(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2021-528460
(P2021-528460A)
(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）
A61K 31/702	***(2006.01)***	A61K	31/702	4C086
A61P 25/16	***(2006.01)***	A61P	25/16	
A61K 31/7032	***(2006.01)***	A61K	31/7032	
A61K 31/715	***(2006.01)***	A61K	31/715	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 24 頁）

(21)出願番号　特願2020-572820 (P2020-572820)
(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/CN2019/093803
(87)国際公開番号　WO2020/001640
(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　201810713411.3
(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　ＶＡＬＬＥＹ　ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬ　ＣＯ．，　ＬＴＤ．
中華人民共和国シャンハイ、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

最終頁に続く

(54)【発明の名称】パーキンソン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、パーキンソン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。

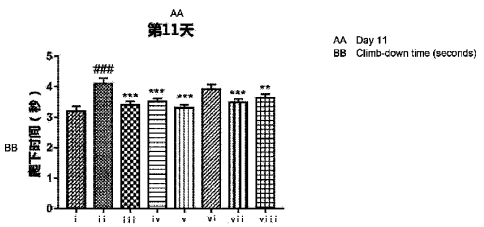
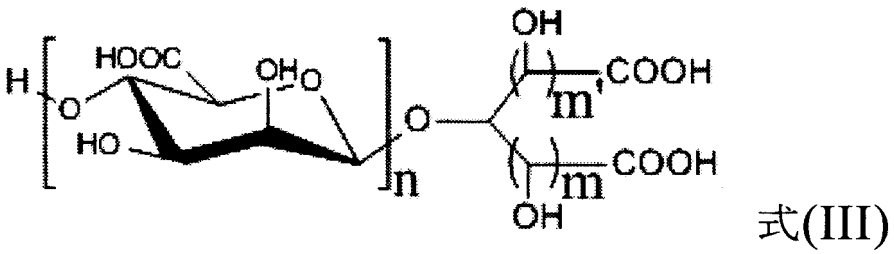


图 4

【特許請求の範囲】
【請求項１】
パーキンソン病の治療の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）を有するマンヌロン二酸またはその薬学上許容可能な塩：
【化１】

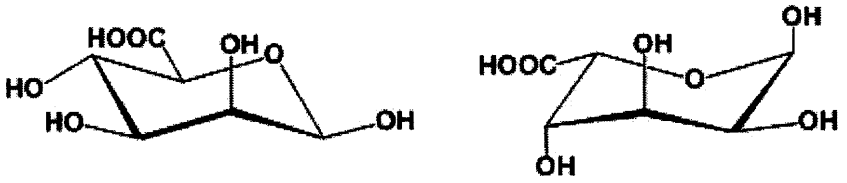


式(III)

〔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＝１～５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＝１～２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。
【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＝１～２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＝４～７であるマンヌロン二酸の総重量に対する、ｎ＝１～３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。
【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４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４に記載の使用。
【請求項７】
ｎ＝１～５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。
【請求項８】
ｎ＝１～３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＝４～７であるマンヌロン二酸の総重量に対する、ｎ＝１～３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３に記載の使用。
【請求項１０】
前記組成物においてそれぞれの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２～２０％、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１～８のいずれか一項に記載の使用。
【請求項１１】
前記組成物においてそれぞれの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％、および十糖類１～５％である、請求項１０に記載の使用。
【請求項１２】
前記組成物においてそれぞれの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１０～２０％、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１１に記載の使用。
【請求項１３】
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１～１１のいずれか一項に記載の使用。
【請求項１４】
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、パーキンソン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、生物活性評価法により得られたマンヌロン二酸の最適な組成物の、パーキンソン病の治療における使用に関する。
【背景技術】
【０００２】
発明の背景
パーキンソン病（ＰＤ）は、５０～６０歳を超える中高年に発症する一般的な神経変性疾患である。主要な病巣は黒質・線条体経路にあり、安静時振戦、筋緊張亢進および動作緩徐に至る。パーキンソン病は、高齢者に４番目に多い神経変性疾患であり、６５歳を超える人の１％、４０歳を超える人の０．４％がこの疾患を有する。パーキンソン病の臨床治療のための薬物は、主として化合物のレボドパ製剤、ドーパミン受容体作動薬、モノアミンオキシダーゼ阻害剤、抗コリン作動性製剤およびアマンタジンなどであるが、大きな副作用および長期適用効果の低下などのいくつかの欠点がある。
【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)

