

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局

(43) 国際公開日  
2017年7月6日(06.07.2017)



(10) 国際公開番号  
**WO 2017/115873 A1**

- (51) 国際特許分類:  
*A61K 45/06* (2006.01)    *A61K 31/4709* (2006.01)  
*A61K 31/145* (2006.01)    *A61K 31/4985* (2006.01)  
*A61K 31/353* (2006.01)    *A61P 25/28* (2006.01)  
*A61K 31/404* (2006.01)    *A61P 43/00* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/089217
- (22) 国際出願日: 2016年12月29日(29.12.2016)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2015-257706 2015年12月29日(29.12.2015) JP
- (71) 出願人: 国立大学法人京都大学(KYOTO UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町3番地1 Kyoto (JP).
- (72) 発明者: 井上 治久(INOUE, Haruhisa); 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町3番地1 国立大学法人京都大学内 Kyoto (JP). 近藤 孝之(KONDO, Takayuki); 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町3番地1 国立大学法人京都大学内 Kyoto (JP).
- (74) 代理人: 高島 一(TAKASHIMA, Hajime); 〒5410044 大阪府大阪市中央区伏見町四丁目1番1号 明治安田生命大阪御堂筋ビル Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告 (条約第21条(3))



WO 2017/115873 A1

(54) Title: AGENT FOR PREVENTING AND/OR TREATING ALZHEIMER'S DISEASE

(54) 発明の名称: アルツハイマー病の予防及び/又は治療剤

(57) Abstract: The invention provides an agent for preventing or treating Alzheimer's disease (AD) that combines two or more compounds selected from the group consisting of compounds represented by compound numbers 1-130. These compounds are existing drugs, the safety and pharmacokinetics of which have already been confirmed in humans by actual results, and can therefore serve as a preemptive treatment for early-stage pre-AD which leads to mild cognitive impairment (MCI).

(57) 要約: 本発明は、化合物番号1~130で表される化合物からなる群より選択される2以上の化合物を組み合わせてなる、アルツハイマー病(AD)の予防又は治療剤を提供する。これらの化合物は、ヒトでの安全性と体内動態が実績によって既に確認されている既存薬であることから、軽度認知障害(MCI)に至る前段階のAD予備群に対する先制治療の手段となり得る。

## 明 細 書

発明の名称：アルツハイマー病の予防及び/又は治療剤

### 技術分野

[0001] 本発明は、アルツハイマー病の予防及び/又は治療剤に関する。より詳細には、本発明は、アルツハイマー病患者由来人工多能性幹細胞（iPS細胞）から分化誘導した神経細胞におけるアミロイド $\beta$ 病態を改善した既存薬を、分子フィンガープリントによりクラスタリングして得られる、異なるクラスターに分類される2以上の化合物を組み合わせる、アルツハイマー病の予防及び/又は治療剤に関する。

### 背景技術

[0002] アルツハイマー病（AD）は、認知機能低下、人格の変化を主な症状とする認知症の一種である。AD脳病変の特徴としては、神経細胞の変性消失とそれに伴う大脳萎縮、老人斑の多発、神経原線維変化（NFT）の多発があげられる。このうち、老人斑は、アミロイド $\beta$ （A $\beta$ ）ペプチドの凝集蓄積であることが知られている。A $\beta$ は、アミロイド前駆タンパク質（APP）の $\beta$ -及び $\gamma$ -セクレターゼによる切断の結果産生する38 - 43アミノ酸からなるペプチドである。このうち、A $\beta$ 42は凝集能および神経細胞毒性が高いことが知られており、家族性アルツハイマー病（FAD）の原因変異を有する細胞において、A $\beta$ 42/40比の上昇が認められることが報告されている。

[0003] 従来より、A $\beta$ 42量を減少させることが、ADの発症を抑制するためのキーポイントになることが広く認識されている。このことは、 $\beta$ -または $\gamma$ -セクレターゼの調節薬のいくつかは、プレセニン1（PSEN1）又は変異APPを過剰発現したマウスモデルにおいて、AD発症を改善することが示されていることから明らかである。

しかし、これらの調節薬は、ADモデルマウスを用いた前臨床試験において大きな成功を得たにもかかわらず、ヒトへ転用した場合、多くの臨床試験において失敗に終わっている。

[0004] これまでに、抗体療法の結果から、老人斑をはじめとするA $\beta$ 蓄積に起因する病変は可逆的であることが示されている。しかし、残念ながらA $\beta$ の蓄積を解消したとしても、臨床的な有効性は得られておらず、軽度認知障害 (Mild cognitive impairment, MCI) に至るよりも前の段階での介入が必要と考えられている。MCIに至る前段階でもすでにA $\beta$ の病理的変化は先行していることがアミロイドPET (ポジトロン・エミッション・トモグラフィ) で示されており、非常に多く存在すると予測されるAD予備群に対する、発症前段階での介入が必要である。特に優性遺伝病ネットワーク (DIAN) 研究をはじめとした予防治療の重要性が強調されている。しかし、このような対象に非常に高価な抗体医薬の積極的な適用は現実的でない。また、多くのA $\beta$ を標的とした化合物を用いた内服治療も試みられてきたが、副作用の問題もあり発売に至ったものはない。

従って、薬物の安全性の解決と先制治療 (早期治療) がA $\beta$ を標的とする薬剤を有効とするためには必須であると考えられる。

[0005] また一方で、高齢化社会の進展に伴うAD患者の急増は医療経済を圧迫している。2010年時点でAD患者3500万人にかかる医療費は年間6040億ドルであり、2050年にはAD患者が1億1400万人に増加し、さらに医療費が高騰することが予測される。このような状況の下、AD治療に対する、ドラッグ・リポジショニング (DR)、すなわち、既存薬の転用が重要視されている (非特許文献1)。既存薬は、すでに膨大な安全性や体内動態に関する臨床情報が蓄積されており (ChEMBL databaseなど)、安全性が確立されている。そのため、臨床症状はないがアミロイド検査で陽性と判定されたAD予備群に対する先制治療としての介入が期待できる。実際に、Valsartan (降圧薬)、Liraglutide (抗糖尿病薬) が臨床試験に進んでいる。このように、AD治療におけるDRの重要性は今後さらに増すものと予測される。

[0006] ところで、患者由来のiPS細胞 (疾患iPS細胞) から分化誘導された病因となる細胞は、in vitroで患者の病態を再現していると予測されることから、有力な薬効評価系として期待されている。ヒトiPS細胞由来神経細胞に関する

最近の報告では、薬物応答性を評価するツールとしてのヒト神経細胞の重要性が強調されている（非特許文献2-4）。

## 先行技術文献

### 非特許文献

[0007] 非特許文献1: Front. Biosci. (Schol. Ed). 7, 184-8 (2015)

非特許文献2: PLoS One 6, e25788 (2011)

非特許文献3: JAMA Neurol. 71, 1481-9 (2014)

非特許文献4: Stem Cell Reports 1, 491-498 (2013)

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明の目的は、ヒトでの安全性と体内動態が実績によって既に確認されている既存薬から、アルツハイマー病の予防及び/又は治療効果を有する薬剤を見出し、以てMCIに至る前段階のAD予備群に対する先制治療の手段を提供することである。

### 課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、上記目的を達成すべく、アメリカ食品医薬品局（FDA）にて承認済みの1280種の医薬品化合物からなる既存薬ライブラリーを、AD患者由来のiPS細胞から分化誘導した神経細胞を用いてスクリーニングし、該神経細胞におけるA $\beta$ 病態を改善する129種（併用薬1種を含む）の化合物をAD治療薬の候補として抽出した。さらに、化合物の構造及び物性から、これらの候補化合物を10のクラスターに分類し、単剤と比べて相加的に作用するクラスターの組合せを見出した。本発明者らは、これらの知見に基づいてさらに研究を重ねた結果、本発明を完成するに至った。

[0010] すなわち、本発明は以下の通りのものである。

[1] 化合物番号1～130で表される化合物からなる群より選択される2以上の化合物を組み合わせてなる、アルツハイマー病の予防又は治療剤。

[2] クラスター1、2、4及び5からなる群より選択される2以上のクラ

スターに属する2種以上の化合物を組み合わせる、[1]に記載の剤。

[3] クラスタ1に属する化合物がクロモリン (Cromolyn) であり、クラスタ2に属する化合物がブロモクリプチン (Bromocriptine) 及び/又はフルバスタチン (Fluvastatin) であり、クラスタ4に属する化合物がプロブコール (ProbucoI) であり、クラスタ5に属する化合物がシロスタゾール (Cilostazol) 及び/又はトピラメート (Topiramate) である、[2]に記載の剤。

[4] Bromocriptine、Cilostazol、Cromolyn、Fluvastatin、ProbucoI、Topiramateからなる群より選択される2以上の化合物を組み合わせる、[1]～[3]のいずれかに記載の剤。

[5] Bromocriptine、Cromolyn及びTopiramateを組み合わせる[4]に記載の剤。

[6] Bromocriptine、Cilostazol及びProbucoIを組み合わせる、[4]に記載の剤。

[7] 対象におけるアルツハイマー病の予防又は治療方法であって、化合物番号1～130で表される化合物からなる群より選択される2以上の化合物をそれぞれ治療上有効な量、該対象に投与することを含む、方法。

[8] 前記治療上有効な量が、各化合物における既知の最大無毒性用量以下である、[7]に記載の方法。

## 発明の効果

[0011] 本発明によれば、これまで効果的な予防又は治療薬が存在しなかった、アルツハイマー病に対する予防及び/又は治療が可能となる。特に、本発明では安全性が確認されている既存薬を有効成分とすることから、副作用の懸念が少なく、MCIに至る前段階のAD予備群に対して積極的な先制治療を行うことができる。

## 図面の簡単な説明

[0012] [図1]図1 aは、iPS細胞から皮質神経への誘導方法の模式図を示す。図1 bは、FAD1患者から作成したiPS細胞のTra-1-80及びNanogでの染色結果を示す

。図1 cは、FAD1患者から作成したiPS細胞から誘導したニューロンのMAP2及びCTIP2の染色像を示す。右図は、左図の拡大図である。図1 dは、1次スクリーニングにおいて各指標 ( $A\beta 40$ 、 $A\beta 42$ 、 $A\beta 42/A\beta 40$ 比及び生存細胞数) についてプロットした結果を示す。図1 eは、1次スクリーニングの選別方法及び129個の候補薬の分類を示す。

[図2-1]図2 aは、既知の薬効によらない化合物構造に基づく再分類ストラテジと検討項目を示す。図2 bは、129個の候補薬と既知の $A\beta$ 調節化合物を、構造式に基づいてクラスタリング分類した結果と、分類された候補薬がもたらした $A\beta 42$ に対する薬効プロットを示す。

[図2-2]図2 cは、Bromocriptine、Cilostazol、Cromolyn、Fluvastatin、Probucol及びTopiramateの $A\beta 40$ 、 $A\beta 42$ 、 $A\beta 42/A\beta 40$ 比を指標とした用量依存性を示す。

[図3-1]図3 aは、Bromocriptine、Cromolyn及びTopiramate(BCroT)またはBromocriptine、Cilostazol及びProbucol(BCiP)の $A\beta 40$ 、 $A\beta 42$ 、 $A\beta 42/A\beta 40$ 比を指標とした用量依存性を示す。図3 bはDonepezilとBCroTまたはBCiPを併用した場合の $A\beta 40$ 、 $A\beta 42$ 、 $A\beta 42/A\beta 40$ 比を指標とした用量依存性を示す。図3 cは、Bromocriptine、Cilostazol、Cromolyn、Fluvastatin、Probucol、Topiramate、BCroT、BCiP、DonepezilとBCroT併用及びDonepezilとBCiP併用の $A\beta 40$ 、 $A\beta 42$ 、 $A\beta 42/A\beta 40$ 比の $EC_{50}$ と $E_{max}$ の結果を示す。図3 dは、ヒトiPS細胞に基づいた既存薬の薬効再評価過程と、多人数由来のヒトiPS細胞由来神経細胞を用いた「in vitro臨床試験」の概念図を示す。図3 eは、in vitro臨床試験に用いた患者及び健常人のリストを示す。

[図3-2]図3 fは、図3 eに示した各iPS細胞由来のニューロンに対するBromocriptine、Cilostazol、Cromolyn、Fluvastatin、Probucol、Topiramate、BCroT、BCiPの $A\beta 40$ 、 $A\beta 42$ 、 $A\beta 42/A\beta 40$ 比に対する効果を示す。

[図3-3]図3 gおよびhは、ICRマウスにBCroT及びBCiPの経口投与が与える脳内 $A\beta$ に対する効果を示す。

[図4]図4 aは、各iPS細胞のTra-1-80及びNanogでの染色結果を示す。図4 b

は、各iPS細胞から誘導したニューロンのMAP2及びCTIP2の染色像を示す。図4 cは、各iPS細胞から誘導したニューロンにおける神経マーカー（MAP2及びCTIP2）の陽性率を示す。図4 dは、iPS細胞（FAD1）の分化誘導プロトコールと内因性の神経マーカー遺伝子と外来性遺伝子の発現の、経時的变化を調べた結果を示す。図4 eは、iPS細胞（FAD1）由来のニューロンにおける電気生理学的検査結果を示す。図4 fは、各iPS細胞由来のニューロンから産生されるA $\beta$  40、A $\beta$  42及び当該A $\beta$  42/A $\beta$  40比の、経時的变化を測定した結果を示す。

[図5]図5 aは既知のA $\beta$ 量調整作用を持つ化合物、bは既報の $\gamma$ -セクレターゼ調整薬、cは市販済みAD治療薬が、それぞれFAD1患者のiPS細胞由来のニューロンにもたらす薬効を測定した結果を示す。

[図6]図6 aは、陽性コントロールとして用いたBSI IV及びJNJ-40418677をiPS細胞（FAD1）由来のニューロンに投与した際のA $\beta$  40、A $\beta$  42、A $\beta$  42/A $\beta$  40比を指標とした用量依存性を示す。図6 bは、1次スクリーニング方法におけるA $\beta$  40、A $\beta$  42、A $\beta$  42/A $\beta$  40比を指標とした場合のZ' factorを示す。図6 cは、1次スクリーニングで選択された129個の薬剤のうち、A $\beta$  40、A $\beta$  42またはA $\beta$  42/A $\beta$  40比に対して効果があった薬剤のベン図を示す。

[図7]図7 a、b、c、d、e、fまたはgは、それぞれ、各クラスターのA $\beta$  40、A $\beta$  42、ratio A $\beta$  42/40、A $\beta$  38、sAPPbeta、sAPPalphaまたはA $\beta$  43に対する効果を示す。

[図8]図8は、Meticrane、Nifumic acid、Bifonazole、Belamipron、Chiropyramine、Tioxolone、Cetrimonum、Pinacidil、Dapsom及びVerapamilのiPS細胞（FAD1）由来のニューロンにおけるA $\beta$  40、A $\beta$  42またはA $\beta$  42/A $\beta$  40に対する効果を検討した結果を示す。

[図9]図9は、Topiramate、Bromocriptine、Cromolyn、Fluvastatin、Cilostazol及びProbucolを単剤、2剤、3剤、及び全ての組み合わせによるA $\beta$  40、A $\beta$  42またはA $\beta$  42/A $\beta$  40比に対する効果を示す。

[図10]図10 aは、Dopamin、DA agonist（SKF38393、Bromocriptine及びPD1

68077) のiPS細胞 (FAD1) 由来のニューロンにおける $A\beta 40$ 、 $A\beta 42$ または $A\beta 42/A\beta 40$ に対する効果を検討した結果を示す。図10bは、Talipexole、Pramipexole、Ropinirole及びCabergolineのiPS細胞 (FAD1) 由来のニューロンにおける $A\beta 40$ 、 $A\beta 42$ または $A\beta 42/A\beta 40$ に対する効果を検討した結果を示す。

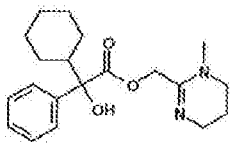
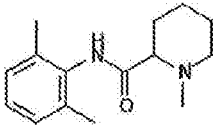
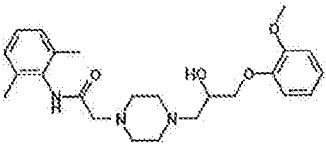
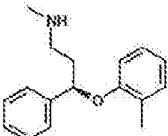
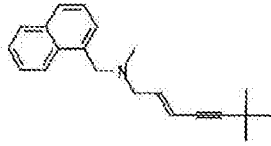
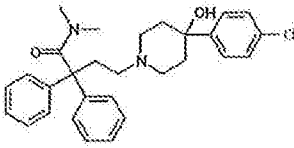
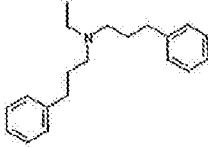
[図11]図11は、BACE inhibitor IV、JNJ-40418677、semagacestat、Bromocriptine、Cilostazol、Cromolyn、Fluvastatin、Probucol、Topiramateをそれぞれを添加した際の、sAPP $\alpha$ 、sAPP $\beta$ 、sAPP $\beta/\alpha$ 比の用量依存的な変化グラフを示す。

### 発明を実施するための形態

- [0013] 以下、本発明を説明する。本明細書において使用される用語は、特に言及しない限り、当該分野で通常に用いられる意味を有する。
- [0014] 本発明は、アルツハイマー病の病態を示すヒト神経細胞（以下、「AD神経細胞」ともいう）における $A\beta$ 病態を、それぞれ単独で改善し得る2以上の化合物であって、それらを組み合わせた場合に、単剤で使用した場合と比較して相加的な $A\beta$ 病態改善効果を奏する化合物を組み合わせることを特徴とする、アルツハイマー病の予防及び/又は治療剤（以下、「本発明の医薬」ともいう）を提供する。
- [0015] 具体的には、本発明の医薬は、下記表1-1～1-19に記載の化合物番号1～130からなる群より選択される2以上の化合物を有効成分とする。
- [0016]

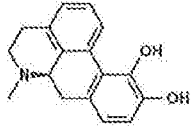
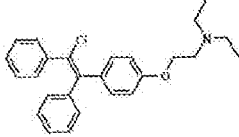

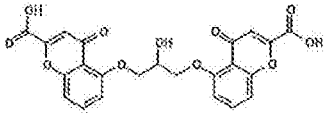
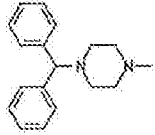
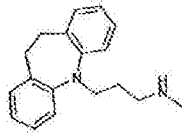
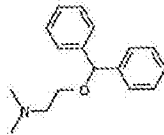


[表1-1]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
1		OXYPHENCYCLIMINE (上市薬は塩酸塩)	1
2		MEPIVACAINE (上市薬は塩酸塩)	1
3		RANOLAZINE	1
4		ATOMOXETINE (上市薬は塩酸塩)	1
5		TERBINAFINE (上市薬は塩酸塩)	1
6		LOPERAMIDE (上市薬は塩酸塩)	1
7		ALVERINE (上市薬はクエン酸塩)	1

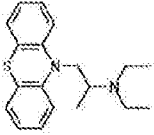
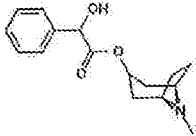
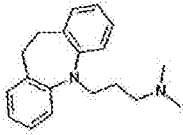
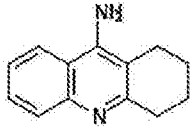
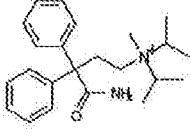
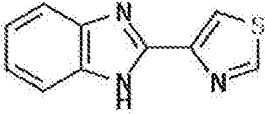
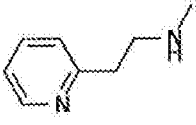
[0017]

[表1-2]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
8		APOMORPHINE (上市薬は塩酸塩)	1.
9		CLOMIPHENE (上市薬はクエン酸塩)	1.
10		COTININE	1.
11		CROMOLYN (上市薬はナトリウム塩)	1.
12		CYCLIZINE	1.
13		DESIPRAMINE (上市薬は塩酸塩)	1.
14		diphenhydramine (8-chlorotheophylline との併用薬)	1.

