

(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2006-505555

(P2006-505555A)

(43) 公表日 平成18年2月16日(2006.2.16)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C O 8 4
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 26 頁)

(21) 出願番号	特願2004-543826 (P2004-543826)	(71) 出願人	500020760
(86) (22) 出願日	平成15年10月16日 (2003.10.16)		ザ・ユニバーシティ・オブ・クイーンズラ
(85) 翻訳文提出日	平成17年6月9日 (2005.6.9)		ンド
(86) 国際出願番号	PCT/AU2003/001373		オーストラリア4072クイーンズランド
(87) 国際公開番号	W02004/035079		州セント・ルチア
(87) 国際公開日	平成16年4月29日 (2004.4.29)	(74) 代理人	100081422
(31) 優先権主張番号	2002952086		弁理士 田中 光雄
(32) 優先日	平成14年10月16日 (2002.10.16)	(74) 代理人	100072730
(33) 優先権主張国	オーストラリア (AU)		弁理士 小島 一晃
		(74) 代理人	100106518
			弁理士 松谷 道子
		(74) 代理人	100127638
			弁理士 志賀 美苗

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 骨関節症の治療

(57) 【要約】

本発明は、骨関節症の治療方法に関し、特に、G タンパク質結合レセプターの活性を修飾する能力を有する環状ペプチド化合物およびペプチド疑似化合物による、その病状の治療に関する。該化合物は、好ましくはC5aレセプターのアンタゴニストとして作用し、多形核白血球およびマクロファージのC5aレセプターに対し作用する。特に、本発明での使用に好ましい化合物を開示する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

骨関節症治療の必要のある対象に、G タンパク質-結合レセプターのインヒビターを有効量投与する工程を含む、該治療の方法。

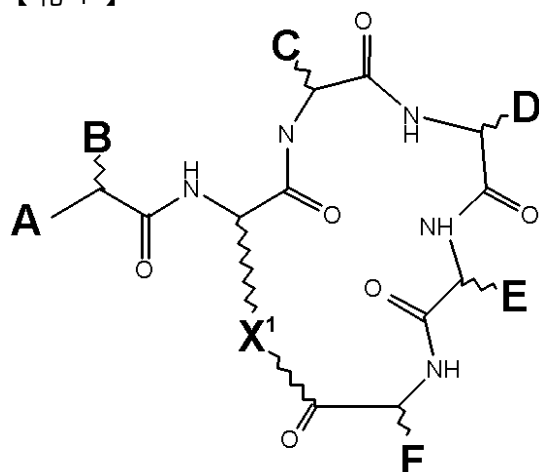
【請求項 2】

インヒビターは、

- (a) G タンパク質-結合レセプターのアンタゴニストであり、
 - (b) 実質的にアゴニスト活性はなく、そして
 - (c) 式 I の環状ペプチドまたはペプチド疑似化合物である、
- 化合物である、

10

【化 1】



20

ここで、AはH、アルキル、アリール、NH₂、NH-アルキル、N(アルキル)₂、NH-アリール、NH-アシル、NH-ベンゾイル、NHSO₃、NHSO₂-アルキル、NHSO₂-アリール、OH、O-アルキル、またはO-アリールであり；

Bは、アルキル、アリール、フェニル、ベンジル、ナフチルまたはインドール基またはD-またはL-アミノ酸の側鎖であるが、グリシン、D-フェニルアラニン、L-ホモフェニルアラニン、L-トリプトファン、L-ホモトリプトファン、L-チロシン、またはL-ホモチロシンの側鎖ではなく；

30

Cは、D-、L-またはホモ-アミノ酸の側鎖であるが、イソロイシン、フェニルアラニン、またはシクロヘキシルアラニンの側鎖ではなく；

Dは、中性D-アミノ酸の側鎖であるが、グリシンまたはD-アラニンの側鎖、大きな平面的側鎖、または大きな荷電性側鎖ではなく；

Eは、大きな置換基であるが、D-トリプトファン、L-N-メチルトリプトファン、L-ホモフェニルアラニン、L-2-ナフチルL-テトラヒドロイソキノリン、L-シクロヘキシルアラニン、D-ロイシン、L-フルオレニルアラニン、またはL-ヒスチジンの側鎖ではなく；

Fは、L-アルギニン、L-ホモアルギニン、L-シトルリン、またはL-カナバニンの側鎖、またはそれらのバイオイソスターであり；および

40

Xは、-(CH₂)_nNH-または(CH₂)_n-S-(ここで、nは1から4の整数である)；-(CH₂)₂O-；-(CH₂)₃O-；-(CH₂)₃-；(CH₂)₄-；-CH₂COCHRNH-；またはCH₂CHCOCHRNH-(ここで、Rは任意の通常または通常でないアミノ酸の側鎖である、

請求項 1 の方法。

【請求項 3】

nが2または3である、請求項2の方法。

【請求項 4】

Aはアセトアミド基、アミノメチル基、または置換または非置換のスルホンアミド基である、請求項2または3の方法。

50

【請求項 5】

Aは置換スルホンアミドであり、その置換基は1から6炭素原子のアルキル鎖、またはフェニルまたはトルイル基である、請求項3の方法。

【請求項 6】

置換基が1から4炭素原子のアルキル鎖である、請求項5の方法。

【請求項 7】

BはL-フェニルアラニンまたはL-フェニルグリシンの側鎖である、請求項2から6の何れかの方法。

【請求項 8】

Cはグリシン、アラニン、ロイシン、バリン、プロリン、ヒドロキシプロリン、またはチオプロリンの側鎖である、請求項2から7の何れかの方法。

【請求項 9】

DはD-ロイシン、D-ホモロイシン、D-シクロヘキシルアラニン、D-ホモシクロヘキシルアラニン、D-バリン、D-ノルロイシン、D-ホモ-ノルロイシン、D-フェニルアラニン、D-テトラヒドロイソキノリン、D-グルタミン、D-グルタミン酸、またはD-チロシンの側鎖である、請求項2から8の何れかの方法。

【請求項 10】

Eは、L-フェニルアラニン、L-トリプトファンおよびL-ホモトリプトファンからなる群から選択されるアミノ酸の側鎖であるか、またはL-1-ナフチルまたはL-3-ベンゾチエニルアラニンである、請求項2から9の何れかの方法。

【請求項 11】

インヒビターが、C5aRに対してはアンタゴニスト作用を有し、C5aアゴニスト活性は有していない化合物である、請求項1から10の何れかの方法。

【請求項 12】

インヒビターは、僅かなマイクロモル濃度で強力なアンタゴニスト作用を有する、請求項1から11の何れかの方法。

【請求項 13】

化合物がレセプター親和性 $IC_{50} < 25 \mu M$ 、およびアンタゴニスト効力 $IC_{50} < 1 \mu M$ を有する、請求項1から12の何れかの方法。

【請求項 14】

化合物が、PCT/AU02/01427に記載の化合物1から6、10から15、17、19、20、22、25、26、28、30、31、33から37、39から45、47から50、52から58および60から70からなる群から選択される、請求項1から13の何れかの方法。

【請求項 15】

化合物が、PCT/AU02/01427に記載の化合物1(AcF-[OP-DCha-WR])、化合物33(AcF-[OP-DPhe-WR])、化合物60(AcF-[OP-DCha-FR])または化合物45(AcF-[OP-DCha-WCit])である、請求項14の方法。

【請求項 16】

インヒビターが、骨関節症の治療用の1以上の他の医薬と共に使用される、請求項1から15の何れかの方法。

【請求項 17】

骨関節症の治療用の医薬の製造における、請求項1から15の何れかの化合物の使用。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明の分野

本発明は、骨関節症の治療、特に、Gタンパク質結合レセプターの活性を修飾する能力を有する新規環状ペプチド化合物およびペプチド疑似(peptidomimetic)化合物による該疾患の治療に関する。該化合物は、好ましくは、C5aレセプターのアンタゴニストとして作

10

20

30

40

50

用し、多形核白血球およびマクロファージ上のC5aレセプターに対し作用する。

【0002】

発明の背景

本明細書で引用する引用文献(特許または特許出願を含む)は全て引用により本明細書に含める。何れかの引用文献が従来技術を構成するとは認めがたい。引用文献の考察には著者の主張が述べられており、出願人は、該引用文献の正確さおよび適切さを変更する権利を留保する。多くの従来技術の刊行物を本明細書で引用しているが、これらの引用文献が、オーストラリアまたは何れか他の国において通常の一般的な知識の一部を形成するとは認めがたいことは明かであろう。

【0003】

Gタンパク質結合レセプターは、人体全体にあり、それには既知の細胞性レセプター型がおよそ60%含まれ、非常に広範の内因性リガンドのため細胞膜を通した情報伝達を仲介する。それらは、以下に限らないが、心臓血管、中枢神経系および末梢神経系、生殖、代謝、消化、免疫、炎症、および成長異常、ならびに他の細胞調節および増殖異常に関係する多様で多くの生理学および病態生理学的過程に関係する。Gタンパク質結合レセプターの機能を選択的に修飾する薬剤は重要な治療に応用される。これらのレセプターは、情報伝達における重要な役割のため、ますます重要な薬物標的として認識されるようになってきている(G protein-coupled Receptors, IBC Biomedical Library Series, 1996)。

【0004】

最も集中的に研究されたGタンパク質結合レセプターの1つに、C5aのレセプターがある。C5aは、既知の、最もよく効く走化性薬剤の1つであり；創傷部位に好中球およびマクロファージを補充し；それらの形態を変え；顆粒消失を誘導し；カルシウム動員、血管透過(浮腫)および好中球接着を増加し；平滑筋と接触し；ヒスタミン、TNF-、IL-1、IL-6、IL-8、プロスタグランジンおよびロイコトリエンを含む炎症性仲介物、およびリソソーム酵素の放出を刺激し；酸素ラジカルの形成を促進し；そして抗体産生を促進する(Gerard and Gerard, 1994)。

【0005】

C5aの炎症(pro-inflammatory)作用を制限する薬剤は、慢性炎症、およびそれに付随する痛みおよび組織傷害を抑制する可能性を有する。これらの理由のため、C5aをそのレセプターに結合させない分子は、補体活性化による生ずる慢性炎症性疾患の治療に有用である。

