

(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2021-528459

(P2021-528459A)

(43) 公表日 令和3年10月21日(2021.10.21)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/7028 (2006.01)	A 6 1 K 31/7028	4 C 0 5 7
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	4 C 0 8 6
C 0 7 H 15/04 (2006.01)	C 0 7 H 15/04	F

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 23 頁)

(21) 出願番号 特願2020-572806 (P2020-572806)
 (86) (22) 出願日 令和1年6月28日 (2019.6.28)
 (85) 翻訳文提出日 令和3年2月25日 (2021.2.25)
 (86) 国際出願番号 PCT/CN2019/093822
 (87) 国際公開番号 WO2020/001644
 (87) 国際公開日 令和2年1月2日 (2020.1.2)
 (31) 優先権主張番号 201810721304.5
 (32) 優先日 平成30年6月29日 (2018.6.29)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 中国 (CN)

(71) 出願人 519237834
 シャンハイ、グリーン、バレー、ファーマ
 スーティカル、カンパニー、リミテッド
 SHANGHAI GREEN VALL
 EY PHARMACEUTICAL C
 O., LTD.
 中華人民共和国シャンハイ、ブードン、ニ
 ユー、エリア、チャン、ジャン、ハイーテ
 ク、パーク、ニウドウン、ロード、421

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 糖尿病の治療におけるマンヌロン二酸組成物の使用

(57) 【要約】

本発明は、糖尿病の治療におけるマンヌロン二酸オリ
 ゴ糖組成物の使用に関する。

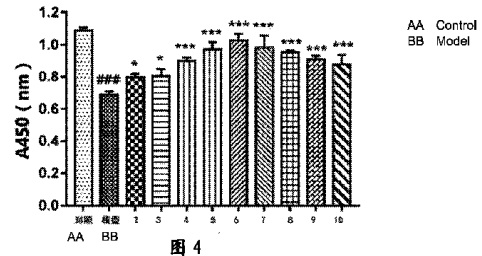


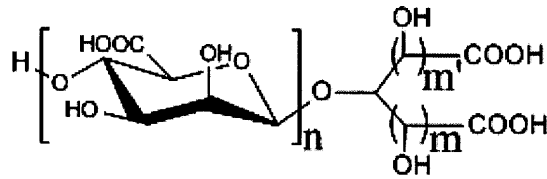
图 4

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

糖尿病を治療するための薬剤の製造における、マンヌロン二酸オリゴ糖組成物の使用であって、前記マンヌロン二酸オリゴ糖組成物は、式 (III) のマンヌロン二酸またはその薬学上許容可能な塩：

【化 1】



式 (III)

10

〔式中、 n は 1 ~ 9 から選択される整数であり、 m は 0、1 または 2 から選択され、 m' は 0 または 1 から選択される〕

を含んでなり、

$n = 1 \sim 5$ であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量に対して、60%以上であり、

$n = 1 \sim 2$ であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量に対して、60%未満である、使用。

20

【請求項 2】

前記マンヌロン二酸オリゴ糖組成物において、 $n = 1 \sim 2$ であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量に対して、10% ~ 50%、好ましくは 25% ~ 50% である、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 3】

前記マンヌロン二酸オリゴ糖組成物において、 $n = 4 \sim 7$ であるマンヌロン二酸の総重量に対する、 $n = 1 \sim 3$ であるマンヌロン二酸の総重量の比率が、1.0 ~ 3.5 の間である、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 4】

前記マンヌロン二酸オリゴ糖組成物において、 $m + m' = 1$ または 2 であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量に対して、50%以上、好ましくは 60% ~ 90%、より好ましくは 70% ~ 90% である、請求項 1 に記載の使用。

30

【請求項 5】

$m + m' = 1$ であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量に対して、10%以上、好ましくは 30% ~ 40% である、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 6】

$m + m' = 2$ であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量に対して、10%以上、好ましくは 30% ~ 50% である、請求項 5 に記載の使用。

【請求項 7】

$n = 1 \sim 5$ であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量に対して、80% ~ 95% である、請求項 1 に記載の使用。

40

【請求項 8】

$n = 1 \sim 3$ であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量に対して、20% ~ 70% である、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 9】

$n = 4 \sim 7$ であるマンヌロン二酸の総重量に対する、 $n = 1 \sim 3$ であるマンヌロン二酸の総重量の比率が、1.0 ~ 3.0 の間である、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 10】

前記組成物における様々な重合度のマンヌロン二酸の重量パーセント含量が、二糖類 5% ~ 25%、三糖類 15% ~ 30%、四糖類 15% ~ 28%、五糖類 5% ~ 25%、六糖類 2% ~ 2

50

0%、七糖類 2 ~ 20%、八糖類 2 ~ 20%、九糖類 2 ~ 20%、十糖類 2 ~ 20%である、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 1 1】

前記組成物における様々な重合度のマンヌロン二酸の重量パーセント含量が、二糖類 5 ~ 25%、三糖類 15 ~ 30%、四糖類 15 ~ 28%、五糖類 10 ~ 20%、六糖類 5 ~ 15%、七糖類 3 ~ 10%、八糖類 2 ~ 5%、九糖類 1 ~ 5%、十糖類 1 ~ 5%である、請求項 10 に記載の使用。

【請求項 1 2】

前記組成物における様々な重合度のマンヌロン二酸の重量パーセント含量が、二糖類 10 ~ 20%、三糖類 18 ~ 30%、四糖類 15 ~ 28%、五糖類 15 ~ 20%、六糖類 5 ~ 10%、七糖類 3 ~ 5%、八糖類 2 ~ 5%、九糖類 1 ~ 3%、十糖類 1 ~ 3%である、請求項 10 に記載の使用。

【請求項 1 3】

薬学上許容可能な塩が、ナトリウム塩またはカリウム塩である、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 1 4】

有効量の請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載のマンヌロン二酸オリゴ糖組成物を、それを必要とする患者に投与することを含んでなる、糖尿病を有する患者を治療する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、生物活性スクリーニング法により得られたマンヌロン二酸の最適な組成物の、糖尿病の治療における使用に関する。

【背景技術】

【0002】

糖尿病は、ヒトの健康を著しく危険にさらす高頻度で起こる一般的な疾患である。特に、世界中で高齢者の数が増え、罹患率は年々増えている。従って、糖尿病の予防および治療はますます重要になっている。外来診療で糖尿病の予防および治療に慣用されている薬物には主としてインスリンおよび経口血糖降下薬が含まれ、これらは多くの場合、使用の不便さおよび重篤な副作用といった欠点がある。特に、2型糖尿病に好適な有効薬は決めて限定されている。

