

(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
2022年12月1日(01.12.2022)



(10) 国際公開番号

WO 2022/250100 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 31/4155 (2006.01) A61K 31/551 (2006.01)
A61K 31/428 (2006.01) A61P 31/14 (2006.01)
A61K 31/5375 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2022/021470

(22) 国際出願日: 2022年5月25日(25.05.2022)

(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 2021-088224 2021年5月26日(26.05.2021) JP

(71) 出願人: 国立大学法人鹿児島大学(KAGOSHIMA UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒8908580 鹿児島県鹿児島市郡元一丁目2番24号 Kagoshima (JP).

(72) 発明者: 池田 正徳(IKEDA Masanori); 〒8908580 鹿児島県鹿児島市郡元一丁目2番24号 国立大学法人 鹿児島大学内 Kagoshima

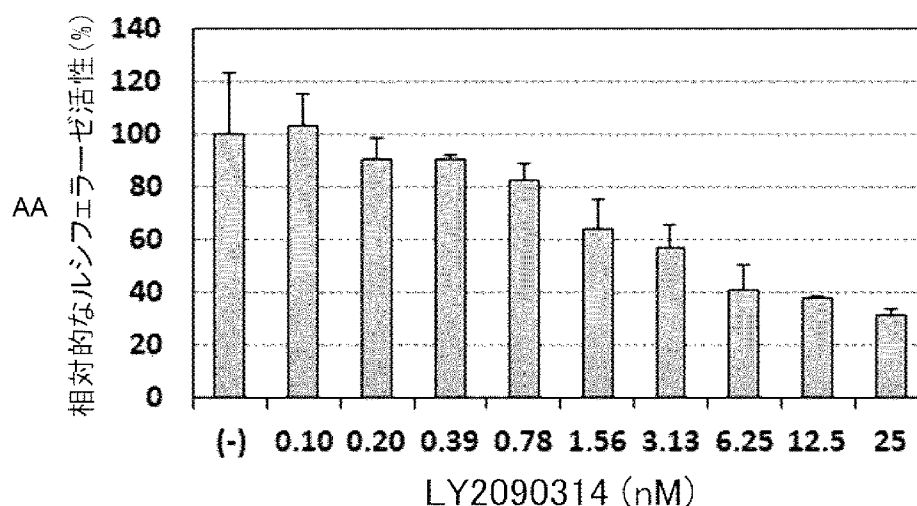
(JP). 武田 緑(TAKEDA Midori); 〒8908580 鹿児島県鹿児島市郡元一丁目2番24号 国立大学法人 鹿児島大学内 Kagoshima (JP).
李佳洲(LI Jiazhou); 〒8908580 鹿児島県鹿児島市郡元一丁目2番24号 国立大学法人 鹿児島大学内 Kagoshima (JP).

(74) 代理人: 木村 満(KIMURA Mitsuru); 〒1010054 東京都千代田区神田錦町二丁目7番地 協販ビル2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, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD,

(54) Title: COVID-19 THERAPEUTIC AGENT AND USE OF COMPOUND FOR PRODUCING COVID-19 THERAPEUTIC AGENT

(54) 発明の名称: COVID-19治療薬及びCOVID-19治療薬の製造のための化合物の使用



AA Relative luciferase activity(%)

(57) Abstract: This COVID-19 therapeutic agent contains a compound selected from the group consisting of LY2090314, afuresertib, talarozole, navitoclax, and pharmaceutically acceptable salts thereof.

(57) 要約: COVID-19治療薬は、LY2090314、アフレセルチブ、タラロゾール、ナビトクラックス及びそれらの薬理学的に許容される塩からなる群から選択される化合物を含む。

[続葉有]

SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT,
TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 一 国際調査報告(条約第21条(3))
- 一 明細書の別個の部分として表した配列リスト(規則5.2(a))

明 細 書

発明の名称：

COVID-19治療薬及びCOVID-19治療薬の製造のための化合物の使用

技術分野

[0001] 本発明は、COVID-19治療薬及びCOVID-19治療薬の製造のための化合物の使用に関する。

背景技術

[0002] 重症急性呼吸器症候群（SARS）を引き起こす新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染による新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は世界でパンデミックとなっている。COVID-19は、医療上の問題のみならず経済、文化及び生活様式等にも大きな影響を及ぼすため、緊急に克服すべき課題となっている。

[0003] COVID-19に対してワクチンの臨床応用が進んでいる。しかし、ワクチンの有効性を低減させる変異株もすでに出現している。このような現状を打破するためには、ワクチンに加えて安全な治療薬の開発が重要である。

[0004] 非特許文献1には、ウイルス病原性の機序を解明するためにSARS-CoV-2感染によるリン酸化及びタンパク質の量の定量的な評価、並びにキナーゼ及びパスウェイを乱すリン酸化の変化等のプロファイルに基づいて、COVID-19の治療に有望な化合物が検討されている。

先行技術文献

非特許文献

[0005] 非特許文献1：Mehdi Bouhaddou, 外77名, 「The Global Phosphorylation Landscape of SARS-CoV-2 Infection」, 2020年, Cell, 182, 685-712

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] COVID-19は世界的に流行しており、投与対象に対して安全かつ有効な新規の安全なCOVID-19治療薬が必要とされている。

[0007] 本発明は上述の事情に鑑みてなされたものであり、高い安全性及び有効性を有するCOVID-19治療薬及びCOVID-19治療薬の製造のための化合物の使用を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明の第1の観点に係るCOVID-19治療薬は、
LY2090314、アフレセルチブ、タラロゾール、ナビトクラックス及びそれらの薬理学的に許容される塩からなる群から選択される化合物を含む。

[0009] 前記化合物は、
LY2090314である、
こととしてもよい。

[0010] 本発明の第2の観点に係る使用は、
COVID-19治療薬の製造のためのLY2090314、アフレセルチブ、タラロゾール、ナビトクラックス及びそれらの薬理学的に許容される塩からなる群から選択される化合物の使用である。

発明の効果

[0011] 本発明に係るCOVID-19治療薬は、高い安全性及び有効性を有する。

図面の簡単な説明

[0012] [図1] (A)はSARS-CoV-2のゲノムの構成を示す図である。(B)は実施例に係るレプリコンDNAの構成を示す図である。(C)は(B)に示すレプリコンDNAを複数に分割したフラグメントF1～F10を示す図である。

[図2]レプリコンRNAの複製レベルのレムデシビル濃度応答性を示す図であ

る。

[図3]レムデシビルに対する細胞生存率を示す図である。

[図4]レプリコンRNAの複製レベルのLY2090314の濃度に対する応答性を示す図である。

[図5]LY2090314に対する細胞生存率を示す図である。

[図6]レプリコンRNAの複製レベルのアフレセルチブの濃度に対する応答性を示す図である。

[図7]アフレセルチブに対する細胞生存率を示す図である。

[図8]レプリコンRNAの複製レベルのタラロゾールの濃度に対する応答性を示す図である。

[図9]タラロゾールに対する細胞生存率を示す図である。

[図10]レプリコンRNAの複製レベルのナビトクラックスの濃度に対する応答性を示す図である。

[図11]ナビトクラックスに対する細胞生存率を示す図である。

[図12]レプリコンRNAの複製レベルのソトラスタウリンの濃度に対する応答性を示す図である。

[図13]ソトラスタウリンに対する細胞生存率を示す図である。

[図14]レプリコンRNAの複製レベルのLY2228820の濃度に対する応答性を示す図である。

[図15]LY2228820に対する細胞生存率を示す図である。

発明を実施するための形態

[0013] 本発明に係る実施の形態について図面を参照して説明する。なお、本発明は下記の実施の形態及び図面によって限定されるものではない。なお、下記の実施の形態において、“有する”、“含む”又は“含有する”といった表現は、“からなる”又は“から構成される”という意味も包含する。

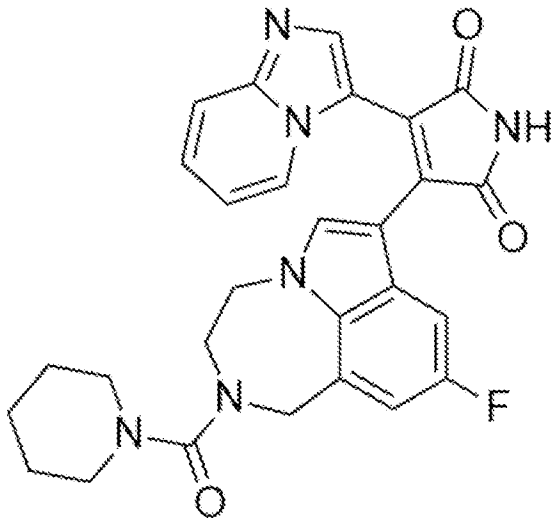
[0014] (実施の形態)

本実施の形態に係るCOVID-19治療薬は、LY2090314、アフレセルチブ、タラロゾール、ナビトクラックス及びそれらの薬理学的に許

容される塩からなる群から選択される化合物を含む。LY2090314、アフレセルチブ、タラロゾール及びナビトクラックスは、いずれも臨床試験の第1相試験で安全性が確認された化合物である。

[0015] LY2090314 (CAS番号: 603288-22-8) はグリコーゲン合成酵素キナーゼ-3 (glycogen synthase kinase 3; GSK-3) 阻害剤である。急性骨髄性白血病に対するLY2090314の臨床試験が行われた。LY2090314の構造を下記に示す。

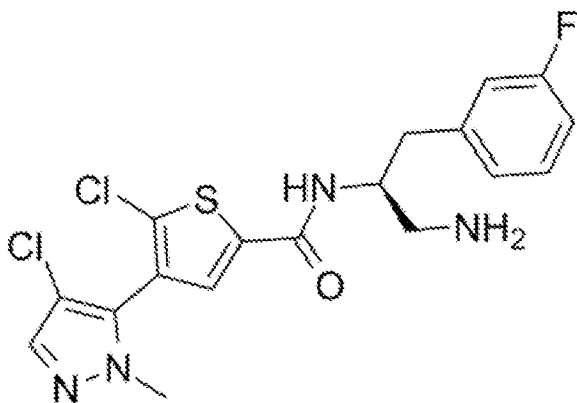
[0016] [化1]