【0006】

我々の先の出願、出願番号PCT/AU98/00490において、我々は、ヒトC5aのC末端の幾つかの類似体の三次元構造について記載しており、この情報を用い、ヒトC5aレセプター(C5aR)に結合し、C5aのアゴニストまたはアンタゴニストの何れかとして作用する、新規化合物を設計した。推定アンタゴニストは、レセプター結合およびアンタゴニスト活性のためにC末端アルギニンおよびC末端カルボン酸の両方を必要とし得る(Konteatitis et al, 1994)。一般的に、末端のカルボン酸の基は、C5aRに対する高親和性結合またはアンタゴニスト活性の何れにも必要であるわけではないという事実を我々はPCT/AU98/00490で示した。その代わりとして、従来認識されていない構造的長、ターンコンホメーションが、好中球におけるヒトC5aレセプターに対する高親和性結合で鍵となり認識される特徴であることが判った。2002年10月17日出願の我々の国際出願、出願番号PCT/AU02/01427に記載のように、我々は、これらの発見に更に改良を加え、C5aレセプターとの相互作用のため疎水性アレイ中に疎水性基をアセンブルすることができる、より強固に束縛した構造鑄型を設計した。その後、我々は、このクラスの好ましい化合物が心臓および肺の繊維症を抑制し得ることを発見し、これは、2003年4月7日出願の我々の国際出願、出願番号PCT/AU03/00415に記載している。これらの明細書の開示は全て、引用により本明細書に含める。

【0007】

骨関節症は、非炎症性の慢性変形性関節症であり、関節軟骨の変形が特徴的である；進

10

20

30

40

50

行したケースでは、関節の周囲で骨の肥大が生じ、滑膜は変化する。第二に下層の骨の変化は痛みの原因となり、関節の機能に影響する。

【0008】

骨関節症は年齢と非常に関係し、70歳を超える人々では50%を超える人が、この症状の治療を受けている。また、肥満および酷使による傷害とも関係し、体重がかかる運動をしていた元運動選手によくある。米国では、3500万人 - 人口の13% - が65歳以上であり、これらの人々の半数以上は、少なくとも1つの関節で放射線学的な骨関節症の形跡があると現在算出されている。2030年までに、アメリカ人の20% - 約7000万人 - が65歳の誕生日を迎え、骨関節症の危険を有することとなるだろう。欧州連合では骨関節症の患者は約1億300万人となると算出される。

10

【0009】

現在、骨関節症の治療に利用可能な治療は、鎮痛性または抗炎症性の薬剤の使用、関節への圧力の低減化、および体重を落とすことに制限される。最近の治療は、痛みおよび/または炎症の緩和、骨および軟骨の変形により生ずる障害の軽減または予防のみを目的として構成されている。炎症を標的とするCelebrex、VioxxおよびBextraのようなCOX-IIインヒビターは、最近、この病状の治療に利用できるようになった。我々の知識では、これらC5aレセプターを標的とする承認されたかまたは実験中の薬剤、および特に小分子薬剤はない。

【0010】

利用可能な薬物の治療は、その徴候を標的とするが、この疾患の根底にある原因を標的とはしない；これらはいずれも進行に反応する変形性の構造変化を阻害しない。この疾患は進行し続け、特に尻または膝の完全な関節置換術(total joint replacement)が最終的に多くの患者で必要となる。更に、新規治療の臨床試験は、疾患が人によって異なっているという事実により複雑となる。

20

【0011】

腫瘍ネクロシス因子アンタゴニストから、S-アデノシルメチオニンまたはホウ素化合物のような栄養補助食品までの範囲の種々の薬剤が臨床試験の種々の段階にある。しかし、注射による投与の必要がなく、手ごろなコストで作成され得る、有効で、非毒性の薬剤が当分野では非常に必要とされている。

【0012】

発明の要約

C5a レセプターの特異的インヒビターはイヌで誘導した骨関節症のモデルにおいて損傷の徴候を改善することができることを我々は初めて開示する。これは、骨関節症のモデルにおいて病状の調整に使用する補体系のインヒビターのケースについての最初の報告である。

30

【0013】

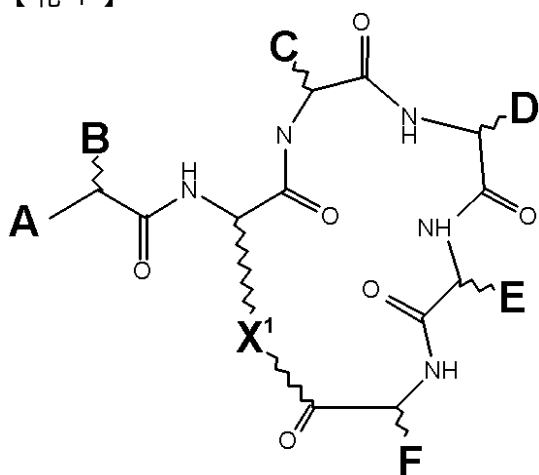
第一の態様では、本発明は、骨関節症治療の必要の有る対象に、G タンパク質-結合レセプターのインヒビターを有効量投与する工程を含む、該治療の方法を提供する。

【0014】

好ましくは、該インヒビターは、
(a) G タンパク質-結合レセプターのアンタゴニストであり、
(b) 実質的にアゴニスト活性はなく、そして
(c) 式Iの環状ペプチドまたはペプチド疑似化合物である、
化合物である、

40

【化 1】



10

【 0 0 1 5 】

ここで、AはH、アルキル、アリール、NH₂、NH-アルキル、N(アルキル)₂、NH-アリール、NH-アシル、NH-ベンゾイル、NHSO₃、NHSO₂-アルキル、NHSO₂-アリール、OH、O-アルキル、またはO-アリールであり；

Bは、アルキル、アリール、フェニル、ベンジル、ナフチルまたはインドール基またはL-フェニルアラニンまたはL-フェニルグリシンのようなD-またはL-アミノ酸の側鎖であるが、グリシン、D-フェニルアラニン、L-ホモフェニルアラニン、L-トリプトファン、L-ホモトリプトファン、L-チロシン、またはL-ホモチロシンの側鎖ではなく；

20

Cは、グリシン、アラニン、ロイシン、バリン、プロリン、ヒドロキシプロリン、またはチオプロリンのようなD-、L-またはホモ-アミノ酸の側鎖のような小さな置換基であるが、好ましくはイソロイシン、フェニルアラニン、またはシクロヘキシルアラニンのような大きな(bulky)置換基ではなく；

Dは、D-ロイシン、D-ホモロイシン、D-シクロヘキシルアラニン、D-ホモシクロヘキシルアラニン、D-バリン、D-ノルロイシン、D-ホモ-ノルロイシン、D-フェニルアラニン、D-テトラヒドロイソキノリン、D-グルタミン、D-グルタミン酸、またはD-チロシンのような中性D-アミノ酸の側鎖であるが、好ましくは、グリシンまたはD-アラニンの側鎖のような小さな置換基、D-トリプトファンのような大きな平面的(bulky planar)側鎖、またはD-アルギニンまたはD-リシンのような大きな荷電性(bulky charged)側鎖ではなく；

30

Eは、L-フェニルアラニン、L-トリプトファンおよびL-ホモトリプトファンからなる群から選択されるアミノ酸の側鎖のような大きな(bulky)置換基であるか、またはL-1-ナフチルまたはL-3-ベンゾチエニルアラニンであるが、D-トリプトファン、L-N-メチルトリプトファン、L-ホモフェニルアラニン、L-2-ナフチルL-テトラヒドロイソキノリン、L-シクロヘキシルアラニン、D-ロイシン、L-フルオレニルアラニン、またはL-ヒスチジンの側鎖ではなく；

FはL-アルギニン、L-ホモアルギニン、L-シトルリン、またはL-カナバニンの側鎖、またはそれらのバイオイソスター(bioisostere)であり、すなわち、末端グアニジンまたは尿素基が保持されている側鎖であるが、炭素バックボーンは、異なる構造を有する基で置換され、それによって側鎖は、親基と同じ方法で標的タンパク質と全体的に反応し；および

40

Xは-(CH₂)_nNH-または(CH₂)_n-S-(ここで、nは1から4、好ましくは2または3の整数である)；-(CH₂)₂O-；-(CH₂)₃O-；-(CH₂)₃-；-(CH₂)₄-；-CH₂COCHRNH-；または-CH₂CHCOCHRNH-(ここで、Rは任意の通常または通常でないアミノ酸の側鎖である)である。

【 0 0 1 6 】

Cでは、ヒドロキシプロリンおよびチオプロリンのシス型およびトランス型の両方を使用し得る。

【 0 0 1 7 】

50

好ましくは、Aは、アセトアミド基、アミノメチル基、または置換または非置換のスルフォンアミド基である。

【0018】

好ましくは、Aは、置換スルフォンアミドである場合、置換基は、1から6、好ましくは1から4炭素原子のアルキル鎖、またはフェニルもしくはトルイル基である。

【0019】

特に好ましい実施態様では、化合物はC5aRに対するアンタゴニスト活性を有しており、C5aアゴニスト活性は有していない。

【0020】

化合物は、好ましくは、以下に限らないが、ヒト多形核白血球およびヒトマクロファージを含む、ヒトおよび哺乳類細胞上のC5aレセプターのアンタゴニストである。該化合物は、好ましくは、C5aレセプターに強力におよび選択的に結合し、より好ましくは僅かなマイクロモル(sub-micromolar)濃度で強力なアンタゴニスト活性を有する。またより好ましくは、該化合物は、レセプター親和性 $IC_{50} < 25 \mu M$ およびアンタゴニスト効力 $IC_{50} < 1 \mu M$ を有する。

【0021】

最も好ましくは、該化合物は、仮出願番号PCT/AU02/01427に記載の化合物1から6、10から15、17、19、20、22、25、26、28、30、31、33から37、39から45、47から50、52から58および60から70からなる群から選択される。特に好ましい実施態様では、該化合物は、本明細書に記載のPMX53(化合物1)、化合物33、化合物60または化合物45である。