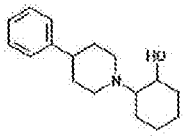
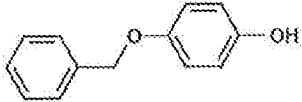
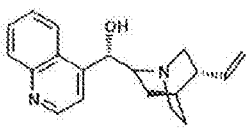
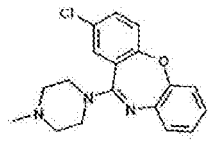
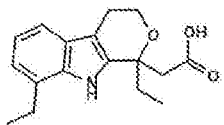
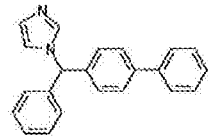
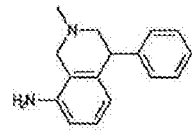
[0018]

[表1-3]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
15		ETHOPROPAZINE (上市薬は塩酸塩)	1
16		HOMATROPINE (上市薬は臭化物)	1
17		IMIPRAMINE (上市薬は塩酸塩)	1
18		TACRINE (上市薬は塩酸塩)	1
19		ISOPROPAMIDE (上市薬はヨウ化物)	1
20		THIABENDAZOLE	1
21		BETAHISTINE (上市薬は塩酸塩)	1

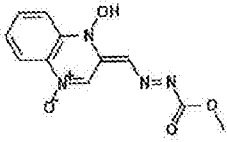
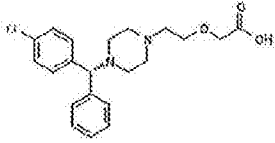
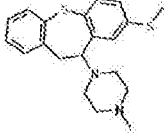
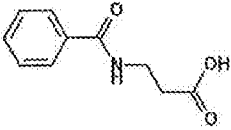
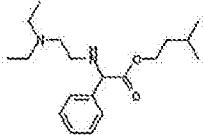
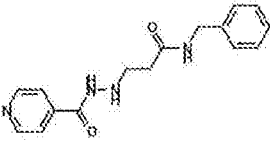
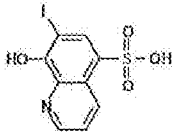
[0019]

[表1-4]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
22		VESAMICOL (上市薬は塩酸塩)	1
23		MONOBENZONE	1
24		CINCHONINE	1
25		LOXAPINE (上市薬はコハク酸塩)	1
26		ETODOLAC	1
27		BIFONAZOLE	1
28		NOMIFENSINE (上市薬はマレイン酸塩)	1


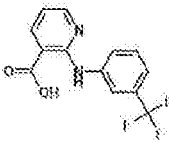
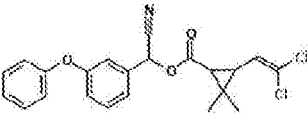
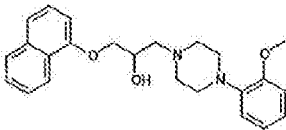
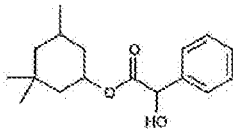
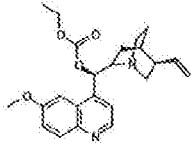
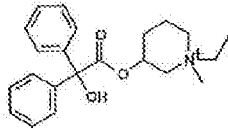
[0020]

[表1-5]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
29		CARBADOX	1
30		LEVOCETIRIZINE (上市薬は二塩酸塩)	1
31		METITEPINE (上市薬はマレイン酸塩)	1
32		BETAMIPRON	1
33		CAMYLOFINE (上市薬は二塩酸塩)	1
34		NIALAMIDE	1
35		CHINIOFON	1

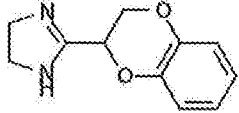
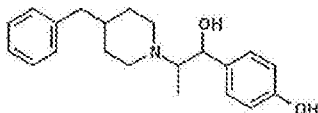
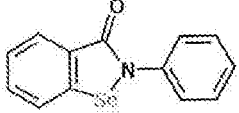
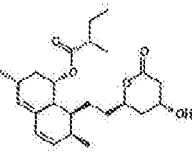
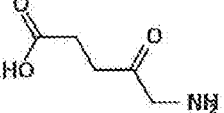
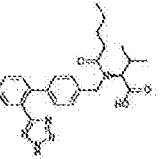
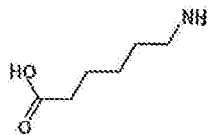
[0021]

[表1-6]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
36		PIRIBEDIL (上市薬は塩酸塩)	1
37		NIFLUMIC ACID	1
38		CYPERMETHRIN	1
39		NAFTOPIDIL	1
40		CYCLANDELATE	1
41		QUININE ETHYL CARBONATE	1
42		PIPENZOLATE (上市薬は臭化物)	1

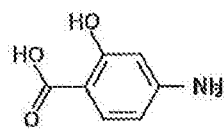
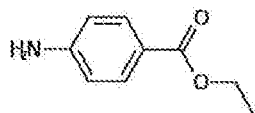
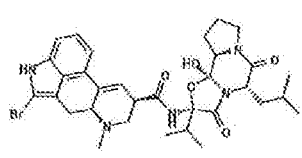
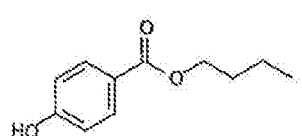
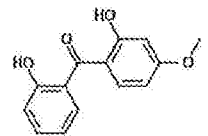
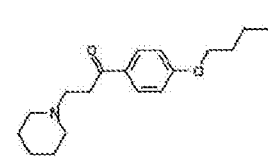
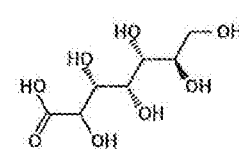
[0022]

[表1-7]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
43		IDAZOXAN (上市薬は塩酸塩)	1
44		IFENPRODIL (上市薬は酒石酸塩)	1
45		EBSELEN	1
46		LOVASTATIN	2
47		AMINOLEVULINIC ACID (上市薬は塩酸塩)	2
48		VALSARTAN	2
49		AMINOCAPROIC ACID	2

[0023]

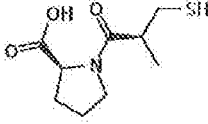
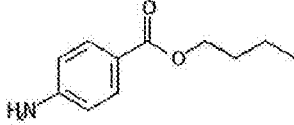
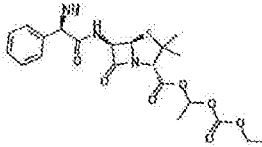
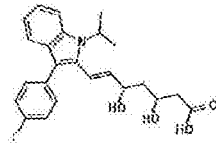
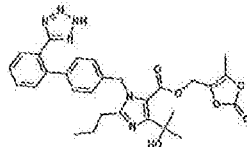
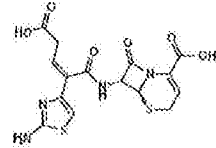
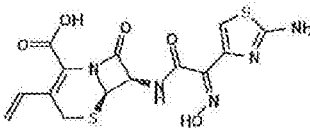
[表1-8]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
50		AMINOSALICYLATE (上市薬はナトリウム塩)	2
51		BENZOCAINE	2
52		BROMOCRIPTINE (上市薬はメシル酸塩)	2
53		BUTYL PARABEN	2
54		DIOXYBENZONE	2
55		DYCLONINE (上市薬は塩酸塩)	2
56		GLUCOHEPTONIC ACID (上市薬はカルシウム塩)	2

[0024]

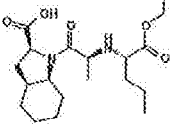
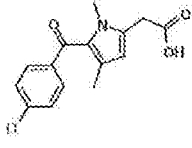
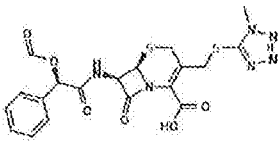
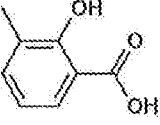
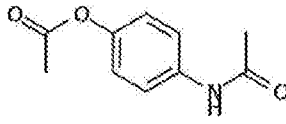
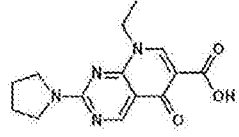
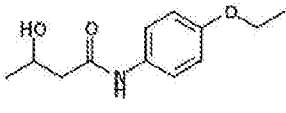


[表1-9]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
57		CAPTOPRIL	2
58		BUTAMBEN	2
59		BACAMPICILLIN (上市薬は塩酸塩)	2
60		FLUVASTATIN	2
61		OLMESARTAN MEDOXOMIL	2
62		CEFTIBUTEN	2
63		CEFDINIR	2

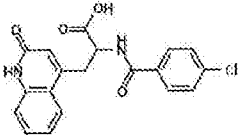
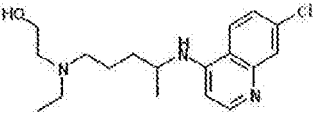
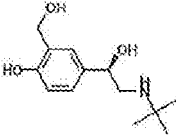
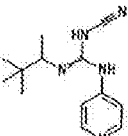
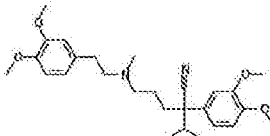
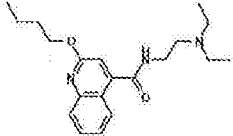
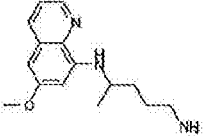
[0025]

[表1-10]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
64		PERINDOPRIL ERBUMINE	2
65		ZOMEPIRAC (上市薬はナトリウム塩)	2
66		CEFAMANDOLE	2
67		HYDROXYTOLUIC ACID	2
68		DIACETAMATE	2
69		PIROMIDIC ACID	2
70		BUCETIN	2

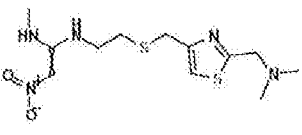
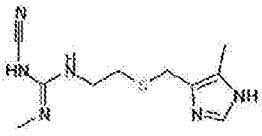
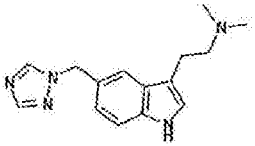
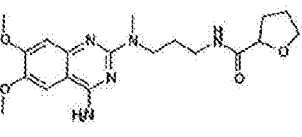
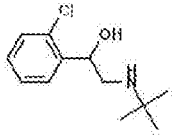
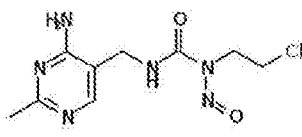
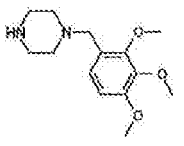
[0026]

[表1-11]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
71		REBAMIPIDE	2
72		HYDROXYCHLOROQUINE (上市薬は硫酸塩)	3
73		LEVALBUTEROL (上市薬は塩酸塩)	3
74		PINACIDIL	3
75		VERAPAMIL (上市薬は塩酸塩)	3
76		DIBUCAINE (上市薬は塩酸塩)	3
77		PRIMAQUINE (上市薬はニリン酸塩)	3

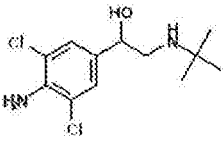
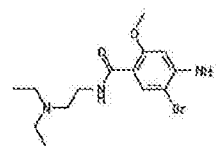
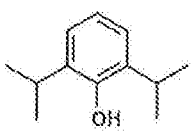
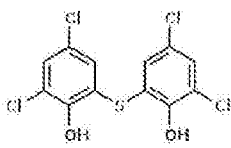
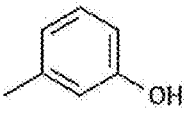
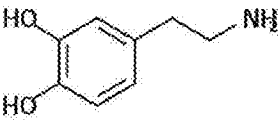
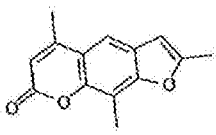
[0027]

[表1-12]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
78		NIZATIDINE	3
79		CIMETIDINE	3
80		RIZATRIPTAN (上市薬は安息香酸塩)	3
81		ALFLUZOSIN	3
82		TULOButEROL	3
83		NIMUSTINE	3
84		TRIMETAZIDINE (上市薬は二塩酸塩)	3

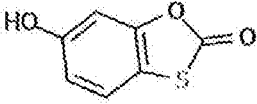
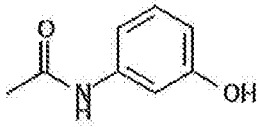
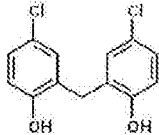
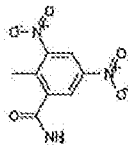
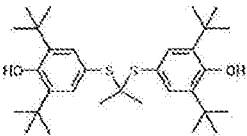
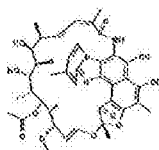
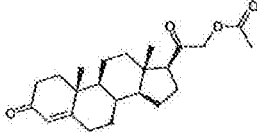
[0028]

[表1-13]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
85		CLENBUTEROL (上市薬は塩酸塩)	3
86		BROMOFRIDE	3
87		PROPOFOL	4
88		BITHIONOL (上市薬はナトリウム塩)	4
89		CRESOL	4
90		DOPAMINE (上市薬は塩酸塩)	4
91		TRIOXSALEN	4

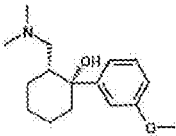
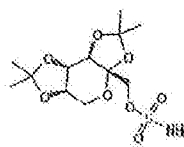
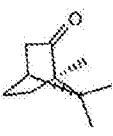
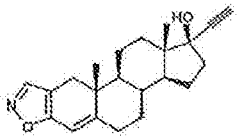
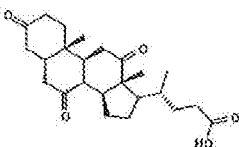
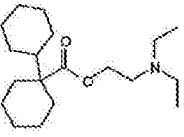
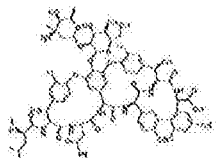
[0029]

[表1-14]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
92		THIOXOLONE	4
93		METACETAMOL	4
94		DICHLOROPHENE	4
95		DINITOLMIDE	4
96		PROBUCOL	4
97		RIFAXIMIN	5
98		DESOXYCORTICOSTERONE (上市薬は酢酸塩)	5

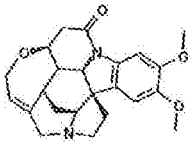
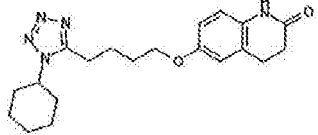
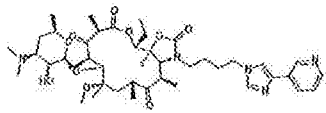
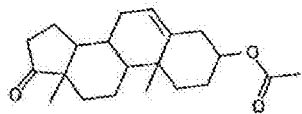
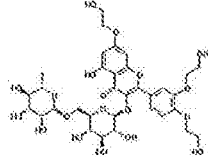
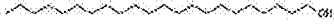
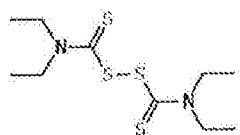
[0030]

[表1-15]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
99		TRAMADOL (上市薬は塩酸塩)	5
100		TOPIRAMATE	5
101		CAMPHOR (1R)	5
102		DANAZOL	5
103		DEHYDROCHOLIC ACID (上市薬はナトリウム塩)	5
104		DICYCLOMINE (上市薬は塩酸塩)	5
105		VANCOMYCIN (上市薬は塩酸塩)	5

[0031]


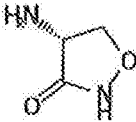
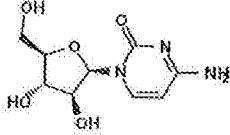
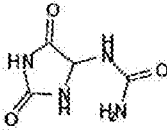
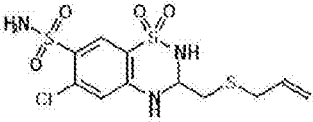
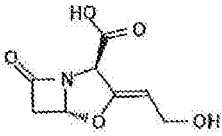
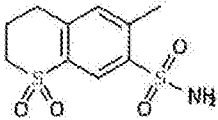
[表1-16]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
106		BRUCINE	5
107		CILOSTAZOL	5
108		TELITHROMYCIN	5
109		PRASTERONE ACETATE	5
110		TROXERUTIN	5
111		DOCOSANOL	6
112		DISULFIRAM	6

[0032]

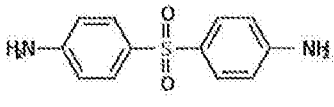

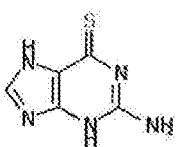

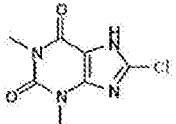
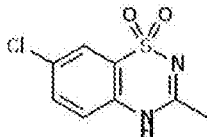
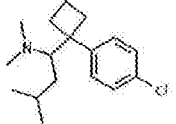


[表1-17]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
113		CETRIMONIUM (上市薬は臭化物)	6
114		CYCLOSERINE	7
115		CYTARABINE	7
116		ALLANTOIN	7
117		ALTHIAZIDE	7
118		CLAVULANIC ACID (上市薬はリチウム塩)	7
119		METICRANE	7