[0017] アフレセルチブ (Afuresertib、CAS番号: 1047644-62-1) はプロテインキナーゼA (protein kinase A; PKA) 阻害剤及びAkt阻害剤である。前立腺癌に対するアフレセルチブの臨床試験が行われた。アフレセルチブの構造を下記に示す。

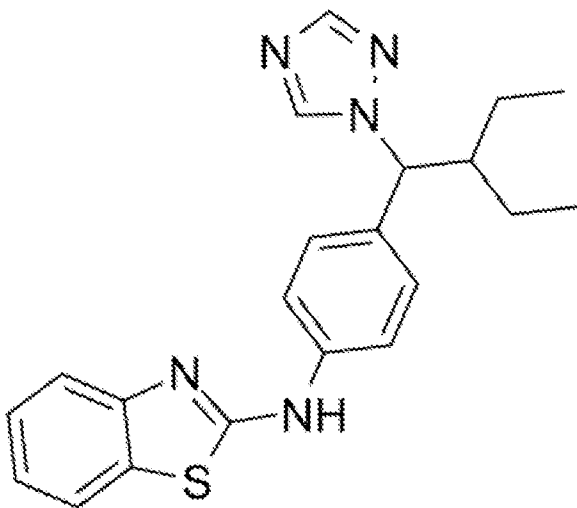
[0018]

[化2]



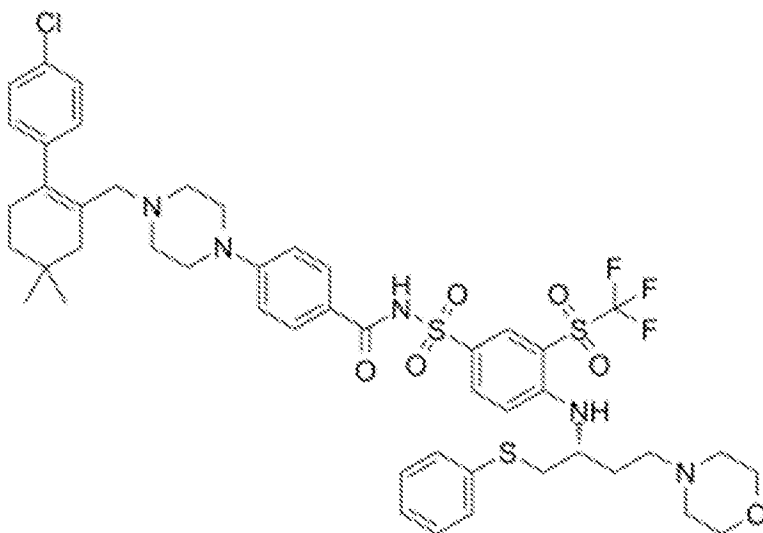
[0019] タラロゾール（Talarozole、CAS番号：201410-53-9）はチトクロームP450阻害剤である。にきび及び乾癬に対するタラロゾールの臨床試験が行われた。タラロゾールの構造を下記に示す。

[0020] [化3]



[0021] ナビトクラックス（Navitoclax、CAS番号：923564-51-6）はBCL-2ファミリー阻害剤である。リンパ腫及び白血病に対するナビトクラックスの臨床試験が行われた。ナビトクラックスの構造を下記に示す。

[0022] [化4]



[0023] 本実施の形態に係るCOVID-19治療薬に有効成分として含まれる上記化合物は、SARS-CoV-2に対して抗ウイルス活性を示す限り、LY2090314、アフレセルチブ、タラロゾール又はナビトクラックスの薬理的に許容される塩であってもよい。塩は特に限定されず、例えば、リチウム塩、ナトリウム塩及びカリウム塩等のアルカリ金属塩、マグネシウム塩及びカルシウム塩等のアルカリ土類金属塩等、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩、シュウ酸塩及びリン酸塩等の無機酸塩、並びに酢酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、グリコール酸塩、ピルビン酸塩、乳酸塩、マロン酸塩、コハク酸塩、リンゴ酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、安息香酸塩、*o*-(4-ヒドロキシベンゾイル)安息香酸塩、桂皮酸塩、マンデル酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、1,2-エタンジスルホン酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、*p*-クロロベンゼンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、*p*-トルエンスルホン酸塩、カンファースルホン酸塩、4-メチルビスクロ[2.2.2]オクト-2-エン-1-カルボン酸塩、グルコヘプタン酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、トリメチル酢酸塩、第三級ブチル酢酸塩、ラウリル硫酸塩、グルコン酸塩、グルタミン酸塩、ヒドロキシナフトエ酸塩、サリチル酸塩、ステアリン酸塩、及びムコン酸塩

等の有機酸塩等である。なお、抗ウイルス活性とは、SARS-CoV-2の感染性、増殖能又は免疫回避能を低下させる活性を意味する。

[0024] COVID-19治療薬は、LY2090314、アフレセルチブ、タラロゾール、ナビトクラックス及びそれらの薬理的に許容される塩からなる群から選択される複数種類の化合物を有効成分として含有してもよい。

[0025] 本実施の形態に係るCOVID-19治療薬は、既知の方法で製造され、有効成分として0.000001～99.9重量%、0.00001～99.8重量%、0.0001～99.7重量%、0.001～99.6重量%、0.01～99.5重量%、0.1～99重量%、0.5～60重量%、1～50重量%又は1～20重量%の上記化合物を含む。COVID-19治療薬は、固形製剤であっても、液状製剤であってもよい。

[0026] COVID-19治療薬は上記化合物に加え、薬理的に許容される任意の成分を含んでもよい。任意の成分は、例えば、担体、賦形剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤、溶剤、溶解補助剤、懸濁化剤、等張化剤、緩衝剤及び無痛化剤等である。また、必要に応じて、防腐剤、抗酸化剤、着色剤及び甘味剤等の添加物がCOVID-19治療薬に配合されてもよい。

[0027] 本実施の形態に係るCOVID-19治療薬の投与量は、投与対象の性別、年齢、体重及び症状等によって適宜決定される。当該COVID-19治療薬は、上記化合物が有効量となるように投与される。有効量とは、所望の結果を得るために必要な化合物の量であり、SARS-CoV-2の増殖の抑制、あるいはSARS-CoV-2の感染による症状の進行の遅延、阻害、予防、逆転又は治癒をもたらすのに必要な量である。

[0028] COVID-19治療薬の投与量は、例えば、0.01mg/kg～1000mg/kg、好ましくは0.1mg/kg～200mg/kg、より好ましくは0.2mg/kg～20mg/kgであり、1日に1回、又はそれ以上に分割して投与することができる。COVID-19治療薬を分割して投与する場合、COVID-19治療薬は、1日に1～4回投与される。また、COVID-19治療薬は、毎日、隔日、1週間に1回、隔週及び1ヶ

月に1回等の様々な投与頻度で投与してもよい。なお、必要に応じて、上記の範囲外の量を用いることもできる。

[0029] COVID-19治療薬の投与経路は特に限定されない。COVID-19治療薬は、例えば非経口で投与されてもよいし、経口で投与されてもよい。非経口投与の場合、静脈注射、皮下注射、腹腔内注射、筋肉内注射、経皮投与、経鼻投与、経肺投与、経腸投与及び経粘膜投与等であってもよい。COVID-19治療薬は、点滴を介して投与されてもよい。

[0030] COVID-19治療薬は、任意の形態の製剤とすることができる。経口投与の場合、COVID-19治療薬は、糖衣錠、バッカル錠、コーティング錠及びチュアブル錠等の錠剤、トローチ剤、丸剤、散剤及びソフトカプセルを含むカプセル剤、顆粒剤、懸濁剤、乳剤及びドライシロップを含むシロップ剤、並びにエリキシル剤等の液剤であってもよい。非経口投与の場合、COVID-19治療薬は、注射剤、吸入剤、経皮吸収テープ、エアゾール剤及び坐剤等であってもよい。

[0031] COVID-19治療薬は、SARS-CoV-2が感染する対象であれば、任意の対象に投与される。例えば、COVID-19治療薬の投与対象は、脊椎動物が好ましく、哺乳類動物がより好ましい。哺乳類動物としては、例えば、ヒト、チンパンジー及びその他の霊長類、ブタ及びウマに加え、カモ及びニワトリ等の鳥類等が挙げられる。特に好ましい投与対象はヒトである。

[0032] 本実施の形態に係るCOVID-19治療薬は、SARS-CoV-2が検出された対象に対して、明確な症状がない期間、あるいは感染後の潜伏期間に症状の発症を予防する目的で投与されてもよい。

[0033] 本実施の形態に係るCOVID-19治療薬に含まれる上記の化合物は、ヒトでの安全性が確認されている。実際に下記実施例に示されるように、上記化合物のCC₅₀（50%細胞毒性濃度）はEC₅₀（50%有効濃度）よりも十分に高かった。よって、本実施の形態に係るCOVID-19治療薬は高い抗ウイルス活性と高い安全性とを有する。

[0034] なお、LY2090314、アフレセルチブ及びナビトクラックスのヒトで報告されている最高血中濃度 (C_{max}) は、それぞれの EC_{50} を超えているため、本実施の形態に係る COVID-19 治療薬は臨床上でも有効である。

[0035] また、他の実施の形態では、COVID-19 治療薬の製造のための上記化合物の使用が提供される。別の実施の形態では、COVID-19 を治療、改善又は予防する方法が提供される。当該方法は、上記化合物を対象に投与する工程を含む。

[0036] また、他の実施の形態では、COVID-19 の治療における使用のための上記化合物が提供される。

[0037] 以下の実施例により、本発明をさらに具体的に説明するが、本発明は実施例によって限定されるものではない。

実施例

[0038] (BsaI (−) ベクターの作製)

pUC19 のアンピシリン耐性遺伝子内にある制限酵素 BsaI サイト (gggtctc) を QuickChange mutagenesis (Stratagene 社製) を用いて、“gAtctc” になるよう遺伝子導入を行い、BsaI 欠損プラスミド pUC19b を構築した。

[0039] pSMART BAC の sopB 遺伝子内にある制限酵素 BsaI サイト (gggtctc) を QuickChange mutagenesis を用いて、“gAtctc” になるよう遺伝子導入を行い、BsaI 欠損プラスミド pSMART BACb を構築した。

