

(19) 日本国特許庁(JP)

**再公表特許(A1)**

(11) 国際公開番号

**W02007/074786**

発行日 平成21年6月4日(2009.6.4)

(43) 国際公開日 **平成19年7月5日(2007.7.5)**

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C O 7 D 405/06 (2006.01)</b>	C O 7 D 405/06	4 C O 5 0
<b>C O 7 D 417/06 (2006.01)</b>	C O 7 D 417/06 C S P	4 C O 6 3
<b>A 6 1 K 31/5377 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/5377	4 C O 8 5
<b>A 6 1 K 31/396 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/396	4 C O 8 6
<b>C O 7 D 487/04 (2006.01)</b>	C O 7 D 487/04 1 3 8	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 72 頁) 最終頁に続く		

出願番号 特願2007-551966 (P2007-551966)	(71) 出願人 504157024 国立大学法人東北大学 宮城県仙台市青葉区片平二丁目1番1号
(21) 国際出願番号 PCT/JP2006/325804	
(22) 国際出願日 平成18年12月25日(2006.12.25)	
(31) 優先権主張番号 特願2005-371821 (P2005-371821)	(74) 代理人 100081422 弁理士 田中 光雄
(32) 優先日 平成17年12月26日(2005.12.26)	(74) 代理人 100084146 弁理士 山崎 宏
(33) 優先権主張国 日本国(JP)	(74) 代理人 100116311 弁理士 元山 忠行
	(74) 代理人 100122301 弁理士 富田 憲史
	(72) 発明者 工藤 幸司 宮城県仙台市青葉区片平二丁目1番1号 国立大学法人東北大学内
	最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 コンフォーメーション病診断プローブ

## (57) 【要約】

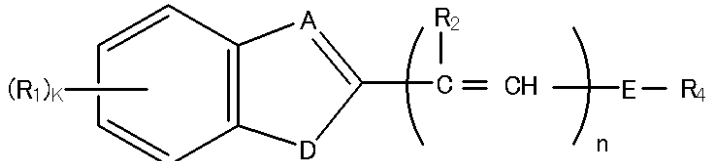
コンフォーメーション病の早期診断に有用なプローブ化合物、それを含むコンフォーメーション病診断用組成物およびキット、ならびにコンフォーメーション病治療および/または予防用医薬組成物などが本発明により提供される。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

式 (I) :

## 【化 1】



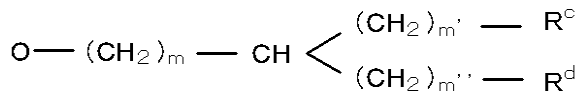
(I)

10

[ 式中、A は CH または N ;

D は S、NH、N - C<sub>1-3</sub> アルキル、O または CH<sub>2</sub> であり ;R<sub>1</sub> はそれぞれ独立して水素、ハロゲン、OH、COOH、SO<sub>3</sub>H、NO<sub>2</sub>、SH、NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>、C<sub>1-6</sub> アルキル、O - C<sub>1-6</sub> アルキル、CN、C = O、O - (CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub> - OTs、または O - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - CHR<sup>c</sup>R<sup>d</sup> または

## 【化 2】

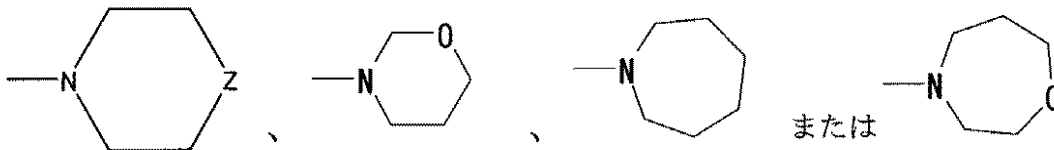


であり ;

20

隣接する R<sub>1</sub> は一緒になってフェニル環を形成してもよく ;R<sub>2</sub> は水素、C<sub>1-4</sub> アルキル、C<sub>1-4</sub> アルキル ハロゲン、OH または CN であり ;R<sub>4</sub> は水素、ハロゲン、OH、COOH、SO<sub>3</sub>H、NO<sub>2</sub>、SH、NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>、C<sub>1-6</sub> アルキル、O - C<sub>1-6</sub> アルキル、CN、C = O、ピロリジン環、ピロール、ピラゾール、イミダゾール、トリアゾール、または

## 【化 3】



30

であり ;

R<sup>a</sup> および R<sup>b</sup> は独立して水素または C<sub>1-4</sub> アルキルであり ;R<sup>c</sup> および R<sup>d</sup> はそれぞれ独立して水素、ハロゲン、OH、COOH、SO<sub>3</sub>H、NO<sub>2</sub>、SH、NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>、C<sub>1-6</sub> アルキル、O - C<sub>1-6</sub> アルキル、CN、C = O または OTs であり ;R<sup>5</sup> および R<sup>6</sup> はそれぞれ独立して水素または C<sub>1-4</sub> アルキルであり ;

k は 1 ないし 4 の整数であり ;

40

l は 1 ないし 4 の整数であり ;

m は 0 ないし 3 の整数であり ;

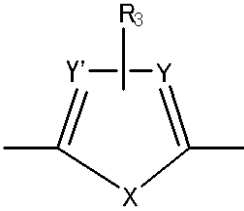
m' は 0 ないし 3 の整数であり ;

m'' は 0 ないし 3 の整数であり ;

n は 1 ないし 4 の整数であり ;

E はベンゼン環または

## 【化 4】



であり、

XはCH、S、NH、N - C<sub>1</sub> - <sub>3</sub>アルキルまたはOであり；

YはCHまたはNであり；

Y'はCHまたはNであり；

ZはO、S、CH<sub>2</sub>またはN - R<sup>e</sup>であり；

R<sub>3</sub>はYとY'の両方、または一方がCHのときに存在し、水素、C<sub>1</sub> - <sub>4</sub>アルキル、OHまたはハロゲンであり；

R<sup>e</sup>は水素またはC<sub>1</sub> - <sub>4</sub>アルキルであり、

上記アルキルはハロゲンで置換されていてもよく；

2つの環部分をつなぐ二重結合まわりの配置はシス型、トランス型のいずれであってもよい]で示される化合物、またはその塩もしくは溶媒和物。

## 【請求項 2】

THK - 097、THK - 203、THK - 207、THK - 281、THK - 525、THK - 702、THK - 708、THK - 727、THK - 752、THK - 761、THK - 763およびTHK - 766からなる群より選択される請求項1項記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物。

## 【請求項 3】

R<sup>4</sup>がモルホリン環である請求項1項記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物。

## 【請求項 4】

THK - 097、THK - 203、THK - 525、THK - 575、THK - 702、THK - 703、THK - 726およびTHK - 727からなる群より選択される請求項3記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物。

## 【請求項 5】

THK - 683、THK - 707、THK - 708、THK - 711、THK - 713、THK - 752、THK - 761およびTHK - 763からなる群より選択される請求項1項記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物。

## 【請求項 6】

標識された請求項1～5のいずれか1項記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物。

## 【請求項 7】

放射性標識で標識された請求項6記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物。

## 【請求項 8】

標識が陽電子放出核である請求項7記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物。

## 【請求項 9】

請求項1ないし8のいずれか1項記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物を含有する、コンフォーメーション病診断用組成物。

## 【請求項 10】

請求項1ないし8のいずれか1項記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物を含有する、コンフォーメーション病を治療および/または予防するための医薬組成物。

## 【請求項 11】

請求項1ないし8のいずれか1項記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物を必須の構成要素として含む、コンフォーメーション病診断用キット。

10

20

30

40

50

## 【請求項 1 2】

請求項 1 ないし 8 のいずれか 1 項記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物を必須の構成要素として含む、シート構造をとった蛋白または神経原線維変化を検出または染色するための組成物またはキット。

## 【請求項 1 3】

画像診断用である、請求項 9 記載の組成物または請求項 1 1 もしくは 1 2 記載のキット。

## 【請求項 1 4】

請求項 1 ないし 8 のいずれか 1 項記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物を対象に投与することを特徴とする、対象におけるコンフォーメーション病の治療および/または

10

## 【請求項 1 5】

請求項 1 ないし 8 のいずれか 1 項記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物を対象に投与することを特徴とする、対象におけるコンフォーメーション病の診断方法。

## 【請求項 1 6】

対象におけるコンフォーメーション病の診断用組成物またはキットを製造するための、請求項 1 ないし 8 のいずれか 1 項記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物の使用。

## 【請求項 1 7】

対象におけるコンフォーメーション病の治療および/または予防のための医薬組成物を製造するための、請求項 1 ないし 8 のいずれか 1 項記載の化合物、またはその塩もしくは

20

## 【請求項 1 8】

請求項 1 ないし 8 のいずれか 1 項記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物を用いて試料を染色することを特徴とする、試料中のシート構造をとった蛋白または神経原線維変化を検出または染色する方法。

## 【請求項 1 9】

試料中のシート構造をとった蛋白または神経原線維変化を検出または染色するための組成物またはキットを製造するための、請求項 1 ないし 8 のいずれか 1 項記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物の使用。

## 【請求項 2 0】

化合物が THK - 7 2 7 である、請求項 1 2 記載の組成物またはキット、請求項 1 8 記載の方法、あるいは請求項 1 9 記載の使用。

30

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0 0 0 1】

本発明は、コンフォーメーション病の診断プローブ、特に画像診断プローブ、詳細には陽電子放出核種により標識されたプローブ、ならびに該プローブを含む画像診断用組成物に関する。さらに本発明は、例えば、脳材料中のアミロイド蛋白および神経原線維変化の検出・染色、例えば、アルツハイマー病患者脳における老人斑の検出・染色、ならびにコンフォーメーション病の予防および/または治療用の医薬組成物にも関する。また、本

40

## 【背景技術】

## 【0 0 0 2】

コンフォーメーション病特有のシート構造をとった蛋白が蓄積する疾患には、体内の種々の器官や組織への不溶性原線維性蛋白の沈着を特徴とする種々の疾病がある。これらの疾病には、アルツハイマー病、プリオン病、レビー小体病、パーキンソン病、ハンチントン病、球脊髄性筋萎縮症、歯状核・淡蒼球ルイ体萎縮症、脊髄・小脳変性症、Machado-Joseph Disease、Amyophic Lateral Sclerosis (ALS)、ダウン症候群、ピック病、FTDP-17 (Frontotemporal Dementia and Parkinsonism linked to Chromosome 17)、LNTD (Limbic Neurofibrillary Tangle Demetia)、Sudanophilic Leukodystrophy、アミロイドー

50



シス等が含まれる。

【0003】

このうち、アルツハイマー病（AD）は現在最も治療の困難な疾病の1つとされており、正確な早期診断が望まれている疾病である。アルツハイマー病は主として初老期から老年期に起こる進行性の認知症を特徴とする疾患である。病理学的には大脳の全体的な萎縮、神経細胞の著しい変性と脱落、神経原線維変化と老人斑の出現を特徴とする。アルツハイマー病に代表される認知症の最大のリスクファクターは加齢であることが知られている。したがって、高齢人口の増加に伴う患者数の増加は、特に、高齢化社会となっている日本、アメリカ、ヨーロッパ諸国において顕著であり、それに対する医療コストはこれらの国の医療システムを危機におとめている。

10

【0004】

なお、我が国においては、アルツハイマー病患者数は約100万人と推定され、今後人口の高齢化に伴いその患者数は増大することが確実視されている。アルツハイマー病患者にかかわる費用は介護費用を含めると年間患者1人当たり100万円から300万円と考えられていることから、すでに我が国では1兆円から3兆円の社会経済的コストを払っていることになる。アルツハイマー病において症状が顕在化する以前ないしはできるだけ早期に治療を加えることは、大きな医療経済的効果をもたらすことはいまや世界の常識となっている。

【0005】

現在のアルツハイマー病診断方法は各種あるが、我が国においては長谷川式、ADAS、MMSE等の、アルツハイマー病が疑われる個体の認知機能の低下を定量的に評価する方法が一般的であり、まれに画像診断法（MRI、CT等）が補助的に用いられている。しかしこれらの診断法では病気を確定するには不十分であり、確定診断には生前における脳の生検（バイオプシー）、死後脳の病理組織学的検査が必要である。このように、アルツハイマー病の診断法についても精力的な研究が行われているにもかかわらず、それほどの進歩がみられないでいる。多くの研究の結果、最初の臨床症状が現れるかなり前（長い場合は約40年前）にはすでにアルツハイマー病特徴的な神経変性が始まっていることが判ってきた。また同病においては患者を取り巻く家族または臨床家が最初の臨床症状に気づいた時には、すでに脳内病理像は取り返しのつかない状態まで進行していることが知られている。上述のような病状の進行特性および患者数の激増を考え合わせると、アルツハイマー病の正確な早期診断の必要性ならびに意義は極めて大きい。

20

30

【0006】

アルツハイマー病の病理組織像は2つの主徴に代表される。すなわち老人斑および神経原線維変化である。前者の主構成成分はシート構造をとったアミロイド（A $\beta$ ）蛋白であり、後者のそれは過剰リン酸化されたアミロイド蛋白である。アルツハイマー病の確定診断はこれらの病理学的特徴が患者脳内に出現することをよりどころとしている。

【0007】

アミロイド蛋白はアルツハイマー病を包含するコンフォーメーション病に特徴的であり、密接な関連性を有している。したがって、体内、特に脳内でシート構造をとったアミロイド蛋白をマーカーとして検出することが、コンフォーメーション病、特にアルツハイマー病の重要な診断方法の1つとなる。アルツハイマー病をはじめとするアミロイドが蓄積する疾患の診断を目的として、体内、特に脳内アミロイド蛋白に特異的に結合し、これを染色する物質の検索が従来から行われている。かかる物質としてはコンゴレッド（非特許文献1参照）およびチオフラビンS（非特許文献2参照）、チオフラビンT（非特許文献3）ならびにクリサミンGおよびその誘導体（特許文献1および特許文献2参照）等が知られているが、アミロイド蛋白に対する結合特異性、血液-脳関門透過性、溶解度、毒性等の面から問題が少なくない。本発明者らは、アミロイド蛋白に対して特異性が高く、血液-脳関門透過性、溶解度が大きく、毒性が小さい等の特徴を有する種々の化合物を見出している（特許文献3、特許文献4、特許文献5、特許文献6および特許文献7参照）。

40

50

## 【0008】

脳内蛋白がシート構造をとることによって、その蛋白自身が病因となる疾患が知られている。アルツハイマー病においてはアミロイド蛋白およびタウ蛋白がシート構造をとることによって、蛋白自身が病因または病因の一部となっていると考えられている。Yanknerらはアミロイド蛋白にシート構造をとらせることにより神経細胞毒性を発揮することを初めて報告した（非特許文献4参照）。その後、多くの追試が行われ、シート構造をとったアミロイド蛋白が、神経細胞毒性を有することが確認された。このようにシート構造をとったアミロイド蛋白、タウ蛋白に神経細胞毒性がみられることから、その細胞毒性を抑制する化合物は蛋白自身がシート構造をとることによって病因、または病因の一部となる疾患、すなわちコンフォーメーション病、例えばアルツハイマー病の治療薬になりうることを示唆される。しかしながら、かかる治療薬の開発も十分な成果が得られていないのが現状である。

10

## 【0009】

したがって、アルツハイマー病をはじめとするコンフォーメーション病の診断、アミロイド蛋白の特異的染色剤、ならびにコンフォーメーション病の治療および予防のための、アミロイド蛋白に対する特異性の高い化合物に対する必要性が高まっている。

## 【0010】

アルツハイマー病のもう1つの病理組織学主徴は神経原繊維変化およびその主構成成分である過剰リン酸化されたタウ蛋白であるが、一般的にこれらはアミロイド蛋白よりは遅れて発現すると考えられている。しかし、神経原繊維変化はアミロイド蛋白に比し痴呆の程度とよく相関すると考えられている（非特許文献5および非特許文献6参照）。

20

## 【0011】

また、アルツハイマー病以外にタウ蛋白の脳内蓄積を主徴とする疾病（タウオパチイ）にはピック病、進行性核上性麻痺（PSP）などがあげられる。これらの疾病もコンフォーメーション病に含まれる。

## 【0012】

このようにタウ蛋白はアルツハイマー病を包含するタウ蛋白が蓄積する疾患に特徴的であり、密接な関連を有している。従って体内、特に脳内でシート構造をとったタウ蛋白をマーカーとして検出することが、タウが蓄積する疾患、特にアルツハイマー病の重要な診断法の1つとなる。

30

## 【0013】

アルツハイマー病をはじめとするタウが蓄積する疾患の診断を目的として、体内、特に脳脊髄液中のタウを定量する方法が2、3のグループから報告されている（非特許文献7および非特許文献8参照）。しかし、非侵襲的にインビボでのタウを定量することを目的としたプローブは世界的にみても全くみあたらない。

## 【0014】

したがって、アルツハイマー病をはじめとする神経原繊維変化が病因または病因の一部となる疾患の診断や治療のための、あるいは神経原繊維変化を染色するための、神経原繊維変化に対する特異性の高い化合物に対する必要性が高まっている。

## 【0015】

これまで、アミロイド蛋白および神経原繊維変化に対する特異性の高い化合物が報告されてきた（特許文献8、特許文献9、特許文献10、特許文献11参照）。これらの化合物をインビボにおいて、特にヒト患者の体内において使用する場合、変異原性が極めて低いか、あるいはないことが望ましい。したがって、変異原性が極めて低いか、あるいはない、コンフォーメーション病診断用プローブとして使用できる化合物の検索が必要である。

40

【特許文献1】国際特許出願PCT/US96/05918明細書

【特許文献2】国際特許出願PCT/US98/07889明細書

【特許文献3】特願平第2000-080082号明細書

【特許文献4】特願平第2000-080083号明細書

50

- 【特許文献5】特願平第2001-076075号明細書
- 【特許文献6】国際特許出願PCT/JPO1/02204明細書
- 【特許文献7】国際特許出願PCT/JPO1/02205明細書
- 【特許文献8】国際特許出願PCT/JPO3/07183明細書
- 【特許文献9】国際特許出願PCT/JPO3/15269明細書
- 【特許文献10】国際特許出願PCT/JPO3/15229明細書
- 【特許文献11】国際特許出願PCT/JP2004/01546明細書
- 【非特許文献1】Puchtlerら、Journal of Histochemistry and Cytochemistry、第10巻、35頁、1962年
- 【非特許文献2】Puchtlerら、Journal of Histochemistry and Cytochemistry、第77巻、431ページ、1983年 10
- 【非特許文献3】LeVine、Protein Science、2巻、404-410ページ、1993年
- 【非特許文献4】Yanknerら、Science、245巻、417-420ページ、1989年
- 【非特許文献5】Braak H and Braak E、Acta Neuropathol、82巻、239-259ページ、1991年
- 【非特許文献6】Wischikら、“Neurobiology of Alzheimer's Disease”、103-206ページ、Oxford University Press, Oxford、2001年
- 【非特許文献7】Ishiguroら、Neurosci. Lett、270巻、81-84ページ、1999年
- 【非特許文献8】Itohら、Ann. Neurol、50巻、150-156ページ、2001年 20
- 【発明の開示】
- 【発明が解決しようとする課題】
- 【0016】
- 本発明は、上記事情に鑑み、アミロイド 蛋白および/または神経原繊維変化に対する特異性が高く、脳移行性が高く、しかも変異原性が低い、あるいはない、コンフォメーション病の診断プローブとして使用できる物質を提供するものである。また本発明は、コンフォメーション病の画像診断プローブとして用いられる標識されたかかる物質、ならびにかかるプローブを含む画像診断用組成物およびキットも提供する。さらに本発明は、脳材料中のアミロイド 蛋白および神経原繊維変化の検出および/または染色方法、そのためのキット、ならびにコンフォメーション病の予防および/または治療用の医薬組成物も提供する。また、本発明は、コンフォメーション病の早期診断に有用な化合物、それを含む画像診断用組成物なども提供する。 30
- 【課題を解決するための手段】
- 【0017】
- 本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、本明細書中の式(I)～式(VI)で示される化合物、またはその塩もしくは溶媒和物が、アミロイド 蛋白および/または神経原繊維変化に対する特異性が高く、脳移行性が高く、しかも変異原性が低いか、あるいはない、コンフォメーション病の診断プローブとして使用できることを見出し、本発明を完成するに至った。特に、末端にモルホリン環を有する本発明の化合物は変異原性が極めて低いか、あるいは実施例に示すように変異原性が認められないものである。かかる変異原性の低い、あるいは無い化合物群を包含することは本発明の1の特徴である。それゆえ、本発明の化合物はきわめて安全性の高いものである。また本発明の化合物はアミロイド 蛋白を特異的かつ鮮明に染色することから、特にアルツハイマー病、ダウン症候群などの正確な早期診断を可能にするものといえる。さらに本発明の化合物は脳移行性、すなわち血液-脳関門透過性も高い。これらの特徴から、本発明の化合物を用いて、インビボにおける、特にヒト患者における非侵襲性の早期診断が可能となる。 40
- 【発明の効果】
- 【0018】
- 本発明は、アミロイド 蛋白および/または神経原線維変化に対する特異性が高く、血液-脳関門透過性が高く、しかも変異原性が低いか、あるいはない、極めて安全性の高い 50

化合物を提供する。したがって、本発明の化合物を用いて、コンフォーメーション病の診断、治療および/または予防を行うことができる。また、本発明によれば、コンフォーメーション病の画像診断、特にPETを用いた画像診断も可能となる。したがって、本発明により、コンフォーメーション病の早期における正確な診断、効果的な治療及び予防が可能となる。

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図1】図1はアミロイド 蛋白が蓄積するTgマウス(Tg2576)にTHK-097(0.2mg/kg)を静脈内投与した際の蛍光顕微鏡画像(エキスビボ)である。

【図2】図2はアミロイド 蛋白が蓄積するTgマウス(Tg2576)にTHK-525(4mg/kg)を静脈内投与した際の蛍光顕微鏡画像(エキスビボ)である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図3】図3はアミロイド 蛋白が蓄積するTgマウス(APPsw2576/TauJPL3)にTHK-727(4mg/kg)を静脈内投与した際の蛍光顕微鏡画像(エキスビボ)である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図4】図4はアミロイド 蛋白が蓄積するTgマウス(Tg2576)にTHK-702(4mg/kg)を静脈内投与した際の蛍光顕微鏡画像(上段パネル)および同一切片の抗アミロイド(A)抗体染色像(下段パネル)。

【図5】図5は図4の拡大顕微鏡像を示す。A、B、Cはそれぞれ図4のA、B、Cに対応する。白および黒矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図6】図6はアルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-097(左パネル)染色像および抗アミロイド(A)抗体染色像(右パネル:左パネルの隣接切片)である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図7】図7はアルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-184染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図8】図8はアルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-185染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白、白抜きアローヘッドは神経原線維変化を示す。

【図9】図9はアルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-203染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図10】図10はアルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-207染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図11】図11はアルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-248染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図12】図12はアルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-254染色像である。白抜きアローヘッドは神経原線維変化を示す。

【図13】図13はアルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-258染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白、白抜きアローヘッドは神経原線維変化を示す。