【0022】

第二の態様では、本発明は、骨関節症の治療用の医薬の製造における、上記のような化合物の使用を提供する。

【0023】

インヒビターは、骨関節症の治療用の1以上の他の薬剤と共に使用し得、その薬剤には、以下に限らないが、アスピリンのような鎮痛薬、プレドニゾロンのようなコルチコステロイド、抗炎症剤(以下に限らないが、ディクロフェナック(diclofenac)、ナプロキセン(naproxen)またはケトプロフェン(ketoprofen)のような非ステロイド抗炎症剤を含む)、またはCelebrex、Vioxx、Bextraまたはエテロコキシブ(eterocoxib)、メロキシカム、カルプロフェン(carprofen)などのようなCOX II インヒビターが含まれる。骨関節症の治療に使用される他のものには、グリコサミノグリカン、ペントサンポリサルフェート、エイコサペンタエン酸(eicosapentanoic acid)、オメガ-3脂肪酸、硫酸コンドロイチンおよびグルコサミン、およびヒアルロン酸の関節内注射が含まれる。

【0024】

本発明の組成物は、経口的、非経口的、吸入的、鼻腔内的、直腸的または経皮的な使用に製剤され得るが、経口的、注射可能なまたは経皮的な製剤が好ましい。任意の所望の経路による投与に適当な製剤は、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Vol. II, 2000 (20th edition), A.R. Gennaro (ed), Williams & Wilkins, Pennsylvaniaのような既知のテキストブックを参照することにより、標準的な方法で調製し得る。

【0025】

本発明は、何れかの特定の動物または種の治療に制限されるものではないが、本発明の方法はヒトの治療に有用であり、また、獣医的な治療、特にネコ、イヌおよびトリのようなコンパニオン・アニマル、ウシ、ウマ、家禽およびヒツジのような家畜、ヒト以外の霊長類、広範なウシ科、ネコ科、有蹄動物、イヌ科を含む動物園の動物の治療に有用であろうと特に予想される。

【0026】

該化合物は、任意の適当な用量で、任意の適当な経路により投与され得る。経口的、非経口的または局所的投与が好ましい。これらの経路はより便利がよく受け入れやすいからである。本発明の化合物の全てとは言えないまでもその殆どは、消化管、血液、肺または

10

20

30

40

50

細胞内酵素のような代謝酵素の存在下で安定であろうと予想される。その安定性は、当業者に既知の通常の方法により容易に試験され得る。

【0027】

有効な用量は、治療する病状の特性、および各治療において年齢、体重、および健康状態に依存する。これは、担当する医師または獣医師の考えしだいであろう。適当な用量レベルは、当分野に既知の方法を用い、トライアル・アンド・エラー実験により容易に決定し得る。

【0028】

図面の簡単な説明

図 1は、静脈(A)、経口(B)および局所的(C) AcF-[0PdChaWR]、および適当なコントロール(D)による、皮膚のアルチュス反応と関連した血管漏出の抑制を示す。 10

【0029】

図 2は、静脈(A)、経口(B)および局所的(C) AcF-[0PdChaWR]、および適当な局所用コントロール(D)による、皮膚のアルチュス反応に関連した循環TNF の上昇の抑制を示す。

【0030】

図 3は、静脈、経口および局所用AcF-[0PdChaWR]による、皮膚のアルチュス反応に関連した病理学的指標の減少を示す。

【0031】

図 4は、日 -2から+14に、経口的に与えたAcF-[0PdChaWR]による、関節炎の右膝関節の腫れの抑制を示す。 20

【0032】

図 5は、関節洗浄液(joint lavage)における右膝関節のTNF およびIL-6レベルの抑制を示す。「未処置」とは、AcF-[0PdChaWR]で処置していないが、感作後、右膝を抗原でチャレンジした動物である。

【0033】

図 6aは、十字靭帯の切断後、ブラシーボで処置したイヌ(n = 2)の歩行スコア(gait score)を要約したものである。

【0034】

図 6bは、十字靭帯の切断後、PMX53(一日一度、皮下的に0.3mg/kg)で処置したイヌ(n = 2)の歩行スコアを要約したものである。 30

【0035】

図 7は、対照およびPMX-53 (3D53)で処置したイヌの膝関節の組織学的な様子を比較している。

【0036】

本発明の詳細な説明

この発明は、本明細書に記載の特定の材料および方法に限られるものでないことは明らかに理解される。これらは、変化し得るためである。また、本明細書で使用する用語は特定の実施態様のみを記載することを意図していることが理解され、本発明の範囲を限定することを目的とするものではなく、それは、特許請求の範囲によってのみ制限される。

【0037】

特許請求の範囲においておよび本発明の前述の記載において、用語または必要な意味を表すために文脈上、他が必要な場合を除き、「含む(comprise)」という語または「含む(comprises)」または「含んでいる(comprising)」のような変形型は、包括的な意味で使用し、すなわち、記載する特徴の存在を特定するために使用するが、本発明の種々の態様において更なる特徴の存在または付加を排除するものではない。 40

【0038】

本明細書で使用するとき、単数形「ある(a)」、「ある(an)」、および「その(the)」は、文脈上、他を示さない限り、複数形をも示す。そのため、例えば、「酵素(an enzyme)」という言葉及には複数形のその酵素をも含み、「アミノ酸(an amino acid)」という言葉及には1以上のアミノ酸を示す。特記しない限り、本明細書で使用する技術用語および科学 50

用語は、本発明が属する当業者が通常理解すると同じ意味を有する。本明細書に記載の材料および方法と類似または均等の任意の材料および方法を用い、本発明を実施または試験し得、その好ましい材料および方法は以下に記載する。

【 0 0 3 9 】

用語「PMX53」および「3D53」は同義であり、環状ペプチドAcF-[OPdChaWR]である。

【 0 0 4 0 】

本明細書で使用する略語は以下の通りである：

D-Cha	D-シクロヘキシルアミン
LPS	リポ多糖類
PMN	多形核顆粒球
rp-HPLC	逆相-高速液体クロマトグラフィー
TFA	トリフルオロ酢酸；
Cit	シトルリン
dCha	D-シクロヘキシルアミン
DPhe	D-フェニルアラニン
ip	腹膜内
iv	静脈内
LPS	リポ多糖類
PMN	多形核顆粒球
PMSF	フェニルメチルスルホニルフルオリド
sc	皮下

10

20

本明細書では、通常、一文字表記および三文字表記のコードを用い、アミノ酸を表す。

【 0 0 4 1 】

この明細書の目的のため、用語「アルキル」は、直鎖状、分枝状、または環状の、1から6、好ましくは1から4炭素の置換または非置換のアルキル鎖を意味する。最も好ましくは、アルキル基はメチル基である。用語「アシル」は、1から6、好ましくは1から4炭素原子の置換または非置換のアシルを意味する。最も好ましくは、アシル基はアセチルである。用語「アリール」は、置換または非置換のホモ環またはヘテロ環アリール基を意味すると理解され、その環は好ましくは5から6員環である。

【 0 0 4 2 】

「通常」アミノ酸は、グリシン、ロイシン、イソロイシン、バリン、アラニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミン、システイン、メチオニン、アルギニン、リジン、プロリン、セリン、トレオニンおよびヒスチジンからなる群から選択されるL-アミノ酸である。

30

【 0 0 4 3 】

「希な」アミノ酸には、以下に限らないが、D-アミノ酸、ホモ-アミノ酸、N-アルキルアミノ酸、デヒドロアミノ酸、フェニルアラニン、チロシンおよびトリプトファン以外の芳香族性アミノ酸、オルト-、メタ-またはパラ-アミノ安息香酸、オルニチン、シトルリン、カナバニン、ノルロイシン、 γ -グルタミン酸、アミノ酪酸、L-フルオレニルアラニン、L-3-ベンゾチエニルアラニン、および、二置換アミノ酸が含まれる。

40

【 0 0 4 4 】

一般的に、用語「治療する」、「治療」などは、対象、組織または細胞に影響し、望ましい薬理学的および/または生理学的効果を得ることを意味するのに使用する。その効果は、疾患またはその徴候または症状の完全なまたは部分的な阻止という点で予防であり得る。

【 0 0 4 5 】

本明細書で使用する「治療をする」とは、脊椎動物、哺乳類、特にヒトの疾患のあらゆる治療または予防を意味し、疾患にかかりやすいかもしれないが、まだその疾患を有するとは診断されていない患者において疾患が生ずるのを予防すること；疾患を抑制すること、すなわち、その進行を停止させること；または疾患の影響を緩和または改善すること、す

50

なわち、疾患の影響を緩解すること、を含む。

【0046】

本発明は、疾患の改善に有用な種々の医薬組成物の使用を含む。本発明のある実施態様による医薬組成物は、式 I の化合物、類似体、それらの誘導体または塩、および 1 以上の医薬的作用剤 (pharmaceutically-active agents)、または式 I の化合物および 1 以上の医薬的作用剤を、対象への投与に適当な形態に組み合わせた混合物 (combination) (担体、賦形剤および添加物または補助剤を用いる) を提供することにより調製される。

【0047】

しばしば用いられる担体または補助剤には、炭酸マグネシウム、二酸化チタン、ラクトース、マンニトールおよび他の糖、タルク、乳タンパク質、ゼラチン、デンプン、ビタミン、セルロースおよびその誘導体、動物油および植物油、ポリエチレングリコール、および滅菌水、アルコール、グリセリンおよび多価アルコールのような溶媒が含まれる。静脈のビヒクルには、液体および栄養素の補充物が含まれる。保存料には、抗菌剤、抗酸化剤、キレート化剤および不活性ガスが含まれる。他の医薬的に許容される担体には、例えば、Remington's pharmaceutical Sciences, 20th ed. Williams & Wilkins (2000) and The British National Formulary 43rd ed. (British Medical Association and Royal pharmaceutical Society of Great Britain, 2002; <http://bnf.rhn.net>) に記載のような塩、保存料、緩衝剤などを含む水溶液、非毒性賦形剤が含まれる (その参考文献の内容は引用により本明細書に加える)。医薬組成物の種々のコンポーネントの pH および正確な濃度は、当分野に通常の技術により調整される。Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis for Therapeutics (7th ed., 1985) 参照。

10

20

【0048】

医薬組成物は、好ましくは、用量単位で調製および投与される。固体用量単位には、錠剤、カプセルおよび坐薬が含まれる。化合物の機能、投与方法、異常の性質および重篤度、対象の年齢および体重に依存する患者の治療の場合、種々の日用量が用いられ得る。しかしながら、特定の状況下では、より高いまたはより低い日用量が適当となり得る。その日用量の投与は、各用量単位あるいは幾種かのより少量の用量単位型での単回投与により、およびまた、特定の間隔での、細かく別けた用量の複数回投与 (multiple administration) により、それら両方により行われ得る。