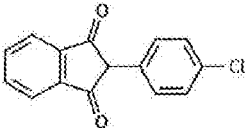
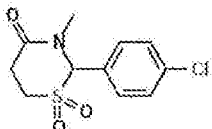
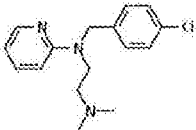
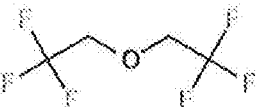
[0033]

[表1-18]

化合物番号	構造式	名称	クラスター
120		DAPSONE	8
121		HISTAMINE (上市薬は二塩酸塩)	8
122		THIOGUANINE	8
123		BITOSCANATE	8
124		8-chlorotheophylline (diphenhydramine との併用薬)	9
125		DIAZOXIDE	9
126		SIBUTRAMINE (上市薬は塩酸塩)	9

[0034]

[表1-19]

化合物番号	構造式	名称	ガラスター
127		CHLORINDIONE	9
128		CHLORMEZANONE	9
129		CHLOROPYRAMINE (上市薬は塩酸塩)	9
130		FLUROTHYL	10

[0035] 本発明の化合物は、市販品を用いるか、あるいは各化合物についてそれぞれ自体公知の方法により製造することができる。例えば、米国における各化合物の販売元は、Drugs@FDA (<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm>) 等により知ることができる。

[0036] 表1に記載の各化合物は、フリー体だけでなく、その薬理的に許容される塩も包含されるものとする。薬理的に許容される塩は化合物の種類によって異なるが、例えば、アルカリ金属塩（ナトリウム塩、カリウム塩等）、アルカリ土類金属塩（カルシウム塩、マグネシウム塩等）、アルミニウム塩、アンモニウム塩等の無機塩基塩、並びにトリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、N, N' -ジベンジルエチレンジアミン等の有機塩基塩などの塩基付加塩、あるいは塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、ヨウ化水素酸塩、硝酸塩、リン酸塩等の無機酸塩、クエン酸塩

、シュウ酸塩、酢酸塩、ギ酸塩、プロピオン酸塩、安息香酸塩、トリフルオロ酢酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、メタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、パラトルエンスルホン酸塩等の有機酸塩などの酸付加塩が挙げられる。

また、表1に記載の各化合物は、ハロゲン化物（フッ化物、塩化物、臭化物、ヨウ化物等）であってもよい。

[0037] 表1に記載のいずれかの化合物が、光学異性体、立体異性体、位置異性体、回転異性体等の異性体を有する場合には、いずれか一方の異性体も混合物も当該化合物に包含される。例えば、表1に記載のいずれかの化合物に光学異性体が存在する場合には、ラセミ体から分割された光学異性体も当該化合物に包含される。これらの異性体は、自体公知の合成手法、分離手法（例、濃縮、溶媒抽出、カラムクロマトグラフィー、再結晶等）、光学分割手法（例、分別再結晶法、キラルカラム法、ジアステレオマー法等）等によりそれぞれを単品として得ることができる。

表1に記載の各化合物は、結晶であってもよく、結晶形が単一であっても結晶形混合物であっても本発明の化合物に包含される。結晶は、自体公知の結晶化法を適用して、結晶化することによって製造することができる。

表1に記載の各化合物は、溶媒和物（例、水和物等）であっても、無溶媒和物（例、非水和物等）であってもよく、いずれも本発明の化合物に包含される。

また、同位元素（例、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{125}\text{I}$ 等）等で標識された化合物も、表1に記載の化合物に包含される。

[0038] 表1に記載の各化合物は、いずれもAD以外の適応（図1 e参照）でFDAから承認を受けている医薬品化合物である（化合物番号14と124は併用薬（DIMENHYDRINATE）として承認を受けている）。これらの化合物は、AD神経細胞におけるA $\beta$ の病理的变化の改善（即ち、（1）A $\beta$ 42レベルの低減、（2）A $\beta$ 40レベルの低減、（3）A $\beta$ 42/40比の低減）のうちの1以上の作用を有することが、後述の実施例において実証されている（表2、図1 e、図6 c）。これ

らの化合物は、さらに他のA $\beta$ ペプチド種 (A $\beta$ 38、A $\beta$ 43) のレベル、 $\alpha$ -もしくは $\beta$ -セクレターゼ切断により得られる可溶性APP (sAPP- $\alpha$ 、sAPP- $\beta$ ) のレベルの1以上に対してAD病態を改善する方向へ変化させる作用を有し得る。

[0039] 表1に記載の各化合物は、Extended Connectivity Fingerprint (ECFP) 法 (Rogers D et al. J Chem Inf Model. 2010 24;50(5):742-54.) を用い、それらの分子構造をフィンガープリンティング情報に変換し、距離行列に基づいたクラスタリング解析を行うことにより (図2 a)、10のクラスターに分類される (表1、図2 b)。すなわち、同じクラスターに属する化合物は、既知の薬効によるバイアスがかかっていない、構造式に依存した類似性を有する化合物群である。

[0040] 異なる薬剤構造を有する2以上の化合物を組み合わせて用いることで、複数の治療標的に同時に作用することが可能となり、その結果、個々の化合物の単独投与の場合と比較して優れた治療効果 (例えば、相加効果、好ましくは相乗効果) が発揮される。「化合物の単独での投与と比較して優れた効果を発揮する」とは、上記(1)～(3)のA $\beta$ の病理的変化改善作用の1以上について、最大効果値 (Emax) もしくは50%効果濃度 (EC50) が単独投与時のものよりも優れていること、あるいは単独投与時と比較して改善される病理的変化の種類が増すことを意味する。

従って、本発明の医薬において、好ましくは異なるクラスターに属する表1に記載の2以上の化合物が組み合わせられる。異なるクラスターに分類される化合物を組み合わせる場合、クラスターの組合せは、化合物の単独での投与と比較して優れた効果を有する限り特に制限されないが、例えば、クラスター1、2、4及び5からなる群より選択される2以上のクラスターに属する2種以上の化合物の組合せであることが好ましい。3種以上の化合物を組み合わせる場合、いずれか1種の化合物が異なるクラスターに属していれば、他の2種以上の化合物は同一のクラスターに属していてもよい。

好ましい一実施態様において、本発明の医薬は、クラスター1、2、4及

び5からなる群より選択される(1)2種のクラスター(例、クラスター1と2、クラスター1と4、クラスター1と5、クラスター2と4、クラスター2と5、クラスター4と5)に属する2種以上の化合物、(2)3種のクラスター(例、クラスター1、2及び4、クラスター1、2及び5、クラスター1、4及び5、クラスター2、4及び5)に属する3種以上の化合物、又は(3)4種のクラスター(クラスター1、2、4及び5)に属する4種以上の化合物を組み合わせたものであり得る。より好ましい実施態様において、本発明の医薬は、3種のクラスターに属する3種以上の化合物であり、特に好ましくは、クラスター1、2及び5に属する3種以上の化合物、又はクラスター2、4及び5に属する3種以上の化合物を組み合わせたものであり得る。

別の実施態様において、本発明の医薬は、クラスター1、2、4及び5からなる群より選択される2以上のクラスターに属する2種以上の化合物に加えて、他のクラスター(クラスター3及び6~10)に属する1種以上の化合物をさらに組み合わせることができる。

[0041] クラスター1、2、4及び5に属する化合物として、好ましくは以下の化合物を挙げることができる。

- (a) クラスター1 : Cromolyn及びNiflumic acid、好ましくはCromolyn
- (b) クラスター2 : Bromocriptine及びFluvastatin
- (c) クラスター4 : Probucol及びTioxolone、好ましくはProbucol
- (d) クラスター5 : Cilostazol及びTopiramate

従って、好ましい実施態様において、本発明の医薬は、上記(a)から選ばれる1以上の化合物(Cromolyn及び/又はNiflumic acid、好ましくはCromolyn)、上記(b)から選ばれる1以上の化合物(Bromocriptine及び/又はFluvastatin)、上記(c)から選ばれる1以上の化合物(Probucol及び/又はTioxolone、好ましくはProbucol)、並びに上記(d)から選ばれる1以上の化合物(Cilostazol及び/又はTopiramate)から選択される2種((a)と(b)、(a)と(c)、(a)と(d)、(b)と(c)、(b)と(d))

、(c)と(d)の化合物、3種((a)、(b)及び(c)、(a)、(b)及び(d)、(a)、(c)及び(d)、並びに(b)、(c)及び(d))の化合物、あるいは4種((a)、(b)、(c)及び(d))の化合物を組み合わせたものである。

さらに好ましくは、本発明の医薬は、Bromocriptine、Cilostazol、Cromolyn、Fluvastatin、Probucol及びTopiramateからなる群より選択される2以上の化合物、好ましくは3以上の化合物を組み合わせてなるものである(但し、BromocriptineとFluvastatin、あるいはCilostazolとTopiramateとを組み合わせる場合は、さらに別の1以上の化合物を組み合わせることが望ましい)。

特に好ましくは、本発明の医薬は、Bromocriptine、Cromolyn及びTopiramateを組み合わせたもの(「BCroT」と略記する場合がある)、あるいはBromocriptine、Cilostazol及びProbucolを組み合わせたもの(「BciP」と略記する場合がある)であり、最も好ましくはBCroTである。

[0042] 一方、クラスター3及び6～9に属する化合物として、好ましくは以下の化合物を挙げることができる。

(e) クラスター3 : Pinacidil及びVerapamil

(f) クラスター6 : Cetrimonium

(g) クラスター7 : Metricrane

(h) クラスター8 : Dapsone

(i) クラスター9 : Chloropyramine

[0043] 本発明の医薬において、有効成分である表1に記載の2以上の化合物は、それぞれ単独で製剤化してもよいし、合剤としてもよい。前者の場合、各製剤を同一対象に対して同時にまたは時間差をおいて投与することができる。

[0044] 本発明の医薬は、有効成分である表1に記載の化合物をそのまま単独で、または薬学的に許容される担体、賦形剤、希釈剤等と混合し、適当な剤型の医薬組成物として経口的又は非経口的に投与することができる。

[0045] 経口投与のための組成物としては、固体または液体の剤形、具体的には錠

剤（糖衣錠、フィルムコーティング錠を含む）、丸剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤（ソフトカプセル剤を含む）、シロップ剤、乳剤、懸濁剤等が挙げられる。一方、非経口投与のための組成物としては、例えば、注射剤、坐剤等が用いられ、注射剤は静脈注射剤、皮下注射剤、皮内注射剤、筋肉注射剤、点滴注射剤等の剤形を包含しても良い。これらの製剤は、賦形剤（例えば、乳糖、白糖、葡萄糖、マンニトール、ソルビトールのような糖誘導体；トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、 $\alpha$ 澱粉、デキストリンのような澱粉誘導体；結晶セルロースのようなセルロース誘導体；アラビアゴム；デキストラン；プルランのような有機系賦形剤；及び、軽質無水珪酸、合成珪酸アルミニウム、珪酸カルシウム、メタ珪酸アルミン酸マグネシウムのような珪酸塩誘導体；燐酸水素カルシウムのような燐酸塩；炭酸カルシウムのような炭酸塩；硫酸カルシウムのような硫酸塩等の無機系賦形剤である）、滑沢剤（例えば、ステアリン酸、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウムのようなステアリン酸金属塩；タルク；コロイドシリカ；ビーズワックス、ゲイ蠟のようなワックス類；硼酸；アジピン酸；硫酸ナトリウムのような硫酸塩；グリコール；フマル酸；安息香酸ナトリウム；DLロイシン；ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウムのようなラウリル硫酸塩；無水珪酸、珪酸水和物のような珪酸類；及び、上記澱粉誘導体である）、結合剤（例えば、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、マクロゴール、及び、前記賦形剤と同様の化合物である）、崩壊剤（例えば、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、内部架橋カルボキシメチルセルロースナトリウムのようなセルロース誘導体；カルボキシメチルスターチ、カルボキシメチルスターチナトリウム、架橋ポリビニルピロリドンのような化学修飾されたデンプン・セルロース類である）、乳化剤（例えば、ベントナイト、ビーガムのようなコロイド性粘土；水酸化マグネシウム、水酸化アルミニウムのような金属水酸化物；ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸カルシウムのような陰イオン界面活



性剤；塩化ベンザルコニウムのような陽イオン界面活性剤；及び、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、シヨ糖脂肪酸エステルのような非イオン界面活性剤である）、安定剤（メチルパラベン、プロピルパラベンのようなパラオキシ安息香酸エステル類；クロロブタノール、ベンジルアルコール、フェニルエチルアルコールのようなアルコール類；塩化ベンザルコニウム；フェノール、クレゾールのようなフェノール類；チメロサール；デヒドロ酢酸；及び、ソルビン酸である）、矯味矯臭剤（例えば、通常使用される、甘味料、酸味料、香料等である）、希釈剤等の添加剤を用いて周知の方法で製造される。

[0046] 本発明の医薬の投与形態は、その剤形に合わせて適宜選択することができる。例えば、（１）表１に記載の２以上の化合物を単一の製剤（合剤）として製剤化する場合、該合剤を所望の投与経路で投与することができる。一方、（２）表１に記載の２以上の化合物を別々に製剤化して２種以上の製剤からなる併用剤とする場合、（２a）これら２以上の製剤を同一投与経路で同時に投与してもよいし、（２b）これら２以上の製剤を同一投与経路で時間差をおいて投与してもよいし、（２c）これら２以上の製剤を異なる投与経路で同時に投与してもよいし、（２d）これら２以上の製剤を異なる投与経路で時間差をおいて投与してもよい。

[0047] 本発明の医薬の有効成分である表１に記載の各化合物の投与量は、化合物の種類、投与経路、投与対象の症状、年齢、体重、薬物受容性等の種々の条件により変化し得るが、経口投与の場合には、１回当たり下限0.1mg（好適には0.5mg）、上限1000mg（好適には500mg）を、非経口的投与の場合には、１回当たり下限0.01mg（好適には0.05mg）、上限100mg（好適には50mg）を、成人に対して１日当たり１乃至６回投与することができる。症状に応じて増量もしくは減量してもよい。表１に記載のいずれの化合物も、AD以外の疾患に対する医薬品として既に上市されているので、各化合物について、安全性が確認されている範囲で、適宜投与量を選択することができる。

例えば、表１に記載される化合物の安全性に関する情報は、アメリカ国立

医学図書館が運営するDailyMed (<http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/index.cfm>) より入手することができる。

[0048] さらに、本発明の医薬は、他の薬剤、例えば、図5 aに記載されるA $\beta$ 病態改善作用が既知である化合物、図5 b及び5 cに記載される既存のAD治療薬、好ましくはDonepezil等と併用してもよい。本発明の医薬及びこれらの他の薬剤は、同時に、順次又は別個に投与することができる。

[0049] 以下に実施例を挙げて本発明をより具体的に説明するが、本発明はこれらに何ら限定されるものではない。

### 実施例

[0050] 早期に再現性高くiPS細胞から大脳皮質神経への誘導するため、PiggyBacを用いてドキシサイクリン誘導性プロモーターに連結したヒトNeurogenin 2遺伝子 (NGN2) を導入したiPS細胞を用いた (図1 a、図1 b、図4 a及び図4 b)。なお、4人の家族性アルツハイマー病 (FAD) 患者、2人の孤発性アルツハイマー病 (SAD) 患者及び4人の健常人 (HC) から作製したiPS細胞を用いた。iPS細胞は、Okita K et al., Nature, 2007, vol 448, pp 313-317に記載の方法で樹立した。これらのiPS細胞にNGN2遺伝子を導入し、ドキシサイクリンを添加して5日間一過的に発現させることにより、外来性のNGN2の残存なく、ヒトiPS細胞を大脳皮質神経へと変換できることが確認された (図1 c、図4 b、図4 c及び図4 d)。変換された大脳皮質神経は、自発的な活動電位及び電位依存性に電流を生じることも確認された (図4 e)。A $\beta$ アッセイのために適した時期を決定するため、培地中の経時的なA $\beta$ 量の変化を分析し、8日目のニューロンがA $\beta$ の分泌が安定し十分に成熟したことを確認した (図4 f)。さらに、PSEN1またはAPP遺伝子に変異を有するFAD患者由来の大脳皮質ニューロンにおいて、毒性のあるA $\beta$ であるA $\beta$ 42量及びA $\beta$ 42/40比が、SAD患者または健常人由来の神経細胞よりも1.5から3倍高いことがしめされた (図4 f)。

[0051] 以上の結果より、ハイスループットスクリーニング (HTS) を行うために用いるiPS細胞として、A $\beta$ 42/40比が最も高かったPSEN1のG384A変異を有するFA

D患者 (FAD1) 由来のiPS細胞を選択した。続いて、当該iPS細胞から神経細胞への分化誘導後8日目にBACE inhibitor IV、JNJ-40418677、semagacestat及びacitretinなどA $\beta$ 産生及びA $\beta$  42/40比を低下させることが既知の化合物を添加し、2日後にA $\beta$ 量を確認したところ、全ての化合物において、A $\beta$ 病変を改善することが確認された (図5 a)。しかし、低用量のsemagacestatではA $\beta$  42が増加し (図5 a)、非ステロイド性抗炎症薬 (NSAID) であるスリダク・フルピプロフェンおよび、Bcr-AblおよびC-kitの阻害作用を持つ抗癌剤のイマニチブは、AD関連遺伝子を過剰発現した細胞を用いて $\gamma$ -セクレターゼ調整作用を証明した既報に反して、低用量ではA $\beta$ 病態の改善が見られなかった (図5 b)。さらに、コリンエステラーゼ阻害薬及びNMDAブロッカーを含む、すでに上市され広く用いられているAD治療薬を評価したところ、これらの対症療法薬はA $\beta$ 病態の改善には効果がないことが示された (図5 c)。以上の結果より、FAD1神経細胞はスクリーニングに用いることができることが確認された。

[0052] 続いて、FDAにて承認済みの1280個からなる既存薬ライブラリーを用いてスクリーニングを行い、A $\beta$ 病態の改善薬の探索を試みた。陰性対照として、0.1% DMSOを用い、A $\beta$  40に対する陽性対照として、2 $\mu$ M BACE inhibitor IVを用い、A $\beta$  42及びA $\beta$  42/40比の陽性対照として、2 $\mu$ M JNJ-40418677を用いた。HTSの実用性と再現性を意味するZ' factorは、0.5以上であり、適切なHTSであることが示された (図6 a及び図6 b)。1次スクリーニングの結果、130の候補化合物 (化合物番号14と124とは併用薬として上市されているため、129個の候補薬) を見出した (図6 c)。候補化合物の構造式 (塩、ハロゲン化物の形態のものもフリー体として記載する) と一般名を表1に示す。