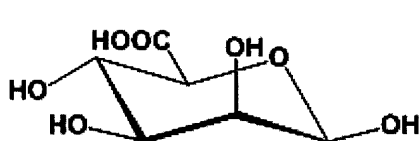
【0003】

マンヌロン二酸は、その潜在的な医学的価値のために広く注目を集めている。マンヌロン二酸は通常、アルギン酸を原料として用いる多段階方法により調製される。

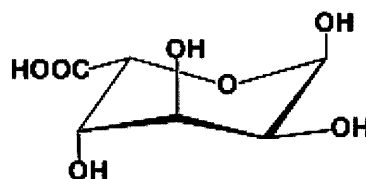
【0004】

原料であるアルギン酸の多糖分子は、 β -1,4-グルコシド結合により連結された D-マンヌロン酸から形成される M セグメント、 α -1,4-グルコシド結合により連結された L-グルロン酸から形成される G セグメント、およびこの 2 つの糖 (saccharides) のハイブリダイゼーションにより形成される MG セグメントを含んでなる。D-マンヌロン酸および L-グルロン酸の構造式を以下の式 (I) に示す。

【化 1】



M; β -D-マンヌロン酸



G; α -L-グルロン酸

(I)

10

20

30

40

50

【0005】

MセグメントおよびGセグメントは、原料であるアルギン酸から分離することができる。一般的な方法を、以下に簡単に記載することができる。アルギン酸を予め分解し、ポリマンヌロン酸とポリグルロン酸の多糖混合物を得る。次いでこの多糖混合物を酸性沈殿に供し、その中のポリグルロン酸を除去し、さらに精製して純度が90%を超えるホモポリマンヌロン酸（以後、「Mセグメント中間体」とも称する）を得る。例えば、中国特許出願第98806637.8号およびCN02823707.2号に開示された方法を参照。

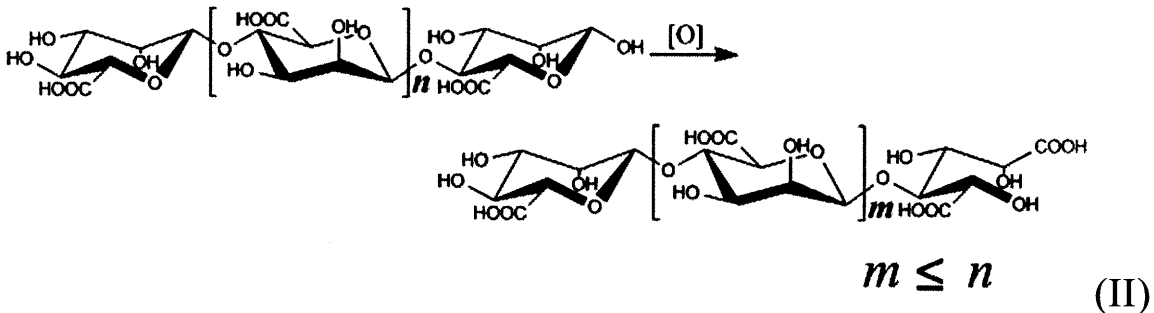
【0006】

オリゴマンヌロン酸の一般的な調製方法は次の通りである：上記で得たMセグメント中間体を酸性条件下で加熱することによりさらに酸分解に供し、所望の範囲の分子量を有する小断片マンヌロン酸ポリマーを得る。さらに、分解効率は酸化的分解方法により向上させることができ、一方、還元末端は開環サッカリン二酸(saccharic diacid)に酸化することができる。詳細については、Meiyu Gengらが出願した中国特許出願第200580009396.5号（特許文献1）および米国特許第8,835,403 B2号（特許文献2）を参照。便宜上、特許文献1および2を以後まとめて先行文献といい、引用することによりその全体が本明細書の開示の一部とされる。

【0007】

先行文献において開示されているマンヌロン二酸を得る反応は、以下の反応式(II)で表すことができる。すなわち、オリゴマンヌロン酸多糖の還元末端にあるマンヌロン酸のC1位のアルデヒド基が、カルボキシル基に酸化される。

【化2】



【0008】

上記の酸化変換過程において、慣用される酸化剤は、アルカリ性硫酸銅溶液、すなわちフェーリング試薬である。先行文献は、この酸化方法を採用していた。具体的には、アルカリ性条件下で、反応基質のポリマンヌロン酸、すなわち、上記のMセグメント中間体を硫酸銅溶液に加え、沸騰水浴中で15分～2時間反応させる。この方法は、アルデヒド基を酸化するためにCu²⁺イオンを酸化剤として用いており、赤れんが色の酸化第一銅の沈殿が、反応において生成される。この反応は、しばしば還元糖の同定に使用される。

【0009】

先行文献は、オリゴマンナル酸(oligomannaric acid)が、アルツハイマー病(AD)および糖尿病に効果を有することを開示している。アルツハイマー病および2型糖尿病の病因は両方とも、アミロイド(α-アミロイドおよびアミリン)と密接に関連している。アミロイドタンパク質は、凝集し、次いでタンパク質オリゴマーを形成し、さらに凝集して線維を形成する。これらのタンパク質凝集物は細胞傷害性であり、細胞における酸化反応を誘導してミトコンドリアを損傷させ、糖尿病反応などのカスケード反応を惹起して、多数のニューロンおよび細胞に損傷を引き起こし、最終的に、アルツハイマー病および2型糖尿病の発症に至る。オリゴマンナル酸はアミロイドタンパク質を標的とし、アミロイドタンパク質により誘導されるカスケード反応と拮抗するため、アルツハイマー病および2型糖尿病を予防および治療する効果を有する。

【発明の概要】

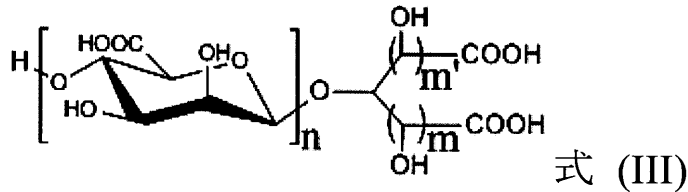
【0010】

本発明は、糖尿病の治療におけるマンヌロン二酸オリゴ糖組成物の使用に関する。本発明はまた、治療上有効な量の本発明のマンヌロン二酸オリゴ糖組成物を、それを必要とする患者に投与することを含んでなる、糖尿病を治療する方法にも関する。

【0011】

本発明において使用されるマンヌロン二酸オリゴ糖組成物は、式(III)のマンヌロン二酸またはその薬学上許容可能な塩；

【化3】



10

〔式中、 n は1～9から選択される整数であり、 m は0、1または2から選択され、 m' は0または1から選択される〕

を含んでなり、 $n = 1 \sim 5$ であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量に対して、60%以上であり、

20

$n = 1 \sim 2$ であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量に対して、60%未満である特定の組成を有する。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】図1は、生成物Aにおける二糖類、三糖類および四糖類の質量スペクトルを示す。

【図2】図2は、生成物Aにおける五糖類、六糖類および七糖類の質量スペクトルを示す。

【図3】図3は、生成物Aにおける八糖類、九糖類および十糖類の質量スペクトルを示す。

30

【図4】図4は、アミリンにより損傷を受けた膵細胞に対する、単一の重合度のオリゴマンヌロン二酸のそれぞれの保護効果を示す。横軸の数字は、オリゴ糖のそれぞれの重合度を示す。