【０００５】

Ｍセグメントおよびセグメントは、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。

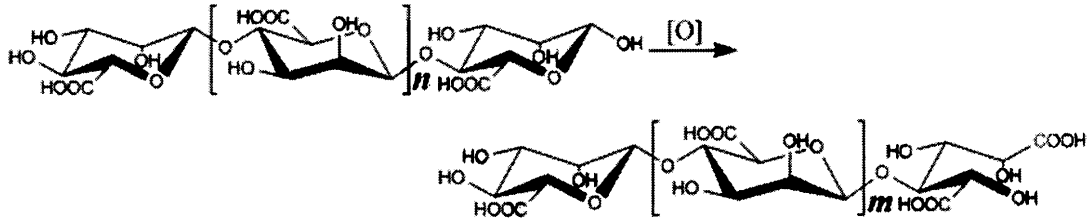
【０００６】

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】



$m \leq n$　　(II)

【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る。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Cu^{2+}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、アミロイド（β－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、炎症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β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。

【００１０】

先行文献ＣＮ１０６３４４５９２Ａは、パーキンソン病の治療における、還元末端の１位にカルボキシル基を有するマンヌロン酸オリゴ糖およびその誘導体の適用を開示しており、また、パーキンソン病の治療における四糖類～十糖類混合物の薬力学的活性も開示している。

【発明の概要】

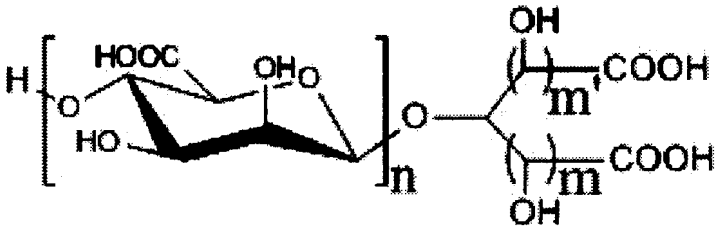
【００１１】

本発明は、パーキンソン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、パーキンソン病を治療する方法にも関する。

【００１２】

本発明により開示されるマンヌロン二酸オリゴ糖組成物は、式（ＩＩＩ）を有するマンヌロン二酸またはその薬学上許容可能な塩；

【化３】



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＝１～５であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量の６０％以上であり、

ｎ＝１～２であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量の６０％未満である。

【００１３】

出願者人らは、特定の構成を有するマンヌロン二酸組成物は、パーキンソン病の治療に有利な効果を有すると同時に生産コストも低減することを見出した。また、天然物由来の安全性のために患者の生活の質を改善することも有益である。

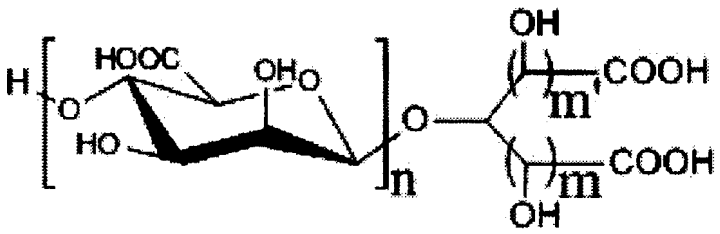
【図面の簡単な説明】

【００１４】

【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。
【図４】図４は、１１日目のＰＤ動物の降下時間に対する種々のオリゴ糖組成物および六糖類の効果を示す。図の横座標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：比較実験サンプル；ｖｉｉｉ：六糖類である。
【図５】図５は、１１日目のＰＤ動物の潜時に対する種々のオリゴ糖組成物および六糖類の効果を示し、横軸の記号は図４と同様である。
【図６】図６は、１４日目のＰＤ動物の降下時間に対する種々のオリゴ糖組成物および六糖類の効果を示し、横軸の記号は図４と同様である。
【図７】図７は、１４日目のＰＤ動物の潜時に対する種々のオリゴ糖組成物および六糖類の効果を示し、横軸の記号は図４と同様である。
【図８】図８は、１７日目のＰＤ動物の降下時間に対する種々のオリゴ糖組成物および六糖類の効果を示し、横軸の記号は図４と同様である。
【図９】図９は、１７日目のＰＤ動物の潜時に対する種々のオリゴ糖組成物および六糖類の効果を示し、横軸の記号は図４と同様である。
【発明の具体的説明】
【００１５】
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。
【００１６】
本発明は、パーキンソン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。使用するマンヌロン二酸オリゴ糖組成物は、式（ＩＩＩ）を有する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〕
を含んでなり、
ｎ＝１～５であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量の６０％以上であり、
ｎ＝１～２であるマンヌロン二酸の総重量が、前記組成物の総重量の６０％未満である。
【００１７】
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、既知の従来技術とは異なり、本発明者らは、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、二糖類および三糖類がそれ自体低活性であるために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。