[0053] さらに1次スクリーニングの候補薬の再現性を検討するため2次スクリーニングを行った。A $\beta$  40、A $\beta$  42、A $\beta$  42/40比に加えて、A $\beta$  38、A $\beta$  43、sAPP $\alpha$ 、sAPP $\beta$ についても検討し、それぞれの数値を得た。以上の結果を表2及び図7に示す。

[0054] [表2-1]

化合物番号	クラスター	compound name	A $\beta$ 40	A $\beta$ 42	Ratio A $\beta$ 42/40	A $\beta$ 38	A $\beta$ 43	sAPP $\alpha$	sAPP $\beta$
1	1	OXYPHENCYCLIMINE HYDROCHLORIDE	0.96	0.99	1.03	1.08	0.98	0.91	1
2	1	MEPIVACAINE HYDROCHLORIDE	0.97	0.9	0.93	1.01	0.83	0.77	0.88
3	1	RANOLAZINE	0.96	0.85	0.89	1	0.82	0.64	0.61
4	1	ATOMOXETINE HYDROCHLORIDE	1.02	0.85	0.84	1.1	0.89	0.78	0.81
5	1	TERBINAFINE HYDROCHLORIDE	0.99	0.94	0.96	1.06	0.94	0.98	1.06
6	1	LOPERAMIDE HYDROCHLORIDE	0.94	0.88	0.93	1.03	0.88	0.89	0.78
7	1	ALVERINE CITRATE	0.93	0.86	0.93	0.94	0.79	0.78	0.63
8	1	APOMORPHINE HYDROCHLORIDE	0.93	0.93	1.01	1.08	1.01	0.8	0.78
9	1	CLOMIPHENE CITRATE	0.93	0.83	0.89	1.04	0.86	0.71	0.66
10	1	COTININE	0.92	0.87	0.94	1.08	0.87	0.81	0.81
11	1	CROMOLYN SODIUM	0.92	0.88	0.96	1.04	0.82	0.89	0.86
12	1	GYCLIZINE	1.09	1.04	0.95	1.23	1.06	1.03	1.3
13	1	DESIPRAMINE HYDROCHLORIDE	0.89	0.94	1.06	1.02	0.9	0.83	1.01
14	1	diphenhydramine (combined compounds of "DIMENHYDRINATE")	0.97	0.98	1.01	1.06	0.97	0.97	1.02
15	1	ETHOPROPAZINE HYDROCHLORIDE	0.95	0.84	0.88	1.03	0.84	0.72	0.71
16	1	HOMATROPINE BROMIDE	0.92	1.04	1.13	1.22	1.09	1.15	1.24
17	1	IMIPRAMINE HYDROCHLORIDE	0.97	1.01	1.05	1.12	1.27	1.07	1.2
18	1	TACRINE HYDROCHLORIDE	0.99	1	1.02	1.18	1.21	1.04	1.23
19	1	ISOPROPAMIDE IODIDE	0.71	0.88	1.24	1.09	0.95	0.84	0.74
20	1	THIABENDAZOLE	0.96	0.84	0.88	1.05	0.79	0.79	0.67
21	1	BETAHISTINE HYDROCHLORIDE	0.91	0.98	1.08	1.01	0.87	0.73	0.91

[0055] [表2-2]

化合物番号	クラスター	compound name	Aβ40	Aβ42	Ratio Aβ42/40	Aβ38	Aβ43	sAPPα	sAPPβ
22	1	VESAMICOL HYDROCHLORIDE	0.93	0.9	0.97	1	0.87	0.89	0.74
23	1	MONOBENZONE	0.91	0.82	0.91	1.05	0.89	0.74	0.56
24	1	GINCHONINE	0.87	0.88	1.01	1.02	0.81	0.76	0.68
25	1	LOXAPINE SUCCINATE	0.96	0.94	0.98	1.11	1.14	1.15	1.11
26	1	ETODOLAC	0.88	0.99	1.13	1.11	1.55	0.99	0.98
27	1	BIFONAZOLE	1	0.84	0.84	1.06	0.99	1.04	1.19
28	1	NOMIFENSINE MALEATE	1.05	0.8	0.75	0.95	0.85	0.82	0.67
29	1	CARBADOX	0.84	0.74	0.88	0.87	0.76	0.86	0.78
30	1	LEVOCETRIZINE DIHYDROCHLORIDE	0.89	0.76	0.85	0.98	0.85	0.93	0.93
31	1	METITEPINE MALEATE	0.96	0.83	0.86	1.03	0.88	0.76	0.66
32	1	BETAMIPRON	1.03	0.84	0.82	1.1	0.82	0.7	0.6
33	1	CAMYLOFINE DIHYDROCHLORIDE	1.05	0.9	0.85	1.12	0.88	0.89	0.71
34	1	NIALAMIDE	1.06	0.92	0.87	1.16	0.97	0.92	1.13
35	1	CHINIOFON	0.97	0.83	0.86	1.05	0.79	0.71	0.6
36	1	PIRIBEDIL HYDROCHLORIDE	1.06	0.87	0.83	1.11	1.09	0.92	0.82
37	1	NIFLUMIC ACID	0.89	0.77	0.86	0.97	0.85	0.8	0.92
38	1	CYPERMETHRIN	0.95	0.83	0.87	0.97	0.95	0.85	0.88
39	1	NAFTOPIDIL	1	0.86	0.86	1.1	0.9	0.73	0.64
40	1	CYCLANDELATE	1.1	0.88	0.8	1.09	0.98	0.92	0.84
41	1	QUININE ETHYL CARBONATE	1.1	0.85	0.77	1.05	0.88	0.84	0.72
42	1	PIPEZOLATE BROMIDE	1.06	1.09	1.04	1.3	1.12	1.11	1.27
43	1	IDAZOXAN HYDROCHLORIDE	0.94	0.93	0.99	1.03	0.97	0.84	0.81
44	1	IFENPRODIL TARTRATE	1.04	1	0.96	1.23	1.03	1.13	1.09
45	1	EBSELEN	0.96	1	1.04	1.2	1.16	1.17	1.35

[0056] [表2-3]

化合物番号	クラスター	compound name	Aβ40	Aβ42	Ratio Aβ42/40	Aβ38	Aβ43	sAPPα	sAPPβ
46	2	LOVASTATIN	1.11	0.98	0.88	1.17	1.09	1.01	1.06
47	2	AMINOLEVULINIC ACID HYDROCHLORIDE	1.1	1.06	0.97	1.29	1.16	1.15	1.4
48	2	VALSARTAN	1.08	0.97	0.9	1.14	1	1.14	1.13
49	2	AMINOCAPROIC ACID	0.95	0.96	1	1.1	0.97	0.99	0.9
50	2	AMINOSALICYLATE SODIUM	0.96	1.03	1.08	1.2	1.22	1	1.31
51	2	BENZOCAINE	0.91	0.94	1.03	1.05	0.99	0.8	0.87
52	2	BROMOCRIPTINE MESYLATE	0.99	0.63	0.64	0.97	0.65	1.18	0.79
53	2	BUTYL PARABEN	0.92	0.94	1.02	1.04	0.81	0.74	0.69
54	2	DIOXYBENZONE	0.91	0.93	1.02	1.16	0.83	0.72	0.75
55	2	DYCLONINE HYDROCHLORIDE	0.96	0.94	0.99	1.07	0.9	0.83	0.76
56	2	CALCIUM GLUCEPTATE	0.9	0.98	1.09	1.21	1.32	1.22	1.19
57	2	CAPTOPRIL	0.93	0.87	0.94	1.09	0.86	0.91	0.91
58	2	BUTAMBEN	0.92	0.95	1.03	1.08	0.95	0.79	0.76
59	2	BACAMPICILLIN HYDROCHLORIDE	0.95	1.09	1.15	1.32	1.44	1.11	1.23
60	2	FLUVASTATIN	1.14	0.96	0.84	1.16	1.04	0.99	1.14
61	2	OLMESARTAN MEDOXOMIL	0.95	0.82	0.86	0.85	0.9	0.8	0.86
62	2	CEFTIBUTEN	0.91	0.79	0.87	1.01	0.83	0.76	0.55
63	2	CEFDINIR	0.9	0.79	0.87	0.95	0.9	0.82	1.01
64	2	PERINDOPRIL ERBUMINE	0.95	0.81	0.85	1.01	0.91	0.7	0.53
65	2	ZOMEPIRAC SODIUM	0.93	0.79	0.85	0.92	0.83	0.73	0.76
66	2	CEFAMANDOLE NAFATE	1.08	0.97	0.9	1.11	1.11	0.79	0.78
67	2	HYDROXYTOLUIC ACID	0.92	0.79	0.86	0.92	0.77	0.83	0.66
68	2	DIACETAMATE	1.13	0.86	0.76	1.08	0.97	0.98	0.86
69	2	PIROMIDIC ACID	0.91	0.78	0.86	1.01	0.79	0.86	0.69

[0057] [表2-4]

化合物番号	クラスター	compound name	Aβ40	Aβ42	Ratio Aβ42/40	Aβ38	Aβ43	sAPPα	sAPPβ
70	2	BUCETIN	0.93	0.82	0.88	1.02	0.85	0.75	0.75
71	2	REBAMIPIDE	0.93	0.79	0.85	0.97	0.78	0.8	0.66
72	3	HYDROXYCHLOROQUINE SULFATE	0.88	0.9	1.01	1.08	0.87	0.85	0.72
73	3	LEVALBUTEROL HYDROCHLORIDE	0.91	0.84	0.92	0.99	0.91	0.74	0.66
74	3	PINACIDIL	0.86	0.72	0.84	0.92	0.79	0.83	0.96
75	3	VERAPAMIL HYDROCHLORIDE	0.82	0.74	0.91	0.89	0.75	0.81	0.71
76	3	DIBUCAINE HYDROCHLORIDE	0.96	0.9	0.94	0.97	0.98	0.77	0.77
77	3	PRIMAQUINE DIPHOSPHATE	0.92	0.87	0.95	1.07	0.89	0.79	0.85
78	3	NIZATIDINE	1.06	1.04	0.98	1.3	1.15	0.97	1.29
79	3	GIMETIDINE	0.95	0.98	1.04	1.03	0.92	0.87	0.88
80	3	RIZATRIPTAN BENZOATE	1.13	0.96	0.85	1.2	1.07	0.96	1.08
81	3	ALFLUZOSIN	1.1	0.96	0.87	1.22	1.03	0.9	0.97
82	3	TULOBUTEROL	0.97	0.83	0.85	1	0.84	0.87	0.74
83	3	NIMUSTINE	0.98	0.84	0.86	1.04	0.89	0.81	0.89
84	3	TRIMETAZIDINE DIHYDROCHLORIDE	1.08	1.01	0.93	1.04	1.09	1.15	1.04
85	3	CLENBUTEROL HYDROCHLORIDE	1.04	0.88	0.85	1.17	0.94	0.86	0.84
86	3	BROMOPRIDE	1.01	0.84	0.84	1.07	0.9	1	0.85
87	4	PROPOFOL	0.96	0.88	0.91	0.99	0.88	0.94	1
88	4	BITHIONATE SODIUM	0.96	0.93	0.97	1.03	0.85	0.78	0.92
89	4	CRESOL	0.89	0.81	0.91	0.93	0.89	0.71	0.58
90	4	DOPAMINE HYDROCHLORIDE	0.96	0.88	0.92	1.01	0.96	0.91	0.95
91	4	TRIOXSALEN	0.89	0.84	0.95	0.97	1.01	0.82	1.02

[0058]

[表2-5]

化合物番号	クラスター	compound name	A $\beta$ 40	A $\beta$ 42	Ratio A $\beta$ 42/40	A $\beta$ 38	A $\beta$ 43	sAPP $\alpha$	sAPP $\beta$
92	4	TIOXOLONE	0.66	0.55	0.83	0.76	0.67	0.76	0.63
93	4	METACETAMOL	0.89	0.77	0.86	0.95	0.74	0.83	0.89
94	4	DICHLOROPHENE	0.89	0.79	0.89	0.94	0.87	0.78	0.85
95	4	DINITOLMIDE	0.95	0.9	0.95	1	0.98	0.95	1.02
96	4	PROBUCOL	0.86	0.6	0.7	0.75	0.65	1	1.07
97	5	RIFAXIMIN	0.92	0.84	0.91	1.09	0.92	0.91	0.95
98	5	DESOXYCORTICOSTERONE ACETATE	1	0.9	0.9	1.09	0.89	0.88	0.87
99	5	TRAMADOL HYDROCHLORIDE	1.05	0.98	0.93	1.17	1.02	1.04	1.11
100	5	TOPIRAMATE	0.86	0.79	0.92	0.9	1.02	0.81	0.78
101	5	CAMPHOR (1R)	0.94	0.95	1.01	1.08	0.91	0.92	0.87
102	5	DANAZOL	0.89	0.93	1.04	1.02	1.07	0.79	0.81
103	5	SODIUM DEHYDROCHOLATE	0.96	0.95	0.99	1.09	1.01	0.75	0.78
104	5	DICYCLOMINE HYDROCHLORIDE	0.94	0.93	0.99	1.08	0.82	0.81	0.84
105	5	VANCOMYCIN HYDROCHLORIDE	1.01	1.06	1.05	1.29	1.2	1.33	1.36
106	5	BRUCINE	0.94	0.98	1.04	1.13	0.87	0.84	0.85
107	5	CILOSTAZOL	0.99	0.85	0.86	1.01	0.82	0.78	0.68
108	5	TELITHROMYCIN	0.99	0.85	0.86	1.02	0.84	0.71	0.68
109	5	PRASTERONE ACETATE	0.97	0.68	0.7	0.9	0.85	0.69	0.55
110	5	TROXERUTIN	0.96	0.88	0.93	0.97	0.95	0.74	0.51
111	6	DOCOSANOL	0.96	0.86	0.9	1.03	0.83	0.79	0.83
112	6	DISULFIRAM	0.94	0.91	0.97	1.1	0.98	0.78	0.89
113	6	CETRIMONIUM BROMIDE	0.74	0.71	0.74	0.56	0.56	0.76	0.59
114	7	CYCLOSERINE	0.96	0.92	0.95	1.06	0.85	0.84	0.82
115	7	CYTARABINE	0.89	0.8	0.9	0.99	0.81	0.74	0.69
116	7	ALLANTOIN	0.92	0.88	0.96	1.07	1.13	1.05	0.93



[0059] [表2-6]

化合物番号	クラスター	compound name	A,β40	A,β42	Ratio A,β42/40	A,β38	A,β43	sAPP α	sAPP β
117	7	ALTHIAZIDE	0.89	0.81	0.91	1.03	0.91	0.92	0.7
118	7	CLAVULANATE LITHIUM	0.96	0.84	0.88	1.01	0.75	0.88	1
119	7	METICRANE	0.95	0.74	0.78	1.14	1.16	1.07	0.87
120	8	DAPSONE	0.98	0.83	0.84	1.06	0.8	0.74	0.6
121	8	HISTAMINE DIHYDROCHLORIDE	0.93	1.02	1.09	1.22	1.23	1.08	1.15
122	8	THIOGUANINE	0.79	0.69	0.88	0.91	0.92	0.95	0.9
123	8	BITOSCANATE	0.93	0.89	0.96	1.01	1	0.76	0.73
124	9	8-chlorotheophylline (combined compounds of "DIMENHYDRINATE")	0.97	0.98	1.01	1.06	0.97	0.97	1.02
125	9	DIAZOXIDE	0.95	0.92	0.97	1.08	0.9	0.84	0.84
126	9	SIBUTRAMINE HYDROCHLORIDE	1.01	0.88	0.87	1.05	0.87	0.8	0.92
127	9	CHLORINDIONE	0.93	0.79	0.85	0.92	0.87	0.74	0.67
128	9	CHLORMEZANONE	1.09	0.86	0.78	1.05	0.85	0.85	0.72
129	9	CHLOROPYRAMINE HYDROCHLORIDE	1.02	0.83	0.81	0.96	0.89	0.87	0.86
130	10	FLUROTHYL	0.94	0.8	0.85	1.03	0.81	0.79	0.69

[0060] 近年Combination therapyの重要性が様々な分野で検討されている。相乗的な効果を得るために、類似した化合物の組み合わせではなく、より相違性の高い薬剤の組み合わせを検討した。薬剤構造をコンピューター処理に適したE CFP4 method (Rogers D et al. J Chem Inf Model. 2010 24;50(5):742-54.)を用いた“Finger printing”情報に変換し、距離行列に基づいたクラスタリング解析を通して構造式に依存した類似性を検討することで、既知の薬効によらないNon biasの分類を試みた。結果として、129の候補薬は10個のClusterに分類された。当該結果を表2及び図2bに示す。

[0061] 二次スクリーニングで得られた数値に基づく $A\beta$ 変化率の大きい薬剤と、異なるクラスターに分類された薬剤を選出し、さらに、異なるサプライヤーから得た同一構造化合物を用いても用量依存的な反応性が見られ(図2c)、特に低い $EC_{50}$ と高い $E_{max}$ が得られた6種類の既存薬をエリートとして選抜した。さらに中枢移行性、先制医療としての投与すべき年代への相応しさから、Bromocriptine、Cromolyn及びTopiramate(BCroT)と、Bromocriptine、Cilostazol及びProbucol(BCiP)の二種の、既存薬カクテルを見出した(図3a、図9)。これらは単剤と比べて、Chemical clusteringで異なるクラスターを用いた結果(図2b)、相加的に作用することがわかった(図3a、図9)。さらに、もっとも汎用されているAD治療薬であるDonepezilとの併用で、野生型もしくはProtective  $A\beta$ として認識されている $A\beta 40$ の $EC_{50}$ を上げることがわかった(図3b、c)。

[0062] さらに、FAD・SAD患者・体細胞生検時点における健常人を含む合計11名の別々の個人(図3d、e、表3)から樹立したiPS細胞(図4a)から、同様にNGN2強制発現で大脳皮質神経細胞を作製し(図4b、c)、6種類の選抜エリート既存薬、もしくはBCroT、BCiPのカクテルを投与したところ、それぞれで $A\beta$ 治療効果が見られた(図3f)。

[0063]