[0040] (人工遺伝子の設計)

図1 (A) は SARS-CoV-2 のゲノムの構成を示す。SARS-CoV-2 のゲノムは、非構造蛋白遺伝子 1a (ORF1a) 及び非構造蛋白遺伝子 1b (ORF1b) を含む非構造領域と、S 遺伝子、ORF3a、E 遺伝子、M 遺伝子、ORF6、ORF7a、ORF7b、ORF8、N 遺伝子及び ORF10 を含む構造領域と、を有する。SARS-CoV-2 のゲ

ノムの5'末端及び3'末端には、それぞれ非翻訳領域(5' UTR及び3' UTR)がある。SARS-CoV-2のゲノムの塩基配列(NCBI Reference Sequence: NC_045512)は配列番号1に例示される。

[0041] 本実施例に係るレプリコンDNA(以下、“SC2R”とする)は、SARS-CoV-2のゲノムの塩基配列に基づいて構築されるDNA構築物である。SC2Rの塩基配列は配列番号2に示される。一般にウイルスのレプリコンは、非構造領域を維持し、構造領域を欠くため、感染性を有していないが自律増殖する。SC2Rの構成を図1(B)に示す。SC2Rは、SARS-CoV-2の非構造領域を有し、N遺伝子を除く構造領域に含まれる遺伝子を有していない。詳細には、SC2Rは、5'末端側からサイトメガロウイルス(CMV)プロモーター、ORF1a、ORF1b、分泌型ルシフェラーゼ遺伝子(sNLuc)、N遺伝子、ポリA領域(pA)、肝炎デルタウイルスのリボザイム遺伝子(Rz)及びウシ成長ホルモンポリAシグナル(BGH)を有する。

[0042] N遺伝子はゲノムRNAの複製レベルを向上させる機能を有する。SC2Rは、細胞内でRNA(レプリコンRNA)に転写されたうえで、翻訳され、複製される。sNLucの活性を介して複製されたSC2Rを定量することができる。Neoは、マーカー遺伝子としての薬剤耐性遺伝子である。pAは転写産物の安定性に寄与する。Rzは複製後の自己切断による切り出しに必要である。BGHは転写を終結させる。

[0043] SC2Rを、天然ウイルスを鋳型として使用しない人工合成により、タイプII型制限酵素を用いるゴールデンゲート法で以下のように合成した。

[0044] SC2Rの非構造領域では、配列番号1に示す塩基配列の5'末端から17972番目から17977番目までのBsaIサイト(gagacc)に相当する塩基配列を同義置換するために、“gGgacc”とした。

[0045] BsaIサイトを欠失させたSC2R(25562bp)を図1(C)に示すように2~3kbの10個のフラグメントF1~F10に分けて人工遺

伝子を合成した。詳細には、配列番号2に示すSC2Rの塩基配列の5'末端から1～2735番目の2735bpをF1、2732～5360番目の2829bpをF2、5357～8151番目の2795bpをF3、8148～10593番目の2446bpをF4、10590～13379番目の2790bpをF5、13376～15877番目の2502bpをF6、15874～18708番目の2835bpをF7、18705～21114番目の2410bpをF8、21111～23288番目の2178bpをF9、23285～25562番目の2278bpをF10とした。各フラグメントの両端にBsaIサイトの塩基配列を付加して、シームレスにSC2RをBACベクターに組込むことができるように設計した。

[0046] (人工遺伝子の合成)

10個のフラグメントそれぞれの5'末端と3'末端にBsaIサイトを導入した。F1～4とF6～10はpUC19bに導入した(pUC19b/SC2R-F1, F2, F3, F4, F6, F7, F8, F9, F10)。F5はpCC1-4kベクターに導入した(pCC1-4k/SC2R-F5)。

[0047] (クローニングベクターpSMART BACbcの作製)

人工的に合成したマルチクローニングサイトが導入されたpUC57 NotI-BsaIc-BsaI-EcoRI-HindIII-BamHI-XhoI-AvrIIを制限酵素NotIとAvrIIで切断し、配列番号3に示す955bpの人工遺伝子を得た。pSMART BACbのNotI-AvrIIサイトに人工遺伝子をライゲーションして、pSMART BACbcを作製した。

[0048] (クローニングベクターpHSG298c及びpCC1-4kcの作製)

pHSG298ベクターにBsaIサイトを導入するため、EcoRIとBamHIの内側にBsaIを含むPCRフラグメントA及びBを作製した。PCRフラグメントAの作製では、配列番号4に示すHRP遺伝子を鋳型として、フォワードプライマー(配列番号5)及びリバースプライマー(配

列番号6)を用いてPCRを行った。PCRフラグメントAの塩基配列を配列番号7に示す。PCRフラグメントBの作製では、配列番号4に示すHRP遺伝子を鋳型として、フォワードプライマー(配列番号8)及びリバープライマー(配列番号9)を用いてPCRを行った。PCRフラグメントBの塩基配列を配列番号10に示す。

[0049] また、pCC1-4kベクターにBsaIサイトを導入するため、HindIIIとBamHIの内側にBsaIを含むPCRフラグメントCを作製した。PCRフラグメントCの作製では、配列番号4に示すHRP遺伝子を鋳型として、フォワードプライマー(配列番号11)及びリバープライマー(配列番号12)を用いてPCRを行った。PCRフラグメントCの塩基配列を配列番号13に示す。

[0050] pHSG298をEcoRIとBamHIで切断し、PCRフラグメントAをライゲーションして、pHSG298cベクターAを構築した。また、pHSG298をEcoRIとBamHIで切断し、PCRフラグメントBをライゲーションして、pHSG298cベクターBを構築した。pCC1-4kをHindIIIとBamHIで切断し、PCRフラグメントCをライゲーションして、pCC1-4kcベクターを構築した。

[0051] (中間フラグメントpHSG298c/F123、pCC1-4kc/F456及びpHSG298c/F7-10の作製)

pUC19b/F1, F2, F3, F4, F6, F7, F8, F9, F10及びpCC1-4k/F5をそれぞれBsaIで切断した。F1、F2及びF3をpHSG298cベクターAに導入し、pHSG298c/F123とした。F4、F5及びF6をpCC1-4kcベクターに導入し、pCC1-4kc/F456とした。F7、F8、F9及びF10をpHSG298cベクターBに導入し、pHSG298c/F7-10とした。

[0052] (SC2Rベクターの作製)

pHSG298c/F123、pCC1-4kc/F456及びpHSG298c/F7-10をBsaIで切断し、各フラグメントをpSMART

BACbcのBsaI-BsaIサイトにライゲーションした。ライゲーション後、エレクトロポレーション法にてBAC-Optimized Replicator v2.0 Electrocompetent Cells (Lucigen社製)に導入しクローニングを行った。以上により、pSMART BACbc/SC2Rを得た。

[0053] (HuH-7.6c細胞の樹立)

レポーター全長HCV RNAをエレクトロポレーションによりHuH-7細胞に導入後G418を添加するとHCV RNA複製レベルの高い細胞が選択されてコロニーを形成する。コロニーの中で最もHCV RNA複製レベルの高いクローン化細胞を細胞株として樹立したものがOR6細胞株となる。次に、OR6細胞にIFNを添加することでHCV RNAを排除して治癒細胞株(HuH-7.6c細胞株)を樹立した。治癒細胞株は親株のHuH-7細胞株よりもHCV RNAの複製レベルが高いことが知られている(Masanori Ikeda、外5名、「Efficient replication of a full-length hepatitis C virus genome, strain O, in cell culture, and development of a luciferase reporter system」、Biochem Biophys Res Commun.、2005年、329(4):1350-9)。

[0054] (SC2Rアッセイによる評価)

HuH-7.6c細胞を6ウェルプレートに 1×10^5 細胞/ウェルになるように播種し、翌日pSMART BACbc/SC2R $1 \mu\text{g}$ をFugene HD試薬を用いてトランスフェクションし細胞に導入した。24時間後、トリプシンを用いて細胞を剥離し、24ウェルプレートに 3×10^4 細胞/ウェルになるように播種した。さらに24時間後、化合物を所定の濃度になるように添加した。48時間培養後、培養上清を採取し、Nano-Glo Luciferase Assay Systemを用いてルシフェ

ラーゼ活性を測定した。

[0055] (細胞毒性の評価)

HuH-7.6c細胞を、96ウェルプレートに 5×10^3 個になるように播種した。培養開始から24時間後に、レムデシビルを、所定の濃度になるように細胞に添加した。48時間培養した後、Premix WST-1 Cell Proliferation Assay System (タカラバイオ社製) $10 \mu\text{l}$ を培地に添加して、 37°C で2時間培養後、マイクロプレートリーダーを用いて450nmの吸光度を測定した。

[0056] (結果)

レムデシビルを添加した場合のルシフェラーゼ活性を図2に示す。レムデシビルの濃度依存的にルシフェラーゼ活性が低下したため、レムデシビルによってSC2Rの複製が抑制されたことが示された。レムデシビルの EC_{50} は 16.4 nM であった。陽性対照であるレムデシビルによるSC2Rの複製の抑制が評価できたことから、SC2Rアッセイで抗SARS-CoV-2活性を有する化合物を同定できることが確かめられた。レムデシビルの濃度に対する細胞生存率を図3に示す。 CC_{50} は $1.13 \mu\text{M}$ であった。

[0057] SC2Rアッセイを用いて、抗SARS-CoV-2活性を有する化合物をスクリーニングした。MedChemexpress社のPhase I Iドロップライブラリの化合物350種類をSARS-CoV-2レプリコンアッセイで評価した。当該ライブラリに含まれる化合物は、作用する分子標的が既知で、臨床試験における第1相試験で安全性が確認された化合物である。

[0058] SC2Rアッセイにおけるルシフェラーゼ活性と細胞毒性の結果とから、LY2090314、アフレセルチブ、タラロゾール、ナビトクラックス、ソトラスタウリン (Sotrastaurin) 及びLY2228820からなる6種類の化合物をCovid-19治療薬の候補として同定した。図4及び図5はそれぞれLY2090314を添加した場合のルシフェラーゼ活性及び細胞生存率を示す。図6及び図7はそれぞれアフレセルチブを添加