【0049】

本発明による医薬組成物は、治療的に有効な量で局所的または全身的に投与され得る。この使用に有効な量は、もちろん、疾患の重篤度および患者の体重および全身状態に依存する。典型的に、インビトロで使用する用量により、医薬組成物のイン・シトゥ投与に有効な量での有用な教示 (guidance) が得られ得、動物モデルを使用し、細胞毒性の副作用の処置に有効な用量を決定し得る。例えば、Langer, Science, 249: 1527, (1990) に、種々の検討が為されている。経口的使用用の製剤は、固いゼラチンカプセル型であり得、その有効成分は、不活性固体希釈剤、例えば炭酸カルシウム、リン酸カルシウムまたはカオリンと混合する。それらはまた、柔らかいゼラチンカプセル型であり得、その有効成分は、水またはピーナッツ油、液体パラフィンまたはオリーブオイルのような油媒体と混合する。

30

40

【0050】

水性懸濁液は、通常、水性懸濁液の製造に適する賦形剤との混合物中に有効物質を含む。その賦形剤は、カルボキシメチル・セルロース・ナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガcant ゴムおよびアカシアゴムのような懸濁剤；分散剤または湿潤剤であり得、それらは、(a) レシチンのような天然に生ずるホスファチド；(b) 脂肪酸とアルキレン・オキシドとの縮合生成物、例えば、ステアリン酸ポリオキシエチレン；(c) 長鎖脂肪族アルコールとエチレン・オキシドとの縮合生成物、例えば、ヘプタデカエチレンオキシセタノール；(d) ポリオキシエチレン・ソルビトール・モノオレエートのような脂肪酸およびヘキシトールから得られる部分的なエステルとエチレン・オキシドとの縮合生成物、または (e)

50

)脂肪酸およびヘキシトール無水物、例えば、ポリオキシエチレン・ソルビタン・モノオレエートから得られる部分的なエステルとエチレン・オキシドとの縮合生成物であり得る。

【0051】

医薬組成物は、滅菌した注射可能な水性または油性の懸濁液型であり得る。この懸濁液は、上記のような適当な分散剤または湿潤剤および懸濁剤を用いる既知の方法により製剤し得る。滅菌注射可能製剤はまた、例えば、1,3-ブタンジオール中の溶液のような非毒性の非経口的に許容される希釈液または溶媒中の、滅菌注射可能溶液または懸濁液であり得る。用いられ得、許容されるビヒクルおよび溶媒は、水、リンゲル液、および等張性塩化ナトリウム溶液である。加えて、滅菌、固定油が、通常、溶媒または懸濁媒体として用いられる。この目的のため、合成モノ-またはジグリセリドを含む何れかの刺激性の低い固定油を用い得る。更に、オレイン酸のような脂肪酸は、注射可能な製剤中に使用し得る。

10

【0052】

式Iの化合物はまた、小さな1枚膜ベシクル(small unilamellar vesicle)、大きな1枚膜ベシクル(large unilamellar vesicle)、および多重層ベシクル(multilamellar vesicle)のようなリポソーム輸送システム型で投与され得る。リポソームは、コレステロール、ステアリルアミン、またはホスファチジルコリンのような種々のリン脂質から形成される。

【0053】

本発明の式Iの化合物の用量レベルは、通常、体重kgあたり約0.5mgから約20mgのオーダー、好ましくは1日あたり体重kgあたり約0.5mgから約10mgの間の用量範囲である(1日あたり患者あたり約0.5gから約3g)。単一用量を作成するための担体物質と組合せ得る有効成分の量は、治療する宿主および特定の投与形態により変化する。例えば、ヒトへの経口投与を目的とする製剤は、担体物質を適当なおよび通常量(その量は全組成物の約5から95%の範囲で変わり得る)を含み、有効化合物を約5mgから1g含み得る。用量単位型は、一般的に、有効成分を約5mgから500mgの範囲で含むであろう。

20

【0054】

しかし、任意の特定の患者での特定の用量レベルは、用いる特定化合物の活性、年齢、体重、身体全体の健康、性別、食習慣、投与時間、投与経路、排泄の速度、薬物の組合せおよび治療を行う特定の疾患の重篤度を含む種々の因子に依存するであろうと理解される。

30

【0055】

加えて、幾つかの本発明の化合物は水または通常の有機溶媒とともに溶媒和化合物を形成し得る。その溶媒和化合物は、本発明の範囲内に含まれる。

【0056】

本発明の化合物は、更に他の治療化合物と組み合わせられて、効力のある組合せを提供し得る。その組合せには、本発明の式Iの化合物の活性が喪失しない限り、医薬的に有効な製剤の、任意の化学的融和性の組合せが含まれることを意図する。

【0057】

本発明の化合物の評価では、骨関節症の治療の効力の通常の測定が使用され得る。例えば、通常用いる主要な効力評価項目には、Western Ontario and McMaster's University Osteoarthritis Index (WOMAC) Pain subscale、Patient Global Assessment of Response to Therapy、Investigator Global Assessment of Disease Status、McGill pain questionnaire、Modified Stanford Health Assessment Questionnaire (MHAQ)、Health Assessment QuestionnaireおよびKellgren-Lawrence radiographic gradingが含まれる。

40

【0058】

それらの方法はまた、コラーゲン分解物(IBEX technologies, Inc, Toronto)の検出のようなバイオマーカー、またはアグリカン(aggrecan)フラグメント(The University of Melbourneの米国特許番号5935796)を用いる骨関節症の進行のモニタリングに利用可能であ

50

る。

【0059】

一般的な方法

式 I の環状ペプチド化合物は、先の我々の出願、出願番号 PCT/AU98/00490 および PCT/AU02/01427 に詳細に記載する方法により調製される。他の合成方法は、オーストラリア仮出願番号 2003902743 に記載している。これらの明細書の開示は全て引用により本明細書に含める。本発明は、化合物 AcF-[OPdChaWR] (PMX53) (その相当する直鎖状ペプチドは Ac-Phe-Orn-Pro-dCha-Trp-Arg である) に関して特に開示しているが、本発明はその化合物に限定しないことが明らかに理解されるだろう。

【0060】

国際特許出願、出願番号 PCT/AU98/00490 に開示の化合物 1-6、17、20、28、30、31、36 および 44、およびオーストラリア仮出願、出願番号 PCT/AU02/01427 で最初に開示した化合物 10-12、14、15、25、33、35、40、45、48、52、58、60、66 および 68-70 は、ヒト好中球の C5a レセプターに対して測定できるほどのアンタゴニスト効力 ($IC_{50} < 1 \mu M$) を有する。PMX53 (PCT/AU98/00490 の化合物 17; また、PCT/AU02/01427 では化合物 1 として同定されている) および PCT/AU02/01427 の化合物 33、45 および 60 は最も好ましい。

10

【0061】

今までのところ、試験した式 I の化合物は全て、およそ同様の薬理学的活性を有しているが、各化合物の物理化学的性質、効力およびバイオアベイラビリティは、特定の置換基によって幾分変化することが判った。

20

【0062】

以下の一般的試験は、G タンパク質結合レセプター、および特に C5a レセプターの候補インヒビターの最初のスクリーニングに使用し得る。

【0063】

レセプター-結合アッセイ

アッセイは、50 mM HEPES、1 mM $CaCl_2$ 、5 mM $MgCl_2$ 、0.5% ウシ血清アルブミン、0.1% バシトラシンおよび 100 μM フェニルメチルスルホニルフルオリド (PMSF) の緩衝液を用い、先に記載した (Sanderson et al, 1995) ように単離した新しいヒト PMN で行う。4 で行ったアッセイでは、緩衝液、非標識ヒト組み換え C5a (Sigma) またはペプチド、Hunter/Bolton 標識 ^{125}I -C5a ($\sim 20 pM$) (New England Nuclear, MA) および PMN (0.2×10^6) を、最終体積 200 μL /ウェルの Millipore Multiscreen アッセイプレート (HV 0.45) に連続的に加える。4 で 60 分間のインキュベーション後、サンプルを濾過し、プレートを緩衝液で一度洗浄する。フィルターを乾燥させ、穴を開け、LKB ガンマカウンターでカウントする。非特異的な結合は、全結合の 10-15% を典型的に生ずる 1 mM ペプチドまたは 100 nM C5a の包含により評価した。

30

【0064】

データは、非線形回帰および Dunnett 事後試験による統計値を用い分析する。

【0065】

アンタゴニスト作用のミエロペルオキシダーゼ放出アッセイ

細胞は、先に記載 (Sanderson et al, 1995) のように単離し、サイトカラシン B と共にインキュベーションする (5 $\mu g/mL$ 、15 分間、37 $^{\circ}C$)。0.15% ゼラチンおよびペプチドを含むハンクス平衡塩溶液を 96 ウェルプレートに追加し (全体積 100 μL /ウェル)、その後、25 μL 細胞 ($4 \times 10^6/mL$) を加える。C5a に対抗する、それぞれのペプチドの能力を評価するために、それぞれのペプチドと共に細胞を 5 分間 37 $^{\circ}C$ でインキュベーションし、その後、C5a (100 nM) を添加し、更に 5 分間インキュベーションする。次いで、リン酸ナトリウム 50 μL (0.1 M、pH 6.8) を各ウェルに添加し、そのプレートを室温に冷却し、等量のジメトキシベンジジン (5.7 mg/mL) および H_2O_2 (0.51%) の新しい混合物 25 μL を各ウェルに添加する。反応は、2% アジドナトリウムを加え 10 分で終了する。吸光度は、コントロール値 (ペプチドなし) で校正した Bioscan 450 プレートリーダーで、450 nm で測定し、非線形回帰により分析する。

40

50

【0066】

本発明は、以下の一般的な方法および実験例のみに言及して記載する。

【実施例】

【0067】

実施例 1

ラットの逆受身アルチュス反応 (Reverse Passive Arthus Reaction)

腹膜の逆受身アルチュス反応は先に記載 (Strachan et al., 2000) のように誘導し、そしてラットの一部を前処理し、その後、経口強制飼養 (10% エタノール/90% 生理食塩水溶液に 10mg kg^{-1} を溶解し、最終体積 $200\mu\text{l}$ とした) により AcF-[OPdChaWR] (1) を有する抗体を腹膜に沈着させるか、または適当な経口ビヒクルを調節し、30分後抗体に沈着させる。メス Wistar ラット ($150\text{--}250\text{g}$) をケタミン (80mg kg^{-1} 腹腔内) およびキシラジン (xylazine) (12mg kg^{-1} 腹腔内) で麻酔した。