【図14】図14はアルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-262染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図15】図15はアルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-276染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図16】図16はアルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-281染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図17】図17はアルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-308染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図18】図18はアルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-317染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白、白抜きアローヘッドは神経原線維変化を示す。

【図19】図19はアルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-383染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図20】図20はアルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-385染色像である。

10

20

30

40

50

白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図 2 1】図 2 1 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 3 8 6 染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白、白抜きアローヘッドは神経原線維変化を示す。

【図 2 2】図 2 2 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 5 2 5 (左パネル) 染色像および坑アミロイド (A) 抗体染色像 (右パネル: 左パネルの隣接切片) である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図 2 3】図 2 3 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 5 5 6 染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図 2 4】図 2 4 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 5 5 8 染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図 2 5】図 2 5 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 5 5 9 染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図 2 6】図 2 6 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 5 6 1 染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図 2 7】図 2 7 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 5 6 2 染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図 2 8】図 2 8 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 5 6 3 染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図 2 9】図 2 9 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 5 6 5 (左パネル) 染色像および坑アミロイド (A) 抗体染色像 (右パネル: 左パネルの隣接切片) である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図 3 0】図 3 0 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 5 8 5 染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図 3 1】図 3 1 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 7 0 2 染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図 3 2】図 3 2 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 7 0 8 染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図 3 3】図 3 3 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 7 2 7 染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を、白抜きアローヘッドは神経原線維変化を示す。

【図 3 4】図 3 4 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 7 5 2 染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図 3 5】図 3 5 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 7 6 1 染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図 3 6】図 3 6 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 7 6 3 染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【図 3 7】図 3 7 はアルツハイマー病患者脳切片における T H K - 7 6 6 染色像である。白抜き矢印はアミロイド 蛋白を示す。

【発明を実施するための最良の形態】

【0020】

本発明の化合物は以下に説明する式 (I) ~ (VI) で示される化合物、またはその塩もしくは溶媒和物である。本明細書において、「本発明の化合物」という場合には、特に断らないかぎり、式 (I) ~ (VI) の化合物、ならびにそれらの塩および溶媒和物を包含するものとする。本発明の化合物は当業者に知られた方法により得ることができる。

【0021】

なお、本明細書において、例えば「C<sub>1-4</sub>アルキル」とは、炭素数 1 個ないし 4 個のアルキル基をいう。他の炭素数のアルキル基についても同様に表し、その意味も上記例に従って解釈される。また例えば「C<sub>1-4</sub>アルキル」または「炭素数 1 ~ 4 個のアルキル」という場合には、メチル、エチル、プロピル、ブチル、およびこれらの構造異性体を包含するものとする。本明細書において「ハロゲン」という場合、フッ素、塩素、臭素およびヨウ素をいうものとする。また本明細書において、「アミロイドベータ蛋白」、「アミロ

10

20

30

40

50

イド 蛋白」、「A 蛋白」、「アミロイドベータ」、「アミロイド 」、「A 」は同義である。

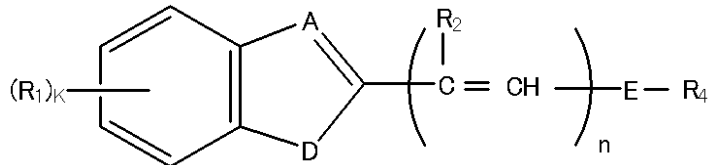
【0022】

本発明の化合物中の2つの環の間に二重結合が存在する場合には、シス、トランス双方の異性体が存在しうる。

【0023】

本発明の化合物の第1の具体例は、式(I)：

【化1】



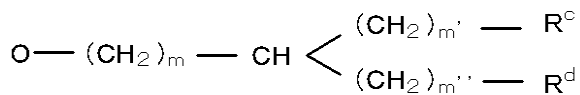
10

[式中、AはCHまたはN；

DはS、NH、N-C<sub>1-3</sub>アルキル、OまたはCH<sub>2</sub>であり；

R<sub>1</sub>はそれぞれ独立して水素、ハロゲン、OH、COOH、SO<sub>3</sub>H、NO<sub>2</sub>、SH、NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>、C<sub>1-6</sub>アルキル、O-C<sub>1-6</sub>アルキル、CN、C=O、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1-6</sub>-OTs、またはO-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CHR<sup>c</sup>R<sup>d</sup>または

【化2】



20

であり；

隣接するR<sub>1</sub>は一緒になってフェニル環を形成してもよく；

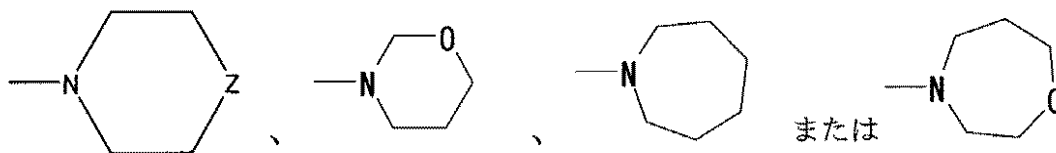
R<sub>2</sub>は水素、C<sub>1-4</sub>アルキル、C<sub>1-4</sub>アルキルハロゲン、OHまたはCNであり；

；

R<sub>4</sub>は水素、ハロゲン、OH、COOH、SO<sub>3</sub>H、NO<sub>2</sub>、SH、NR<sup>5</sup>R<sup>6</sup>、C<sub>1-6</sub>アルキル、O-C<sub>1-6</sub>アルキル、CN、C=O、ピロリジン環、ピロール、ピラゾール、イミダゾール、トリアゾール、または

【化3】

30



であり；

R<sup>a</sup>およびR<sup>b</sup>は独立して水素またはC<sub>1-4</sub>アルキルであり；

R<sup>c</sup>およびR<sup>d</sup>はそれぞれ独立して水素、ハロゲン、OH、COOH、SO<sub>3</sub>H、NO<sub>2</sub>、SH、NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>、C<sub>1-6</sub>アルキル、O-C<sub>1-6</sub>アルキル、CN、C=OまたはOTsであり；

40

R<sup>5</sup>およびR<sup>6</sup>はそれぞれ独立して水素またはC<sub>1-4</sub>アルキルであり；

kは1ないし4の整数であり；

lは1ないし4の整数であり；

mは0ないし3の整数であり；

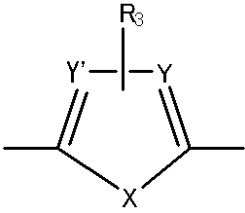
m'は0ないし3の整数であり；

m''は0ないし3の整数であり；

nは1ないし4の整数であり；

Eはベンゼン環または

## 【化4】



であり、

XはCH、S、NH、NC<sub>1-3</sub>アルキルまたはOであり；

YはCHまたはNであり；

Y'はCHまたはNであり；

ZはO、S、CH<sub>2</sub>またはN-R<sup>e</sup>であり；

R<sub>3</sub>はYとY'の両方、または一方がCHのときに存在し、水素、C<sub>1-4</sub>アルキル、OHまたはハロゲンであり；

R<sup>e</sup>は水素またはC<sub>1-4</sub>アルキルであり、

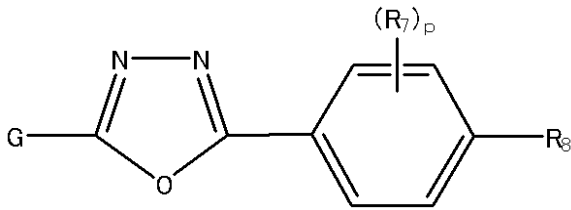
上記アルキルはハロゲンで置換されていてもよく；

2つの環部分をつなぐ二重結合まわりの配置はシス型、トランス型のいずれであってもよい]で示される化合物、またはその塩もしくは溶媒和物である。

## 【0024】

第2の具体例は、式(I I)

## 【化5】



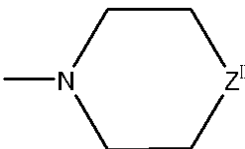
[式中、Gはフラン、チオフェン、ピロール、ピリジン、ベンゾフラン、ベンゾチオフェン、ベンゾオキサゾール、ベンゾチアゾール、ベンゾイミダゾールまたはインドール環であり；

上記環はハロゲン、OH、COOH、SO<sub>3</sub>H、NO<sub>2</sub>、SH、NR<sup>f</sup>R<sup>g</sup>、C<sub>1-6</sub>アルキル、O-C<sub>1-6</sub>アルキル、CNまたはC=Oで置換されていてもよく；

R<sub>7</sub>は水素、ハロゲン、OH、COOH、SO<sub>3</sub>H、NO<sub>2</sub>、SH、NR<sup>f</sup>R<sup>g</sup>、C<sub>1-6</sub>アルキル、O-C<sub>1-6</sub>アルキル、CNまたはC=Oであり；

R<sub>8</sub>は水素、ハロゲン、OH、COOH、SO<sub>3</sub>H、NO<sub>2</sub>、SH、NR<sup>f</sup>R<sup>g</sup>、C<sub>1-6</sub>アルキル、O-C<sub>1-6</sub>アルキル、CN、C=O、ピロリジン環、または

## 【化6】



であり；

R<sup>f</sup>およびR<sup>g</sup>は独立して水素またはC<sub>1-4</sub>アルキルであり；

pは1ないし4の整数であり；

Z<sup>II</sup>はO、CH<sub>2</sub>、N-R<sup>e'</sup>であり；

R<sup>e'</sup>は水素またはC<sub>1-4</sub>アルキルであり、

上記アルキルはハロゲンで置換されていてもよい]で示される化合物、またはその塩もしくは溶媒和物である。

## 【0025】

10

20

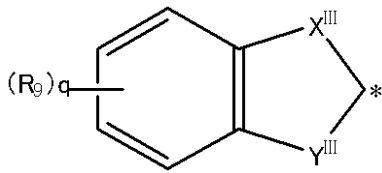
30

40

50

第3の具体例は、式(III)

【化7】



[式中、X<sup>III</sup>およびY<sup>III</sup>は独立してCH<sub>2</sub>またはC=Oであり；

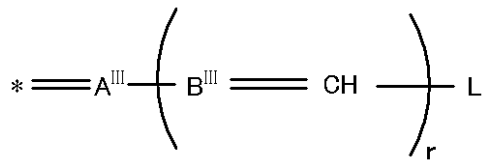
R<sup>9</sup>は水素、ハロゲン、OH、COOH、SO<sub>3</sub>H、NO<sub>2</sub>、SH、NR<sup>h</sup>R<sup>i</sup>、C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>アルキル、O-C<sub>1</sub>-<sub>6</sub>アルキル、CNまたはC=Oであり；

10

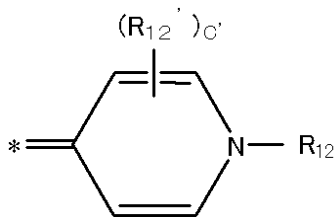
R<sup>h</sup>およびR<sup>i</sup>は独立して水素またはC<sub>1</sub>-<sub>4</sub>アルキルであり；

\*には下記の部分が結合し：

【化8】



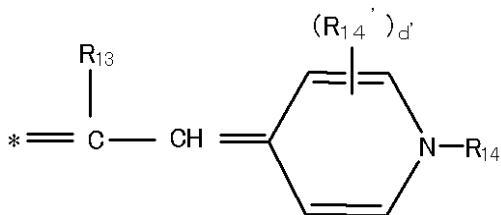
【化9】



20

または

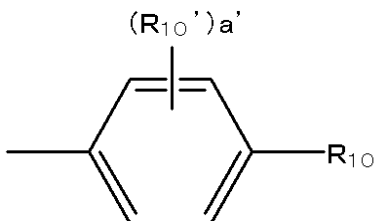
【化10】



30

Lは

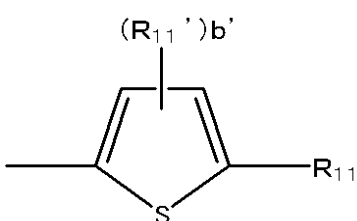
【化11】



40

または

【化12】



であり；

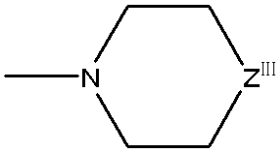
50



$A^{III}$  および  $B^{III}$  は独立して  $CH$  または  $N$  であり ;

$R_{10}$ 、 $R_{11}$ 、 $R_{12}$ 、 $R_{14}$  は独立して水素、ハロゲン、 $OH$ 、 $COOH$ 、 $SO_3H$ 、 $NO_2$ 、 $SH$ 、 $NR^{II}$ 、 $C_{1-6}$  アルキル、 $O-C_{1-6}$  アルキル、 $CN$ 、 $C=O$ 、ピロリジン環、または

【化 1 3】



であり ;

$R_{13}$  は水素、ハロゲンまたは  $C_{1-4}$  アルキルであり ;

$R_{10}'$ 、 $R_{11}'$ 、 $R_{12}'$ 、 $R_{14}'$  は独立して水素、ハロゲンまたは  $C_{1-4}$  アルキルであり ;

$r$  は 0 ないし 2 の整数であり ;

$a'$  は 1 ないし 4 の整数であり ;

$b'$  は 1 または 2 の整数であり ;

$c'$  は 1 ないし 4 の整数であり ;

$d'$  は 1 ないし 4 の整数であり ;

$Z^{III}$  は  $O$ 、 $CH_2$ 、 $N-R^{e'}$  であり ;

$R^{e'}$  は水素または  $C_{1-4}$  アルキルであり、

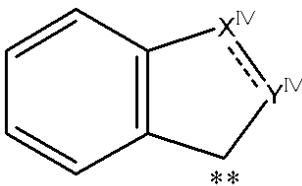
上記アルキルはハロゲンで置換されていてもよく ;

2 つの環部分をつなぐ二重結合まわりの配置は、可能な場合はシス型、トランス型のいずれであってもよい] で示される化合物、またはその塩もしくは溶媒和物である。

【0026】

第 4 の具体例は、式 (IV) :

【化 1 4】



[ 式中、 $X^{IV}$  は  $N$  または  $NR^{IV}$  であり ;

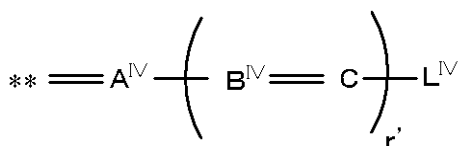
$NR^{IV}$  は水素または  $C_{1-4}$  アルキルであり ;

$Y^{IV}$  は  $CH$  または  $C=O$  であり ;

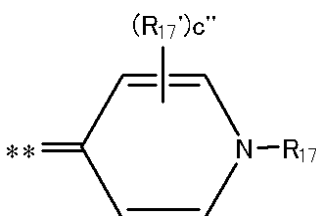
破線は存在してもよい一重結合であり ;

\*\* には下記の部分が結合し :

【化 1 5】



【化 1 6】



10

20

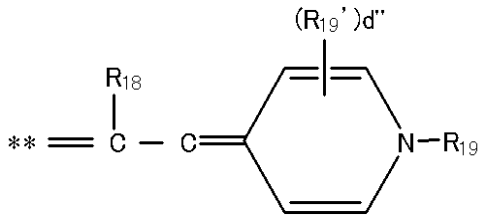
30

40

50

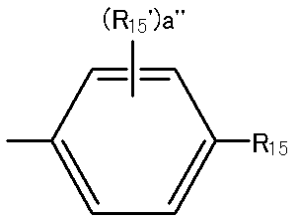
または

【化 1 7】



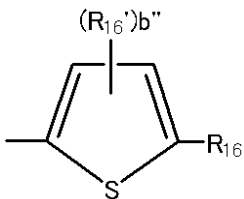
L<sup>I V</sup>は

【化 1 8】



または

【化 1 9】

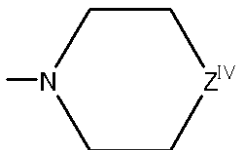


であり；

A<sup>I V</sup>およびB<sup>I V</sup>は独立してCH、CCH<sub>3</sub>またはNであり；

R<sub>15</sub>、R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub>、R<sub>19</sub>は独立して水素、ハロゲン、OH、COOH、SO<sub>3</sub>H、NO<sub>2</sub>、SH、NR<sup>j</sup>R<sup>k</sup>、C<sub>1-6</sub>アルキル、O-C<sub>1-6</sub>アルキル、CN、C=O、ピロリジン環、または

【化 2 0】



であり；

R<sup>j</sup>およびR<sup>k</sup>は独立して水素またはC<sub>1-4</sub>アルキルであり；

R<sub>18</sub>は水素、ハロゲンまたはC<sub>1-4</sub>アルカリであり；

R<sub>15'</sub>、R<sub>16'</sub>、R<sub>17'</sub>、R<sub>19'</sub>は独立して水素、ハロゲンまたはC<sub>1-4</sub>アルカリであり；

r'は0ないし2の整数であり；

a''は1ないし4の整数であり；

b''は1または2の整数であり；

c''は1ないし4の整数であり；

d''は1ないし4の整数であり；

Z<sup>I V</sup>はO、CH<sub>2</sub>、N-R<sup>e''''</sup>であり；

R<sup>e''''</sup>は水素またはC<sub>1-4</sub>アルキルであり、

上記アルキルはハロゲンで置換されていてもよく；

2つの環部分をつなぐ二重結合まわりの配置は、可能な場合はシス型、トランス型のいずれであってもよい]で示される化合物、またはその塩もしくは溶媒和物である。

【0027】

10

20

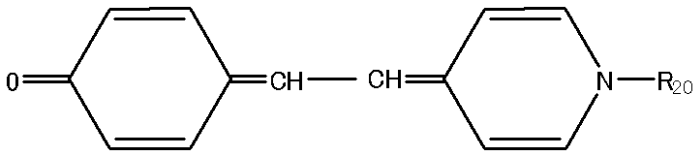
30

40

50

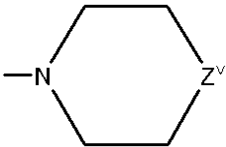
第5の具体例は、式(V)：

【化21】



[式中、 $R_{20}$ は水素または $C_{1-4}$ アルキル、ピロリジン環、または

【化22】



10

であり；

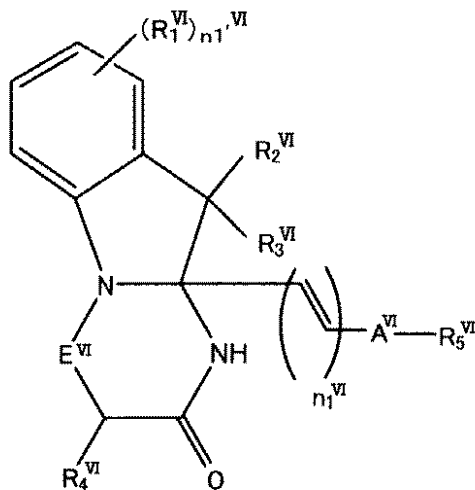
$Z^v$ は $O$ 、 $CH_2$ または $N-R^{eV}$ であり；

$R^{eV}$ は水素または $C_{1-4}$ アルキルである]で示される化合物、またはその塩もしくはは溶媒和物である。

【0028】

第6の具体例は、式(VI)：

【化23】



20

30

[式中、 $R_1^{VI}$ は水素、 $C_{1-6}$ アルキル、ハロゲン、または $C_{1-6}$ アルキル-ハロゲンであり、

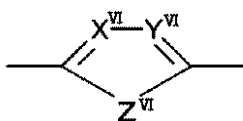
$R_2^{VI}$ および $R_3^{VI}$ はそれぞれ独立して水素または $C_{1-6}$ アルキルであり、

$R_4^{VI}$ は水素または $C_{1-6}$ アルキルであり、

$E^{VI}$ は $CH_2$ または不存在であり、

$A^{VI}$ は5員環または6員環で、下記の構造：

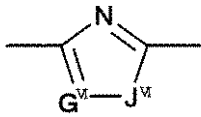
【化24】



40

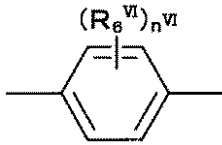
または

## 【化 2 5】



または

## 【化 2 6】



10

を有し；

$X^{VI}$  および  $Y^{VI}$  は独立して N または CH であり；

$Z^{VI}$  は O、S、 $CH_2$  または  $N-C_pH_{2p+1}$  であり；

$G^{VI}$  は N または CH であり；

$J^{VI}$  は O、S、 $CH_2$  または  $N-C_qH_{2q+1}$  であり；

$R_5^{VI}$  は水素、 $C_{1-6}$  アルキル、ピロール、ピラゾール、イミダゾール、トリアゾール、または  $NR_{I_1}^{VI}R_{I_1}^{VI}$  であり、

$R_6^{VI}$  は水素、 $C_{1-6}$  アルキル、またはハロゲンであり、

$R_{I_1}^{VI}$ 、 $R_{I_1}^{VI}$  はそれぞれ独立して水素または  $C_{1-6}$  アルキルであるか、あるいは一緒になってピロリジン環、モルホリン環、ピペリジン環または窒素原子が  $C_{1-3}$  アルキルで置換されていてもよいピペラジン環を形成し、

$n_1^{VI}$  は 1 ないし 4 の整数であり；

$n_1^{VI}$  は 1 ないし 4 の整数であり；

$n^{VI}$  は 1 ないし 4 の整数であり；

$p^{VI}$  は 1 ないし 4 の整数であり；

$q^{VI}$  は 1 ないし 4 の整数であり；

上の式では 2 つの環部分をつなぐ二重結合まわりの配置がトランス型であるが、この配置はシス型、トランス型のいずれであってもよい]

で示される化合物、またはその塩もしくは溶媒和物を提供する。

## 【0029】

本発明の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物の例を下表 1 に示す。

20

30

【表 1 - 1】

	構造	
THK-097		5,6-ジメチル-2-[2-(5-モルフォリン-4-イル-チオフェン-2-イル)-ビニル]-ベンゾチアゾール
THK-101		2-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イル)-3-(5-ピペリジン-1-イル-フラン-2-イル)-アクリロニトリル
THK-203		2-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イル)-3-(5-モルフォリン-4-イル-フラン-2-イル)-アクリロニトリル
THK-207		2-(1H-ベンゾイミダゾール-2-イル)-3-[5-(4-メチル-ピペラジン-1-イル)-フラン-2-イル]-アクリロニトリル
THK-525		6-(2-フルオロ-エトキシ)-2-[2-(2-モルフォリン-4-イル-チアゾール-5-イル)-ビニル]-ベンゾキサゾール
THK-575		トルエン-4-スルフォニック アシド 2-[2-[2-(2-モルフォリン-4-イル-チアゾール-5-イル)-ビニル]-ベンゾキサゾール-6-イロキシ]-エチル エステル
THK-683		(E)-2-[2-(2,2-ジシアノエチルチアゾール-5-イル)エチル]-6-[(2-フルオロメチル-3-ヒドロキシ)プロポキシ]ベンゾキサゾール * 0.2H <sub>2</sub> O