した場合のルシフェラーゼ活性及び細胞生存率を示す。図 8 及び図 9 はそれぞれタラロゾールを添加した場合のルシフェラーゼ活性及び細胞生存率を示す。

[0059] 図 10 及び図 11 はそれぞれナビトクラックスを添加した場合のルシフェラーゼ活性及び細胞生存率を示す。図 12 及び図 13 はそれぞれソトラスタウリンを添加した場合のルシフェラーゼ活性及び細胞生存率を示す。図 14 及び図 15 はそれぞれLY2228820を添加した場合のルシフェラーゼ活性及び細胞生存率を示す。

[0060] Covid-19 治療薬の候補の EC_{50} 、 CC_{50} 及び選択係数 ($SI = CC_{50} / EC_{50}$) を表 1 に示す。

[0061] [表1]

化合物名	EC_{50}	CC_{50}	SI
LY2090314	4.53 nM	35.38 μ M	7810
アフレセルチブ	3.0 μ M	10.53 μ M	3.51
タラロゾール	4.99 μ M	19.08 μ M	3.82
ナビトクラックス	0.64 μ M	18.57 μ M	29
ソトラスタウリン	4.96 μ M	39.4 μ M	7.94
LY2228820	1.12 μ M	17.34 μ M	15.4

[0062] 上述した実施の形態は、本発明を説明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。すなわち、本発明の範囲は、実施の形態ではなく、特許請求の範囲によって示される。そして、特許請求の範囲内及びそれと同等の発明の意義の範囲内で施される様々な変形が、本発明の範囲内とみなされる。

[0063] 本出願は、2021年5月26日に出願された、日本国特許出願2021-088224号に基づく。本明細書中に日本国特許出願2021-088224号の明細書、特許請求の範囲、図面全体を参照として取り込むものとする。

産業上の利用可能性

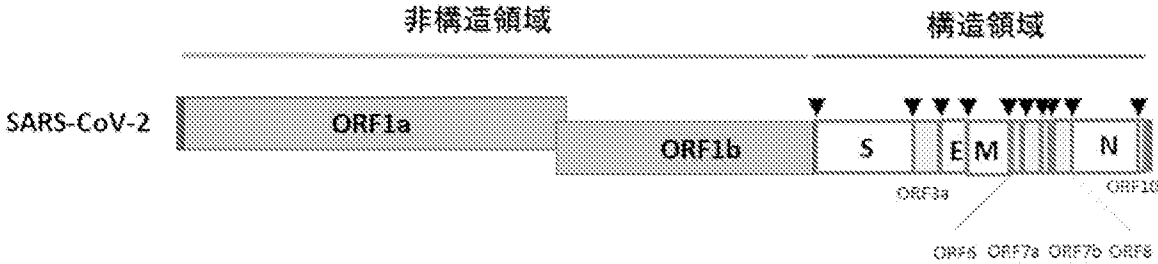
[0064] 本発明はC O V I D - 1 9の治療に有用である。

請求の範囲

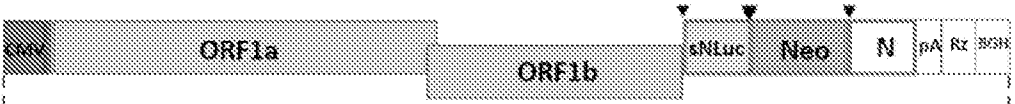
- [請求項1] LY2090314、アフレセルチブ、タラロゾール、ナビトクラックス及びそれらの薬理学的に許容される塩からなる群から選択される化合物を含む、
 COVID-19治療薬。
- [請求項2] 前記化合物は、
 LY2090314である、
 請求項1に記載のCOVID-19治療薬。
- [請求項3] COVID-19治療薬の製造のためのLY2090314、アフレセルチブ、タラロゾール、ナビトクラックス及びそれらの薬理学的に許容される塩からなる群から選択される化合物の使用。

[図1]

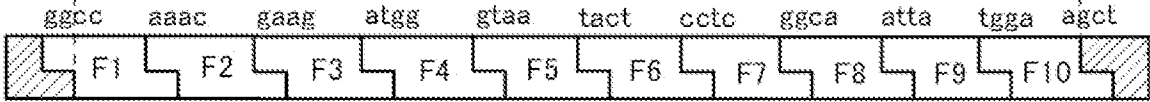
(A)



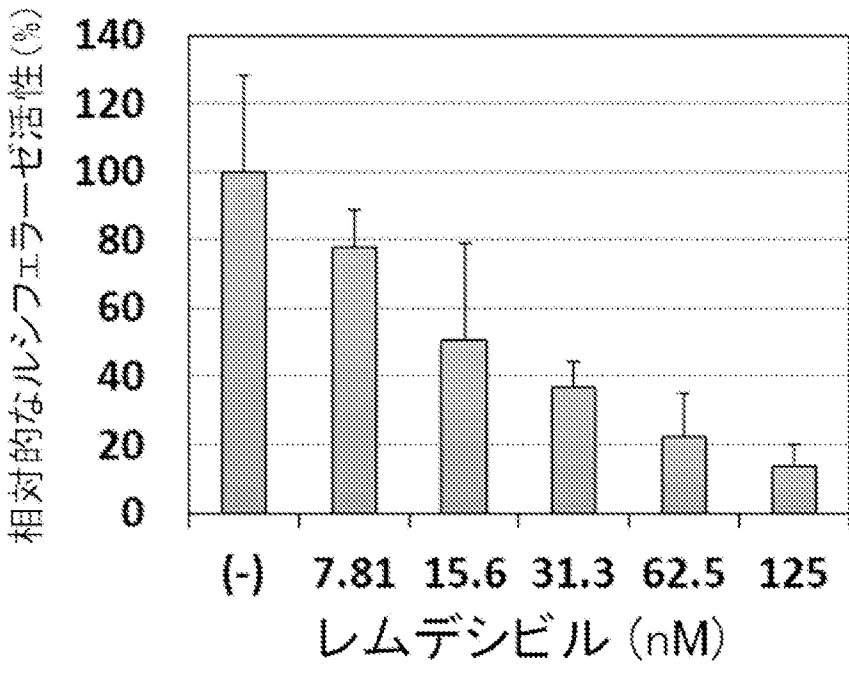
(B)



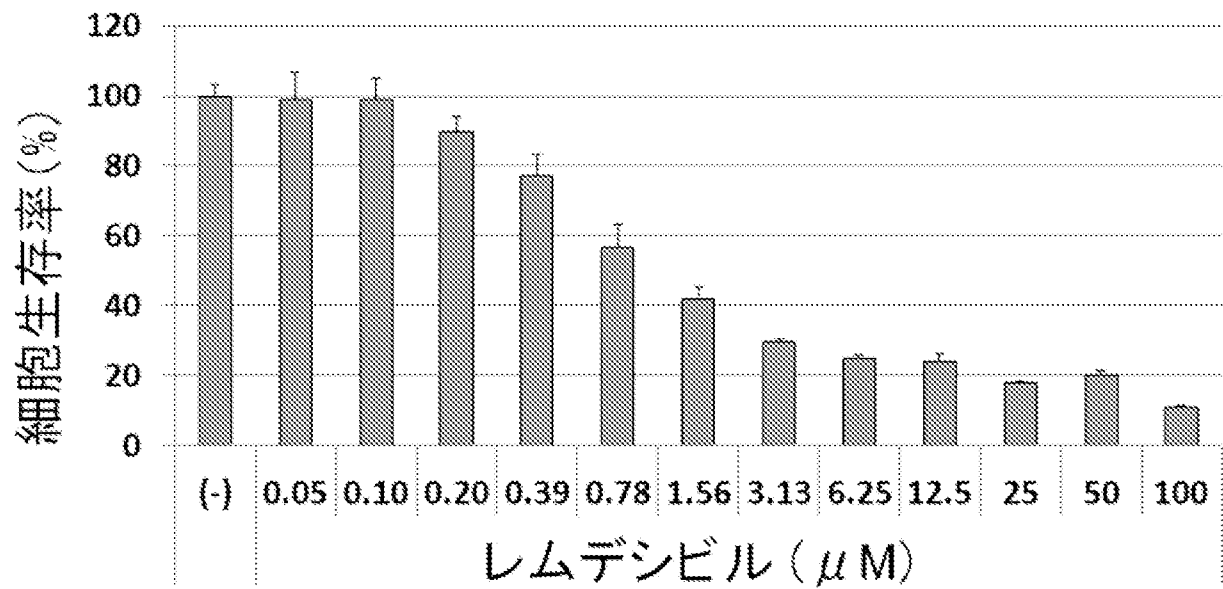
(C)



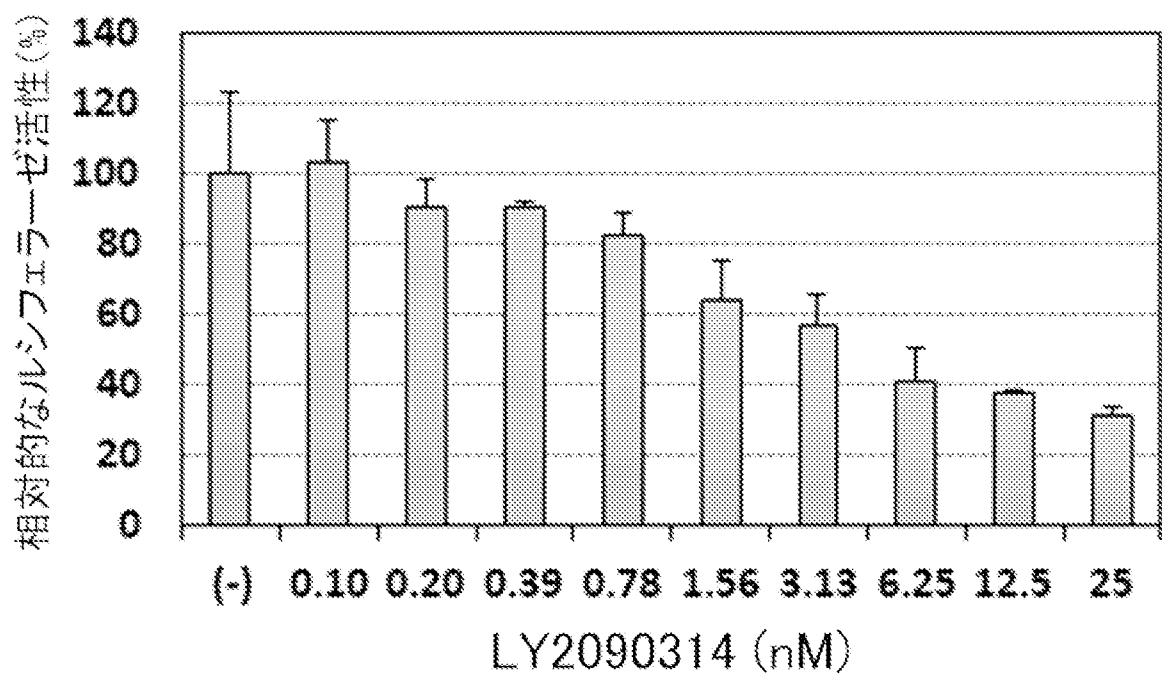
[図2]