【図5】図5は、糖尿病マウスの食後血糖に対するオリゴ糖組成物および六糖類の効果を示し、図の横軸の数字に対応するサンプルは、 i ：対照群； ii ：モデル群； iii ：生成物A； iv ：生成物B； v ：生成物C； vi ：生成物D； vii ：六糖類を示す。

【発明の具体的説明】

【0013】

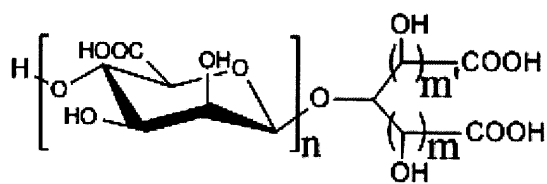
本発明の種々の態様を以下に詳細に説明するが、本発明はこれらの特定の実施態様に限定されない。当業者ならば、以下の実質的な開示を踏まえ、本発明に多少の改変および調整を行うことができ、このような調整も、本発明の範囲に包含される。

40

【0014】

本発明は、糖尿病の治療におけるマンヌロン二酸オリゴ糖組成物の使用に関する。本発明はまた、治療上有効な量の本発明のマンヌロン二酸オリゴ糖組成物を、それを必要とする患者に投与することを含んでなる、糖尿病を治療するための方法に関する。本発明において使用されるマンヌロン二酸オリゴ糖組成物は、式(III)のマンヌロン二酸またはその薬学上許容可能な塩；

【化 4】



式 (III)

〔式中、 n は1～9から選択される整数であり、 m は0、1または2から選択され、 m' は0または1から選択される〕

10

を含んでなり、 $n = 1 \sim 5$ であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量に対して、60%以上であり、

$n = 1 \sim 2$ であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量に対して、60%未満である特定の組成を有する。

【0015】

本発明のマンヌロン二酸オリゴ糖組成物は、重合度の異なるマンヌロン二酸の混合物であり、その主成分は2～10の重合度を有するマンヌロン二酸オリゴ糖である。マンヌロン二酸において最も活性が高い糖類は、四糖類～十糖類、特に六糖類である。しかしながら、本発明者らは今般、活性が低い二糖類および三糖類を最も活性が高い四糖類～十糖類に特定の割合で加えると、同一質量の投与量のもとでは、生物活性は低下することなく、むしろ活性が高くなることを見出している。いかなる理論にも拘束されるものではないが、これは、低分子量の二糖類および三糖類は、単独では作用できないものの、他のオリゴ糖と混合し場合に相乗作用を示すためと考えられる。しかしながら、二糖類および三糖類の割合が高すぎると、組成物の全体的な活性は低下する。従って、組成物中の二糖類および三糖類の割合は特定の範囲内に制御しなければならない。

20

【0016】

実際の調製工程では、酸化分解反応において特定の量の二糖類および三糖類が生成され、通常、その活性の低さから、生成物の医薬効果に影響を及ぼすことを避けるため、分離後に生成物から除去される。しかしながら、本発明者らの上記発見に基づけば、より活性の高い組成物は、酸化分解反応の条件の制御を介して二糖類および三糖類の割合を特定の範囲内に制御することによって得ることができ、二糖類および三糖類は除去すべき不純物とはみなされないため、生成物収量もまた、先願で開示されている生成物よりもかなり高い。このように、本発明は生産コストを大幅に削減し、廃棄物の排出を低減し、それにより実際の生産の実現が容易となり、産業的大規模生産の実現が容易となる。

30

【0017】

好ましい実施態様によれば、マンヌロン二酸オリゴ糖組成物において、 $m + m' = 1$ または2であるマンヌロン二酸の総重量は、前記組成物の総重量に対して、50%以上、好ましくは60%～90%、より好ましくは70%～90%である。特に、マンヌロン二酸オリゴ糖組成物において、 $m + m' = 1$ であるマンヌロン二酸の総重量は、前記組成物の総重量に対して、10%以上、好ましくは30～40%である。別の好ましい実施態様では、マンヌロン二酸オリゴ糖組成物において、 $m + m' = 2$ であるマンヌロン二酸の総重量は、前記組成物の総重量に対して、10%以上、好ましくは30～50%である。

40

【0018】

好ましい実施態様によれば、マンヌロン二酸オリゴ糖組成物において、 $n = 1 \sim 5$ であるマンヌロン二酸オリゴ糖の総重量は、前記組成物の総重量に対して、80～95%である。

【0019】

好ましい実施態様によれば、マンヌロン二酸オリゴ糖組成物において、 $n = 1 \sim 2$ であるマンヌロン二酸オリゴ糖の総重量は、前記組成物の総重量に対して、10～50%、好

50

ましくは25～50%である。

【0020】

好ましい実施態様によれば、マンヌロン二酸オリゴ糖組成物において、 $n = 1 \sim 3$ であるマンヌロン二酸オリゴ糖の総重量は、前記組成物の総重量に対して、20～70%である。

【0021】

好ましい実施態様によれば、マンヌロン二酸オリゴ糖組成物において、 $n = 4 \sim 7$ であるマンヌロン二酸の総重量に対する $n = 1 \sim 3$ であるマンヌロン二酸の総重量の比率は、1.0および3.5の間、好ましくは1.0～3.0の間である。

【0022】

好ましい実施態様によれば、マンヌロン二酸オリゴ糖組成物における重合度の異なるマンヌロン二酸オリゴ糖の重量パーセント含量は、二糖類5～25%、三糖類15～30%、四糖類15～28%、五糖類5～25%、六糖類2～20%、七糖類2～20%、八糖類2～20%、九糖類2～20%、十糖類2～20%である。特に、前組成物におけるオリゴ糖の重量パーセント含量は、二糖類5～25%、三糖類15～30%、四糖類15～28%、五糖類10～20%、六糖類5～15%、七糖類3～10%、八糖類2～5%、九糖類1～5%、十糖類1～5%である。より好ましくは、組成物におけるオリゴ糖の重量パーセント含量は、二糖類10～20%、三糖類18～30%、四糖類15～28%、五糖類15～20%、六糖類5～10%、七糖類3～5%、八糖類2～5%、九糖類(non accharide)1～3%、十糖類1～3%である。

【0023】

本発明のマンヌロン二酸オリゴ糖組成物において、その薬学上許容可能な塩は、ナトリウム塩またはカリウム塩である。

【0024】

本特許出願の発明者らは、個々のオリゴ糖を特定の割合で配合すると、高活性オリゴ糖組成物を得ることができ、その活性は、最も高い活性を有する六糖類よりも高いことを見出した。特に、特定の割合の二糖類および三糖類を含んでなる組成物は、二糖類および三糖類を配合しない組成物よりも高い活性を有する。高活性オリゴ糖組成物中のそれぞれのオリゴ糖の割合は、以下に示す割合に従って配合する必要がある。