[表3]

clone name	gender	onset (age)	biopsy (age)	genotype			clone name at establishment	origin cell	reprogramming method	karyotype	<i>in vitro</i> differentiation
				APP	PSEN1	APOE					
FAD1	female	38	41	wild	G384A	2, 3	AD2P212	fibroblast	epi, OSKMLshp53	46 XX	yes
FAD2	male	47	47	wild	H163R	3, 3	AD15E11	fibroblast	epi, OSKMLshp53	46 XY	yes
FAD3	male	N.A	53	wild	M146L	3, 3	AG07872E1	fibroblast	epi, OSKMLshp53	46 XY	yes
FAD4	female	45	57	V717L	wild	3, 3	APP2E22	fibroblast	epi, OSKMLshp53	46 XY	yes
SAD1	male	60	55	wild	wild	3, 3	AD3E211	fibroblast	epi, OSKMLshp53	46 XY	yes
SAD2	male	56	54	wild	wild	4, 4	AD10E3	fibroblast	epi, OSKMLshp53	46 XY	yes
SAD3	male	72	79	wild	wild	3, 4	AD7E21	fibroblast	epi, OSKMLshp53	46 XY	yes
SAD4	female	50	60	wild	wild	3, 4	AD16E122	fibroblast	epi, OSKMLshp53	46 XY	yes
HC1	female	-	36	wild	wild	3, 3	409B2	fibroblast	epi, OSKMLshp53	46 XX	yes
HC2	female	-	51	wild	wild	2, 3	N112E14	fibroblast	epi, OSKMLshp53	46 XX	yes
HC3	female	-	69	wild	wild	3, 3	N114E223	fibroblast	epi, OSKMLshp53	46 XX	yes
HC4	male	-	47	wild	wild	3, 3	hC6B	lymphocyte	epi, OSKMLshp53	46 XY	yes

- [0064] 最後に野生型ICRマウスに、BCroT及びBCiPを経口投与し、16時間後の脳内A $\beta$ 量の変化を検討した（図3g）。投与量は体重あたり換算が臨床使用用量と、その5倍、25倍量でそれぞれ検討した。臨床使用用量のBCroTカクテルは、十分なA $\beta$ 42及びA $\beta$ 42/40比の低下を示した。一方でBCiPカクテルでは逆に、臨床使用用量の5倍もしくは25倍でA $\beta$ 42及びA $\beta$ 42/40比の低下を示した（図3h）。
- [0065] 6種類の選抜エリート既存薬は、安全性、使用に適する濃度、副作用などの情報が明確であり、中枢神経移行性が示されている。本発明により、これらエリート既存薬のAD神経細胞への直接的な効果があきらかになった。Bromocriptineはfingerprintが、 $\beta$ セクレターゼ阻害剤（BSI）グループ1に分類され（図2b）、sAPPの代謝からもBSI様の作用を有することが示唆された（表2、図11）。一方、Bromocriptineとともに、アンフェタミン、ドパミン、麦角系ドパミンアゴニストに効果があることからドパミン系によるA $\beta$ 抑制効果が期待できることがわかった。
- [0066] 本実施例においても示したように、AD原因遺伝子を非生理的な発現量で強制発現させたマウス及び細胞株を用いた実験結果と、生理的な遺伝子発現量であるヒトiPS細胞由来大脳皮質神経細胞を用いた薬効検討結果は異なることがわかった。すなわち、より適切な薬効評価を行うためにはヒトiPS細胞由来大脳皮質神経細胞を用いた検討が有用である。今後最終段階での薬効評価に用いるヒトiPS細胞の例数をより増やすことでヒト神経細胞をもちいた有効性確認をより精緻に行うことができる。これは現在臨床治験の第1相試験（少数例の健常人における安全性評価）及び第2相試験（少数例の患者における安全性・薬効評価）に至る前の、ヒトiPS細胞由来神経細胞を用いた薬効評価を行うことができるin vitro clinical trialとして創薬開発における重要なステップとなる可能性を持っている。
- [0067] 本発明を好ましい態様を強調して説明してきたが、好ましい態様の変更され得ることは当業者にとって自明であろう。本発明は、本発明が本明細書に詳細に記載された以外の方法で実施され得ることを意図する。したがって、

本発明は添付の「請求の範囲」の精神および範囲に含まれるすべての変更を含むものである。

ここで述べられた特許および特許出願明細書を含む全ての刊行物に記載された内容は、ここに引用されたことによって、その全てが明示されたと同程度に本明細書に組み込まれるものである。

[0068] 本出願は、2015年12月29日付で日本国に出願された特願2015-257706を基礎としており、ここで言及することによりその内容は全て本明細書に含まれる。

### 産業上の利用可能性

[0069] 表1に記載の化合物は、AD患者由来の神経細胞において、 $A\beta$  42/40比を減少させる等の、ADにおける $A\beta$ の病理的变化を改善する優れた効果を有する。しかも、これらの化合物を分子構造の類似性に基づいてクラスタリングした結果、異なるクラスターに属する2種以上の化合物を併用することで、各化合物単独で使用した場合に比べて相加的な薬効改善が認められた。表1に記載の化合物は、いずれもAD以外への適応で、既に医薬品として承認を受け上市されており、その安全性や体内動態に関する情報が蓄積されている。

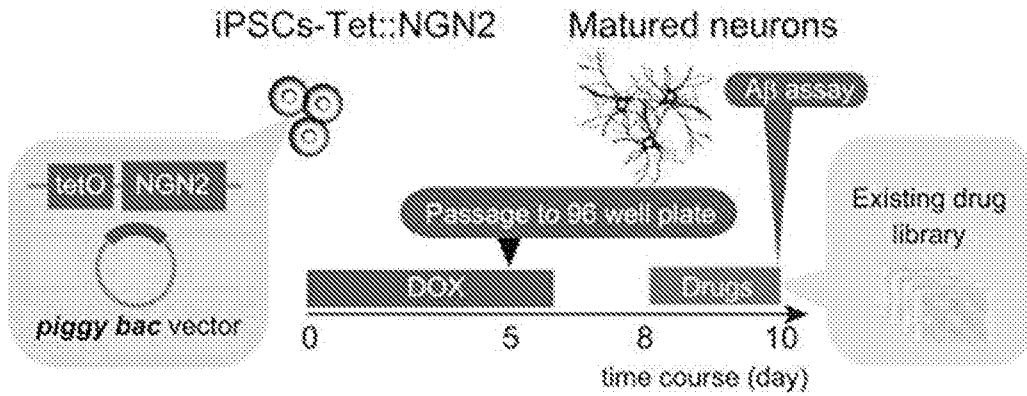
従って、表1に記載される、異なるクラスターに属する2種以上の化合物を組み合わせて用いることにより、安全かつ有効にAD患者における $A\beta$ 病態を改善することが可能であり、臨床症状はないがアミロイド検査で陽性と判定されたAD予備群に対する先制治療としての介入が期待できる点で極めて有用である。

## 請求の範囲

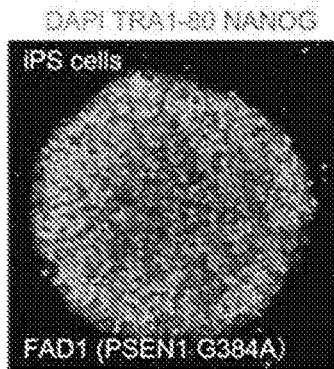
- [請求項1] 化合物番号1～130で表される化合物からなる群より選択される2以上の化合物を組み合わせる、アルツハイマー病の予防又は治療剤。
- [請求項2] クラスタ1、2、4及び5からなる群より選択される2以上のクラスタに属する2種以上の化合物を組み合わせる、請求項1に記載の剤。
- [請求項3] クラスタ1に属する化合物がクロモリン (Cromolyn) であり、クラスタ2に属する化合物がブロモクリプチン (Bromocriptine) 及び/又はフルバスタチン (Fluvastatin) であり、クラスタ4に属する化合物がプロブコール (Probucol) であり、クラスタ5に属する化合物がシロスタゾール (Cilostazol) 及び/又はトピラメート (Topiramate) である、請求項2に記載の剤。
- [請求項4] Bromocriptine、Cilostazol、Cromolyn、Fluvastatin、Probucol、Topiramateからなる群より選択される2以上の化合物を組み合わせる、請求項1～3のいずれか一項に記載の剤。
- [請求項5] Bromocriptine、Cromolyn及びTopiramateを組み合わせる、請求項4に記載の剤。
- [請求項6] Bromocriptine、Cilostazol及びProbucolを組み合わせる、請求項4に記載の剤。
- [請求項7] 対象におけるアルツハイマー病の予防又は治療方法であって、化合物番号1～130で表される化合物からなる群より選択される2以上の化合物をそれぞれ治療上有効な量、該対象に投与することを含む、方法。
- [請求項8] 前記治療上有効な量が、各化合物における既知の最大無毒性用量以下である、請求項7に記載の方法。

[圖1]

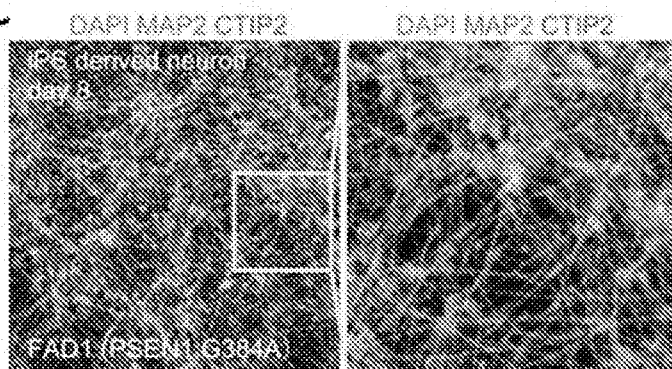
a



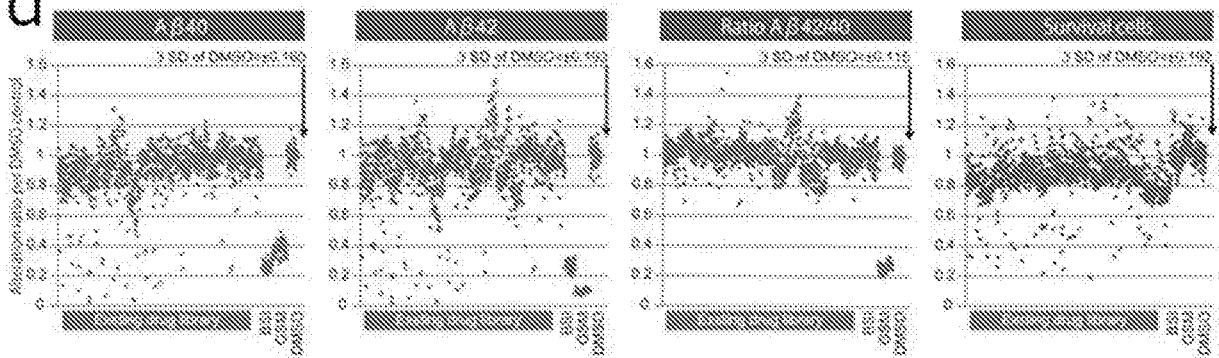
b



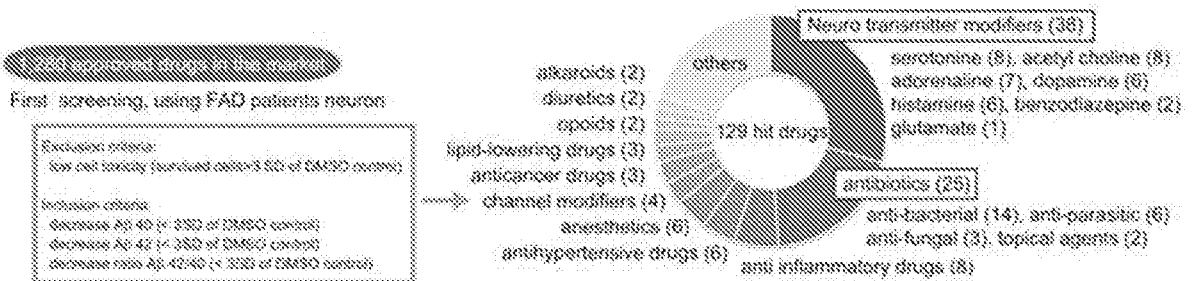
c



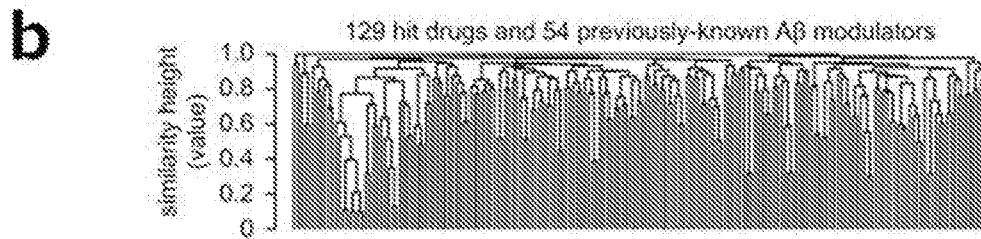
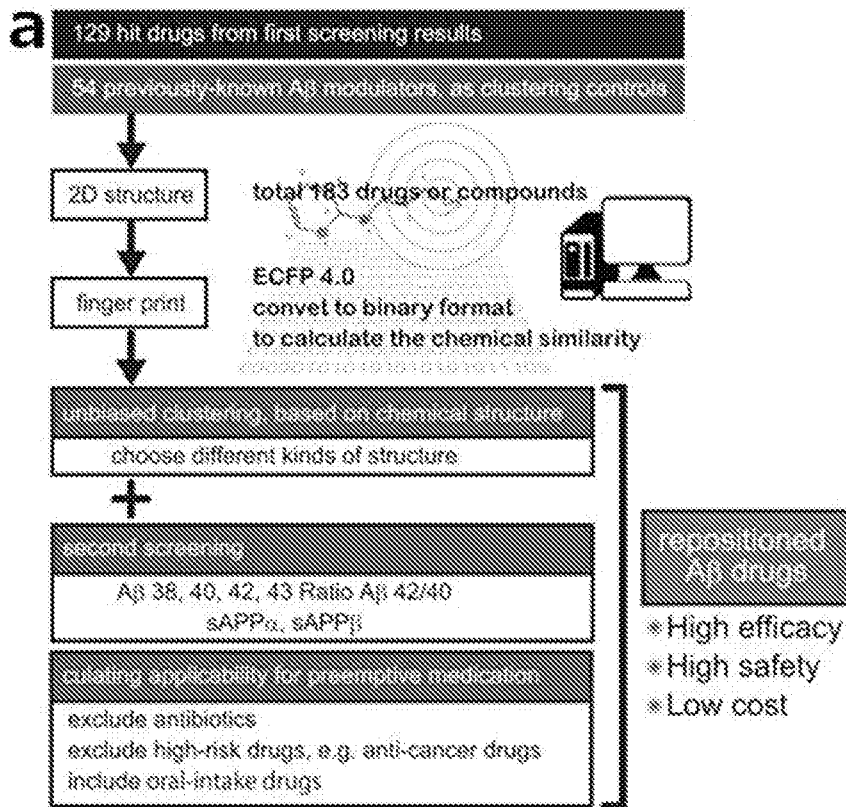
d



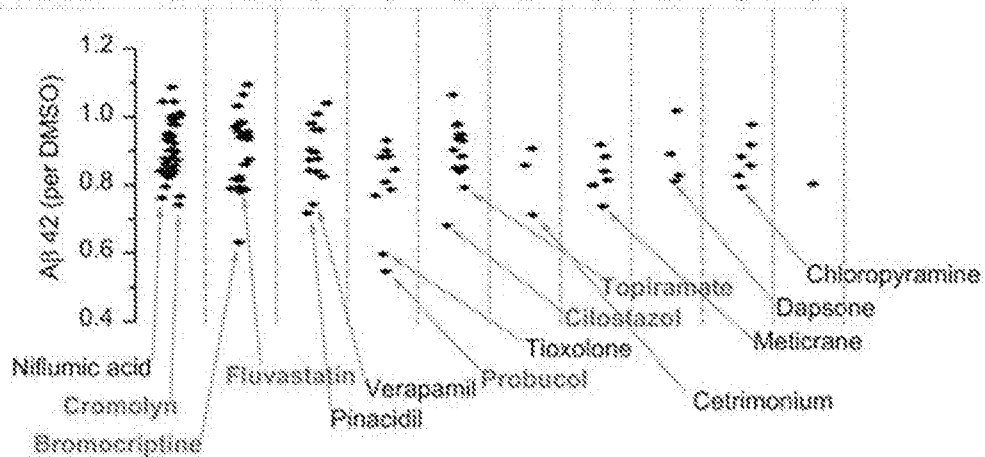
e



[図2-1]