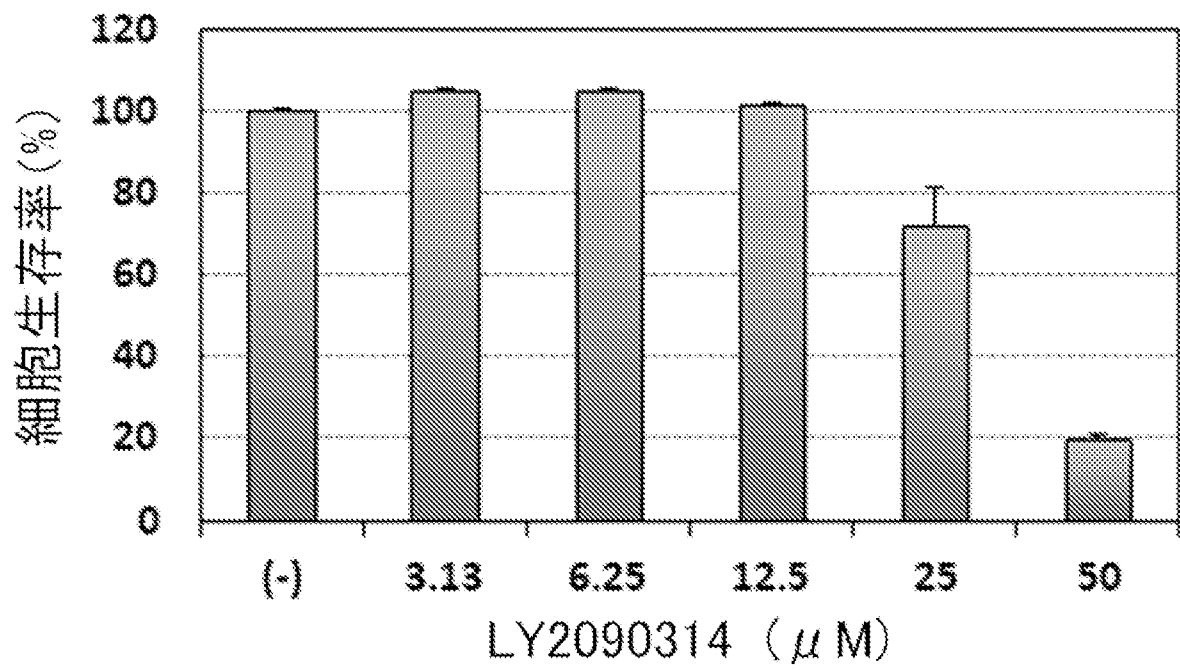
[図3]



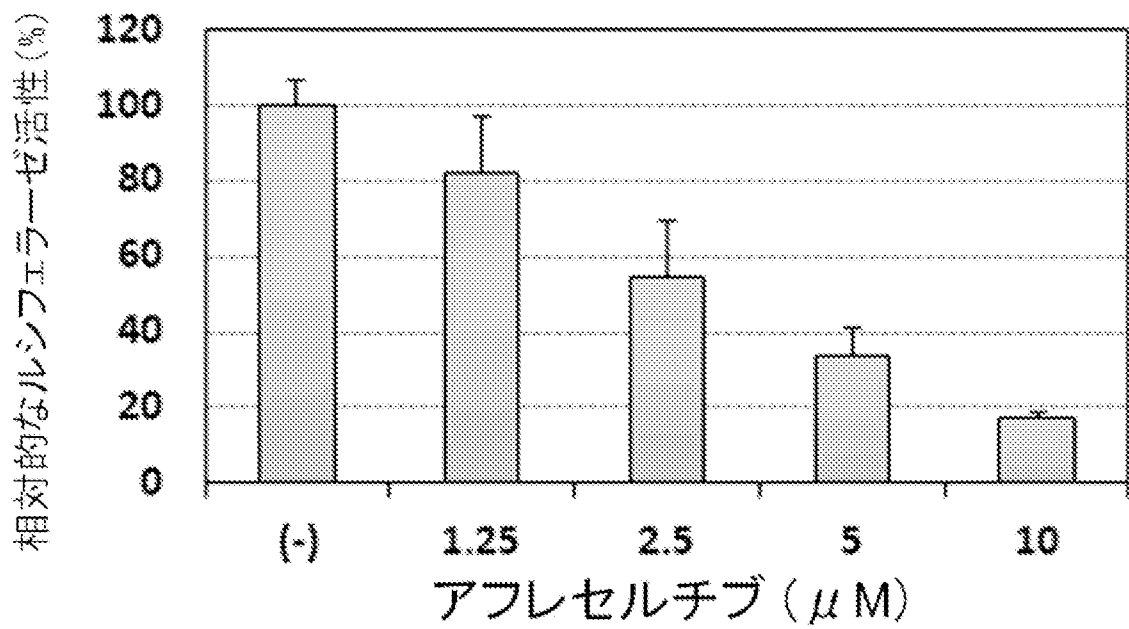
[図4]



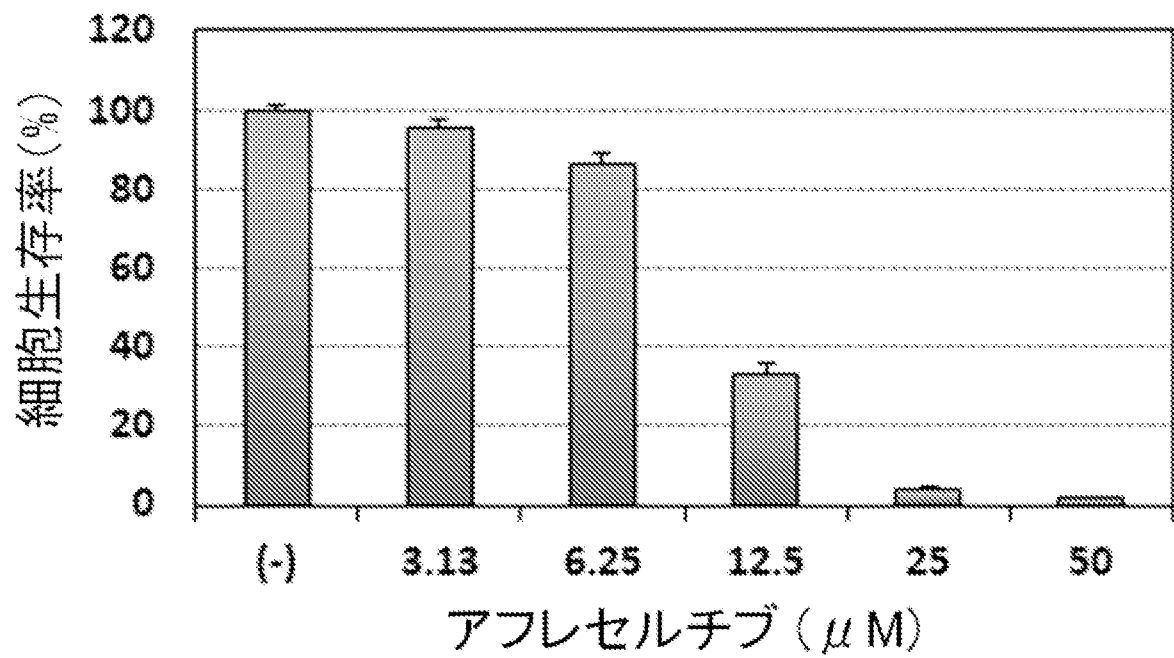
[図5]



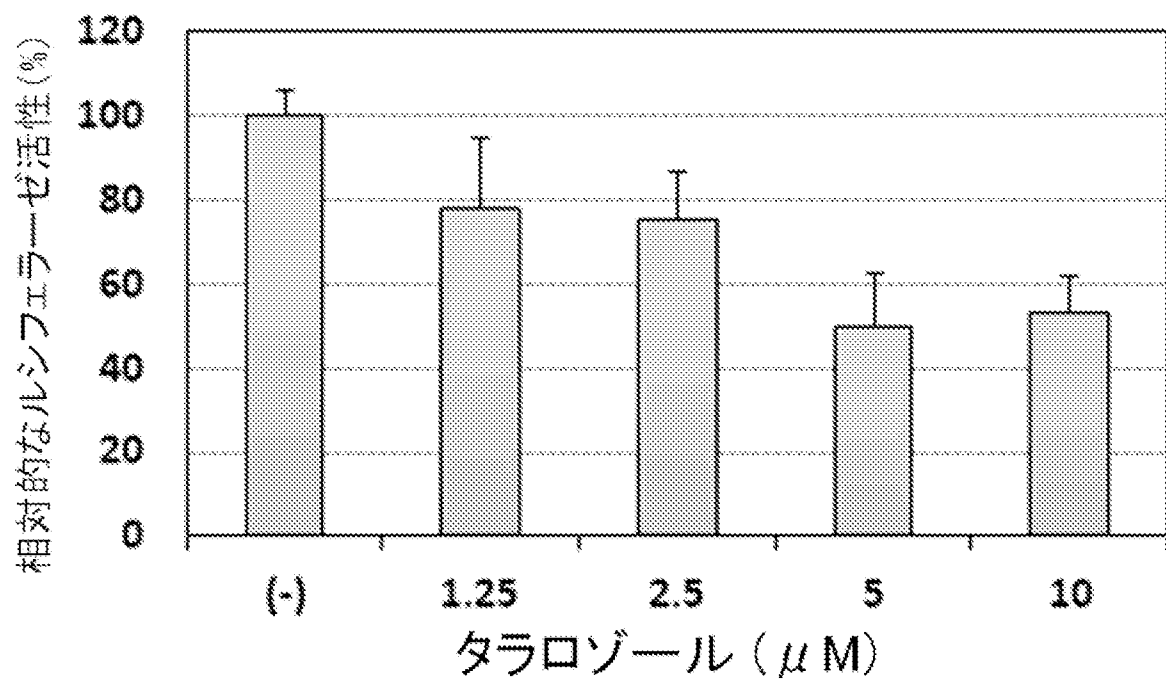
[図6]