【００１８】

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、酸化分解生成物中の二糖類および三糖類を分離および除去する必要はなく、ただ、二糖類および三糖類の割合を特定の範囲内に制御するために酸化分解反応の条件を制御する必要があるだけである。得られた組成物の活性は、先願に開示されている組成物の活性と同等か、またはより高い可能性もある。さらに、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。

【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、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の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の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の１０％以上、好ましくは３０～５０％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＝１～５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の８０～９５％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＝１～２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の１０～５０％、好ましくは、２５～５０％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いて、ｎ＝１～３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の２０～７０％である。

【００２３】

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＝４～７であるマンヌロン二酸の総重量に対するｎ＝１～３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。

【００２４】

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、それぞれの重合度のマンヌロン二酸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１～３％、十糖類１～３％である。

【００２５】

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り得る。

【００２６】

本特許出願の発明者らは、重合度の異なる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、最も活性が高い六糖類よりも高いことを見出した。特に、特定の割合で二糖類および三糖類を加えた組成物は、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していた。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、以下に示す割合を有し得る。

【００２７】

組成物中のｎ＝１～５であるマンヌロン二酸の総重量は、前記組成物の総重量の６０％以上であり、好ましくは８０～９５％である。ｎ＝１～２であるマンヌロン二酸の総重量は、前記組成物の総重量の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＝１～３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の２０～７０％である。ｎ＝４～７であるマンヌロン二酸オリゴ糖の総重量に対するｎ＝１～３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。

【００２８】

本発明のパーキンソン病の治療のための薬剤は、式（ＩＩＩ）を有する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。

【００２９】

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、アスパルテーム、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。

【００３０】

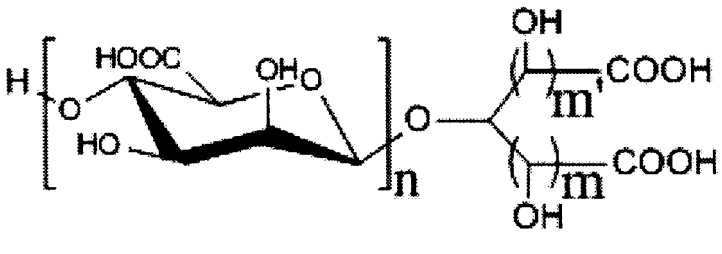
本明細書で使用する場合、「治療」という用語は一般に、所望の薬理学的および／または生理学的効果を達成することを指す。この効果は、疾患またはその症状の完全または部分的予防によれば、予防的なものであり得、ならびに／あるいは疾患および／または疾患による副作用の部分的または完全な安定化または治癒によれば、治療的なものであり得る。本明細書で使用する場合、「治療」は患者の疾患のいかなる治療をも対象とし、（ａ）疾患または症状を起こしやすいが、まだ疾患に罹患していると診断されていない患者において発現する疾患または症状の予防、（ｂ）疾患の症状の抑制、すなわちその発症の予防、または（ｃ）疾患の症状の軽減、すなわち疾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

【００３１】

マンヌロン二酸オリゴ糖組成物

本発明のパーキンソン病の治療のためのマンヌロン二酸オリゴ糖組成物は、式（ＩＩＩ）を有する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＝１～５であるマンヌロン二酸の総重量は、前記組成物の総重量の６０％以上であり、

ｎ＝１～２であるマンヌロン二酸の総重量は、前記組成物の総重量の６０％未満である。

【００３２】

例示的な実施態様では、パーキンソン病の治療の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。

【００３３】

（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。

【００３４】

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。

【００３５】

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ＭＷＣＯ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。この調製方法の具体例は実施例１～３に見出すことができ、これらの実施例では、３種類の組成物Ａ、ＢおよびＣがそれぞれ、前述の方法に従って調製された。

【００３６】

（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。

【００３７】

（３）オリゴ糖組成物の活性の比較

調製された組成物を、工程（２）で精製された六糖類と、薬理活性に関して比較する。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。

【００３８】

薬力学的活性を評価するための動物モデルおよび工程

抗パーキンソン病（ＰＤ）の薬力学的評価のための動物モデル

マウスを、各群１４匹として、ブランク対照群、ＭＰＴＰモデル群および薬物投与群に無作為に群分けした。動物を群分けし、同じ日に薬物を与えた。ブランク対照群およびＭＰＴＰモデル群には胃内投与により生理食塩水を与え、他群には連続１７日間、１日１回、対応する薬物を与えた。モデルを確立する薬物は6日目から与えた。５日間、１日１回、ブランク対照群の動物には１０ｍｌ／ｋｇの生理食塩水を皮下に与え、他の動物には２５ｍｇ／ｋｇのＭＰＴＰを皮下に与えた。

