(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2022-534872
(P2022-534872A)
(43)公表日　令和4年8月4日(2022.8.4)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）	
C07H	*19/048 (2006.01)*	C07H	19/048	CSP	4B018
A61K	*31/706 (2006.01)*	A61K	31/706		4C057
A61P	*1/16 (2006.01)*	A61P	1/16		4C086
A61P	*31/14 (2006.01)*	A61P	31/14		
A61P	*31/20 (2006.01)*	A61P	31/20		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全23頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2021-568816(P2021-568816)
(86)(22)出願日　令和2年6月3日(2020.6.3)
(85)翻訳文提出日　令和3年11月17日(2021.11.17)
(86)国際出願番号　PCT/EP2020/065335
(87)国際公開番号　WO2020/245190
(87)国際公開日　令和2年12月10日(2020.12.10)
(31)優先権主張番号　19178427.1
(32)優先日　令和1年6月5日(2019.6.5)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　590002013
ソシエテ・デ・プロデュイ・ネスレ・エス・アー
スイス，１８００ ヴヴェイ，アヴェニュー ネスレ ５５
(74)代理人　100088155
弁理士　長谷川 芳樹
(74)代理人　100107456
弁理士　池田 成人
(74)代理人　100162352
弁理士　酒巻 順一郎
(74)代理人　100140453
弁理士　戸津 洋介
(72)発明者　カント アルヴァレス，カルレス
スイス連邦，１１４８ キュアルナン，
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　肝疾患の治療のための還元型ニコチンアミドリボシド

(57)【要約】
本発明は、肝疾患及び／又は状態の予防及び／又は治療の方法において使用するための還元型ニコチンアミドリボシドを含有する化合物及び組成物を提供する。本発明の一実施形態では、本発明の上記化合物及び組成物は、肝機能を維持又は改善することと、肝細胞機能を維持又は改善することと、損傷、移植、又は手術後の肝臓の回復及び再生を改善することと、によって肝臓を改善する。本発明の別の実施形態では、本発明の化合物及び組成物は、非アルコール性脂肪性肝疾患（ＮＡＦＬＤ）、アルコール性脂肪性肝疾患、肝脂肪変性、肝硬変、並びに／又は肝臓の損傷、移植、若しくは手術後の回復及び再生などの肝疾患及び／又は状態を予防及び／又は治療するための方法において使用され得る。
【選択図】　なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
肝疾患又は状態を予防及び／又は治療するために、有効な単位剤形の還元型ニコチンアミドを、前記予防及び／又は治療を必要とする対象に送達する工程を含む、前記対象における細胞内ＮＡＤ＋を増加させる方法において使用するための還元型ニコチンアミドリボシド。
【請求項２】
前記還元型ニコチンアミドリボシドが、（ｉ）１，４－ジヒドロ－１－β－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミド、（ｉｉ）１，２－ジヒドロ－１－β－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミド、又は（ｉｉｉ）１，６－ジヒドロ－１－β－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミドから選択される、請求項１に記載の使用のための還元型ニコチンアミドリボシド。
【請求項３】
前記還元型ニコチンアミドリボシドが、１，４－ジヒドロ－１－β－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミドである、請求項１又は２に記載の使用のための還元型ニコチンアミドリボシド。
【請求項４】
肝疾患又は状態の予防及び／又は治療に使用するためのものである、請求項１～３のいずれか一項に記載の還元型ニコチンアミドリボシドを含む組成物。
【請求項５】
前記組成物が、肝疾患又は状態の予防及び／又は治療に使用するための別のＮＡＤ＋前駆体を含まずに、還元型ニコチンアミドリボシドを本質的に含む、請求項４に記載の組成物。
【請求項６】
対象における肝機能の維持又は改善に使用するための還元型ニコチンアミドリボシドを含有する、請求項４又は５に記載の組成物。
【請求項７】
非アルコール性脂肪性肝疾患（ＮＡＦＬＤ）、アルコール性脂肪性肝疾患、肝脂肪変性、肝硬変、並びに／又は肝臓の損傷、移植、若しくは手術後の回復及び再生からなる群から選択される肝疾患及び状態の予防及び／又は治療に使用するための還元型ニコチンアミドリボシドを含有する、請求項４～６のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項８】
Ａ型肝炎、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、Ｄ型肝炎、及びＥ型肝炎、伝染性単核症（エプスタイン・バーウイルス）、並びに／又はヘモクロマトーシスに関連する肝疾患及び状態の予防及び／又は治療に使用するための還元型ニコチンアミドリボシドを含有する、請求項４～６のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項９】
損傷、外傷、又は肝移植手術後の肝組織の回復及び再生の増進に使用するための還元型ニコチンアミドリボシドを含有する、請求項４～６のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１０】
前記組成物が、食品添加物、食品原材料、機能性食品、ダイエタリー・サプリメント、医療食品、栄養食品、経口栄養補助食品（ＯＮＳ）、又は栄養補助食品を含む食品又は飲料製品から選択される栄養組成物である、請求項４～９のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１１】
非アルコール性脂肪性肝疾患（ＮＡＦＬＤ）、アルコール性脂肪性肝疾患、肝脂肪変性、肝硬変、並びに／又は肝臓の損傷、移植、若しくは手術後の回復及び再生からなる群から選択される、肝疾患及び／又は状態の予防及び／又は治療に使用するための、請求項１～３のいずれか一項に記載の還元型ニコチンアミドリボシド、又はニコチンアミドリボシドを含有する請求項４～１０のいずれか一項に記載の組成物。
【請求項１２】