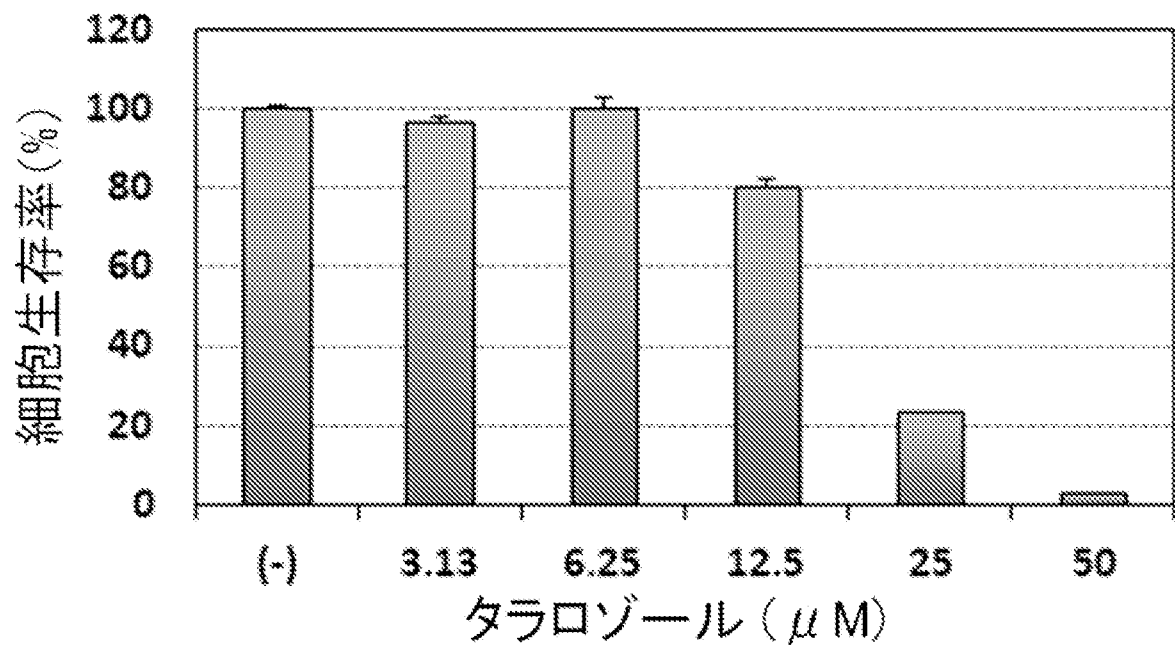
[図7]



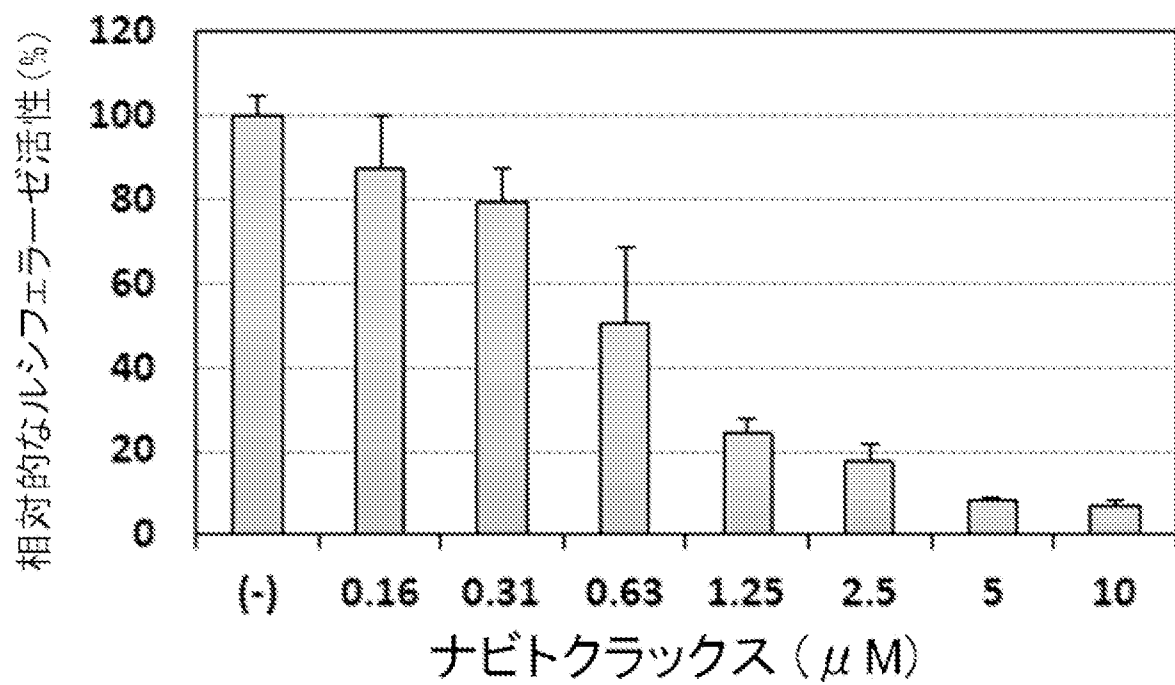
[図8]



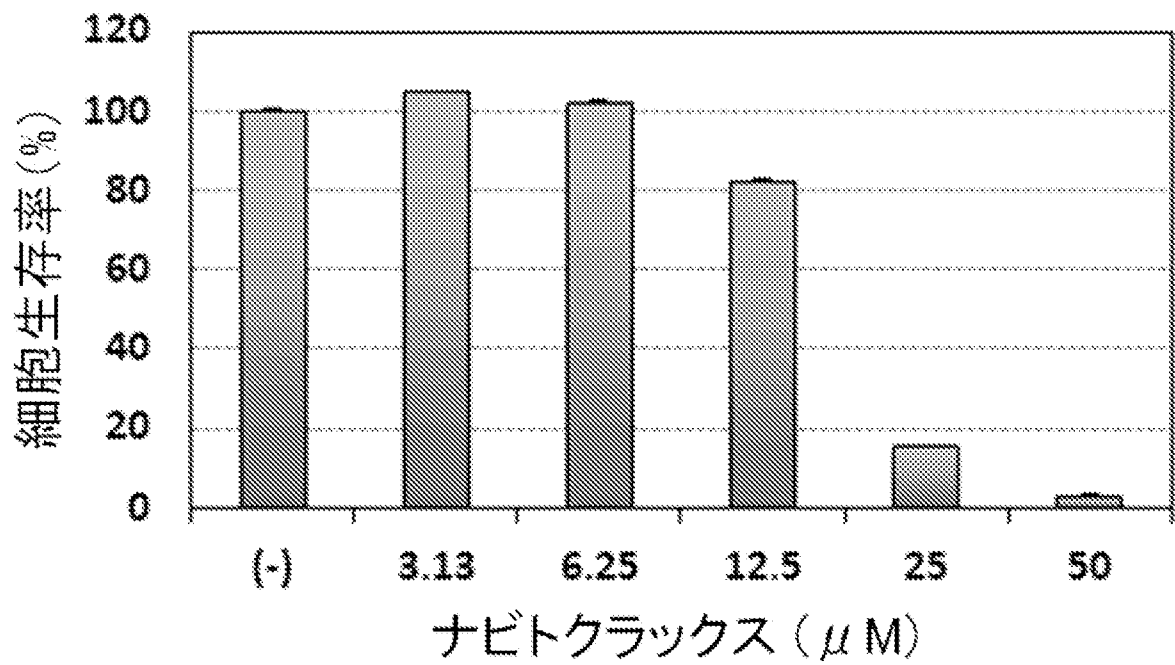
[図9]



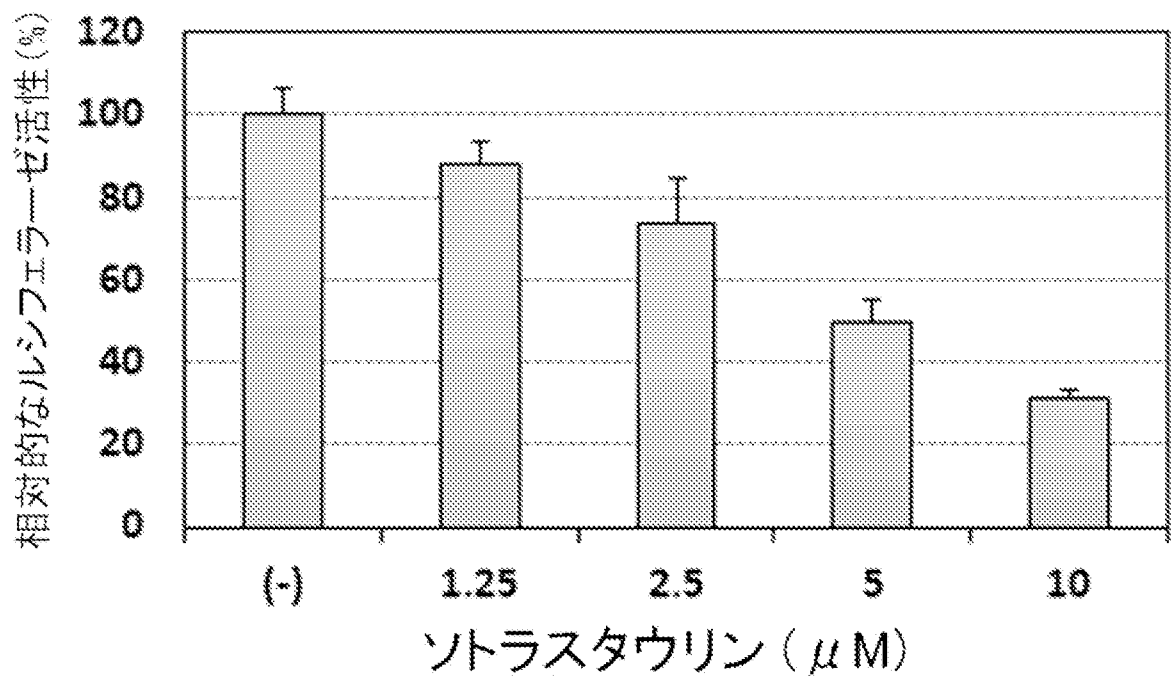
[図10]