10

【0068】

ラットの側面表面の毛を注意深く剃り、各側面表面の5カ所をわかりやすいように輪郭を描いた。逆受身アルチュス反応は、Evans blue (15mg kg^{-1} i.v.)、トリ卵白アルブミン (20mg kg^{-1} i.v.) を大腿深静脈に注射し、10分後抗体を注射することにより皮膚部位で誘導させた。ウサギ抗トリ卵白アルブミン (最終注射体積 $30\mu\text{L}$ 中、生理食塩水のみ、100、200、300 または $400\mu\text{g}$ の抗体) を、ラットの各側面表面上の皮膚部分2カ所に2度注射し、ラットあたり注射部位は合計10とした。ラットをヒーティングパッド上に置き、血液サンプルを定期的に回収する4時間の治療期間にわたり麻酔を持続させた。血液は、氷上で自然にクロットとなり、血清サンプルを回収し、 -20°C で保存した。皮膚のアルチュス反応の誘導から4時間後、麻酔したラットを安楽死させ、それぞれのアルチュス反応部位から皮膚 10mm^2 を回収した。皮膚サンプルは、ヘマトキシリンおよびエオシン染色を用いる組織学的分析の少なくとも10日前は10%緩衝性ホルマリン中に保存した。更に、皮膚サンプルの第二のセットは、ホルムアミド 1mL 中に一夜おき、皮膚中への血清漏洩の指標として Evans blue 抽出物の吸光度を 650nm で測定した。図1は、静脈的に、経口的にまたは局所的に AcF-[OPdChaWR] で前処理後、 $0\text{--}400\mu\text{g}$ 部位 $^{-1}$ でウサギ抗トリ卵白アルブミンを皮内注射後の皮膚パンチ抽出物の光学密度を示す。データは、血漿吸収の割合を 650nm の吸光度で示す。平均値 \pm SEM ($n=3\text{--}6$) である。 * は、アルチュス反応の対照値と比べると、 P 値 <0.05 である。

20

30

【0069】

ラットは、静脈的 (皮膚アルチュスの開始10分前、10% エタノールを含む $200\mu\text{L}$ 生理食塩水中、 $0.3\text{--}1\text{mg kg}^{-1}$)、経口的 (先に18時間、餌を与えなかったラットにおいて、皮膚アルチュスの開始30分前、経口強制飼養により、10% エタノールを含む $200\mu\text{L}$ 生理食塩水中、 $0.3\text{--}10\text{mg kg}^{-1}$) または局所的に (皮膚のアルチュス反応の開始10分前、 $200\text{--}400\mu\text{g}$ 部位 $^{-1}$) の何れかで、TFA塩として C5aR アンタゴニスト、AcF-[OPdChaWR] (1) で、または適当なビヒクル対照で前処理した。アンタゴニストの局所適用には、アルチュス反応の誘導10分前の、10% ジメチルスルホキシド (DMSO) の $10\text{--}20\text{mg mL}^{-1}$ 溶液 $20\mu\text{l}$ の適用、各部位で皮膚に直接塗りつける、が含まれていた。

【0070】

Evans blue で処置したラットの生理食塩水のための注射部位は抗原対照としての役割をし、Evans blue plus topical DMSO のみで処理したラットの生理食塩水のための注射部位はビヒクルコントロールとしての役割をし、Evans blue plus、静脈、経口または局所用アンタゴニストの何れかのみで処理したラットの生理食塩水のための注射部位はアンタゴニスト対照としての役割をし、そして Evans blue plus 皮膚ウサギ抗トリ卵白アルブミンは抗体対照の役割をする。同様の化学組成物および AcF-[OPdChaWR] (1) に対する溶解度を有するが、単離ヒト PMN において IC_{50} 結合親和性が 1mM を超える、ペプチド AcF-[OPGWR] の局所適用は不活性ペプチド対照としての役割をした。AcF-[OPGWR] はまた、10% DMSO 中に溶解させ、部位あたり $400\mu\text{g}$ で局所適用し、10分後アルチュス反応を開始した。

40

【0071】

50

TNF 測定

血清TNF 濃度は、酵素免疫測定法(ELISA)キット(Strachan et al., 2000)を用い測定した。使用する抗体の対は、ビオチン化マウス抗ラットTNF 抗体と結合したウサギ抗ラットTNF である。図 2は、静脈的、経口的または局所的にAcF-[0PdChaWR]で前処理したラットの群における、皮膚のアルチュス反応の開始後、通常の間隔での血清TNF 濃度を示す。データは、平均値 \pm SEM (n=3-6)で示す。^{*}は、アルチュス対照値と比較して、P値<0.05である。

【0072】

インターロイキン-6測定

前記のようなELISA法を用い、血清および腹膜洗浄液のインターロイキン-6 (IL-6)濃度を測定した(Strachan et al., 2000)。 10

【0073】

病理学的評価

ラットの皮膚サンプルを、10%緩衝性ホルマリン中に少なくとも10日間固定化し、標準的な組織学的技術を用いヘマトキシリンおよびエオシンで染色した。皮膚サンプルを、病理学的証明のためブラインド法で分析し、ラットPMN浸透は0-4のスケールでスコアを付けた。皮膚のアルチュス反応の開始により、間質性好中球(interstitial neutrophil)が増加し、それは、以下の方法で定量した。異常が発見されない場合にはセクションではスコア0とした。スコア1では、血管でPMNの増加が見られたが、その管腔の外側の炎症性の細胞が移動することはなかった。スコア2および3では、間質組織中でPMNは増加し、血管周辺で炎症性の細胞がより顕著に蓄積した。最大スコアの4では、重篤の病理学的異常が皮膚部分で存在し、組織中へPMNは過度に侵入し、これらの細胞は移動し血管から離れた。図3から、増加した抗体量の皮内注射により、皮膚サンプル(A)でスコアされる病理学的指標は用量に応答して増加することが判る。静脈に(B)(n=3)、経口で(C)(n=3)および局所的に(D)(n=3) AcF-[0PdChaWR]で前処理したラットに400 μ g 部位⁻¹抗体(n=5)または生理食塩水を皮内注射した皮膚サンプルのデータを示す。データは平均値 \pm SEMとして示す。^{*}非パラメーター性のt-試験を用いるアルチュス値と比較するとP<0.05である。 20

【0074】

実施例 2

ラット単関節性(monoarticular)抗原誘導性関節炎 30

メスWistarラット(150-250g)はCentral Animal Breeding House, University of Queenslandから入手した。メチル化ウシ血清アルブミン(mBSA)(0.5mg)を完全フロインドアジュバント(0.5mg)に溶解し、超音波をかけ、均一の懸濁液を得た。日1および7に、それぞれのラットに、この懸濁液(0.5mL)を皮下注射した。日12-28に、ラットを別々のゲージに別け、体重および餌および水の摂取量を日々モニターした。ラットには通常の水道水か、AcF-[0PdChaWR] (1)を含んだ飲料水の何れかを飲ませた。体重および水の摂取量を日々モニターし、試験の日12-28の間、ラットには日用量1mg/kg/日のC5aR アンタゴニストAcF-[0PdChaWR] (1)を摂取させた。日14に、ラットに麻酔をかけ、後脚の毛を剃った。それぞれのラットにおいて、左膝にmBSA (0.5mg)および右膝に生理食塩水を関節内注射(100 μ l)した。通常の水を飲んでいていたラットの生理食塩水のみを生理食塩水対照として用い、飲料水中のAcF-[0PdChaWR] (1)を飲んでいていたラットの生理食塩水のみをアンタゴニスト対照として用いた。 40

【0075】

ラットを日28で安楽死させ、全血をエッペンドルフチューブに回収し、氷上で自然に凝固させた。血液サンプルを遠心分離(11,000 rpm x 3分間)し、血清を回収し、ELISAを用いる血清サイトカインの分析をするまで-20 $^{\circ}$ Cで保存した。それぞれの膝の皿(knee capsule)を100 μ L 生理食塩水で洗浄し、全細胞数を赤血球計で測定した。加えて、膝関節の洗浄液のアリコートのスライドガラスに滴下し、風乾させた。一旦、乾燥させ、細胞をdifferential stain(Diff Quick)で染色し、示差的な細胞カウントを、40 x 乾燥レンズ顕微鏡を用い行った。それぞれの関節由来の残りの洗浄液は、後に、ELISAを用い関節内サイ 50

トカインレベルの分析を行うまで-20℃で保存した。それぞれの膝関節は、酷く、目的の部分のみを残して取り除き、その皮膚を手術用メスの刃で剥離させた。膝サンプルは、>10日間、10%緩衝性ホルマリン中に保存した。次いで、膝を蒸留水でリンスし、21日間、脱石灰のためにEDTA溶液の飽和溶液中におき、その後、パラフィンワックス中に包埋させた。

【0076】

膝組織サンプルは、実施例1に記載のような標準的な組織学的な技術を用い作成し、ヘマトキシリンおよびエオシン染色を用い染色した。組織スライドをブラインド法で分析した。組織切片は0-4でスコアした。スコア0は異常がないことを示し、スコアの上昇は、滑液の細胞増殖、炎症細胞の侵入、軟骨破壊および出血を示す。骨の顕著な糜爛が見られるサンプルはなかった。サンプルは、ELISA分析の日に解凍し、血清または関節内洗浄液のTNF およびIL-6濃度を、実施例1に記載のようにELISAを用い、標準曲線から測定した。

10

【0077】

図4は、日-2から+14に、経口的に与えたAcF-[0PdChaWR]による、関節炎の右膝関節の腫れの抑制を示し、図5は、関節洗浄液における右膝関節のTNF およびIL-6レベルの抑制を示す。「未処置」とは、AcF-[0PdChaWR]で処置していないが、感作後、右膝を抗原でチャレンジした動物である。

【0078】

実施例3

イヌで誘発した骨関節症におけるPMX53の効果

20

4匹の健康なイヌを、安楽死させる予定のポンド犬(pound dog)の一群から得た。そのイヌたちを、実験開始前に、7日間、実験の犬小屋(canine ward)に慣らした。イヌは個々に入れ、乾燥ドッグフード、缶入りのドッグ・フードおよび生の骨を混ぜ合わせたものを与えた。実験中、一日二回、10分間、歩かせた。そのイヌたちの年齢および性別は以下の通りである。