【0025】

組成物中の $n = 1 \sim 5$ であるマンヌロン二酸の総重量は、前記組成物の総重量に対して、60%以上であり、好ましくは80～95%である。 $n = 1 \sim 2$ であるマンヌロン二酸の総重量は、前記組成物の総重量に対して、60%未満であり、好ましくは10～50%、より好ましくは25～50%である。 $n = 1 \sim 3$ であるマンヌロン二酸オリゴ糖の総重量は、前記組成物の総重量に対して、20～70%である。 $n = 4 \sim 7$ であるマンヌロン二酸オリゴ糖の総重量に対する $n = 1 \sim 3$ であるマンヌロン二酸オリゴ糖の総重量の比率は、1.0～3.5の間、好ましくは1.0～3.0の間である。

【0026】

本発明の糖尿病を治療するための薬剤は、式(III)のマンヌロン二酸またはその薬学上許容可能な塩、および1以上の薬学上許容可能な担体を含んでなる、マンヌロン二酸オリゴ糖組成物を含んでなる。本発明の薬剤は、経口または非経口投与のための錠剤、硬カプセル剤、軟カプセル剤、腸溶カプセル剤、マイクロカプセル、顆粒、シロップ、注射、顆粒、エマルジョン、懸濁液、溶液および徐放性製剤の形であり得る。

【0027】

本発明の薬学上許容可能な担体とは、当業者に公知の薬学上許容可能な担体を指す。本発明の薬学上許容可能な担体には、限定されるものではないが、増量剤、湿潤剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、粘着剤、流動促進剤、矯味剤、界面活性剤、保存剤などが含まれる。増量剤には、限定されるものではないが、ラクトース、微晶質セルロース、デンプン、糖粉末、デキストリン、マンニトール、硫酸カルシウムなどが含まれる。湿潤剤および結合剤には、限定されるものではないが、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキ

10

20

30

40

50

シプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ゼラチン、スクロース、ポリビニルピロリドンなどが含まれる。崩壊剤には、限定されるものではないが、カルボキシメチルデンプンナトリウム、架橋ポリビニルピロリドン、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム、低置換度ヒドロキシプロピルセルロースなどが含まれる。滑沢剤には、限定されるものではないが、ステアリン酸マグネシウム、シリカゲル微粉末、タルク、水素化植物油、ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸マグネシウムなどが含まれる。粘着剤には、限定されるものではないが、アラビアガム、アルギン酸、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、グルコース結合剤、デキストリン、デキストロース、エチルセルロース、ゼラチン、液状グルコース、グアーガム、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ケイ酸マグネシウムアルミニウム、マルトデキストリン、メチルセルロース、ポリメタクリレート、ポリビニルピロリドン、アルファー化デンプン、アルギン酸ナトリウム、ソルビトール、デンプン、シロップ、およびトラガカントガムが含まれる。流動促進剤には、限定されるものではないが、コロイドシリカ、セルロース粉末、三ケイ酸マグネシウム、シリカおよびタルクが含まれる。矯味剤には、限定されるものではないが、アスパルテム、ステビオシド、フルクトース、グルコース、シロップ、ハチミツ、キシリトール、マンニトール、ラクトース、ソルビトール、マルチトール、およびグリチルリチンが含まれる。界面活性剤には、限定されるものではないが、Tween-80およびポロキサマーが含まれる。保存剤には、限定されるものではないが、パラベン、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸カリウムなどが含まれる。

10

20

30

40

50

【0028】

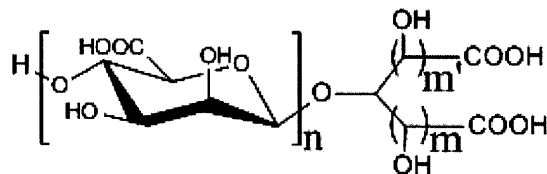
本明細書で使用する場合、「治療」という用語は一般に、所望の薬理学的および/または生理学的効果を達成することを指す。この効果は、疾患またはその症状の完全または部分的予防によれば、予防的なものであり得、ならびに/あるいは疾患および/または疾患による副作用の部分的または完全な安定化または治癒によれば、治療的なものであり得る。本明細書で使用する場合、「治療」は患者の疾患のいかなる治療をも対象とし、(a) 疾患または症状を起こしやすいが、まだ疾患に罹患していると診断されていない患者において発現する疾患または症状の予防、(b) 疾患の症状の抑制、すなわちその発症の予防、または(c) 疾患の症状の軽減、すなわち疾患の発症または症状の悪化の軽減、を含む。

【0029】

マンヌロン二酸オリゴ糖組成物

本発明の糖尿病を治療するためのマンヌロン二酸オリゴ糖組成物は、式(III)のマンヌロン二酸またはその薬学上許容可能な塩：

【化5】



式 (III)

〔式中、 n は1～9から選択される整数であり、 m は0、1または2から選択され、 m' は0または1から選択される〕

を含んでなり、

$n = 1 \sim 5$ であるマンヌロン二酸の総重量は、前記組成物の総重量に対して、60%以上であり、

$n = 1 \sim 2$ であるマンヌロン二酸の総重量は、前記組成物の総重量に対して、60%未満である。

【0030】

例示的な実施態様では、糖尿病を治療するためのマンヌロン二酸オリゴ糖組成物の調製方法は、以下の工程を含んでなる。

【0031】

(1) マンヌロン二酸生成物の調製：

Mセグメント中間体の調製。上記のように、本発明において用いる原料であるMセグメント中間体は、従来技術において公知の方法、例えば、中国特許出願第98806637.8号およびCN02823707.2号に開示の方法により調製することができる。一般的な方法は、以下に簡単に説明することができる。アルギン酸を予め分解し、ポリマンヌロン酸およびポリグルロン酸の多糖混合物を得る。次いで多糖混合物を酸性沈殿に供し、その中のポリグルロン酸を除去し、さらに精製して純度が90%を超えるホモポリマンヌロン酸、すなわちMセグメント中間体を得る。

10

【0032】

オゾン酸化分解。Mセグメント中間体を、適当な量の水に溶かし、室温でまたは加熱条件下で攪拌する。オゾンを連続的に導入し、反応を開始する。反応のpH値は、希塩酸または希NaOH溶液を滴下することにより、3~13、好ましくは4~10、より好ましくは6~8に調整することができる。温度は、好ましくは0~70、より好ましくは10~45である。反応完了後、オゾンの導入を停止し、pHを中性に調整する。

【0033】

膜分離および精製。上記で得た反応生成物を、約10%の濃度の溶液に調合し、分子カットオフ膜により分離して、単糖類以下の分解生成物を除去する。保持液を回収する。使用する分子カットオフ膜は、1000Da~3000Da、好ましくは2000DaのMWC0を有する。回収した液体を、ロータリーエバポレーターで濃縮し、真空下で乾燥させ、オリゴマンヌロン二酸混合物を得る。分析の後、これらの生成物は総て、含量が特定の割合の範囲内である二糖類~十糖類のオリゴ糖組成物であることが見出される。実施例1~3はこれらの方法工程の例である。