Ａ型肝炎、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、Ｄ型肝炎、及びＥ型肝炎、伝染性単核症（エプスタイン・バーウイルス）、並びに／又はヘモクロマトーシスに関連する肝疾患及び／又は状態の予防及び／又は治療に使用するための、請求項１～３のいずれか一項に記載の還元型ニコチンアミドリボシド、又は請求項４～１０のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項１３】

対象とする哺乳動物において細胞内ＮＡＤＨを増加させる方法であって、肝疾患又は状態の予防及び／又は治療に使用するために有効な単位剤形にて有効量の請求項１～１２のいずれか一項に記載の還元型ニコチンアミドリボシドを、前記処置を必要とする前記哺乳動物に送達する工程を含む、方法。

【請求項１４】

前記肝疾患又は状態が、非アルコール性脂肪性肝疾患（ＮＡＦＬＤ）、アルコール性脂肪性肝疾患、肝脂肪変性、肝硬変、並びに／又は肝臓の損傷、移植、若しくは手術後の回復及び再生の群から選択される、請求項１３に記載の方法。

【請求項１５】

前記肝疾患及び／又は状態が、Ａ型肝炎、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、Ｄ型肝炎、及びＥ型肝炎、伝染性単核症（エプスタイン・バーウイルス）、並びに／又はヘモクロマトーシスに関連するものである、請求項１３又は１４に記載の方法。

【請求項１６】

肝疾患及び状態の予防及び／又は治療を必要とする対象における前記予防／及び又は治療に使用するための方法であって、

ｉ）還元型ニコチンアミドリボシドを本質的に含む組成物を前記対象に与える工程と、

ｉｉ）前記組成物を前記対象に投与する工程と、

を含む、、請求項１３～１５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１７】

前記対象が、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタ、又はヒツジからなる群から選択される、請求項１６に記載の方法。

【請求項１８】

前記対象が、ヒトである、請求項１７に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、肝疾患及び／又は状態の予防及び／又は治療の方法において使用するための還元型ニコチンアミドリボシドを含有する化合物及び組成物を提供する。本発明の一実施形態では、本発明の上記化合物及び組成物は、肝機能を維持又は改善することと、肝細胞機能を維持又は改善することと、損傷、移植、又は手術後の肝臓の回復及び再生を改善することと、によって肝臓を改善する。本発明の別の実施形態では、本発明の化合物及び組成物は、非アルコール性脂肪性肝疾患（ｎｏｎ－ａｌｃｏｈｏｌｉｃ　ｆａｔｔｙ　ｌｉｖｅｒ　ｄｉｓｅａｓｅ、ＮＡＦＬＤ）、アルコール性脂肪性肝疾患、肝脂肪変性、肝硬変、並びに／又は肝臓の損傷、移植、若しくは手術後の回復及び再生などの肝疾患及び／又は状態を予防及び／又は治療するための方法において使用され得る。

【背景技術】

【０００２】

肝臓は、タンパク質産生、血液凝固、コレステロール代謝、グルコース代謝、及び鉄代謝において重要な役割を果たす。肝臓はまた、脂肪を消化し、ビタミンＡ、Ｄ、Ｅ、及びＫを吸収するのに必要な胆汁を生成する。

【０００３】

肝疾患は、機能障害又は疾患を引き起こす、肝臓の何らかの障害である。最も一般的な肝疾患及び状態は、非アルコール性脂肪性肝疾患（ＮＡＦＬＤ）、アルコール性脂肪性肝疾患、肝脂肪変性、及び／又は肝硬変である。肝機能の障害はまた、肝臓の損傷、移植、又は手術後にも発生し得る。Ａ型肝炎、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、Ｄ型肝炎、及びＥ型肝炎、