【００３９】

行動試験はそれぞれ１１日目、１４日目および１７日目に行った。マウスをロッド（直径８ｍｍ、高さ５５ｃｍ）の粗面の上部に頭を上にして静かに載せた。マウスが頭を上向きから下向きに調整する時間が潜時（Ｔ－ターン）であり、マウスが下へ移動してから総ての肢がロッドの下へ到達するまでの時間が降下時間（Ｔ－ＬＡ）として記録される。３０秒を超える場合には３０秒と記録する。各マウスを５回試験し、結果の平均を取る。

【００４０】

ＭＰＴＰは、黒質のドーパミンニューロンに対して選択的な破壊効果を有する。ＭＰＴＰ誘発ＰＤ動物モデルは、ヒトパーキンソン病の病理学的変化および臨床的特徴に類似する最も古典的な動物モデルである。ＰＤの主要な症状は、安静時振戦、筋緊張の増大、動きの低下などである。ロッドクライミング試験の旋回時間および降下時間は、マウスの全体的な活動および調整調能力を表し得る。

【００４１】

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】
【００４２】
実施例１：
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、先行特許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、撹拌した。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。オゾンを質量濃度流速８ｇ／時で反応溶液に導入するように、酸素ボンベ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。
【００４３】
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、０．２２μｍ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。
クロマトグラフィーカラム：Ｓｕｐｅｒｄｅｘペプチド１０／３００Ｇｌ
移動相：０．１ｍｏｌ／Ｌ　ＮａＣｌ
注入量：１０μＬ
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３％、ｄｐ９は２％、およびｄｐ１０は１％であった。
【００４４】
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　NH_4Ac
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。
【００４５】
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。

【００４６】
【表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中の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		$(C_6H_8O_6)_nC_6H_{10}O_8$ n=1-9	385	561	737	913	1089	1265	720	808	896
2		$(C_6H_8O_6)_nC_5H_8O_7$ n=1-9	355	531	707	883	1059	1235	705	793	881
3		$(C_6H_8O_6)_nC_5H_8O_7$ n=1-9	355	531	707	883	1059	1235	705	793	881
4		$(C_6H_8O_6)_nC_4H_6O_6$ n=1-9	325	501	677	853	1029	1205	690	778	866
5		$(C_6H_8O_6)_nC_4H_6O_6$ n=1-9	325	501	677	853	1029	1205	690	778	866
6		$(C_6H_8O_6)_nC_3H_4O_5$ n=1-9	295	471	647	823	999	1175	675	763	851

【００４７】
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ＩＩＩを参照）に酸化され、この構造は、含量が約１０

～３０％である６個の炭素原子を含んでなるマンナル二酸構造（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。

【００４８】

実施例２：

実施例１のＭセグメント中間体１００ｇを秤量し、蒸留水に溶かして、０．８Ｌの容量の溶液を調製した。溶液をＮａＯＨでｐＨ４．０に調整し、室温（２５℃）にて反応を行った。オゾンを質量濃度流速１ｇ／時で反応溶液に導入するように、酸素ボンベ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。１，０００Ｄａ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、８０ｇのマンヌロン二酸生成物Ｂを得た。

【００４９】

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ｄｐ２～ｄｐ１０で表し、ｄｐ２は２０％、ｄｐ３は２５％、ｄｐ４は１９％、ｄｐ５は１２％、ｄｐ６は９％、ｄｐ７は５％、ｄｐ８は５％、ｄｐ９は３％およびｄｐ１０は２％であった。

【００５０】

実施例３：

実施例１のＭセグメント中間体１００ｇを秤量し、蒸留水に溶かして、１．５Ｌ容量の溶液を調製した。溶液をＮａＯＨでｐＨ９．０に調整し、水浴中４５℃にて反応を行った。オゾンを質量濃度流速３ｇ／時で反応溶液に導入するように、酸素ボンベ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。３，０００Ｄａ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、６０ｇのマンヌロン二酸生成物Ｃを得た。

【００５１】

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ｄｐ２～ｄｐ１０で表し、ｄｐ２は８％、ｄｐ３は２０％、ｄｐ４は２８％、ｄｐ５は１９％、ｄｐ６は１３％、ｄｐ７は６％、ｄｐ８は３％、ｄｐ９は２％，およびｄｐ１０は１％であった。

【００５２】

実施例４：

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。

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 ３００ｇを秤量し、水に溶かし、１０００ｍＬ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、５０ｍＬを分取し、水で１：２に希釈した後、０．２２μｍ限外濾過膜で吸引濾過した。