20

【0034】

(2) 単一の重合度を有するオリゴ糖の調製

工程(1)において得たオリゴ糖混合物を、約10%の濃度まで溶解し、P6ゲルクロマトグラフィーカラムで分離し、紫外検出に供し、各溶出液成分を回収する。同じ重合度を有する成分を合わせる。二糖類~十糖類の9種類の成分を回収し、G10ゲルカラムクロマトグラフィーにより脱塩し、ロータリーエバポレーターで濃縮し、真空下で乾燥させる。特定の精製法および調製プロセスを実施例4に示す。カラムクロマトグラフィー、脱塩および乾燥のこれらの操作は、当業者に公知である。

30

【0035】

単一の重合の、これら9種類のオリゴ糖の各薬理活性を評価するために抗糖尿病動物モデルを使用し、六糖類が最も高い活性を有することが判明している。

【0036】

(3) オリゴ糖組成物の活性の比較

調製された本発明のオリゴ糖組成物および精製された六糖類を、それらの薬理活性を比較するために試験する。結果は、本発明のオリゴ糖組成物は、単一の重合度のオリゴ糖において最も高い活性を有する六糖類よりも有意に活性が高いことを示し、一方、二糖類および三糖類を含まない組成物の活性は、六糖類の活性よりもわずかに低い。従って、異なる重合度のオリゴ糖は配合された後に相乗作用を示し得ると見ることができる。組成物中の二糖類~六糖類の割合が60%以上である場合、ならびに二糖類および三糖類の割合が60%未満である場合に、組成物の活性は最も高い。しかしながら、二糖類および三糖類の割合が60%を超える場合、組成物の活性はまた、低下する。

40

【0037】

有効性および活性を評価するための動物モデルおよび工程

1. アミリンにより損傷を受けた膵細胞に対するオリゴマンヌロン酸の保護効果

ヒト膵細胞のNIT株を、10%FBSを含んでなるDMEM培地で培養し、96ウ

50

エルプレートに 1×10^4 細胞/ウェルで播種した。細胞融合の後、単一の重合度のリゴマンナル酸 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ を加え、24時間作用させた。標準対照群およびモデル群には等量の生理食塩水を加えた。モデル群および単一の重合度のオリゴ糖群には、エイジングしたアミリン (IAPP と略される膵島アミロイドポリペプチドとしても知られる) を終濃度 $30 \mu\text{M}$ で加える。標準対照群には、等量の生理食塩水を加える。さらに48時間培養した後に、細胞の生存率をMTTアッセイにより測定する。

【0038】

2. 糖尿病に対する有効性を評価するための動物モデル

雄NIHマウスを用い、各群10匹として、標準対照群、モデル群、および薬物投与群に無作為に群分けした。試験日に、標準群を除く他の総ての動物に $150 \text{mg}/\text{kg}$ のストレプトゾトシンを腹腔内注射した。対応する薬物を10日間継続する。11日目に、眼球を取り出し、血糖濃度測定するために採血する。

10

【0039】

本発明の利点を、以下の限定されない例においてさらに示す。しかしながら、実施例で使用される特定の材料およびその量、ならびに他の実験条件は、本発明を限定するものと解釈してはならない。特に断りのない限り、本発明における部、割合、パーセンテージ、および同様のものは総て、質量で算出する。

【実施例】

【0040】

実施例1:

20

工程1): マンヌロン二酸オリゴ糖混合物の調製

Mセグメント中間体を、先行文献に開示の方法により調製した。特定の操作を以下に簡単に記載する。5Kgのアルギン酸ナトリウムを約10%の溶液に調合し、希塩酸を加えることにより、pHを約3.0に調整した。この溶液を80℃に加熱し、攪拌した。これを10時間反応させた後、加熱を停止した。室温に冷却した後、NaOHを加えることによりpHを9.0に調整し、希塩酸を加えることにより、さらに2.85に調整した、この溶液を5000rpmで10分間遠心分離した。上清を回収し、HClを加えることによりpHを1.0に調整した。遠心分離後、沈殿を回収し、ロータリーエバポレーターで濃縮し、真空乾燥して、1500gのMセグメント中間体を得た。Mセグメント中間体500gを秤量し、蒸留水に溶かして、5Lの容量の溶液を調製した。溶液をNaOHでpH6.5に調整し、水浴中で加熱して、反応温度を75℃に制御した。オゾンを経過濃度流速8g/時で反応溶液に導入するように、酸素ポンプの出口のガス流速およびオゾン発生器の出力を調整した。4時間の反応の後、オゾンの導入を停止し、好適な量の水を加えて、溶液の濃度を約10%に調整した。2,000Daの分子量カットオフを有する限外濾過膜で溶液を濾過し、保持液を回収した。回収した液体を、ロータリーエバポレーターで濃縮し、真空下で乾燥させ、350gのマンヌロン二酸生成物Aを得た。

30

【0041】

工程2): マンヌロン二酸生成物Aにおける種々の重合度を有するオリゴ糖の割合および構造の分析

上記乾燥マンヌロン二酸生成物A100mgを正確に秤量し、濃度10mg/mLまで水に溶かし、0.22 μm 濾過膜に通して試験サンプル溶液を得た。組成物における異なる重合度を有するオリゴ糖の割合を、多角度光散乱 (MALS, Wyatt Co.) と組み合わせたSuperdexペプチド分子排除クロマトグラフィー (GE Co.) により測定した。実験条件は、以下のとおりであった。

40

クロマトグラフィーカラム: Superdexペプチド10/300G1

移動相: 0.1mol/L NaCl

注入量: 10 μL

流速: 0.3mL/分

試験結果: 二糖類~十糖類は、それぞれdp2~dp10で表し、dp2は19%、dp3は25%、dp4は22%、dp5は13%、dp6は9%、dp7は6%、dp8は

50

3%、dp9は2%、およびdp10は1%であった。

【0042】

工程3)：マンヌロン二酸生成物Aにおける種々の重合度を有するオリゴ糖の構造のLC-MS分析

実験条件：

クロマトグラフィーカラム：Superdexペプチド10/300GL

移動相：20%メタノール+80% 80mmol/L NH₄Ac

流速：0.1mL/分

カラム温度：25 ± 0.8

質量分析条件：Agilent 6540 QTOF；イオン源：ESI衝突電圧120V；陰イオンモード。取得したシグナルの幅(m/z)は、100~1000であった。

【0043】

種々の重合度を有するオリゴ糖の質量スペクトルを図1~3に示す。質量スペクトル(mass spectrogra)における種々のシグナルピークを割り当て、生成物Aにおける全オリゴ糖の分子構造、すなわち一般式(III)に示される構造を確認した。シグナルの割り当ておよびシグナルに対応する構造は、以下の表1を参照。