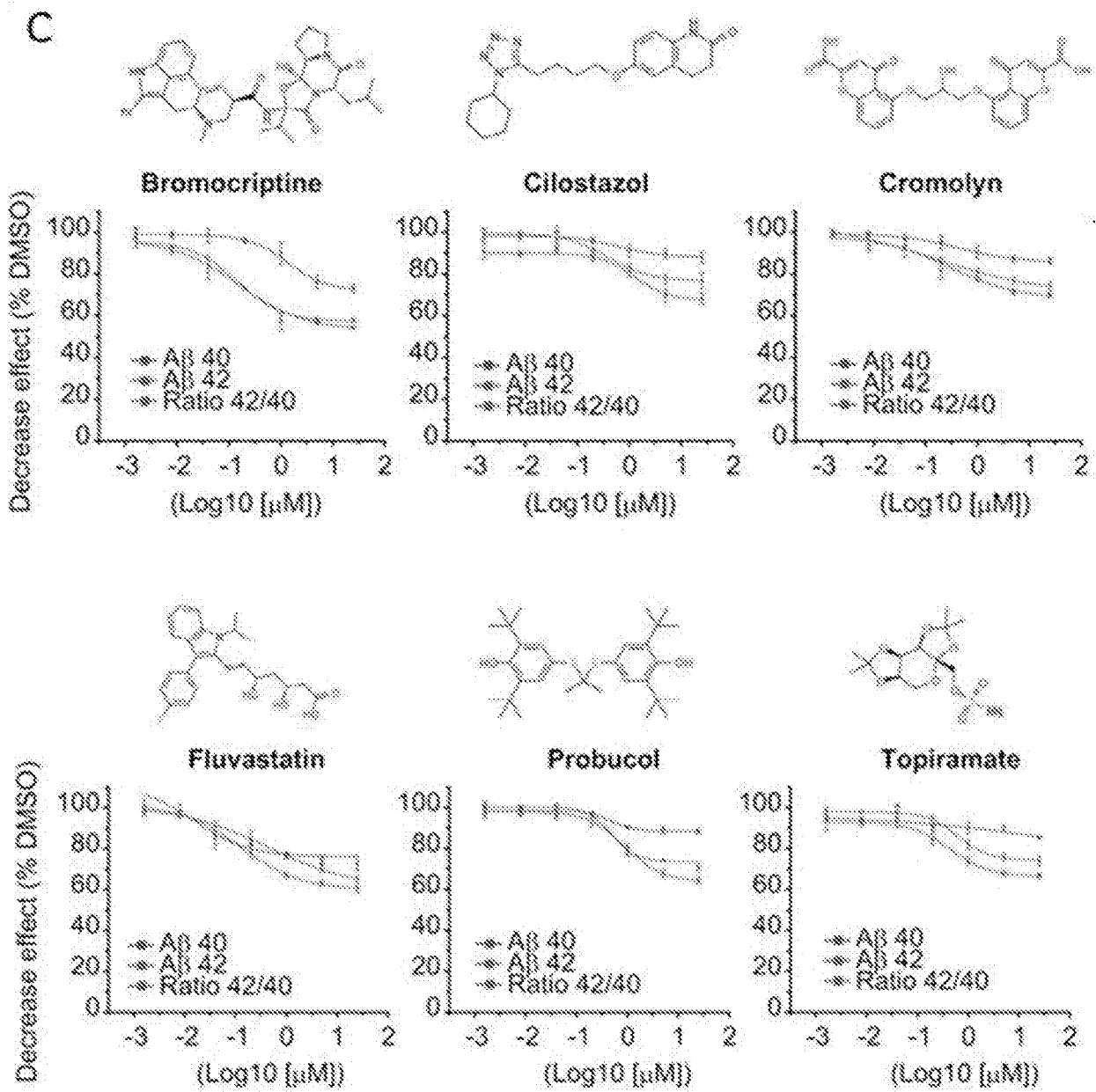


cluster Name	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
No. of drugs	44	26	15	10	14	3	6	4	6	1
No. of known BSI	0	1	17	1	3	0	0	2	0	1
No. of known GSI	1	2	4	0	0	0	0	0	0	0
No. of known GSM	0	12	0	0	2	0	0	8	0	0





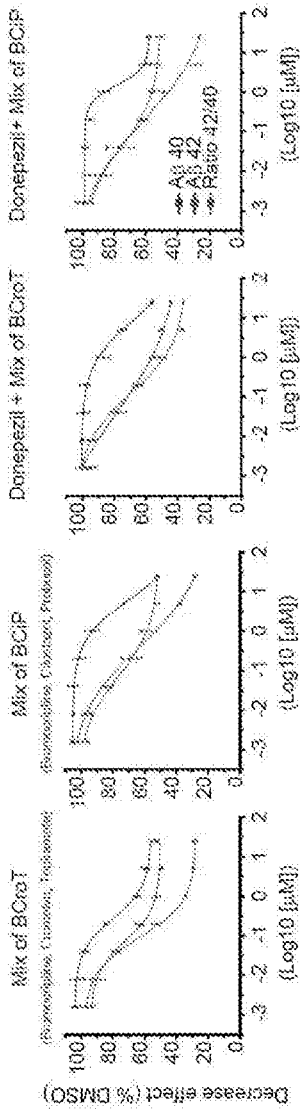
[圖2-2]



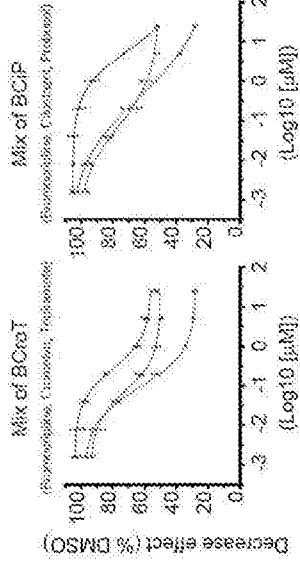
[3-1]

	Aβ40		Aβ42		Ratio 42/40	
	EC50 (μM)	Emax (%)	EC50 (μM)	Emax (%)	EC50 (μM)	Emax (%)
Bromocriptine	26.9	1.4	43.7	1.4	1.4	42.2
Cilostazol	3.9	-12.1	31.8	2.4	2.4	-23.1
Chromolyn	2.7	-13.5	2.0	-31.1	1.4	-25.8
Fluvastatin	1.0	-27.1	1.3	-40.1	2.8	-36.3
Probenecid	3.0	-11.9	7.9	-35.6	3.2	-29.3
Tociramate	14.5	2.7	23.4	4.2	4.2	26.3
Mix of BCroT	1.9	-45.8	1.0	-39.9	1.2	-47.5
Mix of BCiP	40.4	2.7	31.6	1.2	1.1	47.6
Mix of BCroT + Mix of BCiP	43.8	1.3	33.3	1.1	1.1	36.7
Donepezil + Mix of BCiP	41.7	1.7	23.8	1.1	1.1	48.9

C

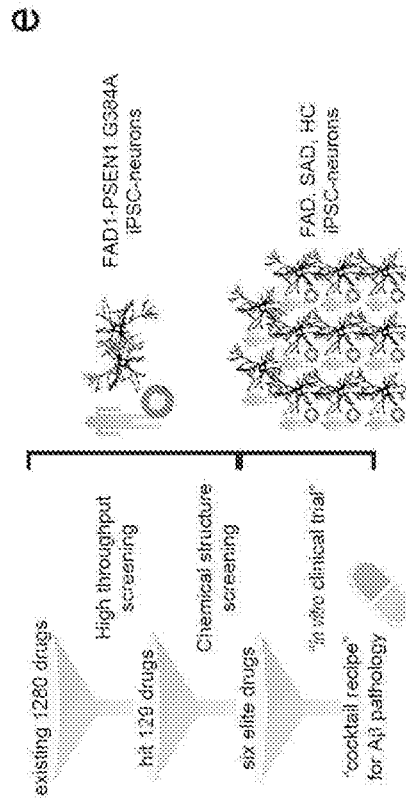


b



a

d

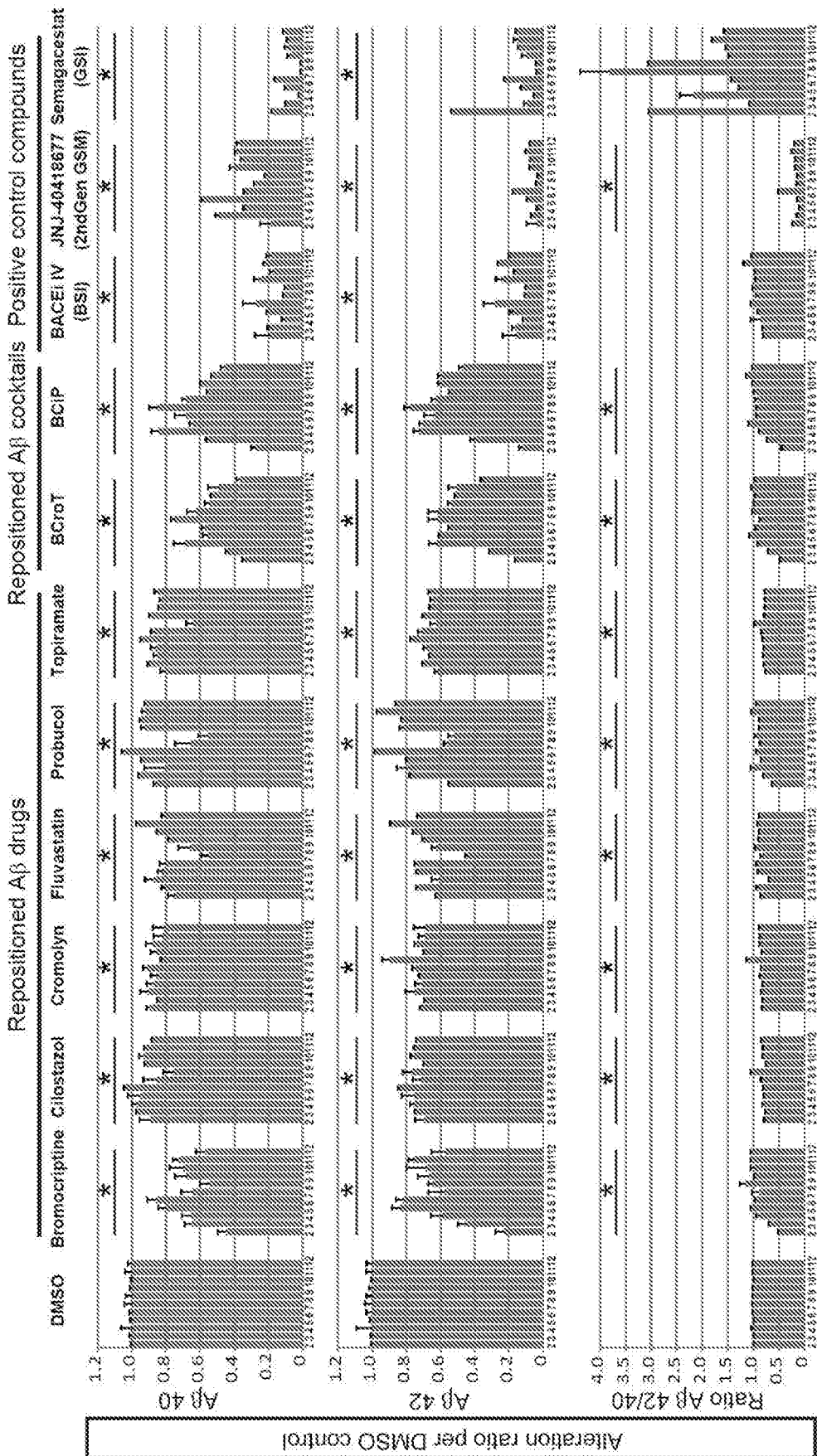


e

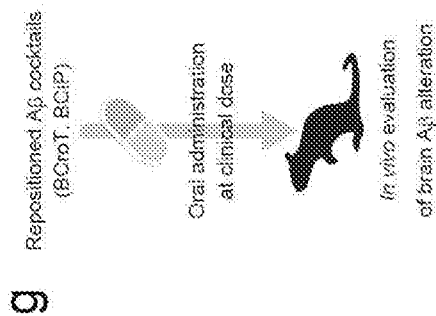
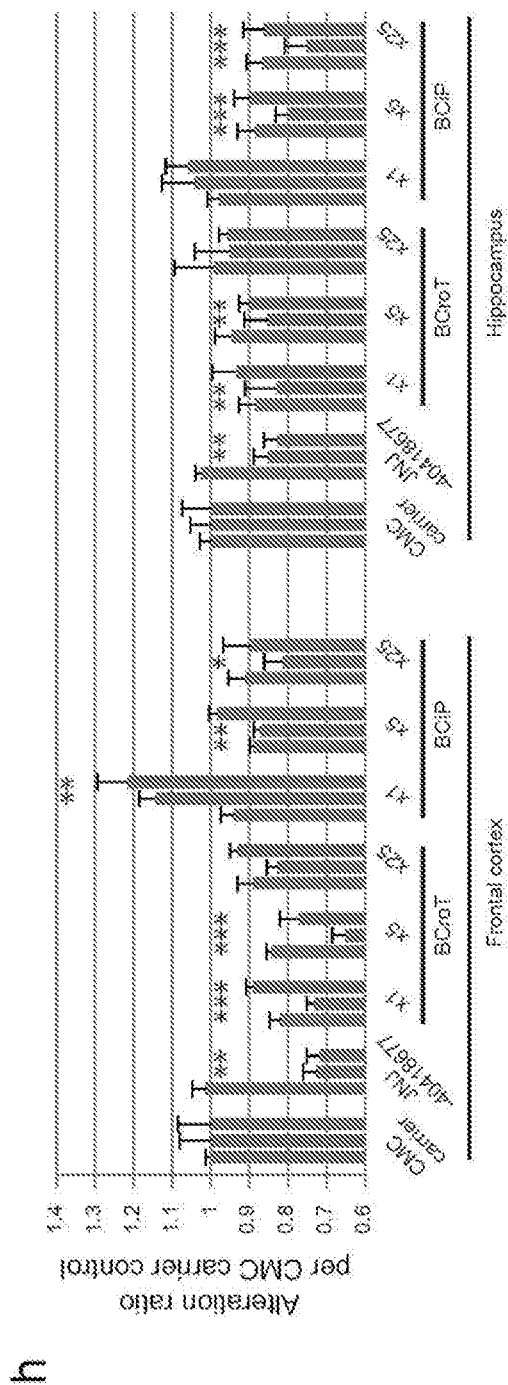
patient No.	clone name	clinical character	Aβ cascade gene genotype	ApoE genotype	assay
1	FAD1	AD	PSEN1 G394A	ε3	screening
2	FAD2	AD	PSEN1 H165R	ε3	<i>in vitro</i> clinical trial
3	FAD3	AD	PSEN1 M146L	ε3	<i>in vitro</i> clinical trial
4	FAD4	AD	APP V717L	ε3	<i>in vitro</i> clinical trial
5	SAD1	AD	wild	ε3	<i>in vitro</i> clinical trial
6	SAD2	AD	wild	ε4	<i>in vitro</i> clinical trial
7	SAD3	AD	wild	ε4	<i>in vitro</i> clinical trial
8	SAD4	AD	wild	ε4	<i>in vitro</i> clinical trial
9	HC1	healthy	wild	ε3	<i>in vitro</i> clinical trial
10	HC2	healthy	wild	ε3	<i>in vitro</i> clinical trial
11	HC3	healthy	wild	ε3	<i>in vitro</i> clinical trial
12	HC4	healthy	wild	ε3	<i>in vitro</i> clinical trial

3-2

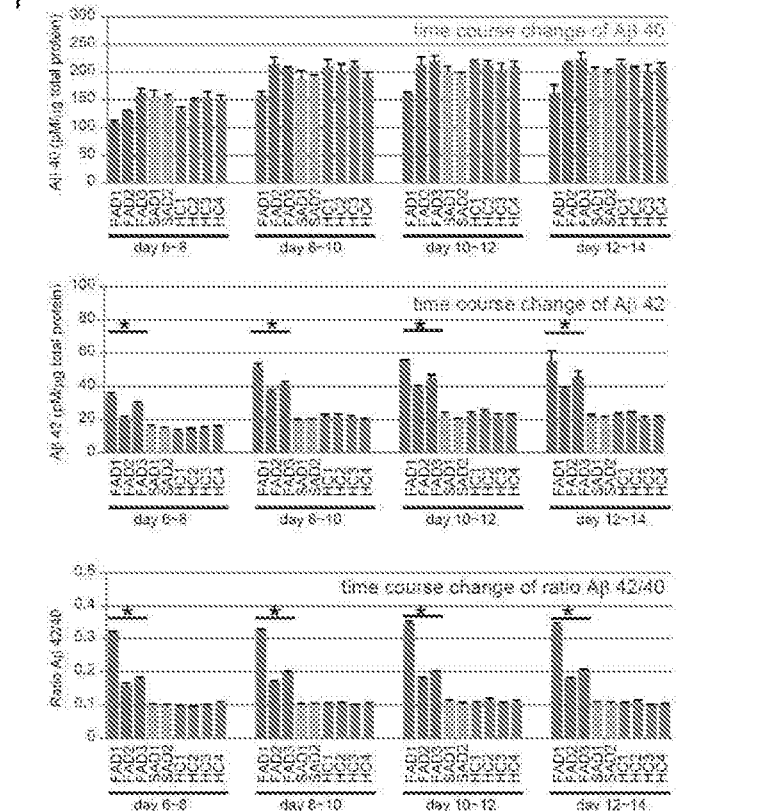
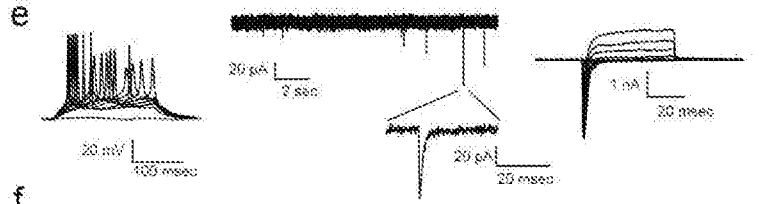
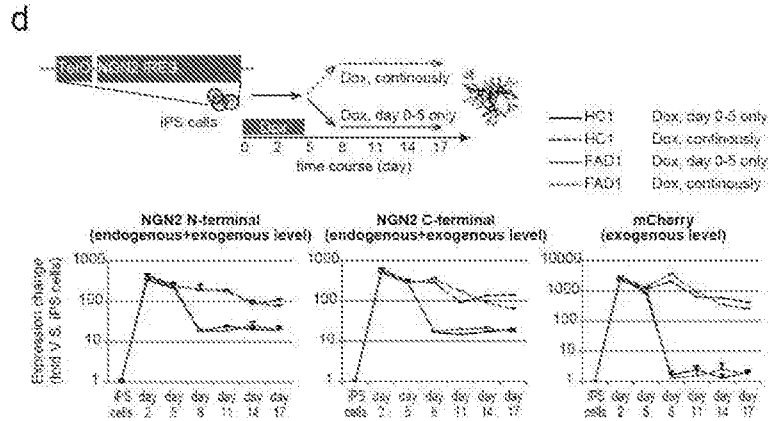
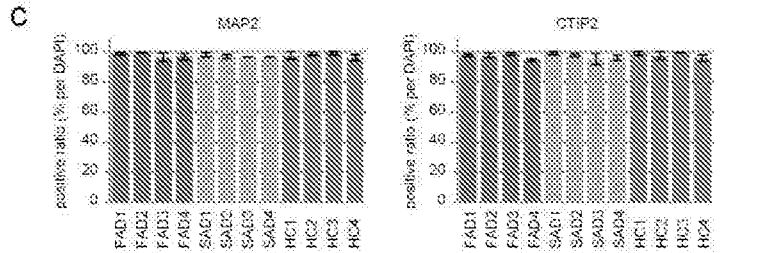
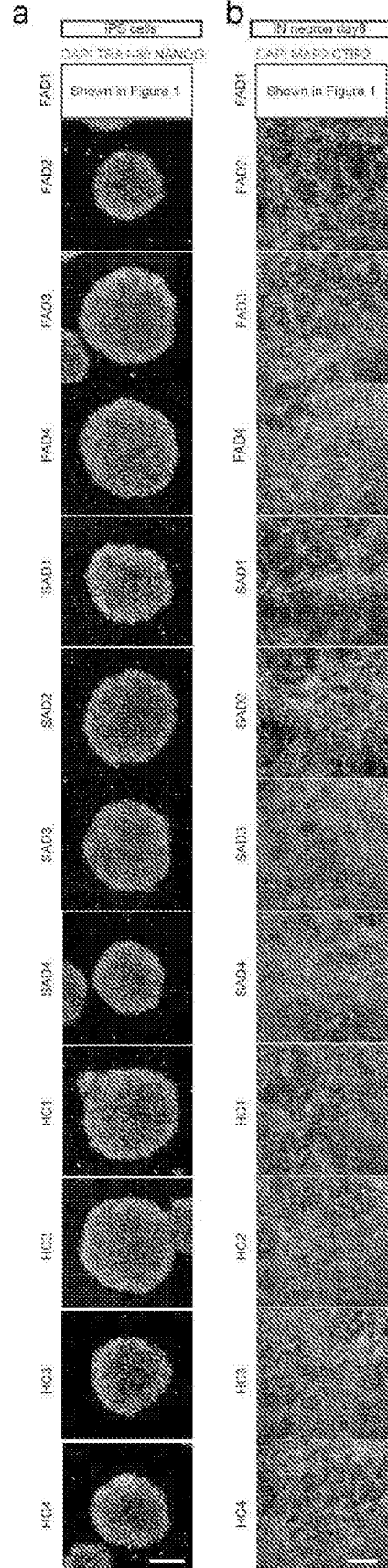
f