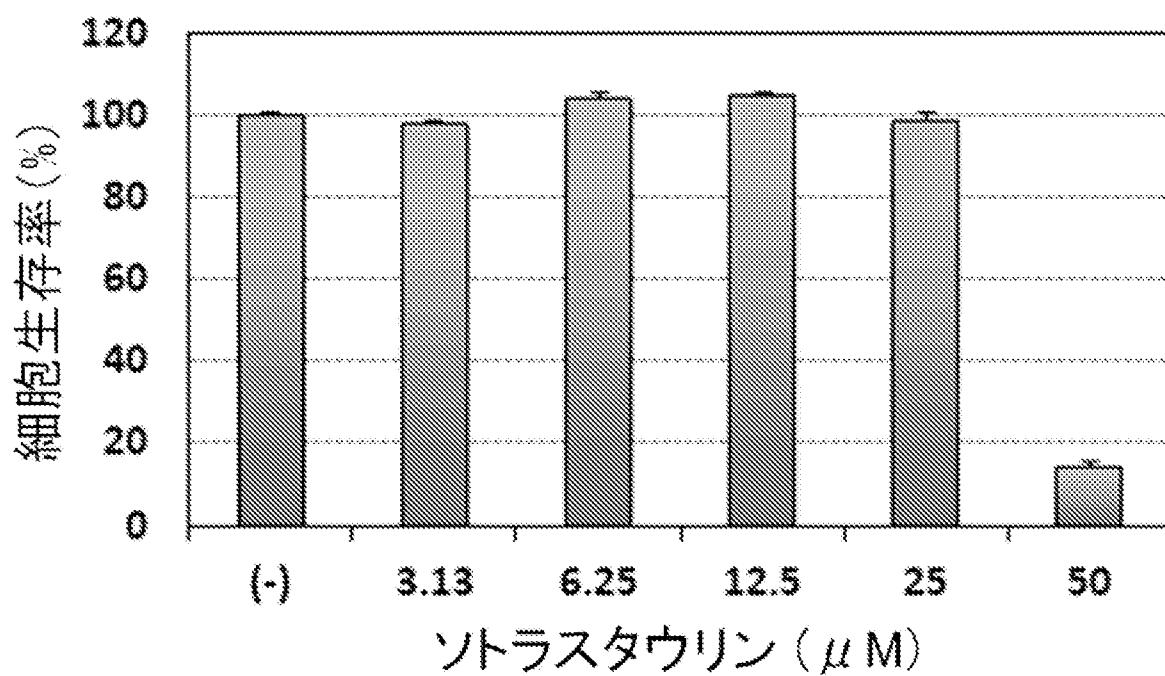
[図11]



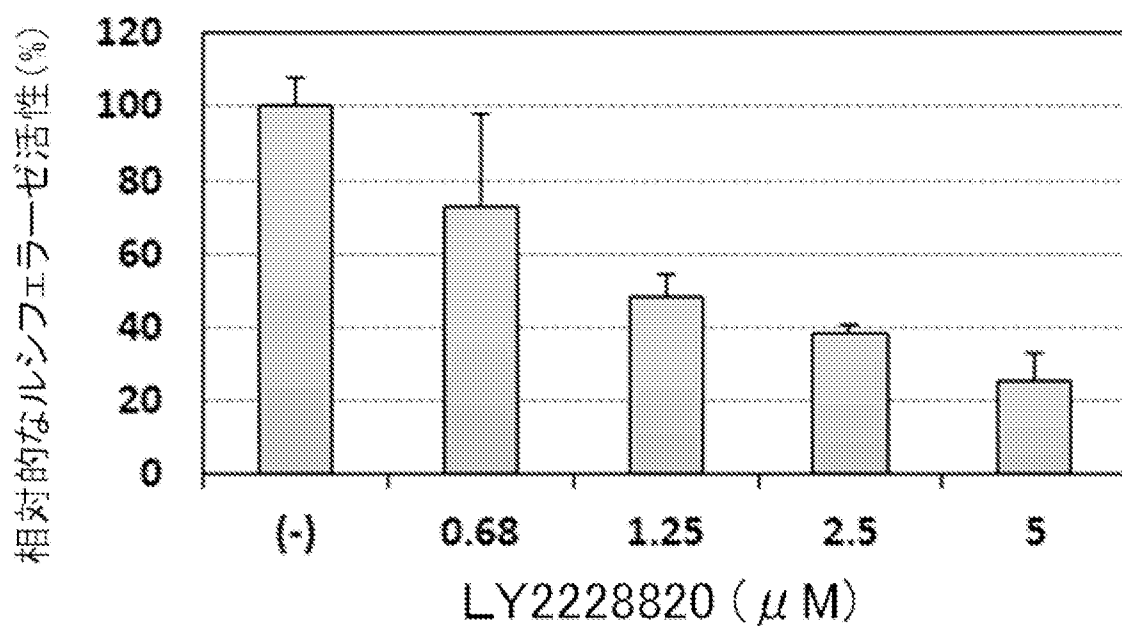
[図12]



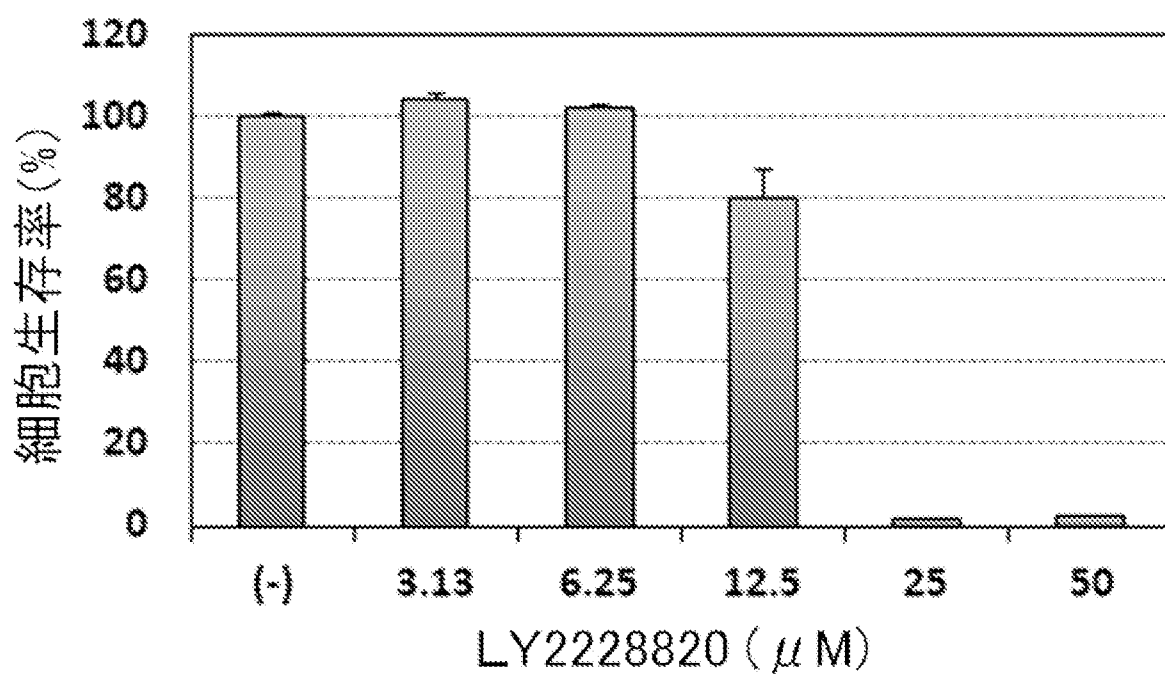
[図13]



[図14]



[図15]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/021470

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/4155(2006.01)i; **A61K 31/428**(2006.01)i; **A61K 31/5375**(2006.01)i; **A61K 31/551**(2006.01)i; **A61P 31/14**(2006.01)i
FI: A61K31/4155; A61K31/551; A61K31/428; A61K31/5375; A61P31/14 ZNA

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)

A61K31/4155; A61K31/428; A61K31/5375; A61K31/551; A61P31/14

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2022
Registered utility model specifications of Japan 1996-2022
Published registered utility model applications of Japan 1994-2022

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BOUHADDU, M. et al. The Global Phosphorylation Landscape of SARS-CoV-2 Infection. Cell. 2020, vol. 182, pp. 685-712, ISSN 0092-8674 abstract, figures, discussion, etc.	1-3
A	GREIN, J. et al. Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe Covid-19. N Engl J Med. 2020, vol. 382, pp. 2327-2336, ISSN 0028-4793 abstract, etc.	1-3
Y	EMBI, M. N. et al. Is GSK3beta a molecular target of chloroquine treatment against COVID-19. Drug Discov Ther. 2020, vol. 14, no. 2, pp. 107-108, ISSN 1881-7831 p. 107	1-3
Y	LIU, X. et al. Targeting the Coronavirus Nucleocapsid Protein through GSK-3 Inhibition. medRxiv. 22 February 2021, pp. 1-29 abstract, fig. 4, discussion, etc.	1-3



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

01 August 2022

Date of mailing of the international search report

16 August 2022

Name and mailing address of the ISA/JP

Japan Patent Office (ISA/JP)
3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915
Japan