【００５３】

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：１．２ｋｇ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：１０ｃｍ）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１．０ｍであった。次に、移動相を０．０２Ｍ　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。

【００５４】

３．サンプルのローディングおよび分離：ポンプの流速を１ｍＬ／分に設定した。１００ｍＬ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５ｍＬ／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５０ｍＬを回収した。

【００５５】

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。

【００５６】

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。

【００５７】

サンプル調製：

組成物生成物Ｄ：

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３．０ｇ、三糖類３．０ｇ、四糖類１．５ｇ、五糖類１．５ｇ、六糖類０．４ｇ、七糖類０．２ｇ、八糖類０．２ｇ、九糖類０．１ｇ、および十糖類０．１ｇ。これらを均一に混合し、１０ｇの組成物生成物Ｄを得た。

【００５８】

比較実験サンプルの調製

四糖類～十糖類を含有する混合物は、先行文献ＣＮ１０６３４４５９２Ａの実施例１および２に開示された方法を参照して調製した。

【００５９】

１ｇのポリマンヌロン酸ナトリウム（重量平均分子量８２３５Ｄａ、Ｓｈａｎｇｈａｉ　Ｇｒｅｅｎ　Ｖａｌｌｅｙ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｃｏ．，Ｌｔｄ．により提供）を秤量し、適当な量の蒸留水を加えて１％（重量パーセント）ポリマンヌロン酸ナトリウム水溶液を調製した。１％ポリマンヌロン酸ナトリウム水溶液のｐＨは塩酸を用いて４に調整し、次いで水溶液をオートクレーブ内においた。１１０℃で４時間加熱し、反応させた。反応溶液をオートクレーブから取り出し、放冷した。冷却後、ＮａＯＨ溶液を用いて反応溶液のｐＨ値を中性液体となるよう調整した。攪拌しながら、中性液体を容量の４倍の容量のエタノール中にゆっくりと加えた。アルコール沈殿を行い、溶液は一晩静置した。アルコール沈殿により得られた固形物質を濾過して分離し、無水エタノールを用いて、濾過および分離プロセス中に濾過および分離で得られた固形物質を洗浄した。最終的に、白色濾過ケーキが生成された。この濾過ケーキを６０℃のオーブン中で濾過し、粗アルギン酸オリゴ糖を得た。

【００６０】

５ｇの粗アルギン酸オリゴ糖を用いて５％（重量パーセント）水溶液を調製した。要時調製酸化剤である水酸化銅は、２５ｍｌの５％（重量パーセント）硫酸銅溶液を５０ｍｌの１０％（重量パーセント）水酸化ナトリウム溶液に加え、直ちに混合して調製した。要時調製酸化剤である水酸化銅を直ちに４０ｍｌの上記５％（重量パーセント）アルギン酸オリゴ糖溶液に加え、赤レンガ色の沈殿が生成されなくなるまで沸騰水浴中で加熱した。反応系を遠心分離し、沈殿を除去して上清を得た。酸化剤に少量の上清を再び加え、さらに赤レンガ色の沈殿が生成されるかどうかを確認した。赤レンガ色の沈殿がまだ生成された場合は、遠心分離から得られた総ての上清と残りの酸化剤との反応を、赤レンガ色の沈

殿が生成されないことが確認されるまで継続した。最終反応系を遠心分離し、上清を得た。４倍の容量の９５％エタノールを上清に加え、アルコール沈殿に付し、溶液を一晩静置した。アルコール沈殿により得られた固形物質を濾過および分離し、固形物質を無水エタノールで洗浄した。得られた固形物質を６０℃のオーブンに入れて乾燥させ、式（ＩＩ）で表される粗アルギン酸オリゴ糖を得た。