Dog #2 オスの牧羊犬(およそ1歳)

Dog #3 メスの牧羊犬(12歳)

Dog #4 メスの、ブルテリアと牧羊犬の雑種(2歳)

Dog #5 メスのホイペット雑種(1歳未満)

【0079】

30

PMX53は、University of QueenslandのInstitute of Molecular Bioscienceで合成した。その薬物は、通常の生理食塩水中の30% ポリエチレン グリコール 400 (PEG 400)に溶解した。その溶液は、濃度3mg/mlとした。ブラシーボビヒクルは、生理食塩水中の30% PEG 400であった。処理は全て濾過で滅菌し、4℃で保存した。そのイヌたちに、1ml/10kg体重の用量の割合で薬物またはブラシーボを与えた。その処置は、ランダムな方法でイヌに行った。薬物のコンテナに印を付けた。歩行をスコアする観察者(attendat)に、それぞれのイヌに行った処置が判らないようにするためである。

【0080】

左膝関節の十字靱帯は、経験豊かなスペシャリストである外科医が外科的に切開した。皮膚の切開はおよそ2cm長であった。そのイヌたちに手術後の痛みを除く処置(硬膜外微麻酔およびオピオイドを含む)を行った。外科手術の24時間後、イヌたちは全て足を引かず歩いて歩いた。1日後、更なる鎮痛治療は必要ないように思われた。イヌたちは全て、上記の手順によく耐えた。

40

【0081】

薬物を、一日に一度、頸の背部の弛緩性皮膚に皮下注射(0.3 mg/kg)した。注射する際の薬物およびブラシーボは僅かに不快の要因となったが、注射と同時に餌を与えることによりイヌたちの気を容易にまぎらせた。一日に二度、イヌたちに歩かせて、跛行の評価をした。そのスコアリングは少なくとも2人で行った。

【0082】

図6aに示すように、ブラシーボで処置したイヌたちでは、手術後10から13日で歩行に

50

改善が見られた。これは創傷の自然回復であると考えられた。そのイヌたちは完全に正常となることはなかった。

【0083】

対照のイヌとは対照的に、薬物治療したイヌでは、図 6bに示すように処置してから4-6日後、跛行の程度に改善が見られた。すなわち、対照のイヌよりも早かった。そのイヌたちは、翌三週間、試験の最後まで、改善した歩行が持続した。これらのうち2匹のイヌは、試験の最後には、比較的正常となった。

【0084】

イヌたちは、日28に安楽死させた。すべてのイヌで、左膝の腹側の十字靭帯が完全に破壊されており、関節嚢は肥大し、左膝の滑液体積は増大していた。冒された全ての関節で滑膜に付着するフィブリンのタグがあった。dog #2(薬物治療)およびdog #4(プラシーボ)で穏やかな軟骨の糜爛があった。注射部位に異常は見られなかった。

【0085】

関節は、手術前および死後、X線照射した。何れの時点も、顕著な骨の損傷は見られなかった。手術前および日28に、生化学および血液学検査のために血液を回収した。何れの時点でも、何れのイヌにも異常は見られなかった。関節の組織病理により、薬物治療のイヌでは、関節炎の対照のイヌと比べて滑膜の肥大は減少し、繊維症は緩和することが判った。これは図 7に示している。臨床的な印象では、薬物により、イヌの歩行能力は明らかに改善した。手術後および治療の開始からおよそ1週間で、薬物治療したイヌは、冒された脚で力強く歩いた。これら両方のイヌでは、2匹のプラシーボ処置のイヌよりも低い開始スコアを有していたことに注目すべきである。

【0086】

プラシーボ処置したイヌはゆっくりと改善し、それによって、4週までには、試験の開始時よりも跛行は顕著に穏やかになった。これは、臨床実践の観察と一致する；十字靭帯が破壊された小動物では、しばしば手術することなく回復する。

【0087】

実施例 4

関節炎のイヌにおけるPMX53の臨床試験

骨関節症を有するイヌにおけるPMX53の効果に関する臨床試験を行った。幾つかの動物は、Veterinary School、University of QueenslandのSmall Animal ClinicでPMX53処置をし、発明者のうちの一人はまた、PMX53を用い、彼自身のイヌを治療した。我々は、利用できる薬物が少量であるという制限を受けた。そのため、イヌたちには、PMX53を経口的か、または低用量の皮下注射で投与した。薬物の単回経口投与は、最も酷い場合であっても、少なくとも3-4日間、有効であるように思われた。1度の注射の効果は数週間持続する。12ヶ月間までの治療で、副作用は観察されなかった。個々のケースについて以下に列挙する。

【0088】

ケース #1

15歳の藍色の牧羊犬は、4年間、跛行および朝のこわばりの病歴を有しており、通常の臨床基準で骨関節症であると診断されていた。骨関節症の関係する原因には、前脚の骨折およびイヌの高齢があった。跛行が見られてから最初の3年間、そのイヌは一日一度、関節炎が酷いときには一日に二度、セロリーの種子(celery seed)(セロリーの種子の3G均等物=1錠剤)で治療した。この治療で、跛行は顕著に減少した。

【0089】

イヌに、跛行の顕著な悪化が見られたときの2002年10月にPMX53治療を開始した。その時、イヌは14歳と10ヶ月であった。PMX53は、最初、一日に一度、1mg/kgで経口投与し、次いで、1週間、一日に一度0.3mg/kgで皮下注射した。この時点で、セロリーの種子は停止した。

【0090】

経口および皮下、両方の治療後の改善は顕著であった。朝のこわばりの見られなかった

イヌは、走り、遊び回ることができ、様子に劇的な改善が見られた。イヌは、より餌に興味を持ち、生活の質が向上したように思えた。関節の可動範囲は改善しなかったが、動かす際に関節の痛みはなかった。

【0091】

注射の頻度を週に一度に減らしたが、数週間の後、必要なとき、すなわち、イヌに跛行が見られ始めたときに、注射をすればよいことが判った。2003年10月までに、その動物は12ヶ月間注射を受けつづけた。現在、投与の頻度は、4~6週間毎に一度である。PMX53の注射(0.3 mg/kg 皮下)後24時間以内に病状は非常に顕著に改善する。明白な副作用はなかった。

【0092】

10

ケース #2

およそ4歳のロットワイラーのメスの、種々の整形外科的な病状を治療した。そのイヌは、遺伝的で先天的な股関節形成異常症用の両側三重楔骨切り術(bilateral triple wedge osteotomy)を受け、一方の膝関節の破壊された十字靱帯は回復し、他方の破壊された十字靱帯は回復しなかった。股関節形成異常症は、関節の骨関節症を生ずる、股関節の寛骨臼の先天性形成異常である。これらの病状は、多くの関節で、変形性関節疾患(変形性関節症)を生ずることとなった。動物は非常に脚を引きずって歩き、NSAID(メロキシカム)による薬物療法を続ける必要があった。

【0093】

イヌは、PMX53で、4週間、最初は経口で1mg/kgで処置し、次いで、一日に一度、PMX53(0.3mg/kg sc)を注射した。イヌの飼い主は、毎日、跛行の程度をスコアした。跛行は改善しなかったが、飼い主からの報告によると、そのイヌの様子が顕著に改善され、家の他のイヌと一緒に遊び始めたということであった。このケースでは、遺伝的で先天的な股関節形成異常症および靱帯断裂の両方から生ずる、関節の酷い構造的変化が跛行の原因であるが、PMX53治療は痛みを緩和し、イヌの健康を向上するすると考えられた。PMX53の利用に限界があるため、その薬物による処置は6週間後に中止した。

20

【0094】

ケース #3

牧羊犬は、子犬のとき、「薬の効かない」自己免疫性関節炎を患っており、そのイヌには、多くの関節に骨関節炎(osteoarthritic)性の変化が残ることとなった。そのイヌは、痛みを調節するためNSAID治療(メロキシカム)中であり、その病状は悪化した。2003年1月にPMX53(経口的に1日あたり1mg/kg)を、そのイヌに開始した。その投薬計画は、1月後、必要に応じて、皮下注射に変更した。このイヌは治療に非常によく応答し、PMX53を用いたためNSAIDは用いなかった。そのイヌは、現在、飼い主がそのイヌの病状悪化に気付いたとき、1から2週間毎にPMX53(0.3mg/kg sc)を注射している。9ヶ月の治療後、副作用はなかった。獣医師である飼い主は、PMX53は、イヌの骨関節症のための商業上利用可能などんな治療よりも優れていると考えている。

30

【0095】

ケース #4

コッカースパニエルは、イヌではあまり見られない病状であるリュウマチ様関節炎であると診断された。これは、積極的なコルチコステロイド治療(一日に二度の5mg プレドニゾロン)が必要な酷い多発性関節炎として現れる。2003年1月では、そのイヌは、PMX53(毎日1mg/kg PO、その後、週に二度0.3mg/kg)で開始した。イヌがPMX53のみで保ち得るかどうかが調べるために、プレドニゾロン治療は6ヶ月かけてゆっくりと減少させた。週に一度のPMX53(0.3mg/kg SC)では、臨床の徴候を完全にコントロールすることはできなかった。週に一度、PMX53と共にプレドニゾロン(2.5mg PO 二日おきに一度)をイヌに投与すると、良好な結果が得られた。積極的である場合、PMX53による有効な疾患処置は、コルチコステロイドの投与で可能であり、それによって、実質的に緩和され、非常に望ましい結果となった。そのイヌはPMX53で治療し続け、プレドニゾロンの用量は減少した(2003年10月)。

40

50

【0096】

実施例 5ラットにおける薬効の比較

それぞれのラットの一方の十字靱帯を外科的に切断し、膝関節に骨関節症炎を生じさせた。対側の膝関節は治療せず、対照として用いる。一旦、その病状が明らかに生じると(およそ4週間)、その動物をグループに分け、それぞれのグループを28日間、PMX53、メロキシカム、硫酸コンドロイチンまたはペントサンポリサルフェートで治療した。コンパレーター治療は、イヌの変形性関節疾患を治療するために、獣医学の実施で通常使用されるものである。

【0097】

疾患の進行および薬物治療の効果は、動物の歩行をスコアし、関節の腫れを測定し、そして滑液および血漿のサイトカインTNF- α のレベルを測定することにより、測定する。ラットは、実験の開始後8週間で安楽死させ、処置した膝関節および対照の膝関節の、肉眼および顕微鏡的な病因の検視を行った。