【0044】

【 様 1 】

表 1: 生成物 A における異なる重合度を有するオリゴ糖の 6 つの二酸の構造および質量スペクトルにおけるそれらの質量電荷比

番号	分子構造	分子式	質量電荷比 (m/z)								
			n=1 [M-1] ⁻	n=2 [M-1] ⁻	n=3 [M-1] ⁻	n=4 [M-1] ⁻	n=5 [M-1] ⁻	n=6 [M-1] ⁻	n=7 [M-2] ²⁻	n=8 [M-2] ²⁻	n=9 [M-2] ²⁻
1		$(C_6H_8O_6)_n C_6H_{10}O_8$ n=1-9	385	561	737	913	1089	1265	720	808	896
2		$(C_6H_8O_6)_n C_5H_8O_7$ n=1-9	355	531	707	883	1059	1235	705	793	881
3		$(C_6H_8O_6)_n C_5H_8O_7$ n=1-9	355	531	707	883	1059	1235	705	793	881
4		$(C_6H_8O_6)_n C_4H_6O_6$ n=1-9	325	501	677	853	1029	1205	690	778	866
5		$(C_6H_8O_6)_n C_4H_6O_6$ n=1-9	325	501	677	853	1029	1205	690	778	866
6		$(C_6H_8O_6)_n C_3H_4O_5$ n=1-9	295	471	647	823	999	1175	675	763	851

10

20

30

40

【 0 0 4 5 】

上記の質量分析構造解析から、生成物 A における糖鎖の還元末端のマンヌロン酸は、サッカリン二酸構造（構造は一般式 I I I を参照）に酸化され、この構造は、含量が約 1 0

50

～ 30 % である 6 個の炭素原子を含んでなるマンナル二酸 (mannaric diacid) 構造 ($m + m' = 3$) であり得るか、または、マンナル二酸の脱炭酸生成物、すなわち、5 個の炭素原子を含んでなるサッカリン二酸 ($m + m' = 2$) (30 ~ 50 %) および 4 個の炭素原子を含んでなるサッカリン二酸 ($m + m' = 1$) (30 ~ 40 %) であり得ることが分かった。

【0046】

実施例 2 :

実施例 1 の M セグメント中間体 100 g を秤量し、蒸留水に溶かして、0.8 L の容量の溶液を調製した。溶液を NaOH で pH 4.0 に調整し、室温 (25) にて反応を行った。オゾンを経過濃度流速 1 g / 時で反応溶液に導入するように、酸素ポンプの出口のガス流速およびオゾン発生器の出力を調整した。10 時間の反応の後、オゾンの導入を停止し、好適な量の水を加えて、溶液の濃度を約 15 % に調整した。1,000 Da の分子量カットオフを有する限外濾過膜で溶液を濾過し、保持液を回収した。回収した液体を、ロータリーエバポレーターで濃縮し、真空下で乾燥させ、80 g のマンヌロン二酸生成物 B を得た。

10

【0047】

B における種々の重合度を有するオリゴ糖成分の割合を、多角度光散乱 (MALS, Wyatt Co.) と組み合わせた Superdex ペプチド分子排除クロマトグラフィー (GE Co.) により決定した。測定方法は、実施例 1 の関連部分と同じであった。試験結果：二糖類～十糖類は、それぞれ dp 2 ~ dp 10 で表し、dp 2 は 20 %、dp 3 は 25 %、dp 4 は 19 %、dp 5 は 12 %、dp 6 は 9 %、dp 7 は 5 %、dp 8 は 5 %、dp 9 は 3 % および dp 10 は 2 % であった。

20

【0048】

実施例 3 :

実施例 1 の M セグメント中間体 100 g を秤量し、蒸留水に溶かして、1.5 L 容量の溶液を調製した。溶液を NaOH で pH 9.0 に調整し、水浴中 45 にて反応を行った。オゾンを経過濃度流速 3 g / 時で反応溶液に導入するように、酸素ポンプの出口のガス流速およびオゾン発生器の出力を調整した。2 時間の反応の後、オゾンの導入を停止し、好適な量の水を加えて、溶液の濃度を約 5 % に調整した。3,000 Da の分子量カットオフを有する限外濾過膜で溶液を濾過し、保持液を回収した。回収した液体を、ロータリーエバポレーターで濃縮し、真空下で乾燥させ、60 g のマンヌロン二酸生成物 C を得た。

30

【0049】

C における種々の重合度を有するオリゴ糖の割合を、多角度光散乱 (MALS, Wyatt Co.) と組み合わせた Superdex ペプチド分子排除クロマトグラフィー (GE Co.) により決定した。測定方法は、実施例 1 の関連部分と同じであった。試験結果：二糖類～十糖類は、それぞれ dp 2 ~ dp 10 で表し、dp 2 は 8 %、dp 3 は 20 %、dp 4 は 28 %、dp 5 は 19 %、dp 6 は 13 %、dp 7 は 6 %、dp 8 は 3 %、dp 9 は 2 %、および dp 10 は 1 % であった。

40

【0050】

実施例 4 :

工程 1) 単一の重合度を有するマンヌロン二酸オリゴ糖の調製は、以下のとおりであった。

【0051】

1 . サンプル調製 : 実施例 1 において調製したマンヌロン二酸生成物 A 300 g を取り、水に溶かし、1000 mL の濃縮液を調製し、使用するために、4 の冷蔵庫に入れた。それぞれの使用のために、50 mL を分取し、水で 1 : 2 に希釈した後、0.22 μm 限外濾過膜で吸引濾過した。

【0052】

2 . クロマトグラフィー分離条件 : クロマトグラフは、UV 検出器および自動コレクター

50

を備えた AKTA pure 150 (GE Co. から購入) であった。分離クロマトグラフィーカラム: 1.2 kg の BioGel P6 (Bio-Rad Co. から購入) を脱イオン水と混合し、真空脱気し、手動でガラスカラム (内径: 10 cm) に充填し、10 カラム容量の純水ですすいだ。クロマトグラフィーカラムベッドは安定であり、高さは 1.0 m であった。次に、移動相を 0.02 M NaCl 溶液に変え、10 カラム容量で平衡化した後、サンプルローディングを開始した。

【0053】

3. サンプルのローディングおよび分離: ポンプの流速を 1 mL / 分に設定した。100 mL のサンプル溶液をクロマトグラフ自体のポンプを介してカラムの上部に注入した後、これを移動相に切り替え、流速 5 mL / 分で溶出させた。水のデッドボリュームを流出させた後、自動回収を開始し、チューブ 1 本あたり 50 mL を回収した。

10

【0054】

4. サンプルローディングを繰り返し、調製を 20 回繰り返した後、同じ画分を合わせ、ロータリーエバポレーターで濃縮し、凍結乾燥して、二糖類 ~ 十糖類の単一の重合度を有する計 9 種類のオリゴ糖を得た。

【0055】

工程 2) 薬理活性の評価

単一の重合度を有するジマンオリゴサッカリン酸 (dimannoligosaccharic acid) オリゴ糖の薬理活性の評価方法は以下のとおりである。

【0056】

二糖類 ~ 十糖類のそれぞれ 10 g を使用した。実験プロセスは「アミリンにより損傷を受けた膵細胞に対するオリゴマンナル酸の保護効果」の方法に従って実施した。

20

【0057】

結果は、標準対照群と比較して、IAPP モデル群の細胞生存率は有意に低く、一方、単一の重合度のオリゴ糖群のそれぞれは細胞生存率を増す傾向があり、4 ~ 10 の単一の重合度を有するジマンオリゴサッカリン酸オリゴ糖は総て、細胞生存率を増すことを示した。5 ~ 8 の 4 つの重合度を有するオリゴ糖の効果が特に良好であった。六糖類の活性が最も高かった (図 4 参照)。