【００６１】

１ｇの粗アルギン酸オリゴ糖で１０％（重量パーセント）水溶液を調製し、９５％エタノール溶液を用いて再度アルコール沈殿を行った。再アルコール沈殿により得られた沈殿を濾過および分離した後、所望により、無水エタノールを用いて洗浄した。沈殿物を分離および乾燥させて固形物質を得た。この固形物質で５％（重量パーセント）水溶液を調製した。この水溶液を３μｍ孔径の膜を用いて濾過し、濾液を回収した。濾液は、分子排除クロマトグラフィー　Ｂｉｏ－Ｇｅｌ－Ｐ６ゲルカラム（１．６×１８０ｃｍ、Ｂｉｏ－Ｒａｄ　Ｃｏｍｐａｎｙより購入）で溶出および分離した。移動相の溶出剤は０．２ｍｏｌ　Ｌ－１NH_4HCO_3であった。カラムクロマトグラフィーの溶出液は複数の５ｍｌ試験管を使用することにより順次回収し、次いで各試験管中の溶出液の糖類含量を硫酸－カルバゾール法を用いて検出した。検出結果に従って、様々な分子量のアルギン酸オリゴ糖成分を含有する溶出液をそれぞれ回収した。様々な分子量のアルギン酸オリゴ糖成分を含有する溶出液をそれぞれ減圧下で濃縮し、凍結乾燥した。成分１は廃棄し、アルギン酸オリゴ糖成分２～１２が得られ、式（ＩＩ）（ｎはそれぞれ０～１０の重合度の値）に示されるように様々な分子量を有し、式（ＩＩ）のｎ＝２～８で示されるアルギン酸オリゴ糖溶出液を回収し、これらを合して乾燥させた。式（ＩＩ）においてｎ＝２～８で示されるアルギン酸オリゴ糖混合物（四糖類～十糖類混合物）は、比較実験サンプルとして生成した。

【００６２】

比較実験サンプル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）と組み合わせたＳｕｐｅｒｄｅｘペプチド（ＧＥ　Ｃｏ．）分子排除クロマトグラフィーを用いて検出した。測定方法は、実施例１の関連部分と同じである。試験結果：四糖類～十糖類はｄｐ４～ｄｐ１０で表し、それぞれｄｐ４は１０％、ｄｐ５は１２％、ｄｐ６は１３％、ｄｐ７は１４％、ｄｐ８は１５％、ｄｐ９は１９％、およびｄｐ１０は１７％である。

【００６３】

実施例１、２および３においてそれぞれ調製した生成物Ａ、ＢおよびＣ、本実施例の生成物Ｄ、ならびに比較実験サンプル中のオリゴ糖の割合を以下の表２に示す。

【００６４】

【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%
比較サンプル	0	0	10%	12%	13%	14%	15%	19%	17%

【００６５】

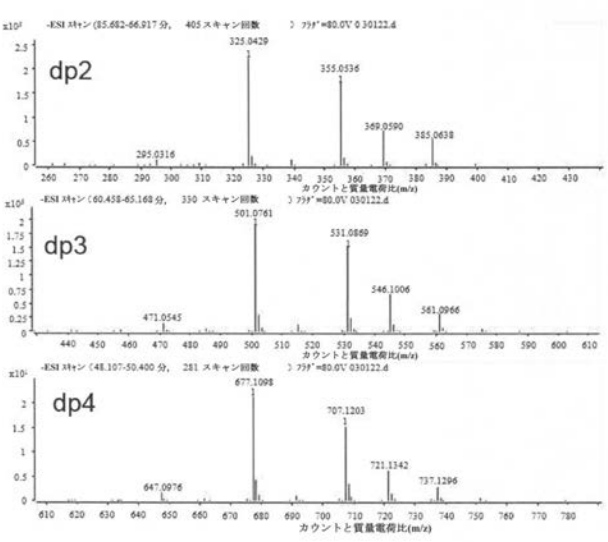
上記４種類のサンプルＡ、Ｂ、ＣおよびＤそれぞれ１０ｇを取り出した。これらの組成

物、ヘキソース（６Ｔ）と比較実験サンプルの薬理活性を、「抗ＰＤの薬力学的評価のための動物モデル」に記載の方法に従って比較した。

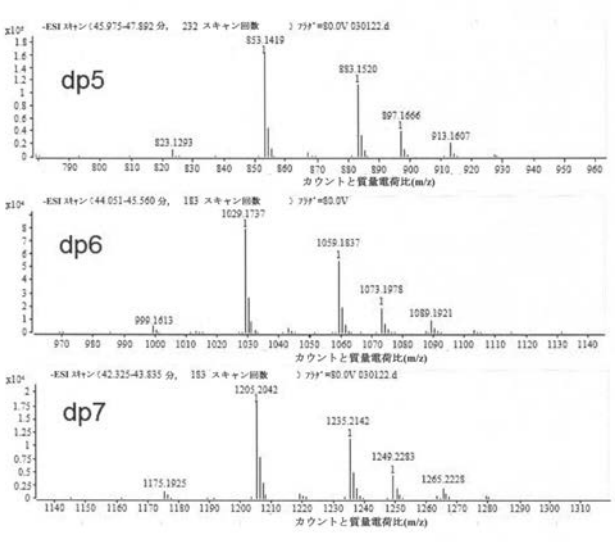
【００６６】

これらの実験結果は、モデル群の潜時および降下時間はブランク対照群よりも有意に低かったことを示した。モデル群と比較して、各薬物投与群の潜時および降下時間は、様々な程度で短縮した。中でも、生成物Ａ、ＢおよびＣの薬力学的活性は総て比較実験サンプルよりも良好であり、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重要な影響を及ぼし、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、組成物の活性は低下すると思われる。図４～９参照。