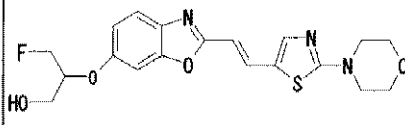
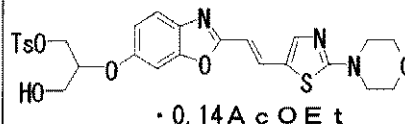
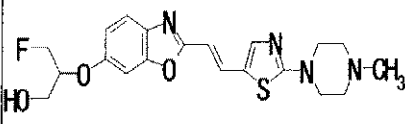
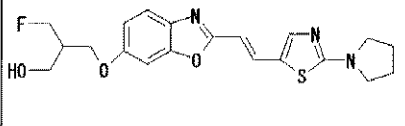
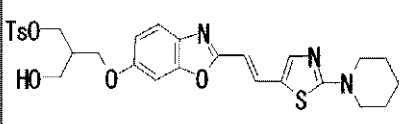
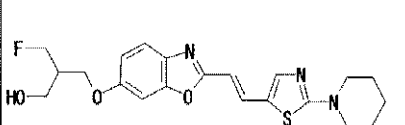
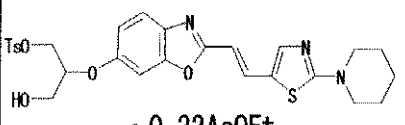
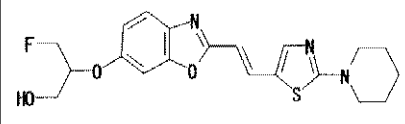
10

20

30

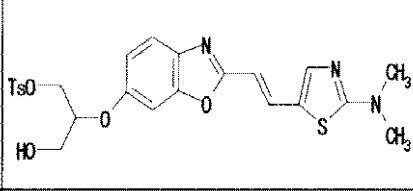
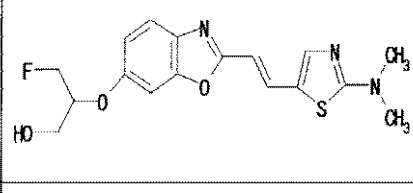
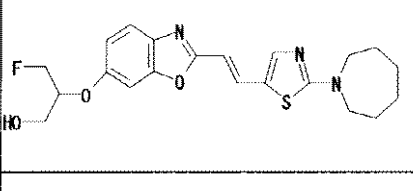
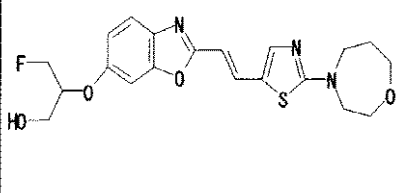
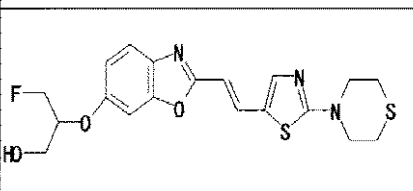
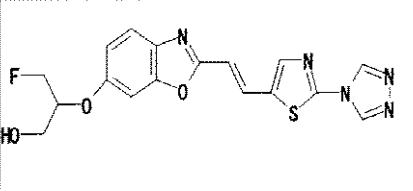
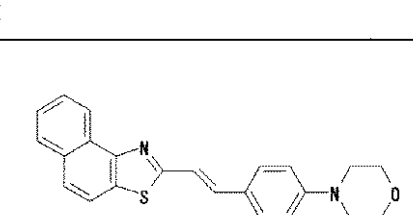
40

【表 1 - 2】

THK-702		(E)-2-[2-(2-モルフォリノチアゾール-5-イル)エテニール]-6-[(1-フルオロメチル-2-ヒドロキシ)エトキシ]ベンゾキサゾール	
THK-703		(E)-6-[(2-ヒドロキシ-1-トシロキシメチル)エトキシ]-2-[2-(2-モルフォリノチアゾール-5-イル)エテニール]-ベンゾキサゾール	10
THK-707		(E)-6-[(1-フルオロメチル-2-ヒドロキシ)エトキシ]-2-[2-[2-(4-メチルピペラジン-1-イル)チアゾール-5-イル]エテニール]ベンゾキサゾール	
THK-708		(E)-6-[(2-フルオロメチル-3-ヒドロキシ)プロポキシ]-2-[2-[2-(ピロリジン-1-イル)チアゾール-5-イル]エテニール]ベンゾキサゾール	20
THK-710		(E)-6-[(3-ヒドロキシ-2-トシロキシメチル)プロポキシ]-2-[2-(2-ピペリジノチアゾール-5-イル)エテニール]ベンゾキサゾール	
THK-711		(E)-6-[(2-フルオロメチル-3-ヒドロキシ)プロポキシ]-2-[2-(2-ピペリジノチアゾール-5-イル)エテニール]ベンゾキサゾール	30
THK-712		(E)-6-[(2-ヒドロキシ-1-トシロキシメチル)エトキシ]-2-[2-(2-ピペリジノチアゾール-5-イル)エテニール]ベンゾキサゾール	
THK-713		(E)-6-[(1-フルオロメチル-2-ヒドロキシ)エトキシ]-2-[2-(2-ピペリジノキサゾール-5-イル)エテニール]ベンゾキサゾール	40



【表 1 - 4】

THK-762		(E)-6-[(2-ヒドロキシ-1-トシロキシメチル)エトキシ]-2-[2-[2-ジメチルアミノチアゾール-5-イル]エテニール]ベンゾキサゾール
THK-763		(E)-6-[(1-フルオロメチル-2-ヒドロキシ)エトキシ]-2-[2-[2-ジメチルアミノチアゾール-5-イル]エテニール]ベンゾキサゾール
THK-765		(E)-6-[(1-フルオロメチル-2-ヒドロキシ)エトキシ]-2-[2-[2-(ホモピペリジン-1-イル)チアゾール-5-イル]エテニール]ベンゾキサゾール
THK-766		(E)-6-[(1-フルオロメチル-2-ヒドロキシ)エトキシ]-2-[2-[2-(2-ホモモルフィリノチアゾール-5-イル)エテニール]ベンゾキサゾール
THK-767		(E)-6-[(1-フルオロメチル-2-ヒドロキシ)エトキシ]-2-[2-[2-(2-チオモルフィリノチアゾール-5-イル)エテニール]ベンゾキサゾール
THK-775		(E)-6-[(1-フルオロメチル-2-ヒドロキシ)エトキシ]-2-[2-[2-(1, 2, 4-トリアゾール-4-イル) -チアゾール-5-イル]エテニール]ベンゾキサゾール
THK-281		2-[2-(4-モルフォリン-4-イルフェニル)-ビニル]-ナフトール[1,2-d]チアゾール

10

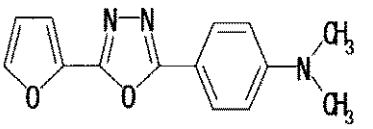
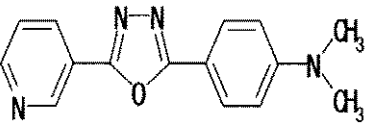
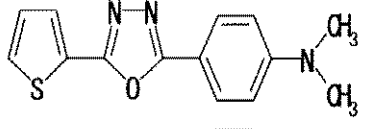
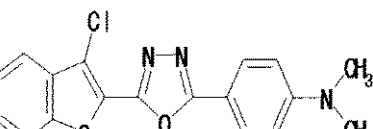
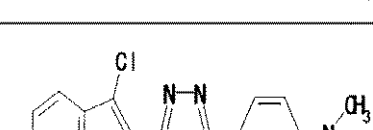
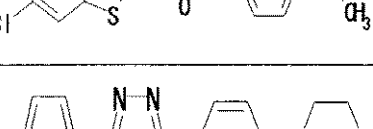
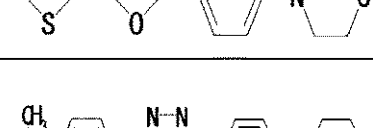
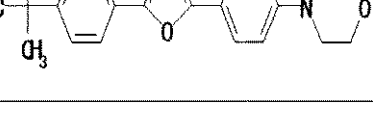
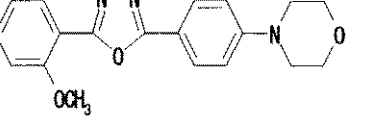
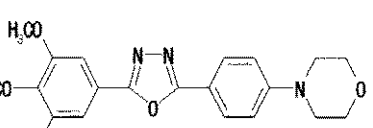
20

30

40



【表 1 - 5】

THK-255		4-(5-フラン-2-イル-[1,3,4]オキサジアゾール-2-イル)-フェニル-ジメチル-アミン	
THK-256		ジメチル-[4-(5-ピリジン-3-イル-[1,3,4]オキサジアゾール-2-イル)-フェニル]-アミン	
THK-257		ジメチル-[4-(5-チオフェン-2-イル-[1,3,4]オキサジアゾール-2-イル)-フェニル]-アミン	10
THK-258		4-[5-(3-クロロ-ベンゾ[b]チオフェン-2-イル)-[1,3,4]オキサジアゾール-2-イル]-フェニル-ジメチルアミン	
THK-262		4-[5-(3,6-ジクロロ-ベンゾ[b]チオフェン-2-イル)-[1,3,4]オキサジアゾール-2-イル]-フェニル-ジメチル-アミン	20
THK-383		4-[4-(5-チオフェン-2-イル-[1,3,4]オキサジアゾール-2-イル)-フェニル]-モルフォリン	
THK-384		4-[4-[5-(4-タート-ブチル-フェニル)-[1,3,4]オキサジアゾール-2-イル]-フェニル]-モルフォリン	30
THK-385		4-[4-(5-オトリル-[1,3,4]オキサジン-2-イル)-フェニル]-モルフォリン	
THK-386		4-[4-[5-(3,4,5-トリメチル-フェニル)-[1,3,4]オキサジアゾール-2-イル]-フェニル]-モルフォリン	40
THK-387		4-[4-[5-(3-クロロ-ベンゾ[b]チオフェン-2-イル)-[1,3,4]オキサジアゾール-2-イル]-フェニル]-モルフォリン	

【表 1 - 6】

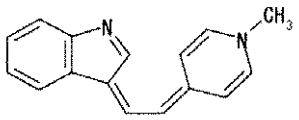
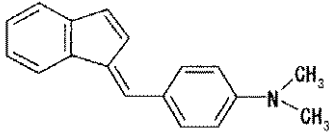
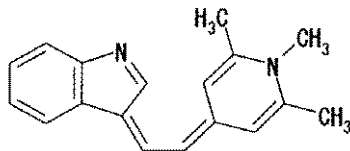
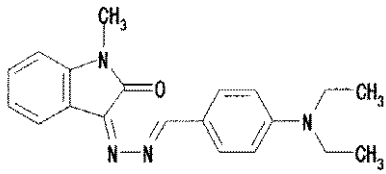
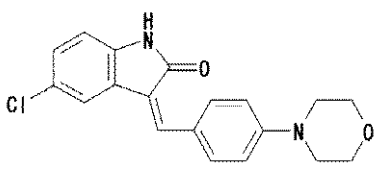
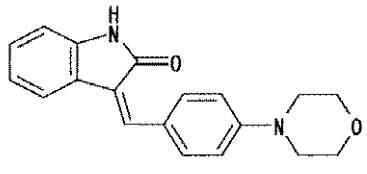
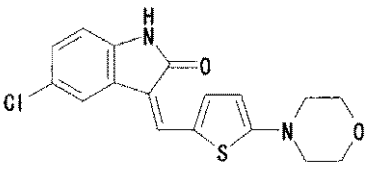
THK-156		2-(5-ジブチルアミノチオフェン-2-イルメチレン)-インダン-1,3-ジオン
THK-184		2-(4-ジメチルアミノベンジリデン)-インダン-1-オン
THK-248		2-[3-(4-ジメチルアミノフェニル)-アリリデン]-インダン-1,3-ジオン
THK-253		2-(4-ジメチルアミノベンジリデン)-インダン-1,3-ジオン
THK-287		2-(1-メチル-1H-ピリジン-4-イリデン)-インダン-1,3-ジオン
THK-532		2-[1-メチル-2-(1-メチル-1H-ピリジン-4-イリデン)-エチリデン]-インダン-1,3-ジオン

10

20

30

【表 1 - 7】

THK-185		3-[2-(1-メチル-1H-ピリジン-4-イリデン)-エチリデン]-3H-インドール
THK-186		(4-インデン-1-イリデンメチル-フェニル)-ジメチル-アミン
THK-209		3-[2-(1,2,6-トリメチル-1H-ピリジン-4-イリデン)-エチリデン]-3H-インドール
THK-254		3-[4-ジメチルアミノ-ベンジリデン)-ヒドラゾノ]-1-メチル-1,3-ジヒドロインドール-2-オン
THK-276		5-クロロ-3-(4-モルフォリン-4-イル-ベンジリデン)-1,3-ジヒドロインドール-2-オン
THK-277		3-(4-モルフォリン-4-イル-ベンジリデン)-1,3-ジヒドロインドール-2-オン
THK-308		5-クロロ-3-(5-モルフォリン-4-イル-チオフェン-2-イルメチレン)-1,3-ジヒドロインドール-2-オン

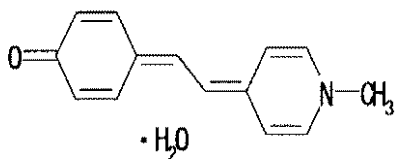
10

20

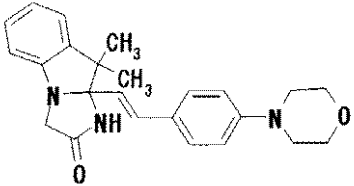
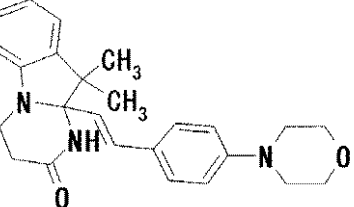
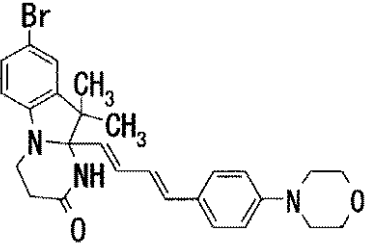
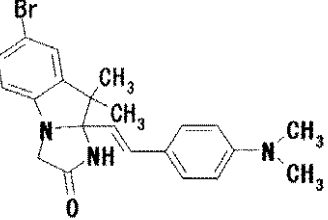
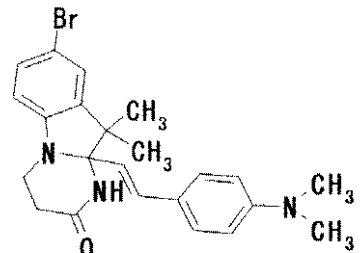
30

40

【表 1 - 8】

THK-317		4-[2-(1-メチル-1H-ピリジン-4-イリデン)-エチリデン]-サイクロヘキサ-2,5-ジエノン
---------	---	---

【表 1 - 9】

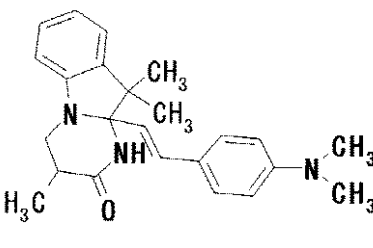
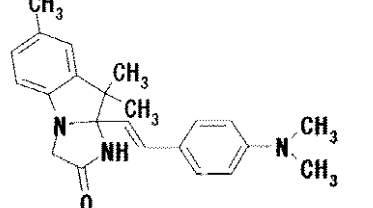
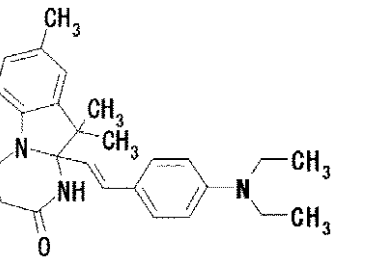
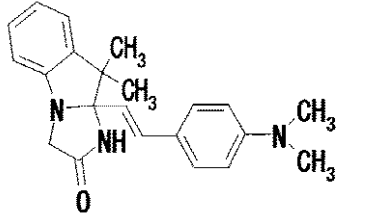
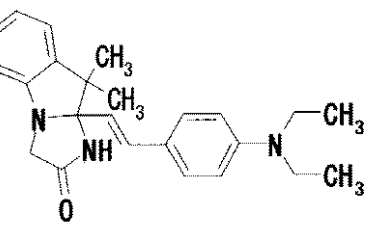
THK-330		9, 9-ジメチル-9a-[2-(4-モルフォリン-4-イル-フェニル)-ヴィニール]-9, 9a-ジヒドロ-1H-イミダゾール [1, 2-a] インドール-2-オン
THK-336		10, 10-ジメチル-10a-[2-(4-モルフォリン-4-イル-フェニル)-ヴィニール]-3, 4, 10, 10a-テトラヒドロ-1H-ピリミドール [1, 2-a] インドール-2-オン
THK-533		8-プロモ 10,10-ジメチル-10a-[4-(4-モルフォリン-4-イル-フェニル)-ブタ-1,3-ジエニル]-3,4,10,10a-テトラヒドロ-1H-ピリミド [1,2-a] インドール-2-オン
THK-556		7-プロモ-9a-[2-(4-ジメチルアミノ-フェニル)-ビニール]-9,9-ジメチル-9,9a-ジヒドロ-1H-イミダゾール [1,2-a] インドール-2-オン
THK-558		8-プロモ-10a-[2-(4-ジメチルアミノ-フェニル)-ビニール]-10,10-ジメチル 1-3,4,10,10a-テトラヒドロ-1H-ピロミド [1,2-a] インドール-2-オン

10

20

30

【表 1 - 10】

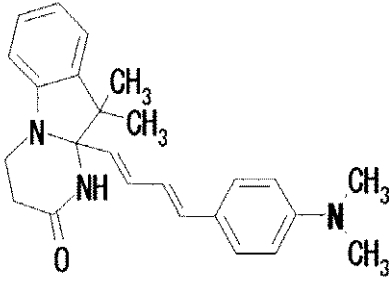
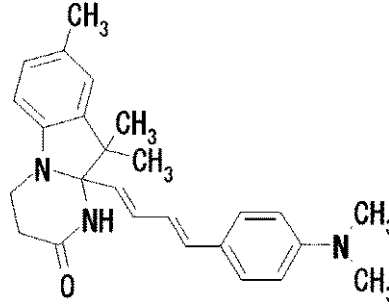
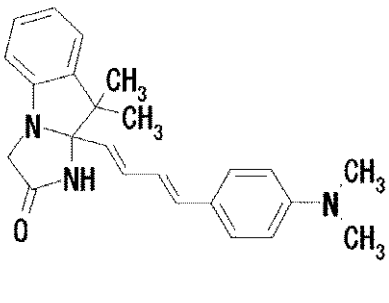
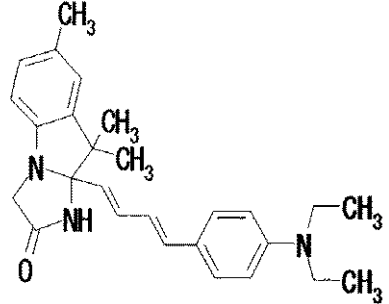
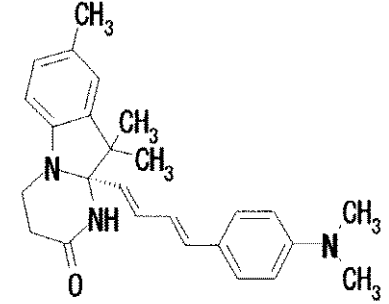
THK-559		10a-[2-(4-ジメチルアミノフェニル)-ビニル]-3,10,10-トリメチルー3,4,10,10a-テトラヒドロ-1H-ピリミド[1,2-a]インドール-2-オン
THK-560		9a-[2-(4-ジメチルアミノフェニル)-ビニル]-7,9,9-トリメチルー9,9a-ジヒドロ-1H-イミダゾ[1,2-a]インドール-2-オン
THK-561		10a-[2-(4-ジメチルアミノフェニル)-ビニル]-8,10,10-トリメチルー3,4,10,10a-テトラヒドロ-1H-ピロミド[1,2-a]インドール-2-オン
THK-562		9a-[2-(4-ジメチルアミノフェニル)-ビニル]-9,9-ジメチルー9,9a-ジヒドロ-1H-イミダゾ[1,2-a]インドール-2-オン
THK-563		9a-[2-(4-ジメチルアミノフェニル)-ビニル]-9,9-ジメチルー9,9a-ジヒドロ-1H-イミダゾ[1,2-a]インドール-2-オン

10

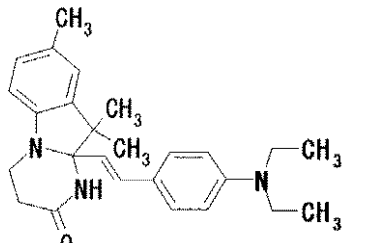
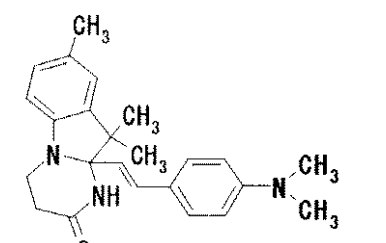
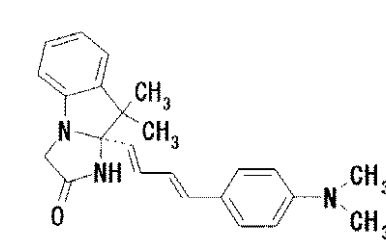
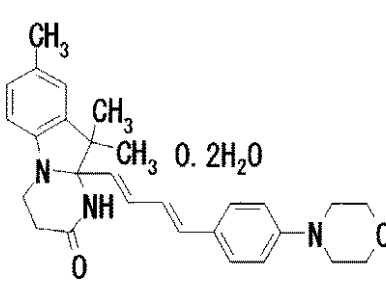
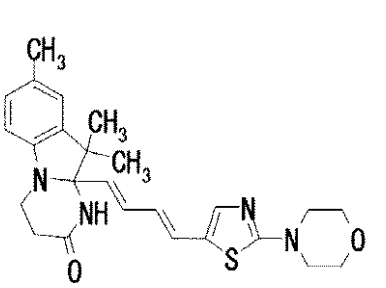
20

30

【表 1 - 1 1】

THK-564		10a-[4-(4-ジメチルアミノフェニル)-ブタ-1,3-ジエニル]-10,10-ジメチル 1-3,4,10,10a-テトラヒドロ-1H-ピリミド[1,2-a]インドール-2-オン	10
THK-565		10a-[4-(4-ジメチルアミノフェニル)-ブタ-1,3-ジエニル]-8,10,10-トリメチル-3,4,10,10a-テトラヒドロ-1H-ピリミド[1,2-a]インドール-2-オン	20
THK-573		9a-[4-(4-ジメチルアミノフェニル)-ブタ-1,3-ジエニル]-9,9-ジメチル 1-9,9a-ジヒドロ-1H-イミダゾ[1,2-a]インドール-2-オン	30
THK-579		9a-[4-(4-ジメチルアミノフェニル)-ブタ-1,3-ジエニル]-7,9,9-トリメチル-9,9a-ジヒドロ-1H-イミダゾ[1,2-a]インドール-2-オン	40
THK-585		10a-[4-(4-ジメチルアミノフェニル)-ブタ-1,3-ジエニル]-8,10,10-トリメチル-3,4,10,10a-テトラヒドロ-1H-ピリミド[1,2-a]インドール-2-オン	