【0058】

実施例 5

組成物における異なる重合度を有するオリゴ糖の相乗作用およびオリゴ糖の割合の範囲を調べるために、組成物と六糖類との間での薬理活性評価を行った。

30

【0059】

サンプル調製:

実施例 4 において調製した単一の重合度を有するマンヌロン二酸オリゴ糖を、重合度別に二糖類 ~ 十糖類を正確に秤量した。用いた各糖類の重量は以下のとおりであった。二糖類 3.0 g、三糖類 3.0 g、四糖類 1.5 g、五糖類 1.5 g、六糖類 0.4 g、七糖類 0.2 g、八糖類 0.2 g、九糖類 0.1 g、および十糖類 0.1 g。これらを均一に混合し、10 g の組成物生成物 D を得た。

【0060】

実施例 1、2、および 3 でそれぞれ調製された生成物 A、B、および C、ならびに本実施例で調製された生成物 D におけるオリゴ糖の割合を以下の表 2 に示す。

40

【0061】

【表 2】

表 2: マンヌロン二酸オリゴ糖組成物生成物および比較実験サンプル中のオリゴ糖のパーセンテージ

割合 組成	二糖類	三糖類	四糖類	五糖類	六糖類	七糖類	八糖類	九糖類	十糖類
A	19%	25%	22%	13%	9%	6%	3%	2%	1%
B	20%	25%	19%	12%	9%	5%	5%	3%	2%
C	8%	20%	28%	19%	13%	6%	3%	2%	1%
D	30%	30%	15%	15%	4%	2%	2%	1%	1%

10

【0062】

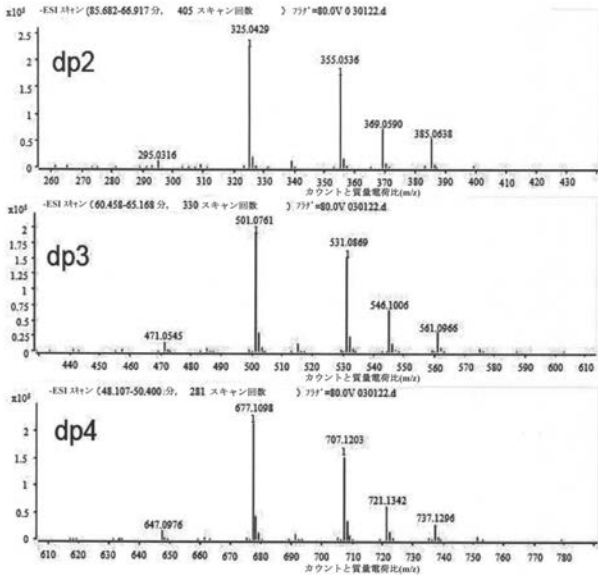
上記サンプル A、B、C、および D のそれぞれ 10 g を用いて、「糖尿病に対する有効性を評価するための動物モデル」に記載の方法に従って、これらの組成物および六糖類（6 T）の薬理活性を比較した。

【0063】

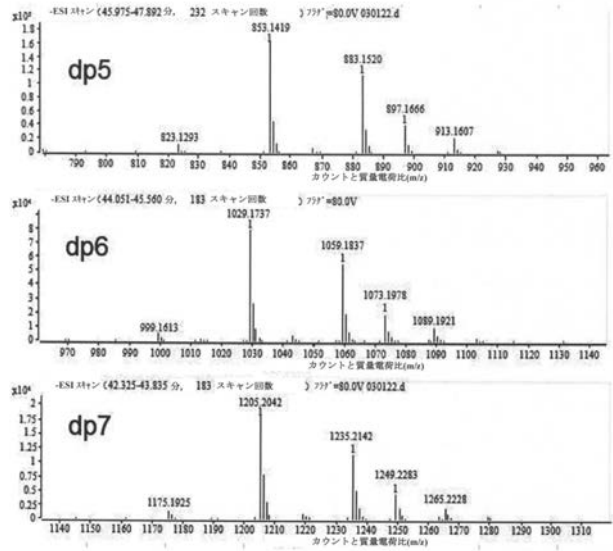
実験において、モデル群を標準対照群と比較した。前者の食後血糖は有意に増し、評価モデルが成功していたことを示す。モデル群と比較して、薬物投与群のそれぞれの食後血糖は有意に低下し、生成物 A、B および C の薬力学的活性は総て、従前に予想されていた最も活性の高い、単一の重合度の六糖類よりも良好である。しかしながら、生成物 D の活性は六糖類よりも弱い。いかなる理論にも拘束されるものではないが、組成物中のオリゴ糖の割合が生成物の活性に有意な影響を及ぼし、特定の割合の二糖類および三糖類の添加が相乗作用を有すると推測される。しかしながら、二糖類および三糖類の割合が高すぎると、組成物の活性は低下すると思われる。図 5 参照。