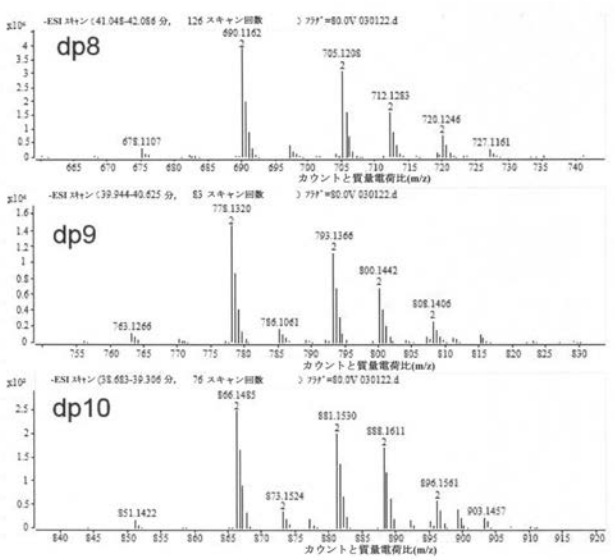
【図１】



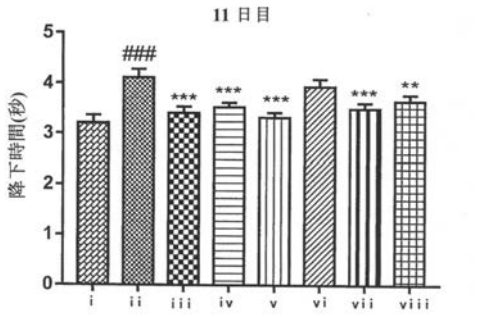
【図２】



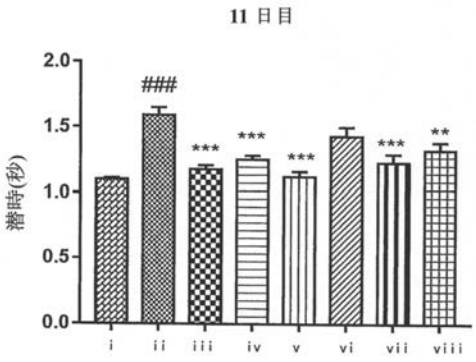
【図３】



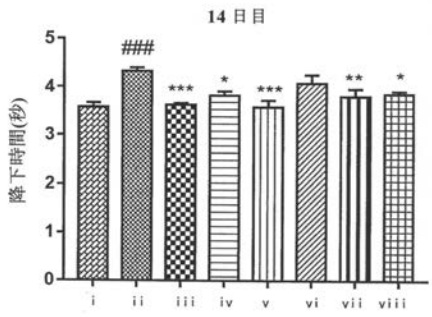
【図４】



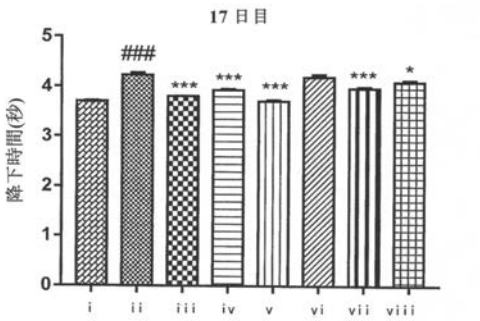
【図５】



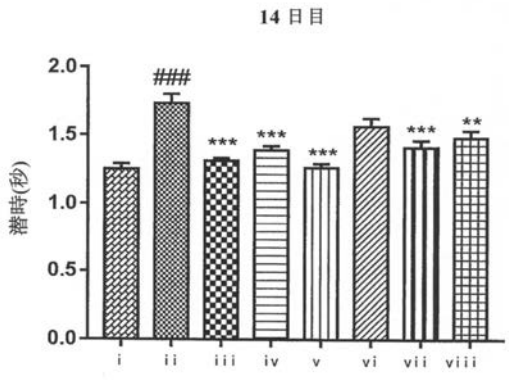
【図６】



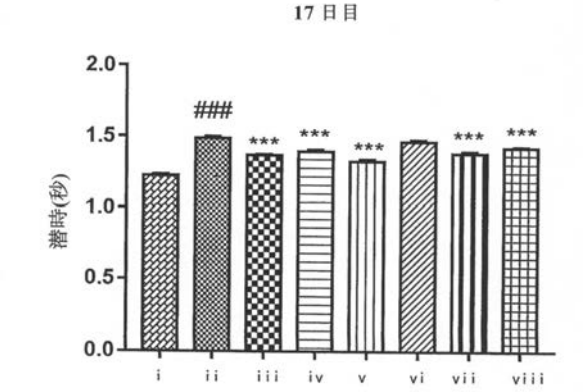
【図８】



【図７】



【図９】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2019/093803

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/702(2006.01)i; A61P 25/16(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, CHINESE PHARMACEUTICAL PATENT DATABASE, CNKI, 百度学术搜索, BAIDU SCHOLAR SEARCH, ISI-WEB OF SCIENCE: 甘露糖醛, mannuron+, 帕金森, Parkinson

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 106344592 A (SHANGHAI GREEN VALLEY PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 25 January 2017 (2017-01-25) see abstract, and claims 1-5	1-14
A	CN 101301310 A (CAPITAL MEDICAL UNIVERSITY; INSTITUTE OF OCEANOLOGY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) 12 November 2008 (2008-11-12) see entire document	1-14
A	CN 103948611 A (QINGDAO MARINE BIOMEDICAL RESEARCH INSTITUTE CO., LTD.) 30 July 2014 (2014-07-30) see entire document	1-14
A	CN 103405468 A (OCEAN UNIVERSITY OF CHINA) 27 November 2013 (2013-11-27) see entire document	1-14

☐ 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	Date of mailing of the international search report
16 September 2019	**08 October 2019**

Name and mailing address of the ISA/CN	Authorized officer
China National Intellectual Property Administration **No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing** **100088** **China**	
Facsimile No. **(86-10)62019451**	Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2019/093803

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] The claim relates to a method for treating Parkinson's disease, which is the subject matter for which a search is not required (PCT Rule 39.1(iv)). However, a search is still carried out for the application of the composition in preparation of drugs for treating Parkinson's disease.

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/CN2019/093803

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	106344592	A	25 January 2017	None			