【表 1 - 1 2】

THK-611		10a-[2-(4-ジエチルアミノフェニル)-ビニル]-8,10,10-トリメチルー3,4,10,10a-テトラヒドロ-1H-ピリミド[1,2-a]インドール-2-オン
THK-613		10a-[2-(4-ジメチルアミノフェニル)-ビニル]-8,10,10-トリメチルー3,4,10,10a-テトラヒドロ-1H-ピリミド[1,2-a]インドール-2-オン
THK-614		9a-[4-(4-ジメチルアミノフェニル)-ブター-1,3-ジエニル]-9,9-ジメチルー9,9a-ジヒドロ-1H-イミダゾ[1,2-a]インドール-2-オン
THK-651		10a-[4-[4-(モルフォリノ)フェニル]-1,3-ブタジエニル]-3,4,10,10a-テトラヒドロ 8,10,10-トリメチルピリミド[1,2, -a]インドール-2 (1H) -オン
THK-652		10a-[4-[4-(モルフォリノ)チアゾール-5-イル]-1,3-ブタジエニル]-3,4,10,10a-テトラヒドロ 8,10,10-トリメチルピリミド[1,2, -a]インドール-2 (1H) -オン

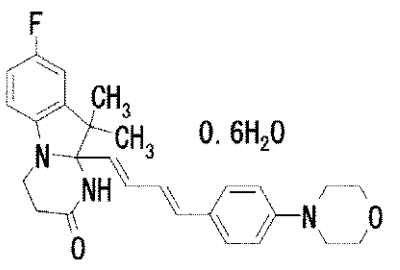
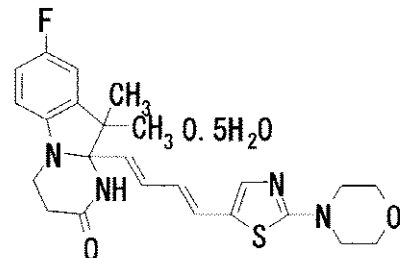
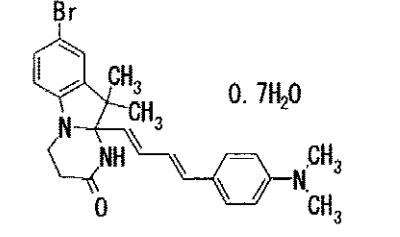
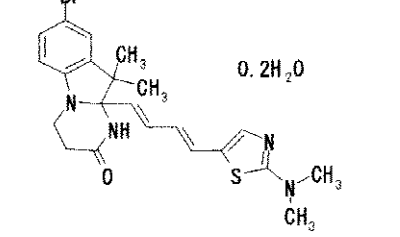
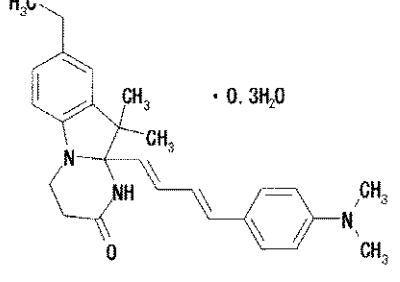
10

20

30

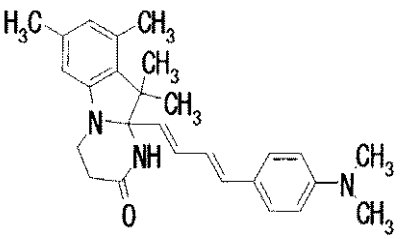
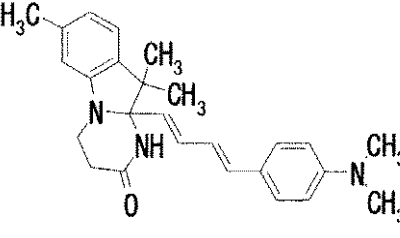
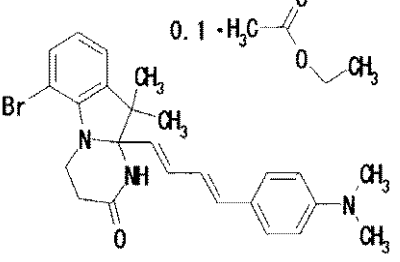
40

【表 1 - 13】

THK-653		8-フルオロ-10, 10-ジメチル-10a-[4-[4-(2-モルフォリノ)フェニル]-1, 3-ブタジエニル]-3, 4, 10, 10a-テトラヒドロ-ピリミド[1, 2, -a]インドール-2 (1H) -オン	10
THK-655		8-フルオロ-10, 10-ジメチル-10a-[4-[4-(2-モルフォリノ)チアゾール-5-イル]-1, 3-ブタジエニル]-3, 4, 10, 10a-テトラヒドロ-ピリミド[1, 2, -a]インドール-2 (1H) -オン	20
THK-700		8-ブロモ-10, 10-ジメチル-10a-[4-[4-(ジメチルアミノ)フェニル]-1, 3-ブタジエニル]-3, 4, 10, 10a-テトラヒドロ-ピリミド[1, 2-a]インドール-2 (1H) -オン	30
THK-701		8-ブロモ-10, 10-ジメチル-10a-[4-[2-(ジメチルアミノ)チアゾール-5-イル]-1, 3-ブタジエニル]-3, 4, 10, 10a-テトラヒドロ-ピリミド[1, 2-a]インドール-2 (1H) -オン	40
THK-705		8-エチル-10, 10, ジメチル-10a-[4-[4-(ジメチルアミノ)フェニル]-1, 3-ブタジエニル]-3, 4, 10, 10a-テトラヒドロ-ピリミド[1, 2-a]インドール-2 (1H) -オン	40



【表 1 - 1 4】

THK-715		7, 9, 10, 10-テトラメチル -10a-[4-[4-(ジメチルアミノ)フェニ ル]-1, 3-ブタジエニル]-3, 4, 10, 10a- テトラヒドロ-ピリミド[1, 2-a]インド ール-2(1H)-オン
THK-716		7-メチル-10, 10-ジメチル -10a-[4-[4-(ジメチルアミノ)フェニ ル]-1, 3-ブタジエニル]-3, 4, 10, 10a- テトラヒドロ-ピリミド[1, 2-a]インド ール-2(1H)-オン
THK-717		6-ブロモ-10, 10-ジメチル -10a-[4-[4-(ジメチルアミノ)フェニ ル]-1, 3-ブタジエニル]-3, 4, 10, 10a- テトラヒドロ-ピリミド[1, 2-a]インド ール-2(1H)-オン

10

20

## 【 0 0 3 0】

本発明の化合物、その塩もしくは溶媒和物のうち好ましいものは式 (I) で示される化合物、またはその塩もしくは溶媒和物である。本発明の化合物、その塩もしくは溶媒和物のうち、末端にモルホリン環を有するものがさらに好ましい。末端にモルホリン環を有する化合物は変異原性が極めて低いか、あるいは実施例に示すように変異原性が認められなかった。さらに実施例に示すように、これらの化合物、その塩もしくは溶媒和物は A に対する特異性が高く、そのうえ毒性が低く、脳移行性が高いものである。それゆえ、本発明の化合物を、コンフォーメーション病の画像診断のための、安全なプローブとして使用することができる。

30

## 【 0 0 3 1】

したがって、本発明は：

- (1) 上記式 (I) で示される化合物、またはその塩もしくは溶媒和物；
- (2) THK - 097、THK - 203、THK - 207、THK - 281、THK - 525、THK - 702、THK - 708、THK - 727、THK - 752、THK - 761、THK - 763 および THK - 766 からなる群より選択される (1) 項記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物；
- (3) R<sup>4</sup> がモルホリン環である (1) 記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物；
- (4) THK - 097、THK - 203、THK - 525、THK - 575、THK - 702、THK - 703、THK - 726 および THK - 727 からなる群より選択される (3) 記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物；
- (5) THK - 683、THK - 707、THK - 708、THK - 711、THK - 713、THK - 752、THK - 761 および THK - 763 からなる群より選択され

40

50

る(1)記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物；

(6)標識された(1)~(5)のいずれかに記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物；

(7)放射性標識で標識された(6)記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物；

(8)標識が陽電子放出核である(7)記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物；

(9)(1)ないし(8)のいずれかに記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物を含有する、コンフォーメーション病診断用組成物；

(10)(1)ないし(8)のいずれかに記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物を含有する、コンフォーメーション病を治療および/または予防するための医薬組成物；

(11)(1)ないし(8)のいずれかに記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物を必須の構成要素として含む、コンフォーメーション病診断用キット；

(12)(1)ないし(8)のいずれかに記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物を必須の構成要素として含む、シート構造をとった蛋白または神経原線維変化を検出または染色するための組成物またはキット；

(13)画像診断用である、(9)記載の組成物または(11)もしくは(12)記載のキット；

(14)(1)ないし(8)のいずれかに記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物を対象に投与することを特徴とする、対象におけるコンフォーメーション病の治療および/または予防方法；

(15)(1)ないし(8)のいずれかに記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物を対象に投与することを特徴とする、対象におけるコンフォーメーション病の診断方法；

(16)対象におけるコンフォーメーション病の診断用組成物またはキットを製造するための、(1)ないし(8)のいずれかに記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物の使用；

(17)対象におけるコンフォーメーション病の治療および/または予防のための医薬組成物を製造するための、(1)ないし(8)のいずれかに記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物の使用；

(18)(1)ないし(8)のいずれかに記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物を用いて試料を染色することを特徴とする、試料中のシート構造をとった蛋白または神経原線維変化を検出または染色する方法；

(19)試料中のシート構造をとった蛋白または神経原線維変化を検出または染色するための組成物またはキットを製造するための、(1)ないし(8)のいずれかに記載の化合物、またはその塩もしくは溶媒和物の使用；

(20)化合物がTHK-727である、(12)記載の組成物またはキット、(18)記載の方法、あるいは(19)記載の使用を提供するものである。

#### 【0032】

本発明の化合物についてさらに詳述する。好ましい式(I)の化合物の置換基は以下のとおりである；

好ましいDはO、SまたはNHであり；

好ましいR<sub>1</sub>は水素、メチル、エチル、C<sub>1-6</sub>アルキル、O-C<sub>1-6</sub>アルキル、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>1</sub>-OTs、またはO-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH<sub>2</sub>R<sup>c</sup>R<sup>d</sup>であり、アルキル基はハロゲンまたはOHで置換されていてもよく；また、隣り合う2個のR<sub>1</sub>が一緒になってベンゼン環を形成することも好ましく；

好ましいR<sub>2</sub>は水素またはCNである。

好ましいR<sub>4</sub>はピロリジン環、モルホリン環、ピペリジン環、または窒素原子がC<sub>1-3</sub>アルキルで置換されていてもよいピペラジン環であり；

10

20

30

40

50

好ましい  $R^a$  および  $R^b$  は水素またはメチルであり；  
 好ましい  $R^c$  および  $R^d$  は水素、メチル、ハロゲン、OH または OTs であり；  
 好ましい  $R_5$  および  $R_6$  は水素またはメチルであり；  
 $R_1$  が水素以外の場合の好ましい  $k$  は 1 または 2 であり；  
 好ましい  $l$  は 1 または 2 であり；  
 好ましい  $m$  は 0 ~ 2 であり；  
 好ましい  $n$  は 1 であり；  
 好ましい  $X$  は S または O であり；  
 好ましい  $Y$  は CH または N であり；  
 好ましい  $Y'$  は CH または N であり；  
 好ましい  $Z$  は O、CH、N -  $R^e$  であり；  
 好ましい  $R_3$  は水素であり；  
 好ましい  $R^e$  は水素またはメチルであり；  
 また E がベンゼン環である場合も好ましく；  
 上記アルキルはフッ素、塩素または臭素にて置換されていてもよく；  
 2つの環部分をつなぐ二重結合まわりの配置はシス型、トランス型のいずれであってもよい。

10

## 【0033】

式 (I) の化合物のうち、 $R_4$  がモルホリン環であるものは、変異原性が極めて低いか、あるいはないので、より好ましい化合物である。 $R_4$  がモルホリン環である式 (I) の化合物は THK - 097、THK - 203、THK - 525、THK - 575、THK - 702、THK - 703、THK - 726、THK - 727 などである。また、式 (I) の化合物のなかで THK - 683、THK - 707、THK - 708、THK - 711、THK - 713、THK - 752、THK - 761、THK - 763 も変異原性が極めて低いか、あるいはないので、これらもまた、より好ましい化合物である。本発明の化合物のうち、変異性が低いか、またはないものとして、さらに好ましい化合物は、本願明細書実施例の変異原性試験の項目に記載された方法に従って試験した場合、S9mix 非存在下で比活性がマイナスであり、かつ S9mix 存在下で比活性がマイナスであるか、または  $10^4$  のオーダー以下である化合物である。アミロイド に対する特異性が高い式 (I) の化合物は THK - 097、THK - 203、THK - 207、THK - 281、THK - 525、THK - 702、THK - 708、THK - 727、THK - 752、THK - 761、THK - 763、THK - 766 などである。したがって、アミロイド に対する特異性が高く、変異原性が極めて低いか、あるいは無い式 (I) の化合物は、THK - 097、THK - 203、THK - 525、THK - 702、THK - 708、THK - 727、THK - 752、THK - 761、THK - 763 などである。

20

30

## 【0034】

好ましい式 (II) の化合物の置換基は以下のとおりである：

好ましい G はフラン、チオフェン、ピロール、ピリジン、ベンゾフラン、ベンゾチオフェンまたはインドール環であり；

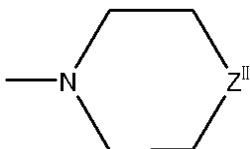
上記環はハロゲン、 $C_{1-6}$  アルキルまたは O -  $C_{1-6}$  アルキルで置換されていてもよく；

好ましい  $R_7$  は水素であり；

好ましい  $R_8$  は水素または  $NR^f R^g$  または

40

## 【化27】



であり；

好ましい  $Z^{II}$  は O であり；

50

好ましい  $R^f$  および  $R^g$  は独立して水素またはメチルであり；  
 $p$  は 1 ないし 4 の整数であり；  
 上記アルキルはハロゲンで置換されていてもよい。

## 【0035】

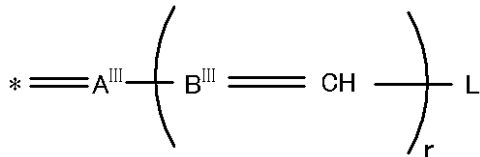
式 (II) の化合物のうち、 $R_8$  がモルホリン環であるものは、変異原性が極めて低いか、あるいはないので、より好ましい化合物である。かかる式 (II) の化合物は THK - 383、THK - 384、THK - 385、THK - 386 および THK - 387 などである。アミロイド に対する特異性が高い式 (II) の化合物は THK - 258、THK - 262、THK - 383、THK - 385 および THK - 386 などである。したがって、アミロイド に対する特異性が高く、変異原性が極めて低いか、あるいは無い式 (II) の化合物は、THK - 383、THK - 385 および THK - 386 などである。

10

## 【0036】

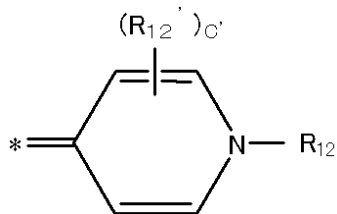
好ましい式 (III) の化合物の置換基は以下のとおりである；  
 好ましくは  $X^{III}$  および  $Y^{III}$  の一方または両方が  $C=O$  であり；  
 好ましい  $R^9$  は水素であり；  
 \* には下記の部分が結合し：

## 【化28】



20

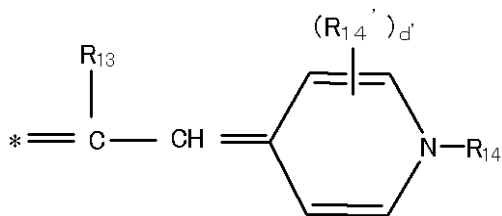
## 【化29】



または

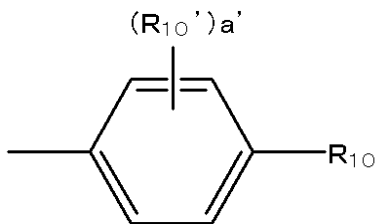
30

## 【化30】



L は

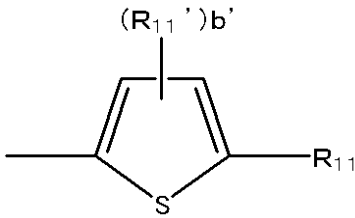
## 【化31】



または

40

## 【化 3 2】



であり；

好ましい A<sup>III</sup> および B<sup>III</sup> は CH であり；

好ましい R<sub>10</sub>、R<sub>11</sub>、R<sub>12</sub>、R<sub>14</sub> は独立して水素、C<sub>1-6</sub> アルキルまたはモルホリン環であり；

好ましい R<sub>13</sub> は水素またはメチルであり；

好ましい R<sub>10'</sub>、R<sub>11'</sub>、R<sub>12'</sub>、R<sub>14'</sub> は独立して水素または C<sub>1-4</sub> アルキルであり；

好ましい r は 0 または 1 の整数であり；

置換基が水素以外の場合の好ましい a'、b'、c'、d' は独立して 1 または 2 の整数であり；

上記アルキルはハロゲンで置換されていてもよく；

2つの環部分をつなぐ二重結合まわりの配置は、可能な場合にはシス型、トランス型のいずれであってもよい。

## 【0037】

式 (III) の化合物のうち、R<sub>10</sub>、R<sub>11</sub>、R<sub>12</sub> または R<sub>14</sub> がモルホリン環であるものは、変異原性が極めて低いか、あるいはないので、より好ましい化合物である。アミロイド に対する特異性が高い式 (III) の化合物は THK - 184 および THK - 248 などである。

## 【0038】

好ましい式 (IV) の化合物の置換基は以下のとおりである：

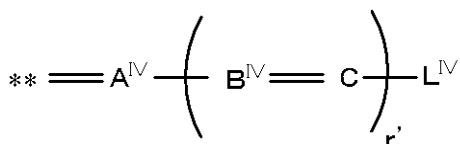
好ましい X<sup>V</sup> は N、NH または NCH<sub>3</sub> であり；

好ましい Y<sup>V</sup> は CH または C=O であり；

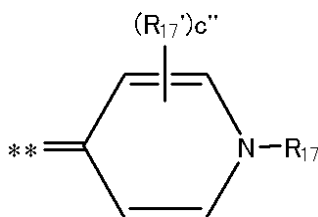
破線は存在してもよい一重結合であり；

\*\* には下記の部分が結合し：

## 【化 3 3】



## 【化 3 4】



または

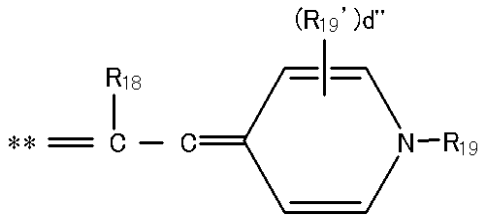
10

20

30

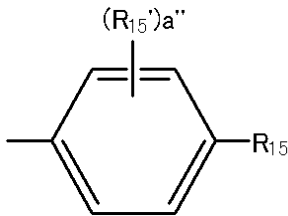
40

## 【化 3 5】



L<sup>I V</sup> は

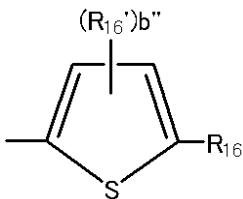
## 【化 3 6】



10

または

## 【化 3 7】



20

であり；

好ましい A<sup>I V</sup> および B<sup>I V</sup> は独立して CH または N であり；

R<sub>15</sub>、R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub>、R<sub>19</sub> は水素、NH<sub>2</sub>、N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> またはモルホリン環であり；

好ましい R<sub>18</sub> は水素であり；

好ましい R<sub>15'</sub>、R<sub>16'</sub>、R<sub>17'</sub>、R<sub>19'</sub> は独立して水素または C<sub>1-4</sub> アルカリであり；

30

好ましい r' は 1 であり；

a'' は 1 ないし 4 の整数であり；

b'' は 1 または 2 の整数であり；

c'' は 1 ないし 4 の整数であり；

d'' は 1 ないし 4 の整数であり；

Z<sup>I V</sup> は O、CH<sub>2</sub>、N-R<sup>e''''</sup> であり；

R<sup>e''''</sup> は水素または C<sub>1-4</sub> アルキルであり、

上記アルキルはハロゲンで置換されていてもよく；

2つの環部分をつなぐ二重結合まわりの配置は、可能な場合はシス型、トランス型のいずれであってもよい。

40

## 【0039】

式 (IV) の化合物のうち、R<sub>15</sub>、R<sub>16</sub>、R<sub>17</sub> または R<sub>19</sub> がモルホリン環であるものは、変異原性が極めて低いか、あるいはないので、より好ましい化合物である。かかる式 (IV) の化合物は THK - 276、THK - 277 および THK - 308 などである。アミロイド に対する特異性が高い式 (IV) の化合物は THK - 185、THK - 254、THK - 276、THK - 308 などである。したがって、したがって、アミロイド に対する特異性が高く、変異原性が極めて低いか、あるいは無い式 (IV) の化合物は、THK - 276 および THK - 308 などである。

## 【0040】

好ましい式 (V) の化合物の置換基は以下のとおりである；

50

好ましい  $R_{20}$  は水素、メチルまたはモルホリン環である。 $R_{20}$  がモルホリン環であるものは、変異原性が極めて低いか、あるいはないので、より好ましい化合物である。アミロイド に対する特異性が高い式 (V) の化合物は THK - 317 などである。

【0041】

好ましい式 (VI) の化合物の置換基は以下のとおりである：

好ましい  $R_1^{VI}$  は水素、 $C_{1-3}$  アルキル、フッ素、塩素もしくは臭素であり、

好ましい  $R_2^{VI}$  および  $R_3^{VI}$  はメチルであり、

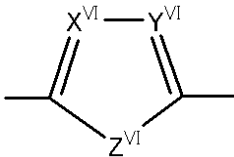
好ましい  $R_4^{VI}$  は水素であり、

$E^{VI}$  は  $CH_2$  または不存在であり、

$A^{VI}$  は 5 員環または 6 員環で、下記の構造：

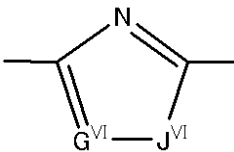
10

【化38】



または

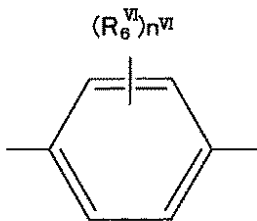
【化39】



20

または

【化40】



30

を有し；

$X^{VI}$  および  $Y^{VI}$  は独立して N または  $CH$  であり；

好ましい  $Z^{VI}$  は S であり；

$G^{VI}$  は N または  $CH$  であり；

好ましい  $J^{VI}$  は O、S または  $CH_2$  であり；

好ましい  $R_5^{VI}$  は水素、 $N(CH_3)_2$  またはモルホリン環であり；

40

好ましい  $R_6^{VI}$  はすべて水素であり；

好ましい  $n_6^{VI}$  は 1 または 2 の整数であり；

2 つの環部分をつなぐ二重結合まわりの配置はシス型、トランス型のいずれであってもよい。

【0042】

式 (VI) の化合物のうち、 $R_5^{VI}$  がモルホリン環であるものは、変異原性が極めて低いか、あるいはないので、より好ましい化合物である。かかる式 (VI) の化合物は THK - 330、THK - 336、HK - 533、THK - 651、THK - 652、THK - 653、THK - 655 などである。アミロイド に対する特異性が高い式 (VI) の化合物は THK - 556、THK - 558、THK - 559、THK - 561、THK

