical knowledge at the point of the application is taken into consideration, the scopes of the compounds having these properties cannot be specified. Therefore, claims 1 to 6 do not comply with the requirement of clearness in the meaning within PCT Article 6 too.

Such being the case, the search was made mainly on the relationship between the effect of inhibiting secretase and the activity of protecting retinal nerve cells or the therapeutic activity for diseases accompanied by retinal nerve injuries, and retinal nerve cell protecting agents and remedies for eye diseases accompanied by retinal nerve injuries containing, as the active ingredient, compounds specifically presented in the description.

<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))                  Int. Cl<sup>7</sup> A61K45/00, 38/05, 38/06, 38/08, A61P9/10, 25/02, 27/02, 27/06, 43/00</p>		
<p>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<sup>7</sup> A61K45/00, 38/05, 38/06, 38/08, A61P9/10, 25/02, 27/02, 27/06, 43/00</p>		
<p>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</p>		
<p>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)                  MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), CAPLUS (STN), EMBASE (STN)</p>		
<p>C. 関連すると認められる文献</p>		
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
Y	JP 2002-037731 A (武田薬品工業株式会社) 2002.02.06 全文、特に特許請求の範囲、実施例、第4頁左欄36~41行参照 &WO 2001/087293 A1 &EP 1283039 A1 &US 2004/0110743 A1 &KR 2002097484 A &CN 1438883 A	1-6
Y	JP 2003-252795 A (武田薬品工業株式会社) 2003.09.10 全文、特に特許請求の範囲、実施例、第3頁左欄23~28行参照 &WO 2003/05521 A1 &EP 1459764 A1 &AU 2002367106 A	1-6
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>		
<p>* 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                  「&amp;」 同一パテントファミリー文献</p>		
国際調査を完了した日	19. 01. 2005	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/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 榎本 佳予子	4 P   9638
		電話番号 03-3581-1101 内線 3492

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 請求の範囲の番号
Y	JP 2001-503782 A (エラン・ファーマシューティカルズ・ インコーポレイテッド) 2001.03.21 全文、特に特許請求の範囲、実施例参照 &WO 98/22494 A2 &EP 942924 A2 &US 6207710 B1 &CN 1238779 A &KR 2000069064 A &ZA 9710470 A &NO 9902368 A	1-6
Y	JP 2003-261596 A (エフ、ホフマン-ラ ロシュ アーゲー) 2003.09.19 全文、特に表1参照 &US 2003/0125257 A1 &DE 10259834 A &FR 2835255 A &GB 2385124 A	1-6
Y	US 2002/0115616 A1 (PFIZER INC.) 2002.08.22 全文、特に特許請求の範囲、実施例参照 &JP 2002-322198 A &EP 1233021 A2 &CA 2372377 A	1-6
Y	US 2003/0109559 A1 (ANDREA GAILUNAS) 2003.06.12 全文、特に特許請求の範囲、実施例参照 (ファミリーなし)	1-6
Y	JP 2002-531405 A (アルコン ラボラトリーズ、 インコーポレーテッド) 2002.09.24 全文、特に特許請求の範囲、段落【0012】参照 &WO 2000/032197 A1 &EP 1135134 A1 &CN 1325308 A &KR 2001075055 A &BR 9915803 A &ZA 200102714 A	1-6
Y	WO 98/10785 A1 (岡本新生郎) 1998.03.19 全文、特に特許請求の範囲参照 &JP 10-513510 A &EP 958831 A1 &US 2001/0023245 A1 &CN 1233963 A &KR 2000036116 A	1-6
PX	WO 2004/073630 A2 (ROSKAMP RESEARCH LLC) 2004.09.02 全文、特に特許請求の範囲、段落【0023】参照 &US 2004/229816 A1	1-6



## &lt;調査の対象について&gt;

請求の範囲1～6は、「セクレターゼ阻害」、「 $\beta$ -セクレターゼ阻害」又は「 $\gamma$ -セクレターゼ阻害」作用という所望の性質により定義された化合物を有効成分とする網膜神経細胞の保護剤又は視神経障害を伴う眼疾患の治療剤に関するものである。そして、上記性質を有する化合物のうち、PCT第6条の意味において明細書に裏付けられ、また、PCT第5条の意味において開示されているのは、「 $\beta$ -セクレターゼ阻害」又は「 $\gamma$ -セクレターゼ阻害」作用を有する化合物のうちの特定のわずかな部分にすぎないものと認められる。

また、上記の各阻害作用を有する化合物は、出願時の技術常識を勘案しても、そのような性質を有する化合物の範囲を特定することができないから、請求の範囲1～6は、PCT第6条における明確性の要件も欠いている。

よって、調査は、セクレターゼ阻害作用と、網膜神経細胞保護活性又は視神経障害を伴う眼疾患の治療活性との関係、および明細書に具体的に記載される化合物を有効成分とする網膜神経細胞の保護剤又は視神経障害を伴う眼疾患の治療剤を中心に行った。