20

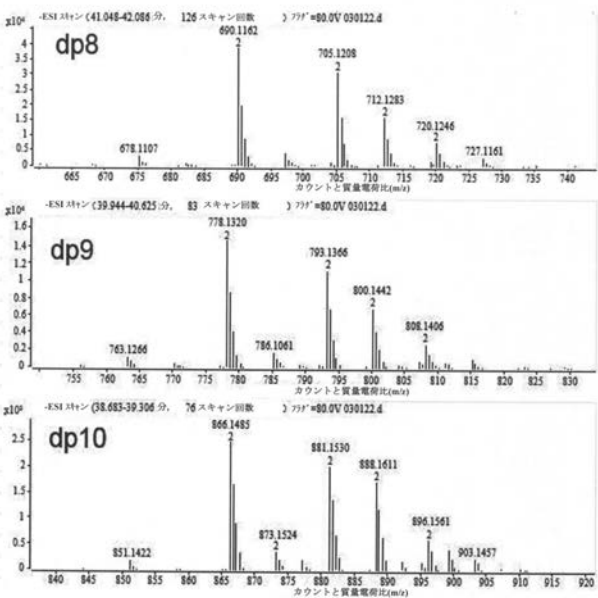
【 図 1 】



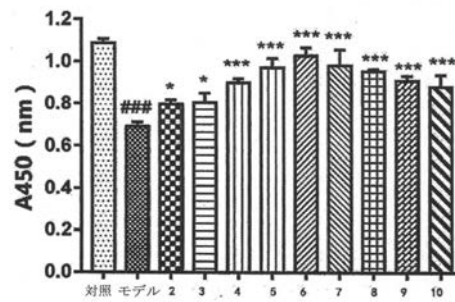
【 図 2 】



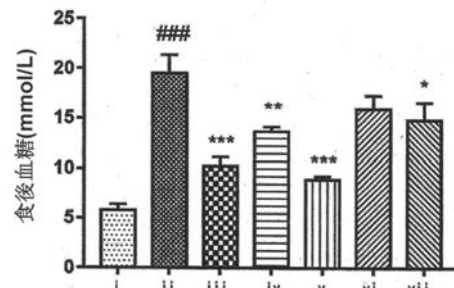
【 図 3 】



【 図 4 】



【 図 5 】



【 国际调查报告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/093822

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K 31/702(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K; A61P 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) CNABS, VEN(DWPI+SIPOABS), CNTXT, EPTXT, USTXT, WOTXT, 中国药物专利数据库, China Medicine Patent Database, CNKI, 百度学术搜索, Baidu Scholar Search, ISI-WEB OF SCIENCE: 甘露糖醛, mannuron+, 糖尿病, 血糖, diabetes, blood glucose		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 100508985 C (OCEAN UNIVERSITY OF CHINA) 08 July 2009 (2009-07-08) see abstract, and claims 1-10	1-14
A	CN 1933845 A (OCEAN UNIVERSITY OF CHINA) 21 March 2007 (2007-03-21) see entire document	1-14
A	CN 1362860 A (KBP CO., LTD.) 07 August 2002 (2002-08-07) see entire document	1-14
A	CN 106008613 A (INDUSTRY FOUNDATION OF CHONNAM NATIONAL UNIVERSITY) 12 October 2016 (2016-10-12) see entire document	1-14
<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 16 September 2019		Date of mailing of the international search report 08 October 2019
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088 China Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/093822**Box No. II** Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **14**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 - [1] Claim 14 relates to a method for treatment of diabetes, and this is the subject matter for which a search is not required (PCT Rule 39.1(iv)). However, a search is still carried out on an application of the compound in preparation of drugs for treatment of diabetes.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/093822

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	100508985	C	08 July 2009	CN	1933845	A	21 March 2007
CN	1933845	A	21 March 2007	CN	100508985	C	08 July 2009
CN	1362860	A	07 August 2002	US	2002137723	A1	26 September 2002
				EP	1175157	A1	30 January 2002
				US	6747015	B2	08 June 2004
				KR	100501584	B1	18 July 2005
				EP	1175157	A4	14 May 2003
				KR	20010077950	A	20 August 2001
				JP	2003521573	A	15 July 2003
				AU	3238001	A	14 August 2001
				WO	0156404	A1	09 August 2001
CN	106008613	A	12 October 2016	US	2017065629	A1	09 March 2017
				US	9855293	B2	02 January 2018
				US	10272100	B2	30 April 2019
				KR	20160116252	A	07 October 2016
				US	2017340660	A1	30 November 2017

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2019/093822

A. 主题的分类 A61K 31/702(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) A61K; A61P 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNABS, VEN(DWPI+SIPAOBS), CNTXT, EPTXT, USTXT, WOTXT, 中国药物专利数据库, CNKI, 百度学术搜索, ISI-WEB OF SCIENCE: 甘露糖醛, manuron+, 糖尿病, 血糖, diabetes, blood glucose		
C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 100508985 C (中国海洋大学) 2009年 7月 8日 (2009 - 07 - 08) 参见说明书摘要, 权利要求1-10	1-14
A	CN 1933845 A (中国海洋大学) 2007年 3月 21日 (2007 - 03 - 21) 参见全文	1-14
A	CN 1362860 A (韩国生物高分子株式会社) 2002年 8月 7日 (2002 - 08 - 07) 参见全文	1-14
A	CN 106008613 A (全南大学校产学协力团) 2016年 10月 12日 (2016 - 10 - 12) 参见全文	1-14
<input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。		<input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件		“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件
国际检索实际完成的日期 2019年 9月 16日	国际检索报告邮寄日期 2019年 10月 8日	
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	受权官员 修文 电话号码 (86-10)62411076	

表 PCT/ISA/210 (第2页) (2015年1月)

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2019/093822

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. 权利要求： 14
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 该权利要求涉及治疗糖尿病的方法，这属于不要求检索的主题(PCT细则39.1(iv))，但还是针对所述组合物在制备治疗糖尿病的药物中的应用进行了检索。
2. 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3. 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2019/093822

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	100508985	C	2009年 7月 8日	CN	1933845	A	2007年 3月 21日
CN	1933845	A	2007年 3月 21日	CN	100508985	C	2009年 7月 8日
CN	1362860	A	2002年 8月 7日	US	2002137723	A1	2002年 9月 26日
				EP	1175157	A1	2002年 1月 30日
				US	6747015	B2	2004年 6月 8日
				KR	100501584	B1	2005年 7月 18日
				EP	1175157	A4	2003年 5月 14日
				KR	20010077950	A	2001年 8月 20日
				JP	2003521573	A	2003年 7月 15日
				AU	3238001	A	2001年 8月 14日
				WO	0156404	A1	2001年 8月 9日
CN	106008613	A	2016年 10月 12日	US	2017065629	A1	2017年 3月 9日
				US	9855293	B2	2018年 1月 2日
				US	10272100	B2	2019年 4月 30日
				KR	20160116252	A	2016年 10月 7日
				US	2017340660	A1	2017年 11月 30日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2015年1月)

フロントページの続き

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(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), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), 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, IR, IS, 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, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . T W E E N

(71)出願人 509011765

シャanghai インスティテュート オブ マテリア メディカ、チャイニーズ アカデミー オブ
サイエンス

SHANGHAI INSTITUTE OF MATERIA MEDICA, CHINESE
ACADEMY OF SCIENCES

中国 201203 シャanghai プドン チャンジャンハイ - テックパーク ズーチョンツォー
ロード 555

555 Zu Chong Zhi Road Zhang Jiang Hi-Tech Pa
rk Pudong Shanghai 201203 (CN)

(74)代理人 100091487

弁理士 中村 行孝

(74)代理人 100105153

弁理士 朝倉 悟

(74)代理人 100120617

弁理士 浅野 真理

(74)代理人 100126099

弁理士 反町 洋

(72)発明者 ゲン、メイユ

中華人民共和国シャanghai、プードン、ニュー、エリア、チャン、ジャン、ハイ - テク、パーク、
ニウドゥン、ロード、421

(72)発明者 シン、シャanghai

中華人民共和国シャanghai、プードン、ニュー、エリア、チャン、ジャン、ハイ - テク、パーク、
ニウドゥン、ロード、421

(72)発明者 チャン、チェンチン

中華人民共和国シャanghai、プードン、ニュー、エリア、チャン、ジャン、ハイ - テク、パーク、
ニウドゥン、ロード、421

(72)発明者 ディン、ジャン

中華人民共和国シャanghai、プードン、ニュー、エリア、チャン、ジャン、ハイ - テク、パーク、
ニウドゥン、ロード、421

Fターム(参考) 4C057 BB04 DD01 JJ05

4C086 AA01 AA02 EA05 MA01 MA04 NA14 ZC35