[Figure 3-3]

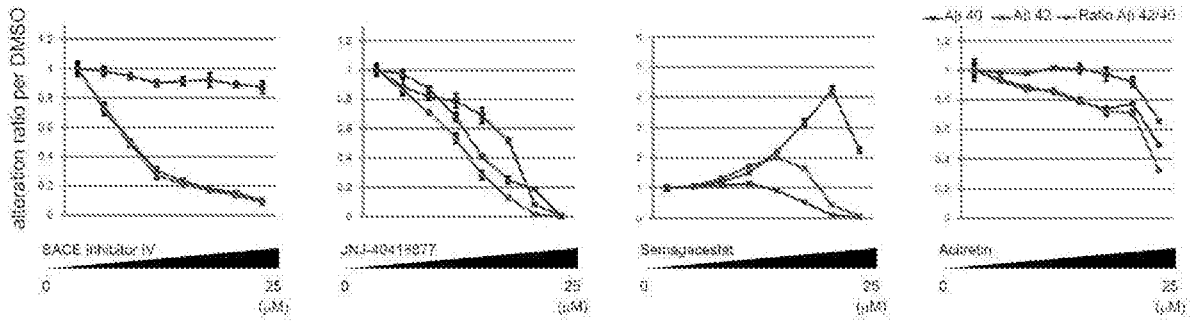


[4]

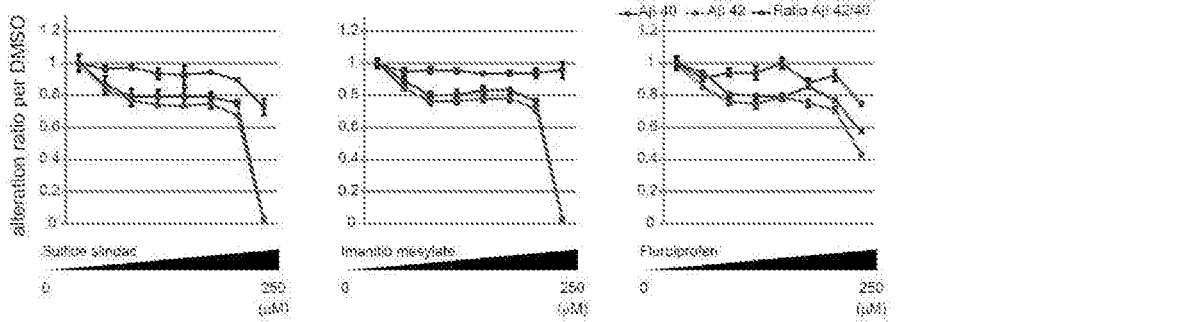


[5]

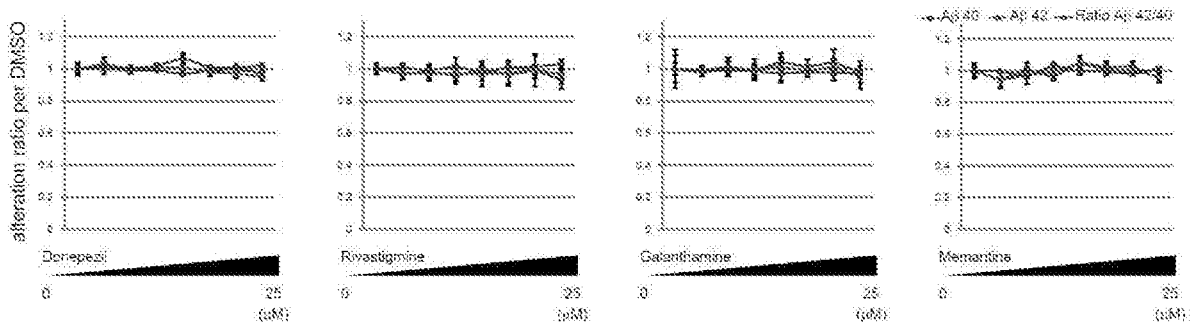
a



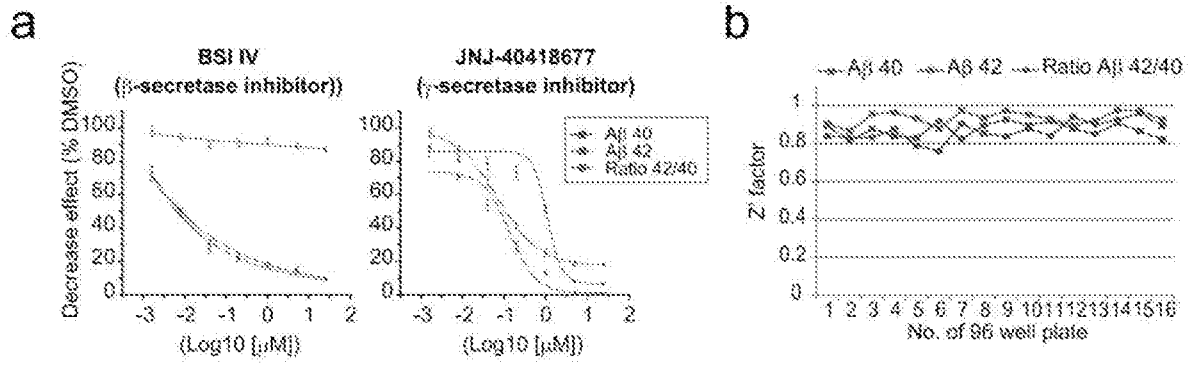
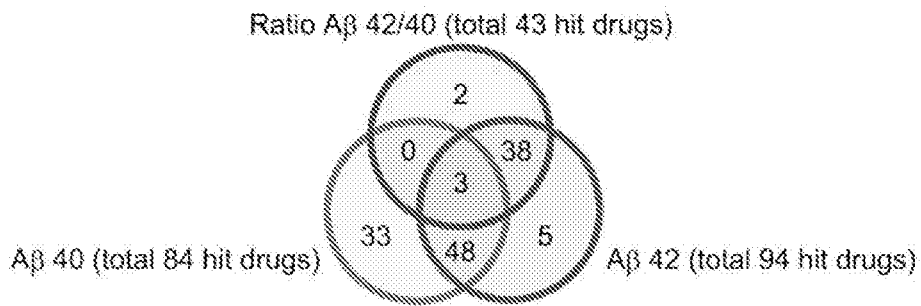
b



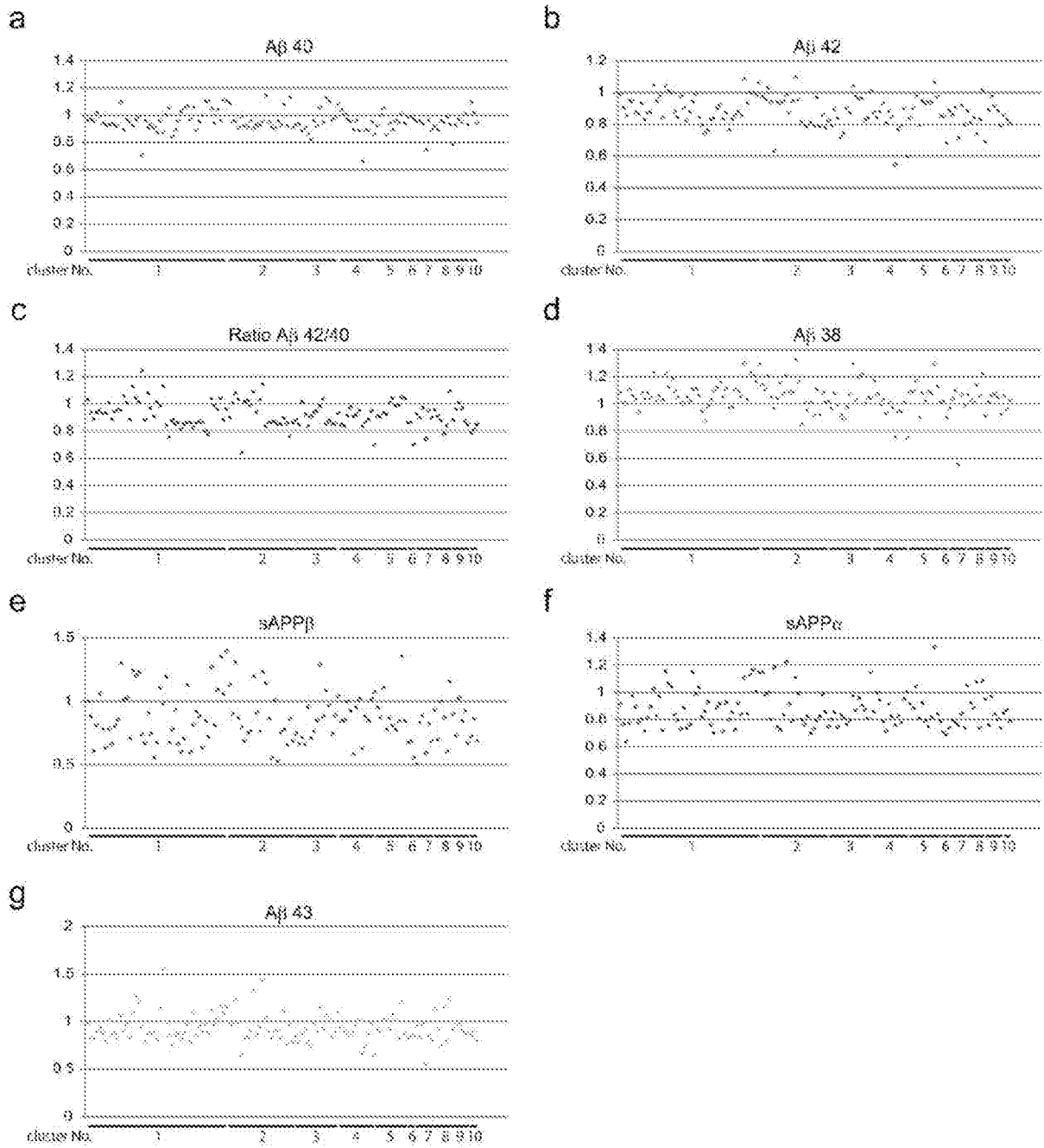
c



[圖6]

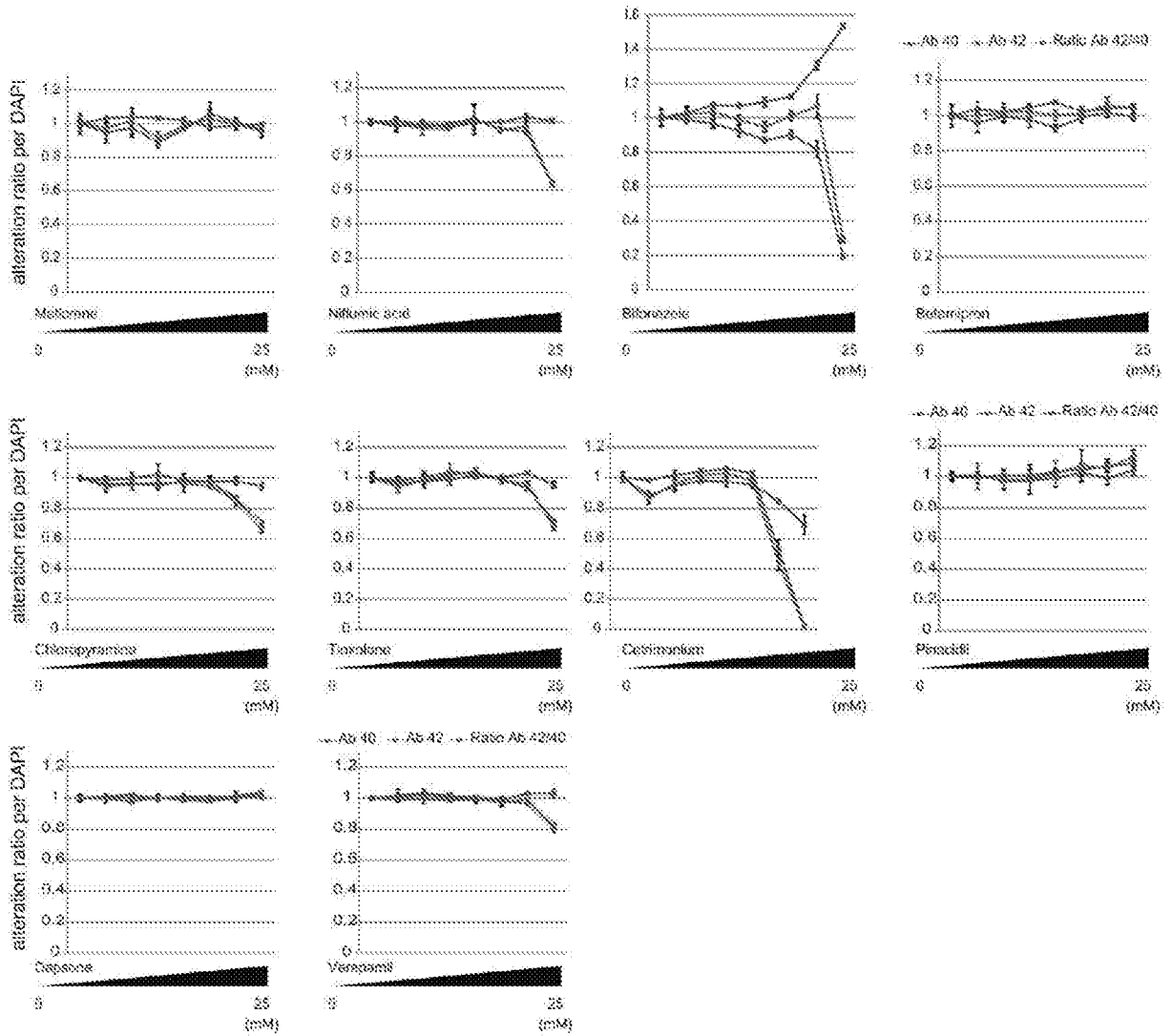
**c**

[図7]

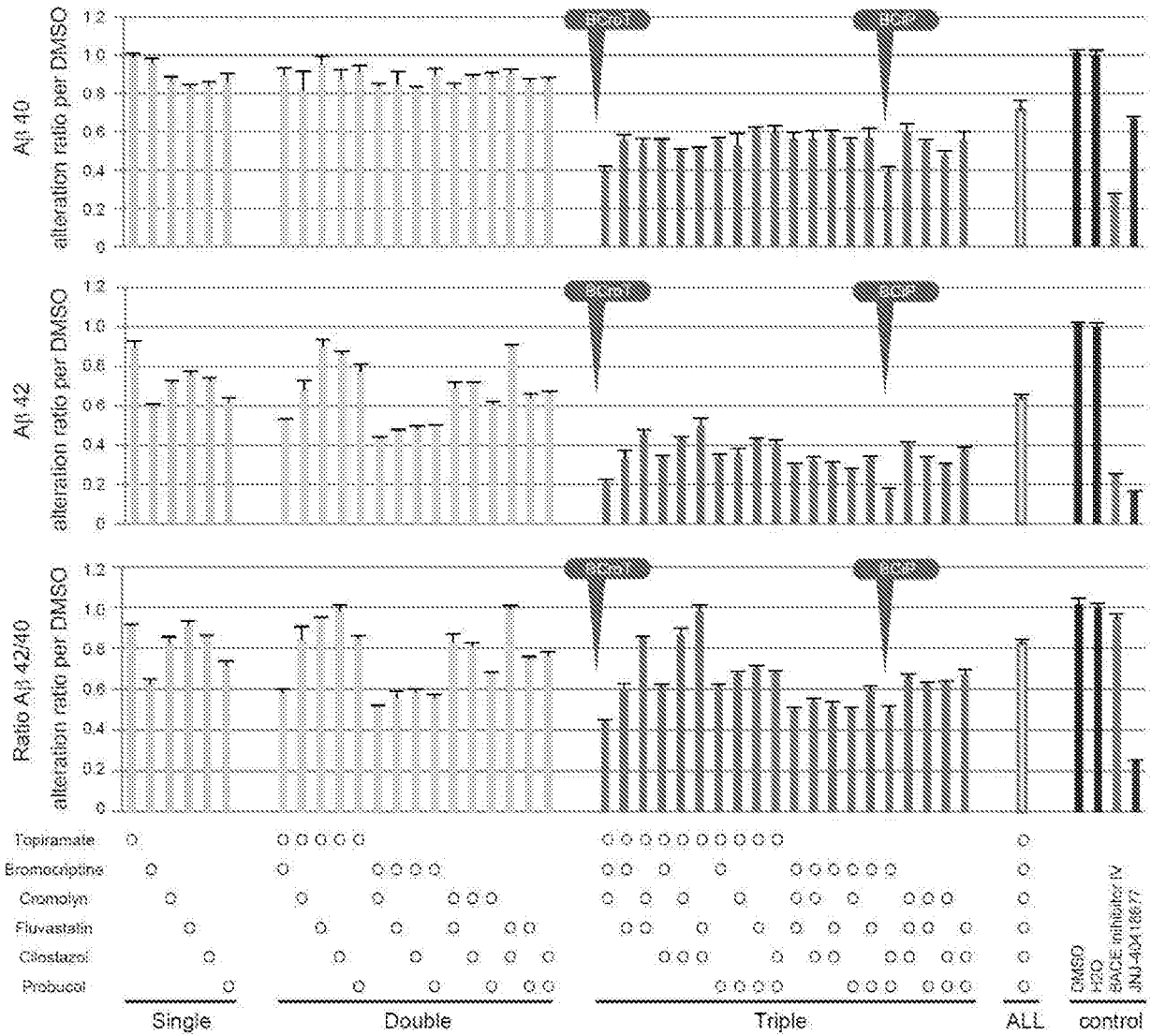




[8]