50

- 562、THK-563、THK-565、THK-585などである。

【0043】

本発明の化合物の塩も本発明に包含される。本発明の化合物中の窒素原子またはいずれかの官能基とともに塩が形成されてもよい。化合物中にカルボキシル基またはスルホン酸基が存在するような場合、これと金属との間に塩が形成されてもよい。かかる塩の例としては、リチウム、ナトリウム、カリウムのごときアルカリ金属との塩、マグネシウム、カルシウム、バリウムのごときアルカリ土類金属との塩等が挙げられる。本発明の化合物が水酸基を含む場合、その水素がナトリウム、カリウム等の金属となっている化合物も、本発明に包含される。さらに、本発明の化合物と金属塩とで形成される錯体（例えば塩化マグネシウム、塩化鉄のごとき金属塩とで形成される錯体）が存在する場合には、これらも本明細書においては本発明の化合物の塩に含めることとする。対象の体内において本発明の化合物の塩を使用する場合には、それが医薬上許容される塩であることが好ましい。本発明の化合物の医薬上許容される塩としては、例えば、塩素、臭素、ヨウ素のごときハロゲン化物イオンとの塩、あるいはナトリウム、カリウム、カルシウムのごとき金属との塩がある。かかる塩は本発明に包含される。

10

【0044】

また、本発明の化合物の溶媒和物も本発明に包含される。溶媒和物としては、水和物、メタノール和物、エタノール和物、アンモニア和物等が挙げられる。対象の体内において本発明の化合物の溶媒和物を使用する場合には、それが医薬上許容される溶媒和物であることが好ましい。医薬上許容される溶媒和物としては、水和物、エタノール和物等が挙げられる。本明細書において、「本発明の化合物」または「本発明の化合物」という場合、本発明の化合物、ならびにその塩および溶媒和物を包含するものとする。

20

【0045】

さらに本発明は、本発明の化合物の合成のための前駆体として使用できる化合物も提供する。当業者は、かかる前駆体を、目的とする本発明の化合物の構造から容易に設計することができ、その合成をすることができる。あるいはかかる前駆体は市販されているものを修飾することによって得ることもできる。

【0046】

コンフォーメーション病の診断においては本発明の化合物を標識せずにプローブとして用いることができる。例えば、生検試料に本発明の化合物を接触させて、染色される部分の有無を調べてもよい。しかしながら、標識した本発明の化合物をコンフォーメーション病の診断用プローブとして使用するのが一般的である。標識には、蛍光物質、アフィニティー物質、酵素基質、放射性核種等がある。コンフォーメーション病の画像診断には通常、放射性核種で標識したプローブを使用する。当該分野においてよく知られた方法により種々の放射性核種で本発明の化合物を標識することができる。例えば、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^3\text{S}$ 、 $^{131}\text{I}$ 等は以前から使用されている放射性核種であり、インビトロでの利用例が多い。画像診断プローブおよびその検出手段に求められる一般的要件としては、インビボで診断できること、患者へのダメージが少ないこと（特に非侵襲的であること）、検出感度が高いこと、半減期が適当な長さであること（標識プローブ調製時間、診断時間が適当であること）等が挙げられる。そこで、最近では、高い検出感度と物質透過性を示す線を利用した陽電子断層撮影法（PET）または線放出核種によるコンピューター断層撮影法（SPECT）が用いられるようになってきた。このうち、PETは、陽電子放出核種から正反対の方向に放射される2本の線を1対の検出器により同時計数法により検出するので、解像力や定量性に優れた情報が得られるので好ましい。SPECT用には $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{201}\text{Tl}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{133}\text{Xe}$ 等の線放出核種で本発明の化合物を標識することができる。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ および $^{123}\text{I}$ がSPECTによく用いられている。PET用には $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{62}\text{Cu}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{76}\text{Br}$ 等の陽電子放出核種で本発明の化合物を標識することができる。陽電子放出核種のなかでも、半減期が適当であること、標識しやすさ等の点から $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{18}\text{F}$ が好ましく、 $^{18}\text{F}$ が特に好ましい。放射性核種、例えば陽電子放出核種、線

30

40

50



放出核種等の放射線放出核種での本発明の化合物の標識位置は、式 I 中のいずれの位置であってもよい。あるいは環上の水素が陽電子放出核種、線放出核種等の放射線放出核種で置換されていてもよい。本発明の化合物の標識位置はいずれの位置であってもよいが、好ましい標識位置は化合物中のアルキル基および/またはフェニル環上である。このような標識された本発明の化合物も本発明に包含される。例えば、本発明の化合物を $^{18}\text{F}$ で標識する場合、側鎖のいずれかが $^{18}\text{F}$ で標識されていてもよく、あるいは環上の水素が $^{18}\text{F}$ で置換されていてもよい。また例えば、アルキル置換基のいずれかに含まれる水素を $^{18}\text{F}$ 等で置換してもよい。

【0047】

一般的には、これらの核種はサイクロトロンまたはジェネレーターと呼ばれる装置により産生される。当業者は、産生核種に応じた産生方法および装置が選択可能である。そのようにして産生された核種を用いて本発明の化合物を標識することができる。

10

【0048】

これらの放射性核種で標識された標識化合物の製造方法は当該分野においてよく知られている。代表的な方法としては、化学合成法、同位体交換法および生合成法がある。化学合成法は従来から広く用いられており、放射性の出発物質を用いること以外は通常の化学合成法と本質的に変わらない。この方法により種々の核種が化合物に導入されている。同位体交換法は、簡単な構造の化合物中の $^3\text{H}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{125}\text{I}$ 等を複雑な構造の化合物中に移して、これらの核種で標識された複雑な構造の化合物を得る方法である。生合成法は $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ 等で標識した化合物を微生物等の細胞に与えてこれらの核種が導入された代謝産物を得る方法である。

20

【0049】

標識位置については、通常合成と同様に合成スキームを目的に応じて設計することにより、所望位置に標識を導入することができる。かかる設計は当業者によく知られている。

【0050】

また、例えば、比較的半減期の短い $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{18}\text{F}$ 等の陽電子放出核種を用いる場合、病院等の施設内の設置された(超)小型サイクロトロンから所望核種を得て、上記の方法により所望化合物を所望位置で標識して、即座に診断、検査、治療等に使用することも可能となっている。

30

【0051】

これらの当業者に公知の方法により、本発明の化合物の所望位置に所望核種を導入して標識することができる。

【0052】

本発明標識化合物の対象への投与は局所的であってもよく、あるいは全身的であってもよい。投与経路としては、皮内、腹腔内、静脈、動脈、または脊髄液への注射または輸液等があるが、疾病の種類、使用核種、使用化合物、対象の状態、検査部位等の要因により選択できる。本発明プローブを投与して、アミロイド 蛋白への結合および崩壊のための十分な時間経過後、PET、SPECT等の手段で検査部位を調べることができる。これらの手段は、疾病の種類、使用核種、使用化合物、対象の状態、検査部位等の要因に応じて適宜選択できる。

40

【0053】

放射性核種で標識された本発明の化合物の用量は、疾病の種類、使用核種、使用化合物、対象の年齢、身体的状態、性別、疾病の程度、検査部位等により様々である。特に、対象の被曝量については十分に注意する必要がある。例えば、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{18}\text{F}$ のごとき陽電子放出核種により標識された本発明の化合物の放射エネルギーは、通常には、3.7メガベクレルないし3.7ギガベクレル、好ましくは、18メガベクレルないし740メガベクレルの範囲である。

【0054】

本発明の化合物またはその塩もしくは溶媒和物は、以下に述べるコンフォーメーション

50

病の治療方法、診断方法、治療用組成物、診断用組成物、診断用キット、これらの組成物およびキットを製造するための使用、ならびにその他の使用に適しているが、式(I)~(VI)の化合物に関する上記説明において例示した化合物またはその塩もしくは溶媒和物が好ましく、式(I)の化合物またはその塩もしくは溶媒和物に包含されるものが特に好ましい。本発明の化合物のうち、モルホリン環、特に末端基としてのモルホリン環を有するものは変異原性が無いかあるいは極めて低いので、人体への投与に適している。

#### 【0055】

本発明は、本発明の化合物を含む、コンフォーメーション病の画像診断用組成物を提供する。本発明組成物は、本発明の化合物および医薬上許容される担体を含む。組成物中の本発明の化合物は標識されていることが好ましい。上記のごとき標識法は様々であるが、インビボでの画像診断用途には放射性核種（特にPET用には $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{18}\text{F}$ のごとき陽電子放出核種）で標識されていることが望ましい。本発明組成物の形態は、その目的からすれば注射あるいは輸液可能な形態であることが好ましい。したがって、医薬上許容される担体は液体であるものが好ましく、リン酸カリウム緩衝液、生理食塩水、リンゲル液、蒸留水等のごとき水性溶媒、あるいはポリエチレングリコール、植物性油脂、エタノール、グリセリン、ジメチルスルホキサイド、プロピレングリコール等のごとき非水性溶媒があるが、これらに限らない。担体と本発明の化合物との配合比率は、適用部位、検出手段等に応じて適宜選択できるが、通常には10万対1ないし2対1の比率であり、好ましくは1万対1ないし10対1の比率である。また、本発明組成物はさらに公知の抗菌剤（例えば、抗生剤等）、局所麻酔剤（例えば、塩酸プロカイン、塩酸ジブカイン等）、バッファー（例えば、トリス-塩酸バッファー、ヘプスバッファー等）、浸透圧調節剤（例えば、グルコース、ソルビトール、塩化ナトリウム等）等を含含有していてもよい。

10

20

30

#### 【0056】

さらに本発明は、本発明の化合物を必須の構成成分として含む、コンフォーメーション病の画像診断用キットを提供する。通常には、キットは、本発明の化合物、それを溶解する溶剤、バッファー、浸透圧調節剤、抗菌剤、局所麻酔剤等の各成分を別個に、あるいはいくつかを一緒にしてそれぞれの容器に入れたものをひとまとめにしたものである。本発明の化合物は未標識であっても、標識されていてもよい。未標識の場合、上で説明したような通常の方法により、使用前に本発明の化合物を標識することができる。また本発明の化合物は凍結乾燥粉末等の固形として提供してもよく、あるいは適当な溶媒中に溶解して提供してもよい。溶剤としては上述の本発明組成物に用いる担体と同様のものでもよい。また、バッファー、浸透圧調節剤、抗菌剤、局所麻酔剤等の各成分も上述の本発明組成物に使用するものと同様のものでもよい。容器は種々のものを適宜選択できるが、本発明の化合物への標識導入操作に適した形状とすることもでき、化合物の性質に応じて遮光性の材質のものとしてもよく、あるいは患者への投与に便利なようにバイアル、または注射器等の形状とすることもできる。また、キットは診断に必要な器具類、例えば注射器、輸液セット、あるいはPET装置やSPECT装置に使用する器具類等を適宜含んでもよい。通常、キットには説明書を添付する。

40

#### 【0057】

さらに、本発明の化合物がアミロイド 蛋白に特異的に結合することから、本発明の化合物を未標識のまま、あるいは標識して、インビトロにて試料標本と接触させることにより、標本中のアミロイド 蛋白の検出、定量等に使用することもできる。例えば、顕微鏡標本のアミロイド 蛋白染色、試料中のアミロイド 蛋白の比色定量、あるいはシンチレーションカウンターを用いたアミロイド 蛋白の定量等に本発明の化合物を使用してもよい。顕微鏡標本の調製ならびに本発明の化合物を用いた染色は、当業者に知られた通常の方法により行うことができる。

#### 【0058】

先にも述べたように、本発明の化合物はアミロイド 蛋白に特異性が高い。したがって、本発明の化合物は、例えば、アミロイド 蛋白蓄積性疾患の研究あるいは生前または死

50

後における診断等に有用であり、例えば、アルツハイマー病患者脳の老人斑の染色剤として有用と考えられる。本発明の化合物を用いた標本、例えば脳切片の染色は、当業者に知られた通常の方法で行うことができる。

【0059】

上述のごとく、本発明の化合物のうち、とりわけ末端基としてモルホリン環を有するものは変異原性が極めて小さいか、あるいは有しないものである。したがって、これらの本発明の化合物は極めて安全なコンフォーメーション病診断プローブであるばかりでなく、後述のような治療薬または予防薬として用いた場合にも安全性が高い。

【0060】

したがって、本発明は、本発明の化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物を含む試料中のアミロイド 蛋白の染色用組成物、ならびに本発明の化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物を必須の構成成分として含む、試料中のアミロイド 蛋白の染色用キットに関する。さらに、本発明は本発明の化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物を用いることを特徴とする試料中のアミロイド 蛋白の染色方法にも関する。これらの染色に適した試料は脳切片である。

10

【0061】

上述のごとく、シート構造をとったアミロイド 蛋白に神経細胞毒性がみられることが判明している。本発明の化合物は、シート構造をとったアミロイド 蛋白に特異的に結合するので、その神経細胞毒性を抑制すると考えられる。したがって、本発明の化合物は、蛋白自身がシート構造をとることによって病因、または病因の一部となるコンフォーメーション病、例えばアルツハイマー病の治療薬または予防薬になると考えられる。

20

【0062】

したがって、本発明は、  
式(I)の化合物またはその塩もしくは溶媒和物を投与することを特徴とするアミロイド 蛋白蓄積性疾患の治療および/または予防方法；  
式(I)の化合物またはその塩もしくは溶媒和物を用いることを特徴とするアミロイド 蛋白蓄積性疾患の診断方法；ならびに  
アミロイド 蛋白蓄積性疾患の治療、予防、または診断するための組成物またはキットを製造するための式(I)の化合物またはその塩もしくは溶媒和物の使用  
を提供する。

30

【0063】

かかる医薬組成物の形態は特に限定されないが、液体処方が好ましく、特に注射用処方が好ましい。かかる注射用処方を脳内に直接注入することもでき、あるいは、実施例3にて示すように本発明の化合物は血液/脳関門透過性が高いので、上記医薬組成物を静脈注射または静脈点滴用に処方して投与することもできる。かかる液体処方の調製は当該分野にて公知の方法で行うことができる。溶液の調製は、例えば、本発明の化合物を適当な担体、注射用水、生理食塩水、リンゲル液等に溶解し、フィルター等で滅菌し、その後、適当な容器、例えば、バイアルまたはアンプルに充填する。また、溶液を凍結乾燥させ、使用時に適当な担体で再度溶液に復元することも可能である。懸濁液の調製は、例えば、本発明の化合物を例えばエチレンオキサイドにさらすことにより滅菌し、次いで、滅菌済み液体担体に懸濁することにより行うことができる。

40

【0064】

上記治療方法、予防方法、および使用における本発明の化合物のヒト対象への投与量は、患者の病状、性別、年齢、体重等に左右されるが、一般的には、体重70kgの成人の場合、1日あたり0.1mgないし1g、好ましくは1mgないし100mg、より好ましくは5mgないし50mgである。一定期間かかる投与量で処置を行い、結果により投与量を増減することができる。

【0065】

さらに本発明の化合物、その塩もしくは溶媒和物はコンフォーメーション病の診断プローブとして、好ましくは、放射線放出核種にて標識された画像診断プローブとしても使用

50

できる。さらに本発明の化合物はコンフォーメーション病の治療および/または予防にも効果を有する。したがって、本発明は、

コンフォーメーション病の画像診断用プローブとして使用される本発明の化合物またはその塩もしくは溶媒和物；

本発明の化合物またはその塩もしくは溶媒和物を含むコンフォーメーション病の画像診断用組成物またはキット；

本発明の化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物および医薬上許容される担体を含む、コンフォーメーション病の予防および/または治療用医薬組成物；

本発明の化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物を用いることを特徴とする、コンフォーメーション病の診断方法；

コンフォーメーション病を診断するための、本発明の化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物の使用；

本発明の化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物を対象に投与すること

を特徴とする、コンフォーメーション病の予防および/または治療方法；

コンフォーメーション病を予防および/または治療するための、本発明の化合物またはその医薬上許容される塩もしくは溶媒和物の使用；ならびに

コンフォーメーション病を予防および/または治療するための医薬組成物の製造にお

ける、本発明の化合物の使用

にも関する。

【0066】

上記治療方法および予防方法における本発明の化合物のヒト対象への投与量は上述のとおりである。

【0067】

本発明の化合物のうちある種のもは神経原線維変化を認識するので、神経原線維変化の検出用プローブ、あるいは神経原線維変化の染色剤として使用することができる。したがって、本発明は、神経原線維変化の診断プローブ、特に画像診断プローブとしての、本発明の化合物またはその塩もしくは溶媒和物の用途にも関する。神経原線維変化の染色剤として好ましい本発明の化合物はTHK-185、THK-248、THK-254、THK-258、THK-317、THK-386、THK-727などである。

【0068】

したがって、本発明は：

本発明の化合物またはその塩もしくは溶媒和物を含む、神経原線維変化を検出あるいは染色するための組成物；

本発明の化合物またはその塩もしくは溶媒和物を含む、神経原線維変化を検出あるいは染色するためのキット；

本発明の化合物またはその塩もしくは溶媒和物を用いることを特徴とする神経原線維変化を検出あるいは染色する方法；ならびに

神経原線維変化を検出あるいは染色するための組成物を製造するための本発明の化合物またはその塩もしくは溶媒和物の使用

を提供する。

【0069】

上記の神経原線維変化を検出あるいは染色における試料標本の調製、染色などの方法は当業者に公知のものを適用することができる。

【0070】

以下に実施例を挙げて本発明を具体的に説明するが、これらの実施例は本発明を何ら限定するものではない。

【実施例1】

【0071】

アミロイド 蛋白脳内蓄積モデルにおける検討

アミロイドが脳内に蓄積するトランスジェニック(Tg)マウスを用いた検討

10

20

30

40

50

(1) Tgマウス(Tg2576またはAPPswe2576 / Tau JPL3)を使用した。被験化合物をTgマウスの尾静脈より投与し、その1時間後にペントバルビタールNa深麻酔下で開胸、経心的に10%中性緩衝ホルマリンを灌流して固定した。

(2) 開頭して脳を摘出し、30%シュクロースに12時間以上浸漬させた。次に、摘出された脳を微細に粉碎したドライアイス内で速やかに凍結させ、クリオスタット(Bright社、Model-OT)を用いて、ポリ-L-リジンコート付きのスライドグラス上に凍結切片を作製した。

(3) 作製した脳切片を封入しない状態で、蛍光顕微鏡(ニコン エクリプス80i)で鏡検し、デジタルカメラ(ニコンDxm1200FまたはPhotometrics社Cool SNAP ES)で写真撮影した。結果を図1-3に示す。静脈内投与されたTHK-097、THK-525、THK-727は血液-脳関門を透過し、Tgマウス脳内アミロイド斑に結合した。

10

#### 【0072】

同一切片を免疫染色する場合は、以下のように行った。

(1) 同一切片に90%蟻酸を約150 $\mu$ l滴下し、室温で5分間静置した。水道水で5分間洗浄した後、冷PBS-Tween20に2分間浸漬し、その後、0.05%トリプシン溶液を約150 $\mu$ l滴下して、37 $^{\circ}$ C、15分間反応させた。

(2) 氷浴中、冷PBS-Tween20で5分間 $\times$ 2回洗浄した後、ブロッキング用血清を2滴滴下して、37 $^{\circ}$ C、30分間反応させ、余分な水分を除去した後に、アミロイド蛋白の特異抗体である4G8(Chemicon社、1:100希釈)を約150 $\mu$ l滴下して、37 $^{\circ}$ C、1時間反応させた。

20

(3) さらに冷PBS-Tween20で2分間 $\times$ 5回洗浄した後、抗マウスIgG(H+L)、ヤギ、ビオチン結合溶液を2滴滴下して37 $^{\circ}$ C、1時間反応させ、冷PBS-Tween20で2分間 $\times$ 3回洗浄した上でABC溶液(ストレプトアビジン-ビオチン-ペルオキシダーゼ複合体溶液)を2滴滴下して、30分間静置した。再び、冷PBS-Tween20で2分間 $\times$ 3回洗浄した後、DAB溶液(20mlの0.05mol/lトリリス塩酸緩衝液にDAB 10mgを溶解し、使用直前に3%過酸化水素水100 $\mu$ lを添加)を約150 $\mu$ l滴下して、十分な発色を得たのち、蒸留水で1分間洗浄し、反応を停止させ、封入後、鏡検した。

結果を図4および図5に示す。THK-702は血液-脳関門を透過し、Tgマウスのアミロイド斑に結合し(図3上段パネル)、同結合部位は同一切片の抗A抗体染色部位と一致していた(図3下段パネル)。図4は図3の強拡大画像を示す。A、B、Cはそれぞれ図3のA、B、Cに対応。THK-702はTgマウスのアミロイド斑に結合し(図4左パネル)、同結合部位は同一切片の抗A抗体染色部位と完全に一致していた(図4右パネル)。

30

#### 【0073】

本発明の化合物のアルツハイマー病患者脳切片上での染色性試験の手順について以下に説明する。

(1) 病理学的にアルツハイマー病と確定診断された患者および正常高齢者の、側頭葉または海馬における脳標本を使用した。標本は共同研究先である福祉村病院 長寿医学研究所から提供を受け、患者遺族から研究目的での使用に対する承諾を得ている(福祉村病院倫理委員会許可No.20)。

40

(2) パラフィン包埋された脳組織は厚さ6 $\mu$ mあるいは8 $\mu$ mで薄切し、スライドグラス上に伸展、乾燥させた。パラフィン脳切片はキシレン10分 $\times$ 2、100%エタノール5分 $\times$ 2、90%エタノール5分、流水洗10分の順で脱パラフィン化した。

(3) 本発明化合物による染色の前処理として、リポフスチンによる自己蛍光を除去する処置を行った。はじめに、脱パラフィン化した切片を0.25% KMnO<sub>4</sub>溶液に20分間浸漬した。PBSにて2分間 $\times$ 2回洗浄した後、0.1% K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/シュウ酸溶液中に約5秒間浸し、さらにPBSにて2分間 $\times$ 3回洗浄を行った。

(4) 50%エタノールに溶解した100 $\mu$ M本発明化合物溶液を約150 $\mu$ l滴下し

50

、10分間反応させた。水道水中に5回つけた後、Fluor Save Reagent (Calbiochem)で封入し、蛍光顕微鏡(ニコン、エクリプス80i)を用いて鏡検した。画像はデジタルカメラ(ニコンDxm1200FまたはPhotometrics社Cool SNAP ES)にて撮影した。

【0074】

免疫染色は以下のように行った。

(a) アミロイド 蛋白の免疫染色方法：

(1) 脱パラフィン後、蒸留水中で2分×2で洗浄を行い、イムノペンにより組織を囲んだ後、蟻酸を約150 $\mu$ l滴下し、室温で5分間静置した。水道水で5分間洗浄した後、冷PBS-Tween20に2分間浸漬し、その後、0.05%トリブシン溶液を約150 $\mu$ l滴下して、37 $^{\circ}$ C、15分間反応させた。