Authorized officer

Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	RANA, A. K. et al. Glycogen synthase kinase-3: A putative target to combat severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) pandemic. Cytokine Growth Factor Rev. 25 August 2020, vol. 58, pp. 92-101, ISSN 1879-0305 abstract, fig. 4, section "7. Gsk-3 pathway modulators and SARS-CoV-2 infection", Conclusion, etc.	1-3
Y	RUDD, C. E. GSK-3 Inhibition as a Therapeutic Approach Against SARs CoV2: Dual Benefit of Inhibiting Viral Replication While Potentiating the Immune Response. Front Immunol. 2020, vol. 11, article no. 1638, pp. 1-4, ISSN 1664-3224 abstract, etc.	1-3
Y	SOUZA, A. D. et al. Commentary: GSK-3 Inhibition as a Therapeutic Approach Against SARs CoV2: Dual Benefit of Inhibiting Viral Replication While Potentiating the Immune Response. Front Immunol. 2020, vol. 11, article no. 595289, pp. 1-3, ISSN 1664-3224 pp. 1-2	1-3
Y	POLITANO, G. et al. IL6-mediated HCoV-host interactome regulatory network and GO/Pathway enrichment analysis. PLoS Comput Biol. 2020, vol. 16, no. 9, article no. e1008238, pp. 1-8, ISSN 1553-7358 abstract, figures, tables, etc.	1-3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/021470

Box No. I **Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)**

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed:
 - ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Document 1: BOUHADDU, M. et al. The Global Phosphorylation Landscape of SARS-CoV-2 Infection. Cell. 2020, vol. 182, pp. 685-712, ISSN 0092-8674

Document 2: GREIN, J. et al. Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe Covid-19. N Engl J Med. 2020, vol. 382, pp. 2327-2336, ISSN 0028-4793

Document 3: EMBI, M. N. et al. Is GSK3beta a molecular target of chloroquine treatment against COVID-19. Drug Discov Ther. 2020, vol. 14, no. 2, pp. 107-108, ISSN 1881-7831

Document 4: LIU, X. et al. Targeting the Coronavirus Nucleocapsid Protein through GSK-3 Inhibition. medRxiv. 22 February 2021, pp. 1-29

Document 5: RANA, A. K. et al. Glycogen synthase kinase-3: A putative target to combat severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) pandemic. Cytokine Growth Factor Rev. 25 August 2020, vol. 58, pp. 92-101, ISSN 1879-0305

A therapeutic agent for COVID-19 containing a compound selected from the group consisting of four compounds or a method for using the compound selected from the group consisting of the four compounds for the preparation of a therapeutic agent for COVID-19 set forth in claims 1-3 is common in having a technical feature of a "therapeutic agent for COVID-19 containing a low molecular weight compound or a method for using a low molecular weight compound for the preparation of a therapeutic agent for COVID-19."

However, said technical feature is well-known as disclosed in documents 1-5, and thus cannot be said to be a special technical feature. In addition, there are no other common matters that are considered the same or corresponding special technical features between the inventions set forth in claims 1-3 relating to a therapeutic agent for COVID-19 containing a compound selected from the group consisting of four compounds or a method for using the compound selected from the group consisting of the four compounds for the preparation of a therapeutic agent for COVID-19.

Therefore, a group of these inventions cannot be said to be a group of related inventions forming a single general inventive concept, but are considered a group of inventions consisting of four inventions for applying a compound selected from the group of four different compounds to the therapeutic agent for COVID-19.

(Invention 1) Invention in which LY2090314 is selected as a compound in the inventions in claims 1-3

(Invention 2) Invention in which Afuresertib is selected as a compound in the inventions in claims 1-3

(Invention 3) Invention in which talarozole is selected as a compound in the inventions in claims 1-3

(Invention 4) Invention in which navitoclax is selected as a compound in the inventions in claims 1-3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2022/021470

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: **Invention in which LY2090314 is selected as a compound in the inventions in claims 1-3**

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61K 31/4155(2006.01)i; A61K 31/428(2006.01)i; A61K 31/5375(2006.01)i; A61K 31/551(2006.01)i; A61P 31/14(2006.01)i FI: A61K31/4155; A61K31/551; A61K31/428; A61K31/5375; A61P31/14 ZNA		
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）） A61K31/4155; A61K31/428; A61K31/5375; A61K31/551; A61P31/14 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 1971-2022年 日本国実用新案登録公報 1996-2022年 日本国登録実用新案公報 1994-2022年 国際調査で利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） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)		
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	BOUHADDOU, M. et al., The Global Phosphorylation Landscape of SARS-CoV-2 Infection, Cell, 2020, Vol. 182, pp. 685-712, ISSN 0092-8674 Abstract, Figures, Discussion, 等	1-3
A	GREIN, J. et al., Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe Covid-19, N Engl J Med, 2020, Vol. 382, pp. 2327-2336, ISSN 0028-4793 Abstract, 等	1-3
Y	EMBI, M.N. et al., Is GSK3beta a molecular target of chloroquine treatment against COVID-19, Drug Discov Ther, 2020, Vol. 14, No. 2, pp. 107-108, ISSN 1881-7831 p. 107	1-3
Y	LIU, X. et al., Targeting the Coronavirus Nucleocapsid Protein through GSK-3 Inhibition, medRxiv, 2021.02.22, pp. 1-29 Abstract, Fig. 4, Discussion, 等	1-3
☒ 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” 国際出願日前で、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抵触するものではなく、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 01.08.2022		国際調査報告の発送日 16.08.2022
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		権限のある職員（特許庁審査官） 伊藤 基章 4C 4146 電話番号 03-3581-1101 内線 3439

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
Y	RANA, A.K. et al., Glycogen synthase kinase-3: A putative target to combat severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) pandemic, Cytokine Growth Factor Rev, 2020.08.25, Vol. 58, pp. 92-101, ISSN 1879-0305 Abstract, Fig. 4, " 7. Gsk-3 pathway modulators and SARS-CoV-2 infection"の項、Conclusion、等	1-3
Y	RUDD, C.E., GSK-3 Inhibition as a Therapeutic Approach Against SARS CoV2: Dual Benefit of Inhibiting Viral Replication While Potentiating the Immune Response, Front Immunol, 2020, Vol. 11, Article No. 1638, pp. 1-4, ISSN 1664-3224 Abstract、等	1-3
Y	SOUZA, A.D. et al., Commentary: GSK-3 Inhibition as a Therapeutic Approach Against SARs CoV2: Dual Benefit of Inhibiting Viral Replication While Potentiating the Immune Response, Front Immunol, 2020, Vol. 11, Article No. 595289, pp. 1-3, ISSN 1664-3224 pp. 1-2	1-3
Y	POLITANO, G. et al., IL6-mediated HCoV-host interactome regulatory network and GO/Pathway enrichment analysis, PLoS Comput Biol, 2020, Vol. 16, No. 9, Article No. e1008238, pp. 1-8, ISSN 1553-7358 Abstract、Figures、Tables、等	1-3

第 I 欄 ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第 1 ページの 1. c の続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

- a. ☒ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
- ☒ 附属書C/ST.25テキストファイル形式
- ☐ 紙形式又はイメージファイル形式
- b. ☐ 国際出願とともに、PCT規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表
- c. ☐ 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
- ☐ 附属書C/ST.25テキストファイル形式(PCT規則13の3.1(a))
- ☐ 紙形式又はイメージファイル形式(PCT規則13の3.1(b)及びPCT実施細則第713号)

2. ☐ さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見：

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

文献1：

BOUHADDOU, M. et al.,
The Global Phosphorylation Landscape of SARS-CoV-2 Infection,
Cell, 2020, Vol. 182, pp. 685-712, ISSN 0092-8674

文献2：

GREIN, J. et al.,
Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe Covid-19,
N Engl J Med, 2020, Vol. 382, pp. 2327-2336, ISSN 0028-4793

文献3：

EMBI, M.N. et al.,
Is GSK3beta a molecular target of chloroquine treatment against COVID-19,
Drug Discov Ther, 2020, Vol. 14, No. 2, pp. 107-108, ISSN 1881-7831

文献4：

LIU, X. et al.,
Targeting the Coronavirus Nucleocapsid Protein through GSK-3 Inhibition,
medRxiv, 2021.02.22, pp. 1-29

文献5：

RANA, A.K. et al.,
Glycogen synthase kinase-3: A putative target to combat severe acute respiratory
syndromecoronavirus 2 (SARS-CoV-2) pandemic,
Cytokine Growth Factor Rev, 2020.08.25, Vol. 58, pp. 92-101, ISSN 1879-0305

請求項1-3に記載される、4種の化合物の群から選択される化合物を含むCOVID-19治療薬、又はCOVID-19治療薬の製造のための当該4種の化合物の群から選択される化合物の使用方法は、「低分子化合物を含むCOVID-19治療薬、又はCOVID-19治療薬の製造のための低分子化合物の使用法」という技術的特徴を有する点で共通する。

しかしながら、当該技術的特徴は、文献1-5に記載されているように公知であるため、特別な技術的特徴であるとはいえない。そして、請求項1-3に記載された、4種の化合物の群から選択される化合物を含むCOVID-19治療薬、又はCOVID-19治療薬の製造のための当該4種の化合物の群から選択される化合物の使用法に関する発明の間には、他に同一の又は対応する特別な技術的特徴と考えられる他の共通の事項は存在しない。

よって、これら一群の発明は、単一の一般的発明概念を形成するように連関している一群の発明とはいえず、異なった4種の化合物の群から選択される化合物をCOVID-19治療薬に適用することに関する4個の発明からなる発明群であると認められる。

（発明1）請求項1-3に係る発明のうち、化合物としてLY2090314を選択した発明

（発明2）請求項1-3に係る発明のうち、化合物としてアフレセルチブを選択した発明

（発明3）請求項1-3に係る発明のうち、化合物としてタラロゾールを選択した発明

（発明4）請求項1-3に係る発明のうち、化合物としてナビトクラックスを選択した発明

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。 請求項1－3に係る発明のうち、化合物としてLY 2090314を選択した発明

追加調査手数料の異議の
申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。