【0098】

実施例 6イヌの多施設試験

PMX53とNSAIDとを比較するブラインデッド・クロスオーバー試験を行う。変形性関節疾患の診断基準を満たす合計4050匹のイヌをスペシャリストである獣医師が選択する。それぞれのイヌに、最初は、PMX53かまたはNSAID(例えば、デラコキシブ(deracoxib)、メロキシカムまたはテポキサリン(tepoxalin))の何れかを投与する。投与はブラインド法で行う。ブラシーボ処置は、イヌの苦痛を緩和しないという道德上の点から、用いなかった。イヌは28日間の治療を受け、その後、徴候の回復に応じて7-14日を「洗浄」期間とした。次いで、28日間、二番目の薬物を投与する。再び、投与は「ブラインド」とする。

【0099】

臨床的な反応は、跛行の程度、関節痛を決定し得る関節の臨床試験および移動範囲、および臨床的な生化学(血漿電解質Na⁺、K⁺、Ca²⁺、肝臓酵素、膵臓酵素、クレアチニン、血液の尿素、窒素およびグルコース)および血液学(赤血球数、PCV、MCV、MCHC、白血球数、白血球分画(differential white cell count))をスコアリングすることにより測定する。

【0100】

実施例 7手術後抗炎症性治療

実施例3に記載の、イヌの十字靱帯の外科的切断を含む実験では、PMX53で処置したイヌは、ブラシーボ処置したイヌよりも早く外科処置から回復した。通常の整形外科的な外科手術、例えば、断裂した十字靱帯の治療、脱臼した膝蓋の治療および損傷した半月の除去のための手術を行ったイヌに、手術後、しばしば、NSAIDを投与し、炎症および痛みを緩和させる。PMX53と、メロキシカムのようなNSAIDとによるブラインド法で研究を行い、PMX53が手術後の痛みを調節するのに有効かどうか、そして手術後の結果の改善に有効かどうか試験した。この試験は、通常の手術を行う適当なイヌに関わるため、スペシャリストである整形外科の獣医の実施により、行う。

【0101】

考察

環状ペプチドは、薬物候補物としての非環式ペプチドを超える重要な利点が幾つかある(Fairlie et al 1995, Fairlie et al, 1998, Tyndall and Fairlie, 2001)。本明細書に記載の環状化合物は、ヒトの血液または血漿中、ヒトまたはラットの胃液中、またはペプシン、トリプシンおよびキモトリプシンのような消化酵素の存在下、37℃で少なくとも数時間のタンパク質分解に対して安定である。対照的に、L-アミノ酸からなる短い直鎖状ペプチドは、これらの条件下で直ちに分解され数分以内にコンポーネントのアミノ酸となる。第二の利点は環状および非ペプチド性分子により形成される束縛された単一のコンホメーションにあり、これは、レセプター結合に必要な構造以外に溶液中で複数の構造となる

10

20

30

40

50

のに十分にフレキシブルである非環状または直鎖状のペプチドとは対照的である。第三に本発明で記載される化合物のような環状化合物は、通常、より脂質可溶性であり、あまり経口的に投与され得ない非環式ペプチドよりも、薬物として、より薬理学的に生物利用可能である。第四に、環状分子の血漿半減期は、通常、ペプチドよりも長くなる。

【0102】

本発明は、明らかとするため、および理解のために発明を詳細に記載しているが、明細書の開示の発明概念の範囲から出発することなく、本明細書に記載の実施態様および方法に種々の修飾および変化を加えることが可能であり得ることは、当業者には明かであろう。

【0103】

本明細書に引用の参考文献を以下のページに列挙する。それらは引用により本明細書に含める。

【0104】

引用文献

Fairlie, D. P., Wong, A. K.; West, M. W. Curr. Med. Chem., 1998, 5, 29-62.

Fairlie, D.P., Abbenante, G. and March, D. Curr. Med. Chem., 1995 2 672-705.

Gerard, C and Gerard, N.P. Ann. Rev. Immunol., 1994 12 775-808.

Konteatis, Z.D., Siciliano, S.J., Van Riper, G., Molineaux, C.J., Pandya, S., Fischer, P., Rosen, H., Mumford, R.A., and Springer, M.S. J. Immunol., 1994 153 4200-4204.

Sanderson, S.D., Kirnarsky, L., Sherman, S.A., Vogen, S.M., Prakesh, O., Ember, J.A., Finch, A.M. and Taylor, S.M. J. Med. Chem., 1995 38 3669-3675.

Strachan, AJ, Haaïma, G, Fairlie, DP and SM Taylor. Inhibition of the reverse passive Arthus reaction and endotoxic shock in rats by a small molecule C5a receptor antagonist. J Immunol. 164: 6560-6565, 2000.

Tyndall, J. D. A.; Fairlie, D. P. Curr. Med. Chem. 2001, 8, 893-907.

【図面の簡単な説明】

【0105】

【図1】図1は、静脈(A)、経口(B)および局所的(C) AcF-[OPdChaWR]、および適当なコントロール(D)による、皮膚のアルチュス反応に関連した血管漏出の抑制を示す。

【図2】図2は、静脈(A)、経口(B)および局所的(C) AcF-[OPdChaWR]、および適当な局所用コントロール(D)による、皮膚のアルチュス反応に関連した循環TNFの上昇の抑制を示す。

【図3】図3は、静脈、経口および局所用AcF-[OPdChaWR]による、皮膚のアルチュス反応に関連した病理学的指標の減少を示す。

【図4】図4は、日-2から+14に、経口的に与えたAcF-[OPdChaWR]による、関節炎の右膝関節の腫れの抑制を示す。

【図5】図5は、関節洗浄液における右膝関節のTNF およびIL-6レベルの抑制を示す。

【図6】図6aは、十字靭帯の切断後、ブラシーボで処置したイヌ(n = 2)の歩行スコア(gait score)を要約したものであり、図6bは、十字靭帯の切断後、PMX53(一日一度、皮下的に0.3mg/kg)で処置したイヌ(n = 2)の歩行スコアを要約したものである。