(2) 氷浴中、冷PBS-Tween20で5分間×2回洗浄した後、ブロッキング用血清を2滴滴下して、37 $^{\circ}$ C、30分間反応させ、余分な水分を除去した後に、アミロイド 蛋白の特異抗体である6F/3D(DAKO社、1:50希釈)を約150 $\mu$ l滴下して、37 $^{\circ}$ C、1時間反応させた。

(3) さらに冷PBS-Tween20で2分間×5回洗浄した後、抗マウスIgG(H+L)、ヤギ、ビオチン結合溶液を2滴滴下して37 $^{\circ}$ C、1時間反応させ、冷PBS-Tween20で2分間×3回洗浄した上でABC溶液(ストレプトアビジン-ビオチン-ペルオキシダーゼ複合体溶液)を2滴滴下して、30分間静置した。再び、冷PBS-Tween20で2分間×3回洗浄した後、DAB溶液(20mlの0.05mol/lトリス塩酸緩衝液にDAB 10mgを溶解し、使用直前に3%過酸化水素水100 $\mu$ lを添加)を約150 $\mu$ l滴下して、十分な発色を得たのち、蒸留水で1分間洗浄し、反応を停止させ、封入後、鏡検した。

【0075】

(b) 神経原線維変化の免疫染色方法：

(1) 脱パラフィン処理後、冷却PBS-Tween20に5分間×2回洗浄した後、ブロッキング用血清を2滴滴下して、37 $^{\circ}$ C、30分間反応させた。余分な水分を除去した後に、タウの特異抗体であるAT-8(Mia Nobels社、1:100希釈)を2滴滴下して、4 $^{\circ}$ C、1晩反応させた。

(2) 翌日、冷PBS-Tween20で2分間×5回洗浄した後、抗ウサギIgG, ヤギ, ビオチン結合溶液を2滴滴下して37 $^{\circ}$ C、1時間反応させ、冷PBS-Tween20で2分間×3回洗浄した上でABC溶液(ストレプトアビジン-ビオチン-ペルオキシダーゼ複合体溶液)を2滴滴下し、30分間静置した。

(3) 再び、冷PBS-Tween20で2分間×3回洗浄した後、DAB溶液(20mlの0.05mol/lトリス塩酸緩衝液にDAB 10mgを溶解し、使用直前に3%過酸化水素水100 $\mu$ lを添加)を約150 $\mu$ l滴下して、十分な発色を得たのち、蒸留水で1分間洗浄し、反応を停止させ、封入後、鏡検した。なおブロッキング用血清、抗ウサギIgG, ヤギ, ビオチン結合溶液、ABC溶液はPhosphorylated Tau Immunohisto stain Kit(Wako 299-57301)に含まれるものを使用した。

【0076】

本発明の化合物についての上記染色試験の結果を図2～図26に示す。THK-097はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白に結合した(図2)。THK-184はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白に結合した(図3)。THK-185はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白および神経原線維変化に結合した(図4)。THK-203はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白に結合した(図5)。THK-207はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白に結合した(図6)。THK-248はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白に結合した(図7)。THK-254はアルツハイマー病患者脳切片において神経原線維変化に結合した(図8)。THK-258はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白および神経原線維変化に結合した(図9)。THK-

262はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質に結合した(図10)。THK-276はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質に結合した(図11)。THK-281はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質に結合した(図12)。THK-308はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質に結合した(図13)。THK-317はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質および神経原線維変化に結合した(図14)。THK-383はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質に結合した(図15)。THK-385はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質に結合した(図16)。THK-386はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質および神経原線維変化に結合した(図17)。THK-525はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質に結合した(図18)。THK-556はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質に結合した(図19)。THK-558はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質に結合した(図20)。THK-559はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質に結合した(図21)。THK-561はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質に結合した(図22)。THK-562はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質に結合した(図23)。THK-563はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質に結合した(図24)。THK-565はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質に結合した(図25)。THK-585はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質に結合した(図26)。このように、本発明の化合物はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド 蛋白質および神経原線維変化を特異的に認識することがわかった。また、上記以外の本発明の化合物も特異的にアミロイド 蛋白質に結合することがわかった。

#### 【0077】

以下に本発明の化合物の特性に関する試験方法を説明する。

##### (A) 急性毒性試験

本発明の化合物の急性毒性をマウスを用いて静脈内投与で検討した。Crj:CD1系雄性マウスを一群4匹として使用した(各群の平均体重は31~32gであった)。各化合物は1N HCl、ポリエチレングリコール400、蒸留水の混合液に溶解、またはDMSOに溶解後、蒸留水にて希釈し、尾静脈を介して投与し、以後7日まで観察した。結果を表2に示す。

【表2】

表2 本発明化合物の急性毒性試験

	最大耐量 (mg/kg、静脈内投与。)
THK-525	≥ 10
THK-702	≥ 10
THK-707	≥ 10
THK-708	≥ 10
THK-713	≥ 10
THK-727	≥ 10
THK-752	≥ 10
THK-757	≥ 10
THK-761	≥ 10
THK-763	≥ 10
THK-765	≥ 10
THK-766	≥ 10

#### 【0078】

##### (B) 脳移行試験

##### I. HPLCを用いた脳移行試験

マウスに本発明化合物を静脈内投与し、インビボにおける脳移行性を測定した。

(1) マウスは30～40g (n=3)のSLC:ICR(日本SLC)を用いた。

(2) 被験化合物は5% Tween 80 - 5% エチルアルコール - 5% 1N HCl - 生理食塩水溶液の混合液で溶解、して、尾静脈より注入し、投与より2分後にエーテル麻酔下で腹部大動脈からヘパリン処理注射筒を用いての採血、脳の採材をおこなった。

(3) 血液は採血後4、14,000rpmで10分間遠心し、上清を血漿として-80で保存した。脳(小脳を含む)は採材後-80で保存した。

(4) 血漿は0.1mlを取り、アセトニトリルを0.3ml加えvortexした後、4、10,000Gで、5分間遠心した。遠心を終えた上澄み0.2mlをMini-Uniprep(Whatman)に移し20mMリン酸バッファーを0.2ml加えろ過した。ろ過した溶液のうち0.2mlをHPLC(SHISEIDO NANOSPACE SI-2, ポンプ:3001、UV-VIS検出器:3002、カラム恒温槽:3004、蛍光検出器:3013)により分析した。

(5) 脳はメタノールを2ml加えてホモジェナイズし、4、3000または4000rpmで10分間遠心した。遠心を終えた上澄みを500μlとり、20mMリン酸bufferで10倍希釈した。固相抽出用カートリッジに(i)アセトニトリル2～3ml、(ii)メタノール2～5ml、(iii)超純水4～6mlの順番で通し、固相抽出用カートリッジ(J.T. Baker Speedisk)に10倍希釈した上澄み溶液を通した。固相抽出用カートリッジに空のシリンジで空気を2～3回通し水分除去した後、アセトニトリルまたはメタノール約500μlで溶出、20mMリン酸bufferで2倍希釈した。その溶液0.2mlをHPLCで分析した。

(6) 血漿、脳それぞれについて、投与量に対する脳内および血漿の被験化合物含有量(%ID(injected dose)/gまたはml)を求めた。

【0079】

表3にマウスにおける被験化合物静脈内投与2分後の脳移行を示した。中枢神経系を対象としたPETまたはSPECT用化合物の脳移行性は0.5%ID/g以上あれば十分と考えられている。その意味で被験化合物は極めて脳移行性の高い化合物である。

【表3】

表3 本発明化合物の静脈内投与2分後の脳移行(マウス)

	%ID/gまたはml	
	脳	血漿
THK-525	7.9	3.1
THK-702	5.1	2.7
THK-707	4.4	0.58
THK-713	5.9	3.29
THK-752	6.7	1.9

【0080】

II. [18F] 標識体を用いた検討

[18F] THK525の標識合成

サイクロトロンHM12(住友重機械社製)で加速した12MeVの陽子ビームを同位体純度95%以上の[18O]H2Oに30分間照射して18F-を合成した。続いてその溶液を陰イオン交換樹脂(AG1-X8)に通して18F-を樹脂上に捕捉し、33mM K2CO3溶液で溶出させた。この18F-含有K2CO3水溶液300μL(3.



28 GBq)を褐色バイアル(容量10 mL)にとり、Kryptofix 222 (16 mg)、アセトニトリル(2 mL)を加えてオイルバス(110 )で加熱しながらHeガスを吹き付け、水を共沸させながらアセトニトリルを完全に除去した。さらにアセトニトリル(3 mL)を加え同様に加熱条件下でアセトニトリルを除去する操作を3回繰り返して、バイアル内を無水の状態にした。そこに、標識前駆体のTHK 575 (1.9 mg)を溶解したDMSO溶液(0.8 mL)を加え、オイルバス(110 )で10分間加熱攪拌した。その後、このDMSO反応溶液をSep-Pak(登録商標)Aluminaカートリッジ(Waters社製)とフィルター(0.5 μm)に通し、得られた濾液をセミ分取HPLC(カラム:Inertsil(登録商標)ODS-3(10×250 mm)、移動相:EtOH/MeCN/20 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> = 15/45/40、流速:5.0 mL/min)にかけて、約11-12分に溶出する[<sup>18</sup>F]THK 525由来の放射性ピークを分取した。このフラクションの放射能から求めた減衰補正後の放射化学的収率は42%で、放射化学的純度は99%以上であった。

10

## 【0081】

[<sup>18</sup>F]THK 702の標識合成

サイクロトロンHM12(住友重機械社製)で加速した12 MeVの陽子ビームを同位体純度95%以上の[<sup>18</sup>O]H<sub>2</sub>Oに30分間照射して<sup>18</sup>F<sup>-</sup>を合成した。続いてその溶液を陰イオン交換樹脂(AG1-X8)に通して<sup>18</sup>F<sup>-</sup>を樹脂上に捕捉し、33 mM K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液で溶出させた。この<sup>18</sup>F<sup>-</sup>含有K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液200 μL(3.24 GBq)を褐色バイアル(容量10 mL)にとり、Kryptofix 222 (16 mg)、アセトニトリル(3 mL)を加えてオイルバス(110 )で加熱しながらHeガスを吹き付け、水を共沸させながらアセトニトリルを完全に除去した。さらにアセトニトリル(3 mL)を加え同様に加熱条件下でアセトニトリルを除去する操作を3回繰り返して、バイアル内を無水の状態にした。そこに、標識前駆体のTHK 703 (2.2 mg)を溶解したDMSO溶液(0.8 mL)を加え、オイルバス(110 )で10分間加熱攪拌した。その後、反応溶液を蒸留水(8 mL)で希釈してSep-Pak tC18カートリッジ(Waters社製)にロードし、蒸留水でカートリッジを洗浄後、EtOHで溶出した溶液をセミ分取HPLC(カラム:Inertsil(登録商標)ODS-3(10×250 mm)、移動相:MeCN/20 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> = 40/60、流速:7.0 mL/min)にかけて、約11分に溶出する[<sup>18</sup>F]THK 702由来の放射性ピークを分取した。このフラクションの放射能から求めた減衰補正後の放射化学的収率は21%で、放射化学的純度は99%以上であった。

20

30

## 【0082】

[<sup>18</sup>F]THK 727の標識合成

サイクロトロンHM12(住友重機械社製)で加速した12 MeVの陽子ビームを同位体純度95%以上の[<sup>18</sup>O]H<sub>2</sub>Oに30分間照射して<sup>18</sup>F<sup>-</sup>を合成した。続いてその溶液を陰イオン交換樹脂(AG1-X8)に通して<sup>18</sup>F<sup>-</sup>を樹脂上に捕捉し、33 mM K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液で溶出させた。この<sup>18</sup>F<sup>-</sup>含有K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液100 μL(1.27 GBq)を褐色バイアル(容量10 mL)にとり、Kryptofix 222 (10 mg)、アセトニトリル(3 mL)を加えてオイルバス(110 )で加熱しながらHeガスを吹き付け、水を共沸させながらアセトニトリルを完全に除去した。さらにアセトニトリル(3 mL)を加え同様に加熱条件下でアセトニトリルを除去する操作を3回繰り返して、バイアル内を無水の状態にした。そこに、標識前駆体のTHK 726 (1.9 mg)を溶解したDMSO溶液(0.4 mL)を加え、オイルバス(110 )で10分間加熱攪拌した。その後、このDMSO反応溶液をSep-Pak(登録商標)Aluminaカートリッジ(Waters社製)とフィルター(0.5 μm)に通し、さらに追加的にDMSO(0.2 mL)を通して得られた濾液をセミ分取HPLC(カラム:Inertsil(登録商標)ODS-3(10×250 mm)、移動相:MeCN/20 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> = 40/60、流速:5.0 mL/min)にかけて、約23分に溶出する[<sup>18</sup>F]THK 727由来の放射性ピークを分取した。このフラクションの放射能が

40

50

ら求めた減衰補正後の放射化学的収率は44%で、放射化学的純度は99%以上であった。

#### 【0083】

##### [<sup>18</sup>F]THK763の標識合成

サイクロトロンHM12(住友重機械社製)で加速した12MeVの陽子ビームを同位体純度95%以上の[<sup>18</sup>O]H<sub>2</sub>Oに30分間照射して<sup>18</sup>F<sup>-</sup>を合成した。続いてその溶液を陰イオン交換樹脂(AG1-X8)に通して<sup>18</sup>F<sup>-</sup>を樹脂上に捕捉し、33mM K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液で溶出させた。この<sup>18</sup>F<sup>-</sup>含有K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>水溶液200μL(3.02GBq)を褐色バイアル(容量10mL)にとり、Kryptofix222(16mg)、アセトニトリル(3mL)を加えてオイルバス(110℃)で加熱しながらHeガス(10)を吹き付け、水を共沸させながらアセトニトリルを完全に除去した。さらにアセトニトリル(3mL)を加え同様に加熱条件下でアセトニトリルを除去する操作を3回繰り返して、バイアル内を無水の状態にした。そこに、標識前駆体のTHK762(3.1mg)を溶解したDMSO溶液(0.7mL)を加え、オイルバス(110℃)で10分間加熱攪拌した。その後、反応溶液を蒸留水(7mL)で希釈してSep-Pak tC18カートリッジ(Waters社製)にロードし、蒸留水およびMeCN/20mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(v/v=3/7、5mL)で順次カートリッジを洗浄後、EtOHで溶出した溶液をセミ分取HPLC(カラム:Inertsil(登録商標)ODS-3(10×250mm)、移動相:MeCN/20mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>=35/65、流速:6.0mL/min)にかけて、約24-25分に溶出する[<sup>18</sup>F]THK763由来の放射性ピークを分取した。このフラクションの放射能から求めた減衰補正後の放射化学的収率は38%で、放射化学的純度は99%以上であった。 20

#### 【0084】

##### 標識化合物含有生理食塩液の調製

標識合成により得られた[<sup>18</sup>F]THK525、[<sup>18</sup>F]THK702、[<sup>18</sup>F]THK727、または[<sup>18</sup>F]THK763を含有する分取HPLCフラクションを蒸留水(約20mL)で希釈してSep-Pak tC18カートリッジ(Waters社製)にロードし、蒸留水(5~10mL)でカートリッジを洗浄後、EtOH(3~5mL)で標識化合物を溶出した。このEtOH溶出液に5%ポリソルベート80エタノール溶液を適量加えて80℃で加熱しながらロータリーエバポレーターで溶媒を留去し、得られた標識化合物とポリソルベート80の混合物を生理食塩液に溶解させることで標識化合物含有生理食塩液を調製した。調製後の薬液の放射化学的純度は95%以上であった。 30

#### 【0085】

##### 標識化合物のマウス脳移行性評価

[<sup>18</sup>F]THK525、[<sup>18</sup>F]THK702、[<sup>18</sup>F]THK727、または[<sup>18</sup>F]THK763を含有する生理食塩液を雄性ICRマウス(6~7週齢)に尾静脈内投与し、2及び30分後における脳内放射能の集積性から各標識化合物の脳移行性を評価した。使用した標識化合物含有生理食塩液の放射化学的純度は95%以上、比放射能は18.5~148GBq/μmolであり、マウス1匹あたり1.11~2.22MBqの標識化合物を投与した。放射能集積性の評価では、全投与放射能に対する評価組織の単位重量あたりの放射能の割合(% Injected Dose/g of tissue; %ID/g)を指標とした。放射能の計測には、ガンマカウンタ(1480WIZARD、パーキンエルマー社製)を使用した。実験手順としては、標識化合物を尾静脈内投与して2及び30分後にエーテル麻酔下でマウスの頸椎脱臼を行い、速やかに心臓から血液を採取したのち全脳(小脳、脳幹含む)を摘出した。そして各サンプルの放射能及び組織重量の計測を行い、そのデータを用いて%ID/gを算出した。 40

#### 【0086】

表4にマウスにおける[<sup>18</sup>F]標識被験化合物静脈内投与2分後の脳移行を示した。中枢神経系を対象としたPETまたはSPECT用標識化合物の脳移行性は0.5%ID/g以上あれば十分と考えられている。その意味で下記[<sup>18</sup>F]標識被験化合物は極め 50

て脳移行性の高い [ $^{18}\text{F}$ ] 標識化合物である。

【表 4】

表 4 本発明の [ $^{18}\text{F}$ ] 標識化合物の静脈内投与 2 分後の脳移行 (マウス)

	% ID / g または ml	
	脳	血漿
[ $^{18}\text{F}$ ] THK-525	4.7	2.8
[ $^{18}\text{F}$ ] THK-702	4.2	3.3
[ $^{18}\text{F}$ ] THK-727	4.1	2.9
[ $^{18}\text{F}$ ] THK-763	4.6	3.7

10

【0087】

変異原性試験

本発明化合物はその用途から、変異原性が無いか、あるいは問題とならないレベルであることが望ましい。本発明化合物の遺伝子突然変異誘発性を検討するため、ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) TA100 および TA98 株を用いる復帰突然変異試験を行った。試験は用量設定試験と本試験の 2 回実施した。

以下に試験方法および本発明化合物の変異原性試験を示す。用量設定試験は 0.160、0.800、4.00、20.0、100 および 500  $\mu\text{g}$  / プレートの 6 用量 (公比 5) で実施した。

その結果、変異原性が認められた場合には、正確な用量反応曲線が求められるような用量で本試験を実施した。用量設定試験において変異原性が認められず、試験菌株に対する生育阻害が認められた場合は、生育阻害を示す用量を最高用量とし、生育阻害が認められなかった場合は 5000  $\mu\text{g}$  / プレートを最高用量として、6 用量程度 (公比 2) で本試験を実施した。

20

【0088】

まず、被験化合物を DMSO に溶解または懸濁させた後、順次希釈して各濃度の被験化合物液を調製した。

滅菌した試験管に被験化合物液あるいは陰性対照 (DMSO) 溶液を 100  $\mu\text{l}$  分注し、次いで、代謝活性化系非存在下 (-S9 mix) の場合は 0.1 mol / l ナトリウム・リン酸緩衝液 (pH 7.4) を 500  $\mu\text{l}$ 、また代謝活性化系存在下 (+S9 mix) の場合は S9 mix を 500  $\mu\text{l}$  分注した。

30

次いで、37 で 8 時間振盪培養した試験菌株懸濁液を 100  $\mu\text{l}$  加えた後、振盪恒温器を用いて 37 で 20 分間プレインキュベーションした。振盪終了後、トップアガー 2 ml を添加し、内容物を混合した。

その後、混合液を最少グルコース寒天平板培地 (プレート) 上に注ぎ一様に広げ、トップアガーを固化させ、プレートを恒温器に移し、37 の条件で 48 時間培養した。

培養終了後、プレート上の試験菌株の生育状態について、実体顕微鏡を用いて観察し、さらに被験物質の析出状態を肉眼で観察した後、復帰突然変異により生じたコロニー数を計測した。

計測に際しては、コロニーアナライザーを用い、面積補正ならびに数え落とし補正を実施してコロニー数を算出した。被験化合物の析出あるいは生育阻害等により、コロニーアナライザーの使用が不適当な場合、目視で計数した。

40

復帰突然変異コロニー数が陰性対照の 2 倍以上に増加し、かつその増加に用量依存性あるいは再現性が認められた場合に陽性と判定した。なお、陽性と判定した場合には、変異原性の強さの相対的比較値である比活性を下式で求めた。

比活性 =

{ (当該濃度におけるプレート当たりのコロニー数) - (陰性対照のプレート当たりのコロニー数) } / 当該濃度値 (mg / プレート)

50

## 【 0 0 8 9 】

上で説明した方法により復帰突然変異試験を行った。下表 5 に被験化合物の変異原性の強さの相対的比較値である比活性値を示した。

THK - 0 9 7、THK - 3 3 6、THK - 5 2 5、THK - 6 8 3、THK - 7 0 2、THK - 7 0 8、THK - 7 1 1、THK - 7 1 3、THK - 7 2 7、THK - 7 5 2 は S 9 m i x 非存在および存在にかかわらず、復帰突然変異コロニー数が陰性対照の 2 倍以上に増加せず、その比活性値はマイナスであり、また S 9 m i x 存在下の THK - 7 0 7、THK - 7 6 1、THK - 7 6 3 の比活性は弱かったが、一方、F D D N P (Agdeppa ら、ジャーナル・オブ・ニューロサイエンス(J.Neurosci.)、21 巻、R C 1 8 9 ページ、2 0 0 1 年) および I M P Y (Kung ら、ブレイン・リサーチ(Brain Research)、9 5 6 巻、2 0 2 ページ、2 0 0 2 年) の S 9 m i x 存在下の比活性値は極めて高かった。表 5 に示す結果から、この試験に供された本発明化合物は変異原性が認められないか、または認められたとしてもその比活性は F D D N P および I M P Y と比較して極めて弱いことが確かめられた。

10

## 【表 5】

表 5 本発明化合物の変異原性試験

	比活性	
	S 9 M i x 非存在下	S 9 M i x 存在下
THK-0 9 7	マイナス <sup>1)</sup>	マイナス
THK-3 3 6	マイナス	マイナス
THK-5 2 5	マイナス	マイナス
THK-6 8 3	マイナス	マイナス
THK-7 0 2	マイナス	マイナス
THK-7 0 7	マイナス	2 6 4
THK-7 0 8	マイナス	マイナス
THK-7 1 1	マイナス	マイナス
THK-7 1 3	マイナス	マイナス
THK-7 2 7	マイナス	マイナス
THK-7 5 2	マイナス	マイナス
THK-7 6 1	マイナス	1 1 9 9 5
THK-7 6 3	マイナス	3 0 5 8
FDDNP <sup>2)</sup>	マイナス	3, 5 6 4, 9 6 0
IMPY <sup>2)</sup>	マイナス	3, 3 2 6, 1 0 0

20

30

1) : 復帰突然変異コロニー数が陰性対照の 2 倍以上に増加せず

2) : F D D N P および I M P Y のデータは P C T / J P 0 3 / 0 7 1 8 3 ( W O 0 3 / 1 0 6 4 3 9 ) より引用

40

## 【 0 0 9 0 】

## 蛍光コンゴレッド法

次に本発明化合物のスクリーニング方法について説明する。本発明化合物のなかにはチオフラビン T 法では蛍光波長がチオフラビン T と重なるためにスクリーニングが不可能なものがあつた。それらの化合物については以下の新規スクリーニングを導入した。