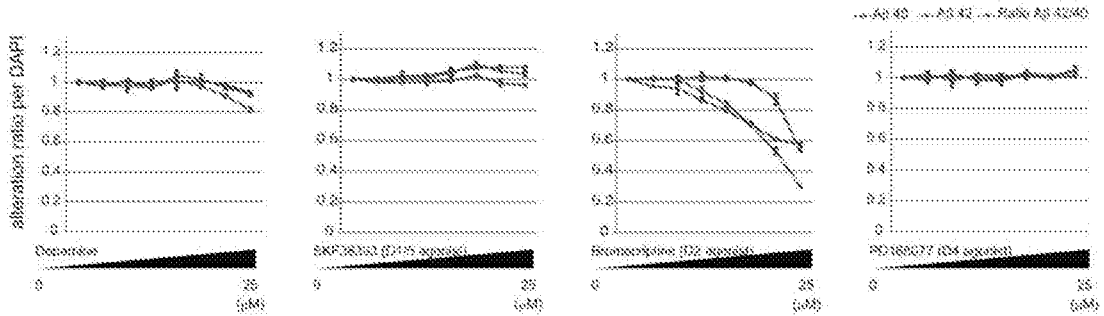


[9]

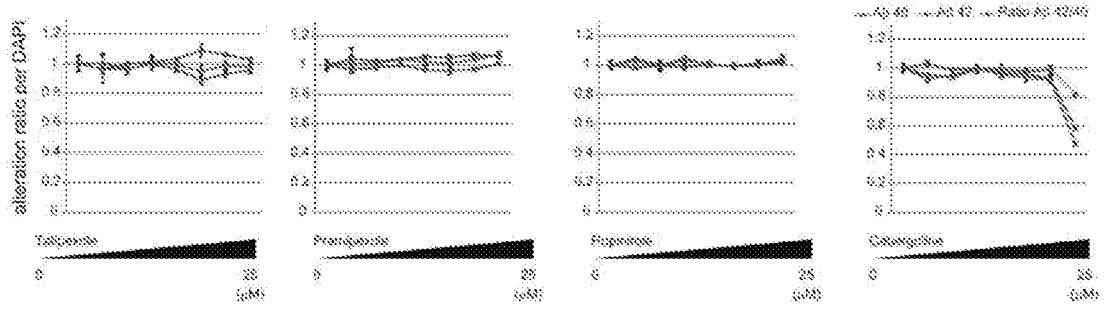


[10]

a



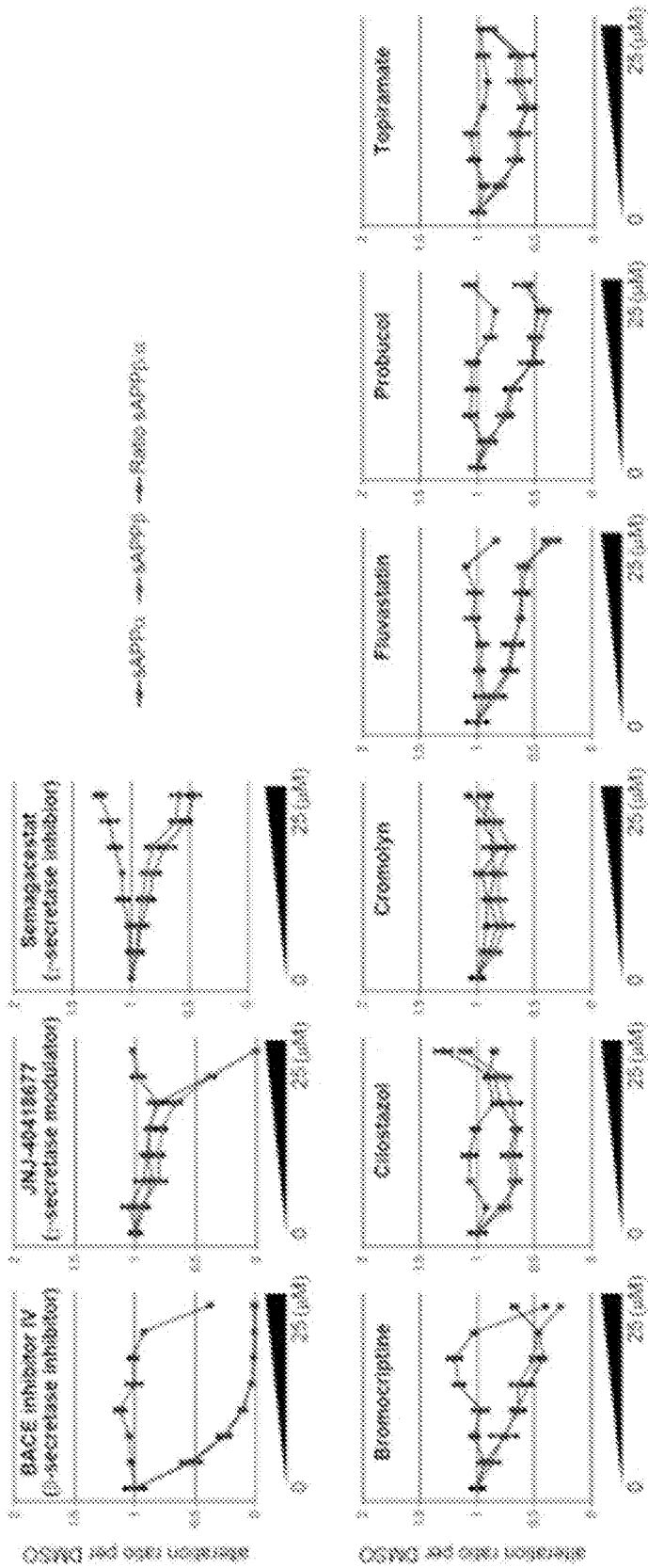
b



D2 receptor agonists without alkylamide-structure

D2 receptor agonists, derivative of alkylamide

[ 11 ]



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2016/089217

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
 A61K45/06(2006.01)i, A61K31/145(2006.01)i, A61K31/353(2006.01)i,  
 A61K31/404(2006.01)i, A61K31/4709(2006.01)i, A61K31/4985(2006.01)i,  
 A61P25/28(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i  
 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
 A61K45/06, A61K31/145, A61K31/353, A61K31/404, A61K31/4709, A61K31/4985,  
 A61P25/28, A61P43/00

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 1996-2017  
 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2017 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2017

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
 JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII),  
 CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2013-510114 A (Pharnext), 21 March 2013 (21.03.2013), claims; examples & WO 2011/054759 A1 claims; examples & US 2012/0270836 A1 & EP 2322163 A1	1-2, 7-8 3-5
X Y	JP 2014-506909 A (Pharnext), 20 March 2014 (20.03.2014), claims; examples & WO 2012/117073 A2 claims; examples & US 2013/0085122 A1	1, 7, 8 3-5

Further documents are listed in the continuation of Box C.  See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:  
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date  
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed  
 "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art  
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 17 March 2017 (17.03.17)	Date of mailing of the international search report 28 March 2017 (28.03.17)
---	--

Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer  Telephone No.
--	---

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/089217

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	HORI, Yukiko et al., A Food and Drug Administration -approved Asthma Therapeutic Agent Impacts Amyloid $\beta$ in the Brain in a Transgenic Model of Alzheimer Disease, JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 2015.01.23, Vol.290, No.4, pp.1966-1978, particularly, Abstract, Fig 1, Discussion	3-5
Y	SAKURAI, Hirofumi et al., Effects of cilostazol on cognition and regional cerebral blood flow in patients with Alzheimer's disease and cerebrovascular disease: A pilot study, Geriatr Gerontol Int, 2013, Vol.13, No.1, pp.90-97, particularly, Abstract, Table 2, Discussion	3-5
Y	Mitsuru SHINOHARA et al., "Alzheimer Disease Konpon Chiryo o Mezashita Fluvastatinno Shinki Ko A $\beta$ Sayo no Kaimei", Japanese Journal of Geriatrics, 2009, vol.46, special extra issue, page 52, entire text	3-5
Y	D.B.SANTOS, et al., PROBUCOL MITIGATES STREPTOZOTOCIN-INDUCED COGNITIVE AND BIOCHEMICAL CHANGES IN MICE., Neuroscience, 2014.10.22, Vol.284, pp.590-600, particularly, Abstract, page 591, left column, lines 28 to 31, Fig 2-4, Table 2, Discussion	3-5
Y	John Edward Morley et al., METOFORMIN AND TOPIRAMATE IMPROVE LEARNING AND MEMORY IN DIABETIC MICE AND SAMP8 MICE MODEL OF ALZHEIMER'S DISEASE, Alzheimer's and Dementia, 2014, Vol.10, Supp.4, P477-P478, entire text	3-5

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2016/089217

**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.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
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:  
See extra sheet.

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:  
Parts of the inventions described in claims 1-5 and 7-8, in each of which cromolyn is contained as an essential component.

**Remark on Protest**

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

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2016/089217

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet(2)

(Invention 1) Parts of the inventions described in claims 1-5 and 7-8, in each of which cromolyn is contained as an essential component.

In document 1, it is described that, when aminocaproic acid and terbinafine are used in combination, the toxicity of amyloid can be reduced, and it is also described that Alzheimer's disease can be treated by using these medicines in combination.

Aminocaproic acid is a compound belonging to "cluster 2" recited in the present application, and terbinafine is a compound belonging to "cluster 1" recited in the present application.

In addition, in document 1, cilostazol, topiramate and cromoglycate are mentioned as examples of the compound that can be used in combination with aminocaproic acid.

All of these compounds are included in the "compounds represented by compound Nos. 1 to 130".

In document 2, an invention in which a compound selected from trimetazidine and bromocriptine is used for the treatment of Alzheimer's disease is disclosed, and it is described that, when a combination of drugs, such as a combination of aminocaproic acid and trimetazidine or a combination of terbinafine and trimetazidine, is used, the toxicity of amyloid can be reduced.

Aminocaproic acid is a compound belonging to "cluster 2" recited in the present application, terbinafine is a compound belonging to "cluster 1" recited in the present application, and trimetazidine is a compound belonging to "cluster 3" recited in the present application. Therefore, these compounds correspond to the "compounds represented by compound Nos. 1 to 130" recited in claims 1 and 7.

In light of these facts, the combinations of compounds mentioned in claims 1, 2 and 7 are not novel over documents 1 and 2, and have no special technical feature.

A special technical feature is found in the invention wherein a combination of cromolyn, which is compound that is first mentioned in claim 3, and any one of the "compounds represented by compound Nos. 1 to 130" is used as "a prophylactic or therapeutic agent for Alzheimer's disease".

Consequently, these inventions are classified into Invention 1.

(Inventions 2 to 130) Parts of the inventions described in claims 1-8, in each of which a compound other than cromolyn is contained as an essential component.

In claims 1 and 7, the combinations of "at least two compounds independently selected from the group consisting of the compound represented by compound Nos. 1 to 130" are defined as alternatives.

However, it cannot be recognized that, among the combinations of these compounds, aspects each containing a compound other than cromolyn as an essential component have the same or corresponding technical feature as or to the inventions classified into Invention 1.

In the description of the present application, a method for classifying the compounds represented by compound Nos. 1 to 130 into 10 clusters on the basis of the similarity of structures is disclosed.

However, in light of the fact that various compounds having greatly different structures or functions from each other are included in the same cluster, it cannot be regarded that aspects in each of which a compound classified into the cluster to which cromolyn belongs is used in combination have the same or corresponding technical feature as or to the inventions classified into Invention 1.

(Continued to next extra sheet)

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2016/089217

For the above-mentioned reasons, parts of the inventions described in claims 1-8 in the present application, in which 129 compounds other than cromolyn are respectively used as essential components, are classified into Inventions 2-130, respectively.



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K45/06(2006.01)i, A61K31/145(2006.01)i, A61K31/353(2006.01)i, A61K31/404(2006.01)i, A61K31/4709(2006.01)i, A61K31/4985(2006.01)i, A61P25/28(2006.01)i, A61P43/00(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. A61K45/06, A61K31/145, A61K31/353, A61K31/404, A61K31/4709, A61K31/4985, A61P25/28, A61P43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2017年
日本国実用新案登録公報	1996-2017年
日本国登録実用新案公報	1994-2017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)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CPlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X Y	JP 2013-510114 A (ファーネクスト) 2013.03.21, 【特許請求の範囲】, 実施例 & WO 2011/054759 A1 Claims, Examples & US 2012/0270836 A1 & EP 2322163 A1	1-2, 7-8 3-5
X Y	JP 2014-506909 A (ファーネクスト) 2014.03.20, 【特許請求の範囲】, 実施例 & WO 2012/117073 A2 Claims, Examples & US 2013/0085122 A1	1, 7, 8 3-5

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	の日の後に公表された文献
「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	「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
「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	「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
「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)	「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
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」 同一パテントファミリー文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	

国際調査を完了した日  
17.03.2017

国際調査報告の発送日  
28.03.2017

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)	4 C	3 4 0 2
石井 裕美子		
電話番号 03-3581-1101 内線		3 4 5 2

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 請求項の番号
Y	HORI, Yukiko et al., A Food and Drug Administration -approved Asthma Therapeutic Agent Impacts Amyloid $\beta$ in the Brain in a Transgenic Model of Alzheimer Disease, JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 2015.01.23, Vol. 290, No. 4, pp. 1966-1978, 特に、Abstract, Fig 1, Discussion 参照	3-5
Y	SAKURAI, Hirofumi et al., Effects of cilostazol on cognition and regional cerebral blood flow in patients with Alzheimer's disease and cerebrovascular disease: A pilot study, Geriatr Gerontol Int, 2013, Vol. 13, No. 1, pp. 90-97, 特に、Abstract, Table 2, Discussion 参照	3-5
Y	篠原充 他, アルツハイマー病根本治療を目指したフルバスタチンの新規抗 A $\beta$ 作用の解明, 日本老年医学会雑誌, 2009, Vol. 46, 臨時増刊号, p. 52, 全文参照	3-5
Y	D. B. SANTOS, et al., PROBUCOL MITIGATES STREPTOZOTOCIN-INDUCED COGNITIVE AND BIOCHEMICAL CHANGES IN MICE., Neuroscience, 2014. 10. 22, Vol. 284, pp. 590-600, 特に、Abstract, 第 591 頁左欄第 28-31 行, Fig 2-4, Table 2, Discussion 参照	3-5
Y	John Edward Morley et al., METFORMIN AND TOPIRAMATE IMPROVE LEARNING AND MEMORY IN DIABETIC MICE AND SAMP8 MICE MODEL OF ALZHEIMER'S DISEASE, Alzheimer's and Dementia, 2014, Vol. 10, Supp. 4, P477-P478, 全文参照	3-5

## 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.  請求項 \_\_\_\_\_ 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、
  
2.  請求項 \_\_\_\_\_ 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.  請求項 \_\_\_\_\_ 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ろの国際調査機関は認めた。  
特別ページ参照。

1.  出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2.  追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3.  出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4.  出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、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項について作成した。

請求項 1 - 5, 7 - 8 に係る発明のうち、クロモリンを必須成分とするもの

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

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

## &lt; 第Ⅲ欄の続き &gt;

(発明1) 請求項1-5, 7-8に係る発明のうち、クロモリンを必須成分とするもの

文献1には、アミノカプロン酸と、テルビナフィンとを併用することで、アミロイドによる毒性を低減させることが可能になる点が記載されるとともに、これらの薬物を併せて使用することで、アルツハイマー病の処置を行うことが記載されている。アミノカプロン酸は、本願でいうところの「クラスター2」に属する化合物であり、テルビナフィンは、本願の「クラスター1」に属する化合物に他ならない。加えて、文献1には、アミノカプロン酸と併せて用い得る化合物として、シロスタゾールやトピラマート、クロモグリケートも挙げられている。これらは、いずれも、「化合物番号1~130で表される化合物」である。

また、文献2には、トリメタジジンやブロモクリプチンから選択される化合物を、アルツハイマー病の治療に使用する発明が記載されるとともに、アミノカプロン酸とトリメタジジン、或いは、テルビナフィンとトリメタジジン等の薬物を組み合わせて使用することで、アミロイドによる毒性を低減させることが可能になる点が示されている。アミノカプロン酸は本願でいうところの「クラスター2」に、テルビナフィンは本願の「クラスター1」に、トリメタジジンは「クラスター3」に属する化合物であり、いずれも、請求項1、7の「化合物番号1~130で表される化合物」に該当するものである。

そうすると、請求項1、2、7に挙げられる化合物群の組み合わせは、文献1、2により新規性が欠如しており、特別な技術的特徴を有しない。

そして、請求項3に最初に挙げられる化合物であるクロモリンと、本願の「化合物1~130で表される化合物」のいずれかを併用して、「アルツハイマー病の予防又は治療剤」とする発明に、特別な技術的特徴が発見された。よって、これを発明1に区分する。

(発明2-130) 請求項1-8に係る発明のうち、クロモリン以外の化合物を必須成分とする発明

請求項1、7には、「化合物1~130で表される化合物からなる群より選択される2以上の化合物」の組合せが、択一的に規定されている。

しかし、これら化合物のいずれかの組み合わせのうち、クロモリン以外を必須成分とする態様については、発明1に区分された発明と、同一の又は対応する技術的特徴を有しているとはいえない。本願明細書には、構造の類似性に基づいて、化合物1~130を10のクラスターに分類する手法が開示されているものの、同一クラスター内に含まれる化合物であっても、その構造や機能が大きく異なるものが種々含まれている点に照らせば、クロモリンと同一クラスターに分類されている化合物を併用する態様であるとしても、発明1に区分された発明と、同一の又は対応する技術的特徴を有しているとはいえない。

よって、本願請求項1-8に係る発明のうち、クロモリン以外の129の化合物を必須成分として使用するものは、発明2-130に区分される。