【図7】図7は、対照およびPMX-53 (3D53)で処置したイヌの膝関節の組織学的な様子を比較している。

10

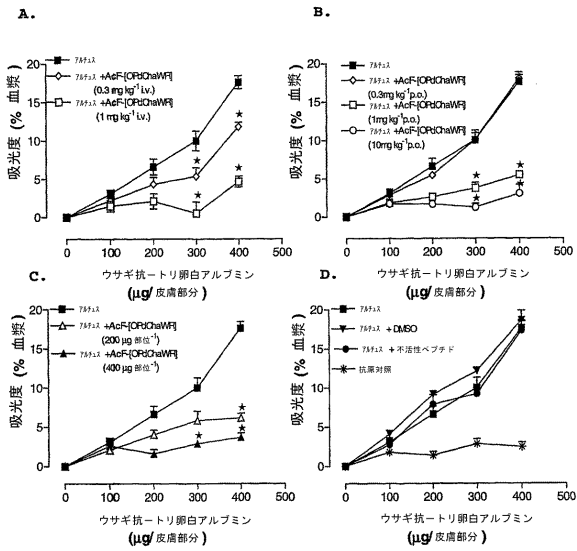
20

30

40

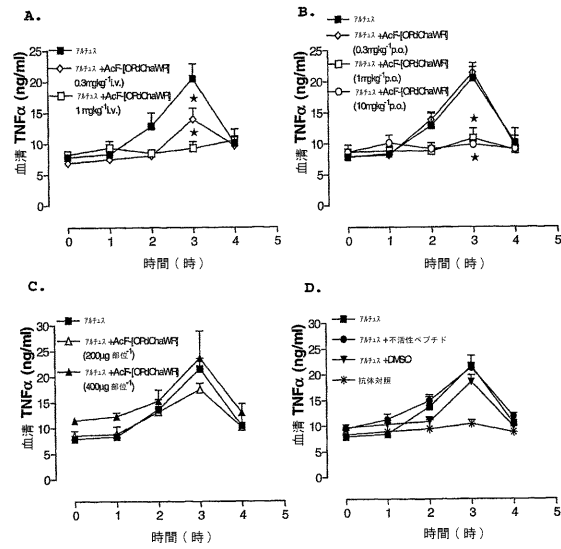
【図 1】

Figure 1



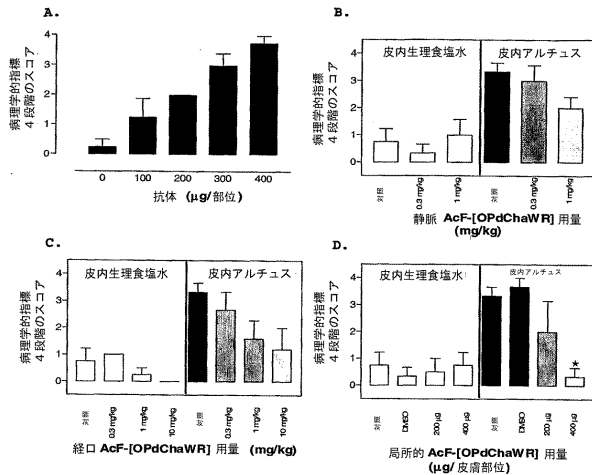
【図 2】

Figure 2



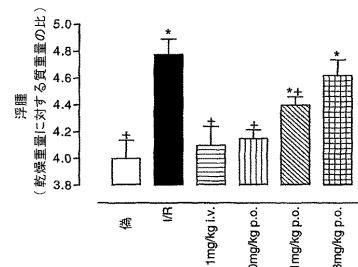
【図 3】

Figure 3



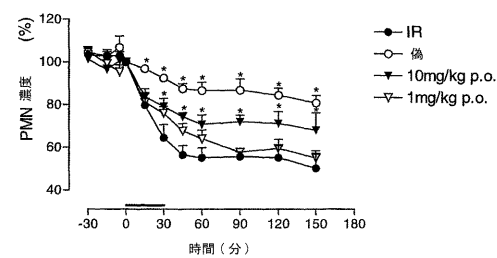
【図 4】

Figure 4

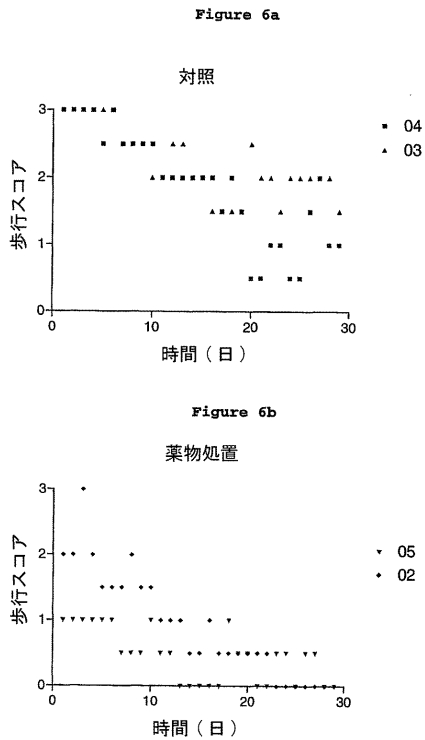


【図 5】

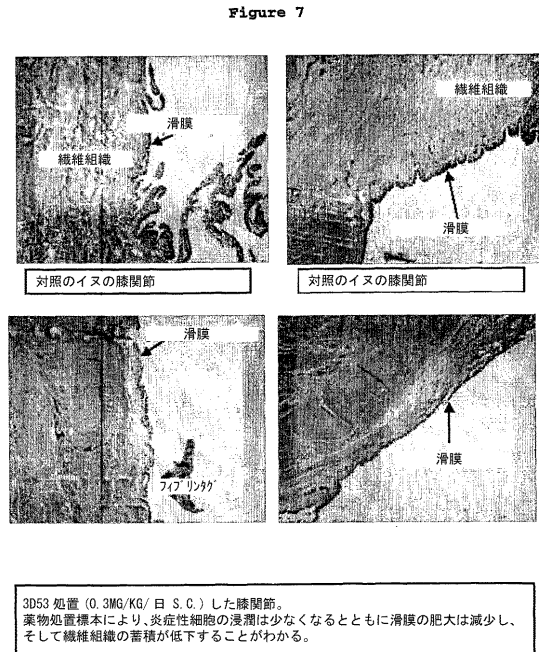
Figure 5



【図 6】



【図 7】



【手続補正書】

【提出日】平成16年8月12日(2004.8.12)

【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】

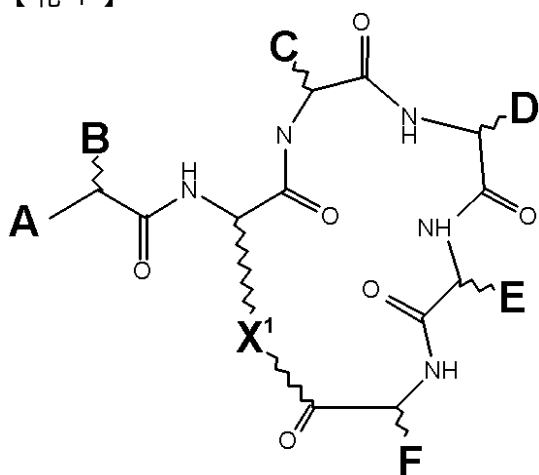
【特許請求の範囲】

【請求項 1】

骨関節症治療の必要のある対象に、G タンパク質-結合レセプターのインヒビターを有効量投与する工程を含む、該治療の方法、ここで、該インヒビターは、

- (a) G タンパク質-結合レセプターのアンタゴニストであり、
- (b) 実質的にアゴニスト活性はなく、そして
- (c) 式 I の環状ペプチドまたはペプチド疑似化合物である、化合物である、

【化 1】



ここで、AはH、アルキル、アリール、NH₂、NH-アルキル、N(アルキル)₂、NH-アリール、NH-アシル、NH-ベンゾイル、NHSO₃、NHSO₂-アルキル、NHSO₂-アリール、OH、O-アルキル、またはO-アリールであり；

Bは、アルキル、アリール、フェニル、ベンジル、ナフチルまたはインドール基またはD-またはL-アミノ酸の側鎖であるが、グリシン、D-フェニルアラニン、L-ホモフェニルアラニン、L-トリプトファン、L-ホモトリプトファン、L-チロシン、またはL-ホモチロシンの側鎖ではなく；

Cは、D-、L-またはホモ-アミノ酸の側鎖であるが、イソロイシン、フェニルアラニン、またはシクロヘキシルアラニンの側鎖ではなく；

Dは、中性D-アミノ酸の側鎖であるが、グリシンまたはD-アラニンの側鎖、大きな平面的側鎖、または大きな荷電性側鎖ではなく；

Eは、大きな置換基であるが、D-トリプトファン、L-N-メチルトリプトファン、L-ホモフェニルアラニン、L-2-ナフチルL-テトラヒドロイソキノリン、L-シクロヘキシルアラニン、D-ロイシン、L-フルオレニルアラニン、またはL-ヒスチジンの側鎖ではなく；

Fは、L-アルギニン、L-ホモアルギニン、L-シトルリン、またはL-カナバニンの側鎖、またはそれらのバイオイソスターであり；および

Xは、-(CH₂)_nNH-または(CH₂)_n-S-(ここで、nは1から4の整数である)；-(CH₂)₂O-；-(CH₂)₃O-；-(CH₂)₃-；(CH₂)₄-；-CH₂COCHRNH-；またはCH₂CHCOCHRNH-(ここで、Rは任意の通常または通常でないアミノ酸の側鎖である。

【請求項 2】

nが2または3である、請求項 1 の方法。

【請求項 3】

Aはアセトアミド基、アミノメチル基、または置換または非置換のスルホンアミド基である、請求項 1 または 2 の方法。

【請求項 4】

Aは置換スルホンアミドであり、その置換基は1から6炭素原子のアルキル鎖、またはフェニルまたはトルイル基である、請求項 3 の方法。

【請求項 5】

置換基が1から4炭素原子のアルキル鎖である、請求項 4 の方法。

【請求項 6】

BはL-フェニルアラニンまたはL-フェニルグリシンの側鎖である、請求項 1 から 5 の何れかの方法。

【請求項 7】

Cはグリシン、アラニン、ロイシン、バリン、プロリン、ヒドロキシプロリン、またはチオプロリンの側鎖である、請求項 1 から 6 の何れかの方法。

【請求項 8】

DはD-ロイシン、D-ホモロイシン、D-シクロヘキシルアラニン、D-ホモシクロヘキシルアラニン、D-バリン、D-ノルロイシン、D-ホモ-ノルロイシン、D-フェニルアラニン、D-テトラヒドロイソキノリン、D-グルタミン、D-グルタミン酸、またはD-チロシンの側鎖である、請求項 1 から 7 の何れかの方法。

【請求項 9】

Eは、L-フェニルアラニン、L-トリプトファンおよびL-ホモトリプトファンからなる群から選択されるアミノ酸の側鎖であるか、またはL-1-ナフチルまたはL-3-ベンゾチエニルアラニンである、請求項 1 から 8 の何れかの方法。

【請求項 10】

インヒビターが、C5aRに対してはアンタゴニスト作用を有し、C5aアゴニスト活性は有していない化合物である、請求項 1 から 9 の何れかの方法。

【請求項 11】

インヒビターは、僅かなマイクロモル濃度で強力なアンタゴニスト作用を有する、請求項 1 から 10 の何れかの方法。

【請求項 12】

化合物がレセプター親和性 $IC_{50} < 25 \mu M$ 、およびアンタゴニスト効力 $IC_{50} < 1 \mu M$ を有する、請求項 1 から 11 の何れかの方法。

【請求項 13】

化合物が、PCT/AU02/01427に記載の化合物 1 から 6、10 から 15、17、19、20、22、25、26、28、30、31、33 から 37、39 から 45、47 から 50、52 から 58 および 60 から 70 からなる群から選択される、請求項 1 から 12 の何れかの方法。

【請求項 14】

化合物が、PCT/AU02/01427に記載の化合物 1 (AcF-[OP-DCha-WR])、化合物 33 (AcF-[OP-DPhe-WR])、化合物 60 (AcF-[OP-DCha-FR]) または化合物 45 (AcF-[OP-DCha-WCit]) である、請求項 13 の方法。

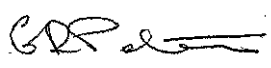
【請求項 15】

インヒビターが、骨関節症の治療用の 1 以上の他の医薬と共に使用される、請求項 1 から 14 の何れかの方法。

【請求項 16】

骨関節症の治療用の医薬の製造における、請求項 1 から 14 の何れかの化合物の使用。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/AU2003/001373
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
Int. CL. ⁷ : A61K 38/08, 38/12, A61P 19/02		
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)		
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) DWPI, MEDLINE; keywords- osteoarthritis, GPCR, G-Protein Coupled Receptor, c5a, c5aR, PMX53.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 1999/00406 A (The University of Queensland) 7 January 1999 (07.01.99) See whole document.	1-17
Y	WO 1999/02501 A (Astra Pharmaceuticals LTD) 21 January 1999 (21.01.99) Page 14 lines 1-9.	1-17
Y	WO 1998/54180 A (Astra Pharmaceuticals LTD) 3 December 1998 (03.12.98) Page 12 lines 20-29.	1-17
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C <input checked="" type="checkbox"/> 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 8 January 2004		Date of mailing of the international search report 15 JAN 2004
Name and mailing address of the ISA/AU AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA E-mail address: pct@ipaustalia.gov.au Facsimile No. (02) 6285 3929		Authorized officer G.R.PETERS  Telephone No.: (02) 6283 2184

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/AU2003/001373

This Annex lists the known "A" publication level patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent Document Cited in Search Report				Patent Family Member			
WO	1999/00406	AU	80926/98	EP	1017713		
WO	1999/02501	AU	83611/98	EP	996617	US	6107297
WO	1998/54180	AU	76811/98	EP	984963	US	6162808
END OF ANNEX							

フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA, GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,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,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,M N,MW,MX,MZ,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

(72)発明者 イアン・アレキサンダー・シールズ

オーストラリア 4 3 0 6 クイーンズランド州ミューアリー、ミューアリー・ロード、シャーロック
・ロード 1 7 番

(72)発明者 デイビッド・フェアリー

オーストラリア 4 1 2 7 クイーンズランド州スプリングウッド、トレバリヤン・ドライブ 7 3 番

Fターム(参考) 4C084 AA02 BA16 BA25 NA14 ZA962