( 1 ) アミロイド 蛋白 1 - 4 0 ( ペプチド研より購入 ) はリン酸緩衝液 ( p H 7 . 4 ) で溶解し 3 7 ° C で 4 日間放置した。

( 2 ) 同緩衝液に溶解したコンゴレッド 5 0 μ l を 9 6 穴マイクロプレートに分注した ( 最終濃度 0 . 1、0 . 3、1 μ M ) 。

( 3 ) アミロイド 蛋白 1 0 0 μ l ずつを添加 ( 最終濃度 5 μ M ) し、3 0 分間放置した。

50

(4) 同緩衝液に溶解した被験化合物を100 $\mu$ lずつ添加(最終濃度10マイクロM)し、60分間放置した。

(5) 蛍光マイクロプレートリーダー(モレキュラーデバイス社製、Spectra Max 190)を用いて、あらかじめ測定してあった、最適励起および測定波長で測定した。

(6) 被験化合物とアミロイド 蛋白とコンゴレッド共存下の蛍光度をA、被験化合物とコンゴレッド共存下のそれをB、被験化合物とアミロイド 蛋白のそれをC、被験化合物単独のそれをDとすると被験化合物の 構造認識度は以下の式で算出した。

$$\text{被験化合物 構造認識度 (\%)} = \{ (A - B) / (C - D) \} \times 100$$

10

(7) この 構造認識度が大きいほど被験化合物はアミロイド 蛋白に対する結合特異性が高いといえる。

#### 【0091】

表6に結果を示した。被験化合物のA に対する結合はA に特異的に結合するコンゴレッドによって濃度依存的に抑制された。以上より被験化合物はA の 構造を認識していることが明らかとなった。

#### 【表6】

表6 本発明化合物のA $\beta$ に対する結合(蛍光コンゴレッド法)

化合物 (10 $\mu$ M)	コンゴレッド(CR)存在下での化合物の結合率		
	CR 0.1 $\mu$ M存在下	CR 0.3 $\mu$ M存在下	CR 1 $\mu$ M存在下
THK-525	61.4	24.1	-6.4
THK-702	74.9	37.3	0.8
THK-707	66.8	36.4	29.7
THK-708	66.5	29.1	11.0
THK-711	60.4	29.1	10.3
THK-713	58.2	21.2	3.0
THK-727	73.6	35.0	3.1
THK-752	50.4	20.6	11.3
THK-757	52.4	24.8	10.3
THK-761	55.2	21.6	7.0
THK-763	54.7	22.9	7.5
THK-765	71.2	41.3	23.0
THK-766	61.0	21.5	11.2
THK-767	60.0	29.9	15.9
チオフラビン T	49.4	22.3	9.3

20

30

#### 【産業上の利用可能性】

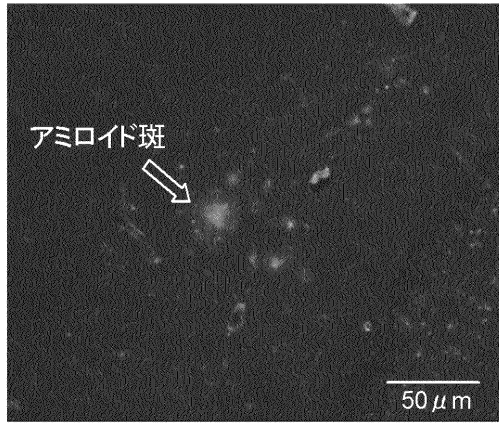
#### 【0092】

本発明のコンフォーメーション病診断プローブ用化合物、特に画像診断用プローブ化合物、ならびにそれを含有するコンフォーメーション病治療および/または予防用医薬組成物等は、現在最も難病とされているコンフォーメーション病、例えばアルツハイマー病の早期発見、治療および予防において極めて有用であり、コンフォーメーション病の診断薬や診断キットの製造分野、コンフォーメーション病の治療薬および予防薬の製造分野、コンフォーメーション病の研究等に利用可能である。