CN	101301310	A	12 November 2008	CN	101301310	B	02 November 2011
CN	103948611	A	30 July 2014	CN	103948611	B	02 March 2016
CN	103405468	A	27 November 2013	CN	103405468	B	19 August 2015

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2019/093803

A. 主题的分类

A61K 31/702(2006.01)i; A61P 25/16(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+SIPOABS),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，mannuron+，帕金森，Parkinson

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 106344592 A (上海绿谷制药有限公司) 2017年 1月 25日 (2017-01-25) 参见说明书摘要，权利要求1-5	1-14
A	CN 101301310 A (首都医科大学 中国科学院海洋研究所) 2008年 11月 12日 (2008-11-12) 参见全文	1-14
A	CN 103948611 A (青岛海洋生物医药研究院股份有限公司) 2014年 7月 30日 (2014-07-30) 参见全文	1-14
A	CN 103405468 A (中国海洋大学) 2013年 11月 27日 (2013-11-27) 参见全文	1-14

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 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他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	国际检索报告邮寄日期
2019年 9月 16日	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/CN2019/093803

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帕金森氏症的方法，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帕金森氏症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/CN2019/093803

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	106344592	A	2017年 1月 25日	无			
CN	101301310	A	2008年 11月 12日	CN	101301310	B	2011年 11月 2日
CN	103948611	A	2014年 7月 30日	CN	103948611	B	2016年 3月 2日
CN	103405468	A	2013年 11月 27日	CN	103405468	B	2015年 8月 19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．ＴＷＥＥＮ

(71)出願人 509011765
シャンハイ 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 サイエンスィズ
ＳＨＡＮＧＨＡＩ ＩＮＳＴＩＴＵＴＥ ＯＦ ＭＡＴＥＲＩＡ ＭＥＤＩＣＡ, ＣＨＩＮＥＳＥ ＡＣＡＤＥＭＹ ＯＦ ＳＣＩＥＮＣＥＳ
中国 ２０１２０３ シャンハイ プドン チャンジァンハイ－テックパーク ズーチョンツーロード ５５５
５５５ Ｚｕ Ｃｈｏｎｇ Ｚｈｉ Ｒｏａｄ Ｚｈａｎｇ Ｊｉａｎｇ Ｈｉ－Ｔｅｃｈ Ｐａｒｋ 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ンハイ、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、シャンリャン
中華人民共和国シャンハイ、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 ドゥ、シャオグアン
中華人民共和国シャンハイ、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ンハイ、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ンハイ、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) 4C086 AA01 AA02 EA01 EA04 EA20 MA01 MA04 NA14 ZA02