40

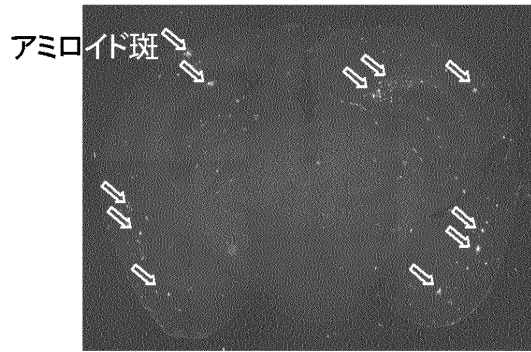
【 図 1 】

Tg2576 mouse



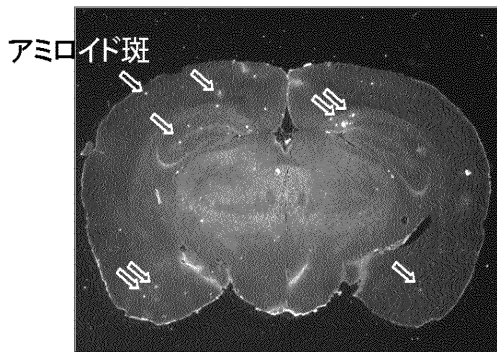
【 図 2 】

Tg2576 mouse



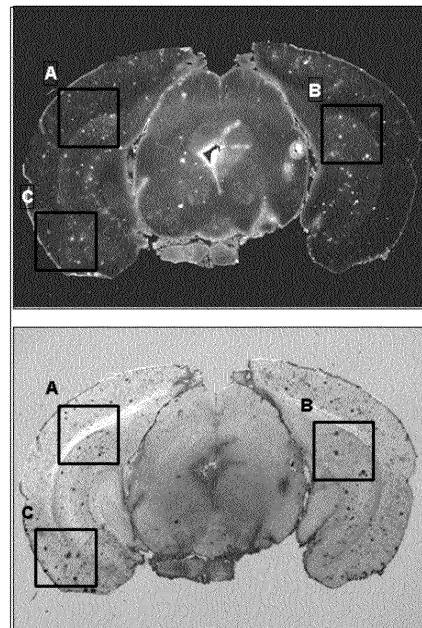
【 図 3 】

APPswe2576 /Tau JPL3 mouse

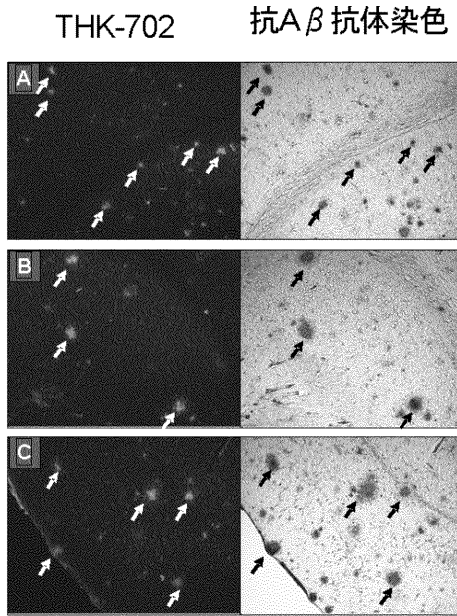


【 図 4 】

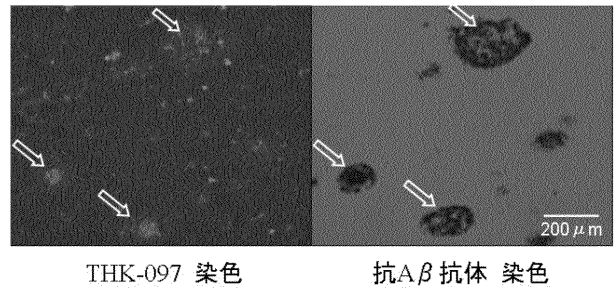
Tg2576 mouse



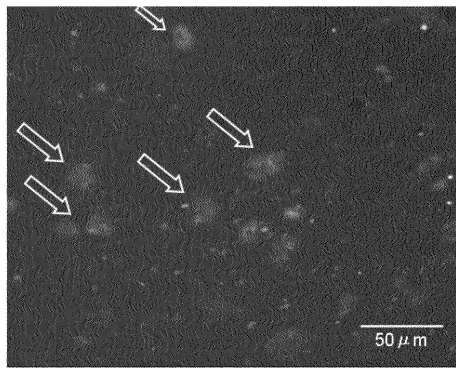
【图 5】



【图 6】

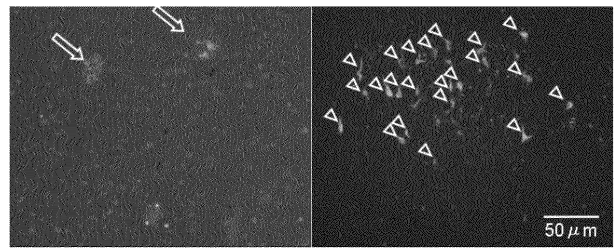


【图 7】



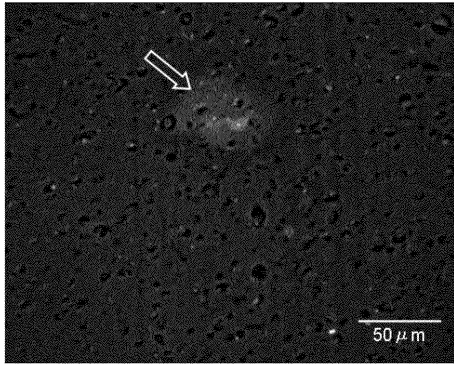
THK-184 染色

【图 8】



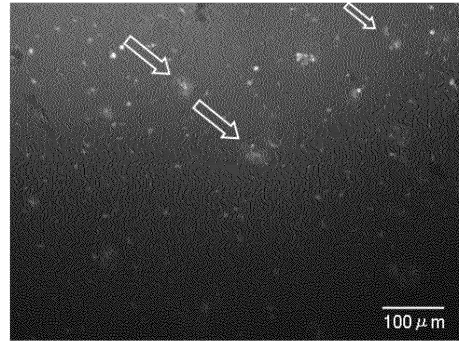
THK-185 染色

【 图 9 】



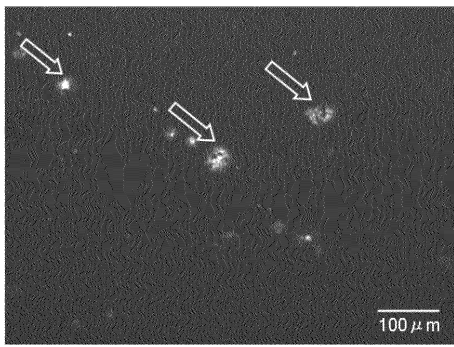
THK-203 染色

【 图 1 0 】



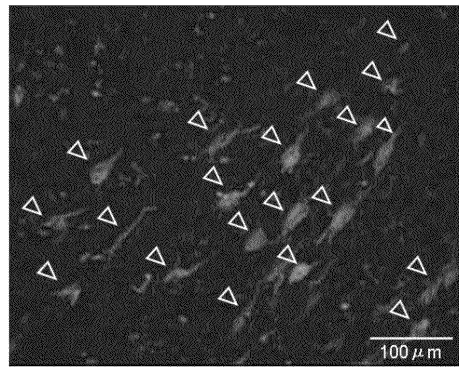
THK-207 染色

【 图 1 1 】



THK-248 染色

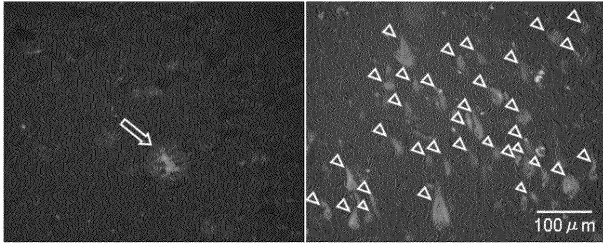
【 图 1 2 】



THK-254 染色

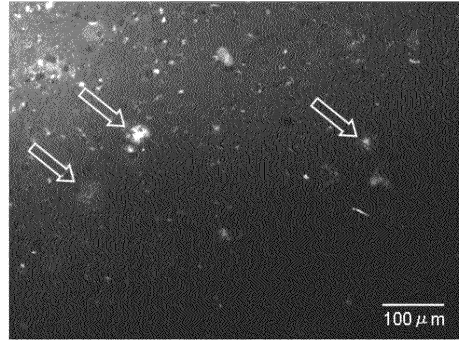


【 図 1 3 】



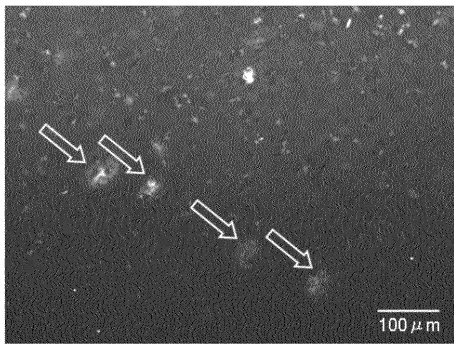
THK-258 染色

【 図 1 4 】



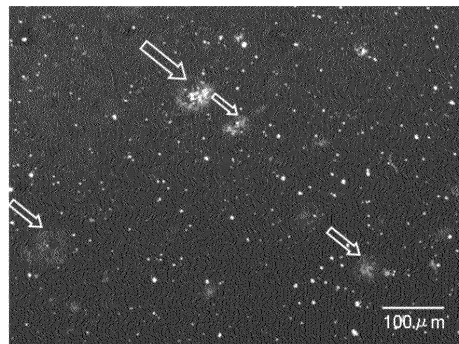
THK-262 染色

【 図 1 5 】



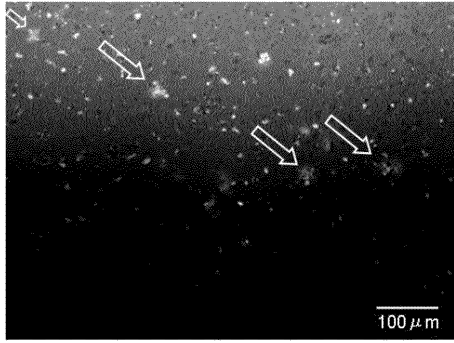
THK-276 染色

【 図 1 6 】



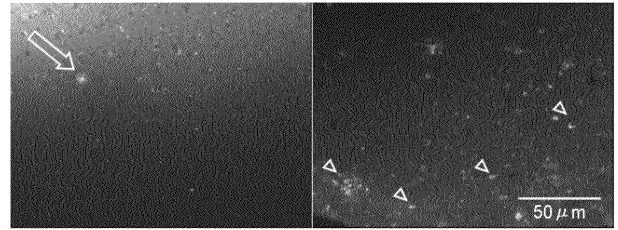
THK-281 染色

【 図 1 7 】



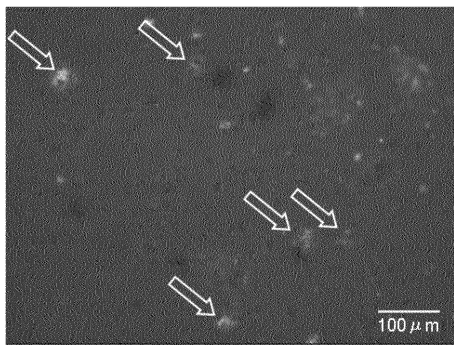
THK-308 染色

【 図 1 8 】



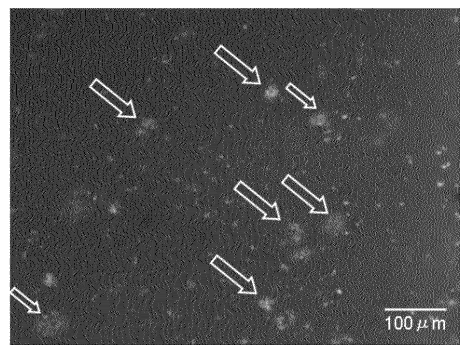
THK-317 染色

【 図 1 9 】



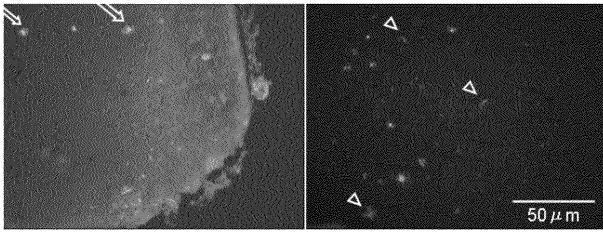
THK-383 染色

【 図 2 0 】



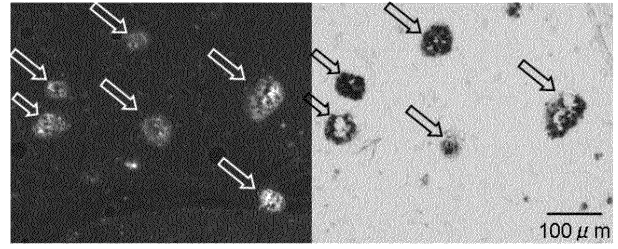
THK-385 染色

【 图 2 1 】



THK-386 染色

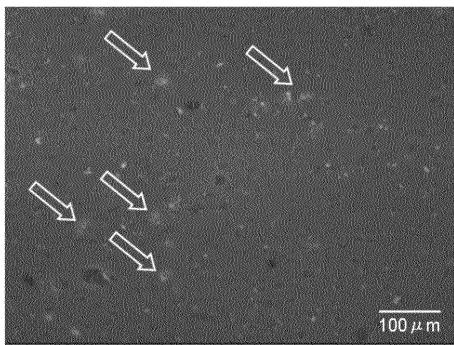
【 图 2 2 】



THK-525染色

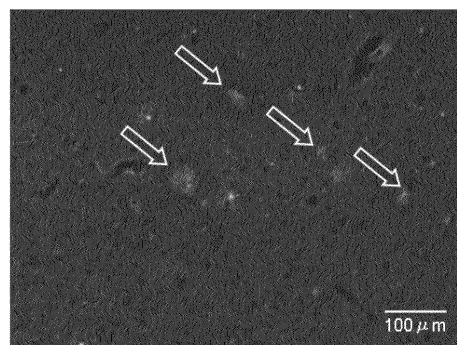
抗Aβ 抗体染色

【 图 2 3 】



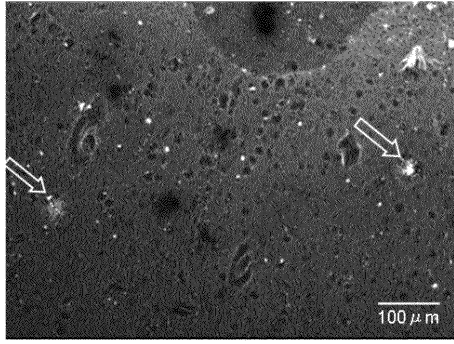
THK-556 染色

【 图 2 4 】



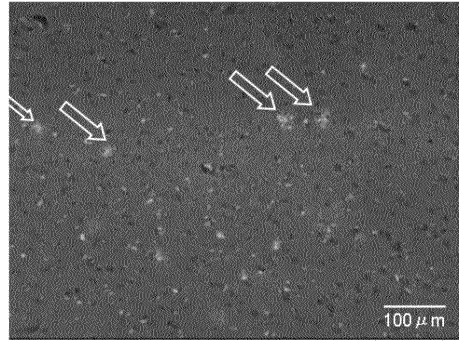
THK-558 染色

【 图 2 5 】



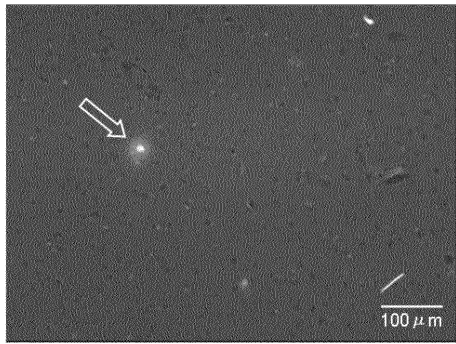
THK-559 染色

【 图 2 6 】



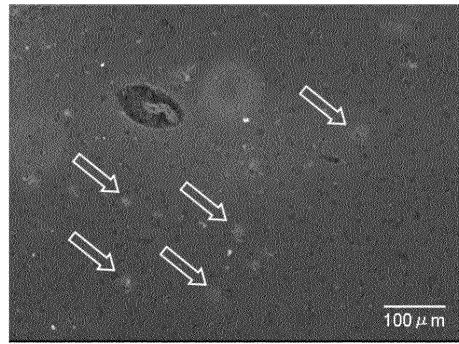
THK-561 染色

【 图 2 7 】



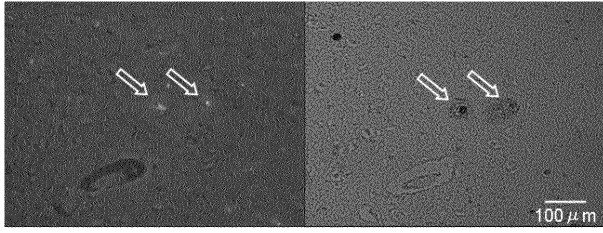
THK-562 染色

【 图 2 8 】



THK-563 染色

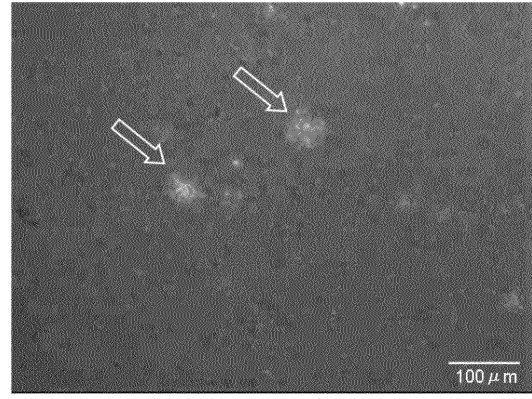
【图 29】



THK-565 染色

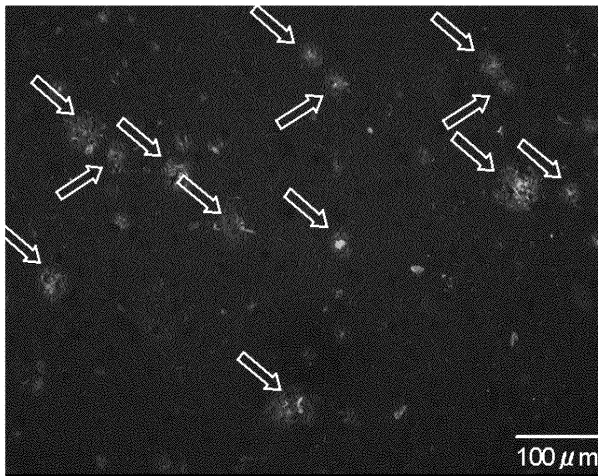
抗Aβ抗体 染色

【图 30】



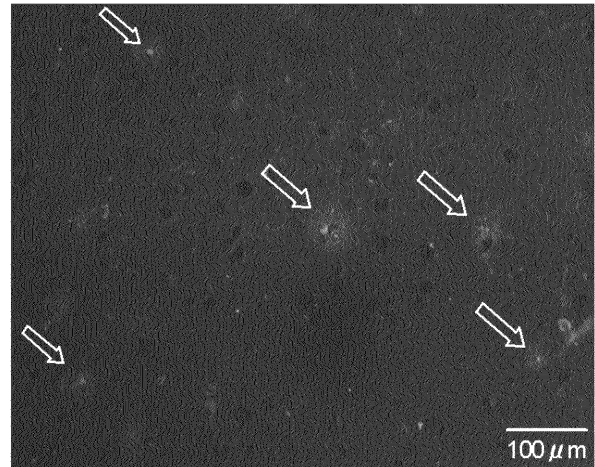
THK-585 染色

【图 31】



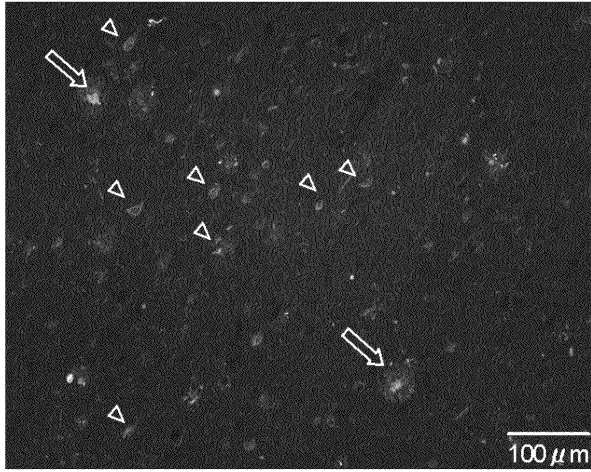
THK-702 染色

【图 32】



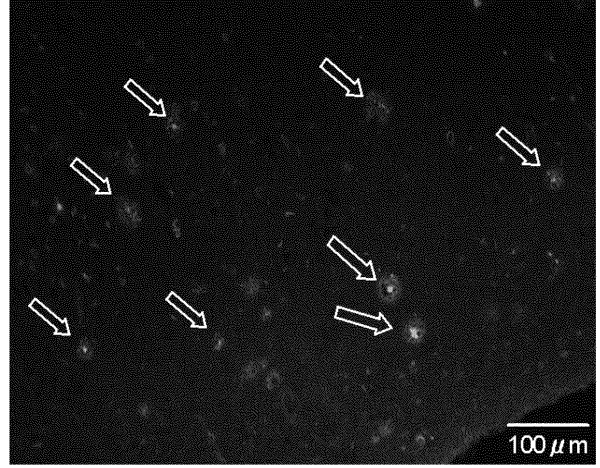
THK-708 染色

【 図 3 3 】



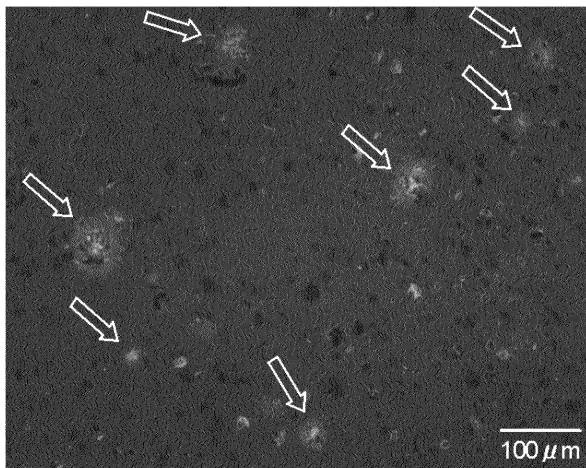
THK-727 染色

【 図 3 4 】



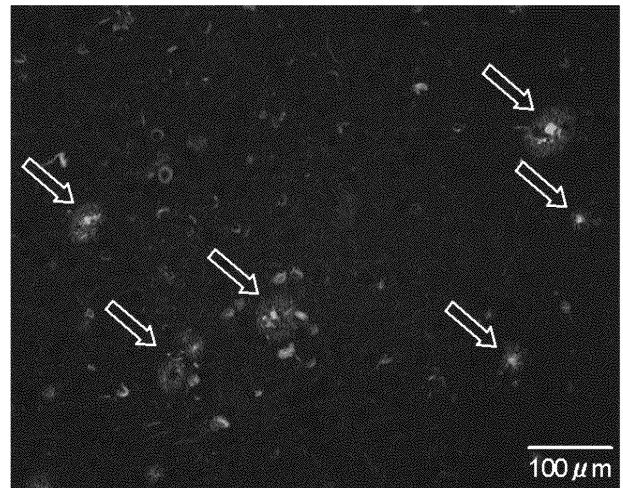
THK-752 染色

【 図 3 5 】



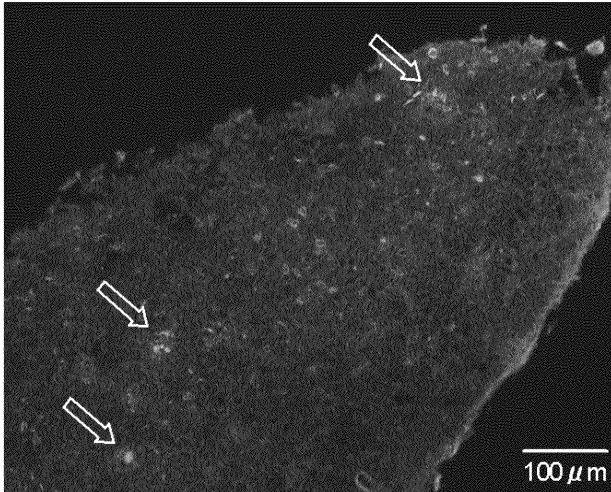
THK-761 染色

【 図 3 6 】



THK-763 染色

【 図 3 7 】



THK-766 染色



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2006/325804
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> C07D277/84(2006.01)i, A61K31/4245(2006.01)i, A61K31/4439(2006.01)i, A61K31/5377(2006.01)i, A61K51/00(2006.01)i, A61P25/14(2006.01)i, A61P25/16 (2006.01)i, A61P25/28(2006.01)i, C07D401/06(2006.01)i, According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D277/84, A61K31/4245, A61K31/4439, A61K31/5377, A61K51/00, A61P25/14, A61P25/16, A61P25/28, C07D401/06, C07D405/06, C07D413/04, C07D417/06 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2007 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2007 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2007 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), WPI (DIALOG)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	JP 2004-67659 A (BF Research Institute, Inc.), 04 March, 2004 (04.03.04), Full text; Claims 1 to 22; Par. No. [0005] (Family: none)	1, 6-13, 16-19 10, 17 2-5, 20
X Y A	WO 2004/035522 A1 (BF Research Institute, Inc.), 29 April, 2004 (29.04.04), Full text; Claims 1, 4, 5, 10 to 39; page 9, lines 38 to 39 & EP 1547996 A1 & US 2005/0260126 A1 & JP 2004-544906 A	1, 6-13, 16-19 10, 17 2-5, 20
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input 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 08 March, 2007 (08.03.07)		Date of mailing of the international search report 20 March, 2007 (20.03.07)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/325804

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	WO 97/26919 A2 (WARNER-LAMBERT CO.), 31 July, 1997 (31.07.97), Example 6; page 20, line 10 to page 23, line 22; page 24, lines 4 to 13; page 25, lines 6 to 15; table 1 & US 6001331 A	1, 6-13, 16, 17, 19 2-5, 18, 20
X Y A	SHIMADZU, H., et al., Novel probes for imaging amyloid- $\beta$ : F-18 and C-11 labeling of 2- (4-aminostyryl)benzoxazole derivatives, J. Label Compd Radiopharm, 2004, 47, pp. 181-190	1, 6-9, 11-13, 16, 18, 19 10, 17 2-5, 20
X Y A	OKAMURA, N., et al., Styrylbenzoxazole Derivatives for In Vivo Imaging of Amyloid Plaques in the Brain, The Journal of Neuroscience, March 10, 2004, 24(10), pp. 2535- 2541	1, 6-9, 11-13, 16, 18, 19 10, 17 2-5, 20
X Y A	OKAMURA, N., et al., Quinoline and Bezimidazole Derivatives: Candidate Probes for In Vivo Imaging of Tau Pathology in Alzheimer's Disease, The Journal of Neuroscience, November 23, 2005, 25(47), pp. 10857-10862	1, 6-9, 11-13, 16, 18, 19 10, 17 2-5, 20
X A	JP 6-194780 A (Konica Corp.), 15 July, 1994 (15.07.94), Compound I-32 & EP 608548 A2 & US 5374512 A	1-3 4-13, 16-20
X A	STETINOVA, J., et al., 2-(Benzoxazole-2-yl)-3- heteroarylprop-2-enenitrile, Chem. Papers, 1997, 51(6b), pp. 390-394, Compound IIc, IID	1 2-13, 16-20
X A	JP 2004-525800 A (Bayer AG.), 26 August, 2004 (26.08.04), Example 28 & WO 2002/080161 A2 & EP 1377976 A2	1 2-13, 16-20
X A	JP 2004-534344 A (Bayer AG.), 11 November, 2004 (11.11.04), Example 52 & WO 2002/080150 A2 & EP 1377975 A2	1 2-13, 16-20
P, X P, A	ISHIKAWA, K., et al., Styrylbenzoxazole derivatives for imaging of prion plaques and treatment of transmissible spongiform encephalopathies, Journal of Neurochemistry, 2006, 99, pp. 198-205	1, 6-13, 16-19 2-5, 20

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2006/325804

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
(International Patent Classification (IPC))

C07D405/06(2006.01)i, C07D413/04(2006.01)i, C07D417/06(2006.01)i

(According to International Patent Classification (IPC) or to both national  
classification and IPC)Continuation of Box No. II-1 of continuation of first sheet (2)

to search (PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv)).

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2006/325804

**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, 15  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
The inventions as set forth in claims 14 and 15 pertain to methods for treatment of the human body by therapy or diagnostic methods to be practiced on the human body and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required (continued to extra sheet)
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).

**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:

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 an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
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.:

**Remark on Protest**  
the

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, 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.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/325804

<Subject of search>

Claims 1, 3, 6-13 and 16-19:

The inventions of claims 1, 3, 6-13 and 16-19 relate to a compound of the formula (I) below, a composition comprising the compound and the like.

[Chemical formula]

The compound defined by the formula (I) includes within its scope an extremely wide variety of compounds depending on the combinations of the substituents A, D, R<sub>1</sub> and R<sub>4</sub>.

However, when the contents of the description are examined, it is only disclosed that, among the compounds of the formula (I), a compound which has a benzothiazole, benzimidazole, benzoxazole, or naphthol [1,2-d]thiazole ring having a specific substituent and wherein R<sub>1</sub>'s independently represent a hydrogen, a methyl group, an alkoxy group having a substituent or together form a phenyl ring, R<sup>4</sup> represents an amino group or a nitrogenated heterocyclic ring, and n is 1 can bind to an amyloid-β protein.

Therefore, in the present state of the description, it cannot be considered that all of the inventions of claims 1, 3, 6-13 and 16-19 are disclosed in a manner sufficiently clear and complete for the inventions to be carried out by a person skilled in the art, and the inventions of these claims cannot be considered to be sufficiently supported (PCT Articles 5 and 6).

A prior art search was made mainly on the inventions of the claims stated above and the compounds supported by the description, i.e., compounds having the following substituents, within a reasonable scope of burden.

Regarding the inventions of claims 2, 4, 5 and 20, a complete search was made.

- A is N;
- D is S, N, O or CH<sub>2</sub>;
- R<sub>1</sub>'s independently represent a hydrogen, OH, an alkyl group which may have a substituent, an alkoxy group which may have a substituent, or may together form a carbon ring;
- R<sub>4</sub> represent NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, wherein R<sub>5</sub> and R<sub>6</sub> independently represent a hydrogen or alkyl group or may together form a heterocyclic ring; and
- n is 1.

As a result of a search, it is found that the present invention includes within its scope a various known compounds and that the inventions of claims 1, 3, 6-13 and 16-19 are obviously unnovel as stated in page 2, Box C. Therefore, in the presentation of reference documents, mainly those documents which disclose the compounds specifically mentioned in the description are listed.

(continued to next sheet)

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2006/325804

Claims 2, 4, 5-13 and 16-20

In claims 2, 4, 5 and 20, there is found symbols such as "THK-097". However, it is unclear what compounds are shown by the symbols, and therefore the inventions of these claims are unclear.

Similar comments apply to claims which depend on these claims.

In this international search report, a prior art search was made on the understanding that a symbol such as THK-097 means a compound having a structural formula shown in the right side of the symbol in each of Tables 1-1, 1-2, 1-3 and 1-4, with taking the contents of the description of the present application into consideration.

Claims 5-13 and 16-19

When a symbol "THK-683" in claim 5 is considered to mean a structural formula shown in the right side of the symbol in Table 1-1 as stated above, the compound is not included within the scope of the compound of the formula (I) in claim 1 of the present application. Therefore, claim 5, which depends on claim 1, lacks in consistency.

Similar comments apply to claims which depend on claim 5.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 0 6 / 3 2 5 8 0 4									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C07D277/84(2006.01)i, A61K31/4245(2006.01)i, A61K31/4439(2006.01)i, A61K31/5377(2006.01)i, A61K51/00(2006.01)i, A61P25/14(2006.01)i, A61P25/16(2006.01)i, A61P25/28(2006.01)i, C07D401/06(2006.01)i, C07D405/06(2006.01)i, C07D413/04(2006.01)i, C07D417/06(2006.01)i											
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C07D277/84, A61K31/4245, A61K31/4439, A61K31/5377, A61K51/00, A61P25/14, A61P25/16, A61P25/28, C07D401/06, C07D405/06, C07D413/04, C07D417/06											
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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2007年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2007年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2007年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2007年	日本国実用新案登録公報	1996-2007年	日本国登録実用新案公報	1994-2007年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2007年										
日本国実用新案登録公報	1996-2007年										
日本国登録実用新案公報	1994-2007年										
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CAplus(STN), REGISTRY(STN), WPI(DIALOG)											
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 請求の範囲の番号									
X	JP 2004-67659 A (株式会社 ビーエフ研究所) 2004.03.04 全文参照、請求項1-22, 段落【0005】 (ファミリーなし)	1, 6-13, 16-19									
Y		10, 17									
A		2-5, 20									
X	WO 2004/035522 A1 (株式会社 ビーエフ研究所) 2004.04.29 全文参照、請求項1, 4, 5, 10-39, 第9頁第38-39行	1, 6-13, 16-19									
Y	& EP 1547996 A1 & US 2005/0260126 A1 & JP 2004-544906 A	10, 17									
A		2-5, 20									
☑ 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矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献									
国際調査を完了した日 08.03.2007		国際調査報告の発送日 20.03.2007									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 洲野 留香 電話番号 03-3581-1101 内線 3452	4C 3759								

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2006/325804
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	WO 97/26919 A2 (WARNER-LAMBERT COMPANY) 1997.07.31 実施例6等、第20頁第10行-第23頁第22行、第24頁第4 -13行、第25頁第6-15行、表1 & US 6001331 A	1, 6-13, 16, 17, 19 2-5, 18, 20
X Y A	SHIMADZU, H., <i>et al.</i> , Novel probes for imaging amyloid- $\beta$ : F-18 and C-11 labeling of 2-(4-aminostyryl)benzoxazole derivatives, J. Label Compd Radiopharm, 2004, 47, pp. 181-190	1, 6-9, 11-13, 16, 18, 19 10, 17 2-5, 20
X Y A	OKAMURA, N., <i>et al.</i> , Styrylbenzoxazole Derivatives for <i>In Vivo</i> Imaging of Amyloid Plaques in the Brain, The Journal of Neuroscience, March 10, 2004, 24(10), pp. 2535-2541	1, 6-9, 11-13, 16, 18, 19 10, 17 2-5, 20
X Y A	OKAMURA, N., <i>et al.</i> , Quinoline and Bezimidazole Derivatives: Candidate Probes for <i>In Vivo</i> Imaging of Tau Pathology in Alzheimer's Disease, The Journal of Neuroscience, November 23, 2005, 25(47), pp. 10857-10862	1, 6-9, 11-13, 16, 18, 19 10, 17 2-5, 20
X A	JP 6-194780 A (コニカ株式会社) 1994.07.15 化合物 I-32 & EP 608548 A2 & US 5374512 A	1-3 4-13, 16-20
X A	STETINOVA, J., <i>et al.</i> , 2-(Benzoxazole-2-yl)-3-heteroarylprop-2-enenitrile, Chem. Papers, 1997, 51(6b), pp. 390-394 Compound IIc, II d	1 2-13, 16-20
X A	JP 2004-525800 A (バイエル アクチエンゲゼルシャフト) 2004.08.26	1 2-13, 16-20

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2006/325804
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	実施例 2 8 & WO 2002/080161 A2 & EP 1377976 A2	
X A	JP 2004-534344 A (バイエル アクチエンゲゼルシャフト) 2004.11.11 実施例 5 2 & WO 2002/080150 A2 & EP 1377975 A2	1 2-13, 16-20
P X P A	ISHIKAWA, K., <i>et al.</i> , Styrylbenzoazole derivatives for imaging of prion plaques and treatment of transmissible spongiform encephalopathies, <i>Journal of Neurochemistry</i> , 2006, 99, pp. 198-205	1, 6-13, 16-19 2-5, 20



国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 2 0 0 6 / 3 2 5 8 0 4

## 第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1.  請求の範囲 1 4, 1 5 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、請求の範囲 1 4 及び 1 5 に係る発明は、治療による人体の処置方法又は人体に実施する診断方法に関するものであり、国際調査機関が調査を要しないものに該当する (PCT 1 7 条(2)(a)(i)、PCT規則39.1(iv))。
2.  請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3.  請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 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の国際調査機関は認めた。

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の範囲について作成した。
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の範囲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ため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲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ため、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の範囲について作成した。

## 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を伴う異議申立てがなかった。

様式PCT/ISA/210 (第1ページの続葉(2)) (2005年4月)

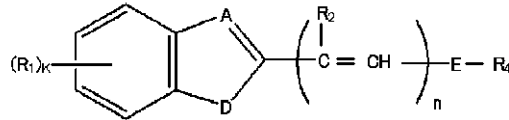
国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2006/325804

&lt;調査の対象について&gt;

請求の範囲1, 3, 6-13, 16-19について

請求の範囲1, 3, 6-13, 16-19に係る発明はいずれも以下の式(1)で表される化合物等、または当該化合物等を含有することを特徴とする組成物等に係る発明である。



そして、式(1)で定義される化合物には、A、D、R<sub>1</sub>及びR<sub>4</sub>の置換基の組み合わせによって膨大な数の化合物が包含されるものとなっている。

しかしながら、明細書の記載を検討しても、式(1)で表される化合物のうち、特定の置換基を有するベンゾチアゾール環、ベンゾイミダゾール環、ベンゾオキサゾール環、又はナフトール[1,2-d]チアゾール環を有し、R<sub>1</sub>はそれぞれ独立して水素、メチル基、置換基を有するアルコキシ基、または一緒になってフェニル環を形成しているものであって、R<sub>4</sub>がアミノ基、又は窒素含有ヘテロ環であって、nが1である化合物がアミロイドβ蛋白に結合することが開示されるのみである。

したがって、このような記載によつては、当業者が本願請求の範囲1, 3, 6-13, 16-19に係る発明の全体についてまで発明を実施することができる程度に明確かつ十分に記載されたものとはいえず、これらの請求の範囲に係る発明について十分な裏付けとなるように記載されたものということとはできない(PCT5条及び6条)。

そして、先行技術調査は、明細書の記載を参考にして、上記請求の範囲に係る発明であつて、明細書に裏付けられている部分である置換基が以下のものである化合物を中心に合理的な範囲で行つた。

また、請求の範囲2, 4, 5及び20に係る発明については、完全な調査を行つた。

- ・ AはN、
- ・ DはS, N, OまたはCH<sub>2</sub>であり、
- ・ R<sub>1</sub>はそれぞれ独立して、水素、OH、置換基を有していてもよいアルキル基、置換基を有していてもよいアルコキシ基、または、一緒になって炭素環を形成してもよく、
- ・ R<sub>4</sub>はNR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>であつて、R<sub>5</sub>及びR<sub>6</sub>はそれぞれ独立して水素またはアルキル基であるか、一緒になってヘテロ環を形成してもよく、
- ・ nは1

なお、調査の結果、本発明は多数の公知化合物を包含し、請求の範囲1, 3, 6-13, 16-19に係る発明に関しては、第2ページC欄で指摘したように新規性がないことが明らかであるから、引用文献の提示にあつては、本発明で具体的に記載される化合物を記載しているものを中心に提示した。

(続葉に続く。)

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2006/325804

請求の範囲 2, 4, 5-13, 16-20 について

請求の範囲 2, 4, 5 及び 20 には、THK-097 等の記号が記載されているが、当該記号が表す具体的な化合物が理解できず、これらの請求の範囲に係る発明は不明確なものである。

そして、これらの請求の範囲を引用する各請求の範囲についても同様である。

なお、国際調査では、本願明細書を参酌し、THK-097 等の記号は明細書の表 1-1, 1-2, 1-3 及び 1-4 における当該記号の右欄に記載された構造式を有する化合物を意味するものと解して、先行技術文献の調査を行った。

請求の範囲 5-13, 16-19 について

請求の範囲 5 の THK-683 なる記号を上記で述べたとおり、明細書の表 1-1 の当該記号の右欄に記載された構造式等を意味するものと解すると、当該化合物は本願請求の範囲 1 の式 (I) で表される化合物に包含されないものであって、請求の範囲 1 の従属項である請求の範囲 5 は整合性のない記載となっている。

そして、請求の範囲 5 を引用する各請求の範囲についても同様である。

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/4188 (2006.01)	C 0 7 D 487/04 1 4 0	
A 6 1 K 31/519 (2006.01)	A 6 1 K 31/4188	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 K 31/519	
A 6 1 K 51/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
	A 6 1 K 49/02	A

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

- (72) 発明者 荒井 啓行  
宮城県仙台市青葉区片平二丁目 1 番 1 号 国立大学法人東北大学内
- (72) 発明者 岡村 信行  
宮城県仙台市青葉区片平二丁目 1 番 1 号 国立大学法人東北大学内
- (72) 発明者 丸山 将浩  
宮城県仙台市青葉区片平二丁目 1 番 1 号 国立大学法人東北大学内
- (72) 発明者 古本 祥三  
宮城県仙台市青葉区片平二丁目 1 番 1 号 国立大学法人東北大学内
- (72) 発明者 堂浦 克美  
宮城県仙台市青葉区片平二丁目 1 番 1 号 国立大学法人東北大学内

F ターム (参考) 4C050 AA01 AA07 BB04 BB05 CC04 CC08 EE02 FF02 GG03 HH04  
4C063 AA01 BB03 CC62 CC76 CC92 DD26 DD52 DD62 EE01  
4C085 HH03 KA29 KB07 KB09 KB18 KB21 KB56 KB57 LL13  
4C086 AA01 AA02 AA03 BC39 BC50 BC84 MA01 MA04 NA14 ZA02  
ZA15 ZA16

(注) この公表は、国際事務局 (W I P O) により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願 (日本語実用新案登録出願) の国際公開の効果は、特許法第 1 8 4 条の 1 0 第 1 項 (実用新案法第 4 8 条の 1 3 第 2 項) により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。