並びに伝染性単核症（エプスタイン・バーウイルス）及びヘモクロマトーシスなどの状態もまた、肝機能障害に寄与し得る。

【０００４】

肝臓の細胞及び組織においてＮＡＤ＋を増加させる能力により、ＤＮＡ損傷修復酵素の活性維持が助けられ、細胞死が防止され、肝細胞の生存及び増殖が可能となり肝臓が再生する。

【０００５】

したがって、ＮＡＤ＋に影響する新規化合物、組成物、並びに予防及び／又は治療の方法を用いて、肝疾患及び／又は状態に対処することは、解決が必要とされている喫緊の課題である。

【０００６】

［発明の概要］

本発明は、肝臓の状態及び疾患を予防及び／又は治療する方法において使用するための化合物及び組成物を提供する。

【０００７】

一実施形態では、組成物は、食品又は飲料製品、栄養補助食品、経口栄養補助食品（ＯＮＳ）、医療食品、及びこれらの組み合わせからなる群から選択される。

【０００８】

別の実施形態では、本発明は、対象において細胞内ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（ＮＡＤ＋）を増加させる方法を提供し、本方法は、還元型ニコチンアミドリボシドを、ＮＡＤ＋生合成を増加させるのに有効な量で対象に投与することを含む、本発明の化合物又は組成物を投与する工程を含む。

【０００９】

更なる実施形態では、ＮＡＤ＋生合成の前駆体として、還元型ニコチンアミドリボシドは、ＮＡＤ＋生合成を増加させ、肝機能に１つ以上の利益を提供することができる。

【００１０】

別の実施形態では、本発明は、還元型ニコチンアミドリボシドを含む組成物の単位剤形を提供し、単位剤形は、ＮＡＤ＋生合成を増加させるために有効量の還元型ニコチンアミドリボシドを含有する。

【００１１】

本発明の一実施形態では、還元型ニコチンアミドリボシドを含有する組成物は、対象における肝機能を維持又は改善するために提供される。

【００１２】

本発明の更に別の実施形態では、還元型ニコチンアミドリボシドを含有する組成物は、損傷後の肝臓の回復を増進させるために提供される。

【００１３】

本発明の更なる実施形態では、還元型ニコチンアミドリボシドを含有する組成物は、外傷又は手術後の肝臓の回復を増進させるために提供される。

【００１４】

本発明の別の実施形態では、組成物は、食品添加物、食品原材料、機能性食品、ダイエタリー・サプリメント、医療食品、栄養食品、経口栄養補助食品（ｏｒａｌ　ｎｕｔｒｉｔｉｏｎａｌ　ｓｕｐｐｌｅｍｅｎｔｓ、ＯＮＳ）、又は栄養補助食品を始めとする食品又は飲料製品から選択される栄養組成物である。

【００１５】

本発明の別の実施形態では、還元型ニコチンアミドリボシドを含有する組成物は、非アルコール性脂肪性肝疾患（ＮＡＦＬＤ）、アルコール性脂肪性肝疾患、肝脂肪変性、肝硬変、及び／又は末期肝疾患（Ｅｎｄ－ｓｔａｇｅ　ｌｉｖｅｒ　ｄｉｓｅａｓｅ、ＥＳＬＤ）を予防又は治療するために提供される。

【００１６】

本発明の別の実施形態では、還元型ニコチンアミドリボシドを含有する組成物は、Ａ型

肝炎、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、Ｄ型肝炎、及びＥ型肝炎、伝染性単核症（エプスタイン・バーウイルス）、並びに／又はヘモクロマトーシスに関連する肝疾患を予防又は治療するために提供される。

【発明を実施するための形態】

【００１７】

定義

本明細書に記載する全ての百分率は、別途記載のない限り、組成物の総重量によるものである。本明細書で使用するとき、「約」、「およそ」、及び「実質的に」は、数値範囲内、例えば、参照数字の－１０％から＋１０％の範囲内、好ましくは－５％から＋５％の範囲内、より好ましくは、参照数字の－１％から＋１％の範囲内、最も好ましくは参照数字の－０．１％から＋０．１％の範囲内の数を指すものと理解される。

【００１８】

本明細書における全ての数値範囲は、その範囲内の全ての整数又は分数を含むと理解されるべきである。更に、これらの数値範囲は、この範囲内の任意の数又は数の部分集合を対象とする請求項をサポートすると解釈されたい。例えば、１～１０という開示は、１～８、３～７、１～９、３．６～４．６、３．５～９．９などの範囲をサポートするものと解釈されたい。

【００１９】

本発明及び添付の特許請求の範囲において使用されるとき、単数形「１つの」（「ａ」、「ａｎ」及び「ｔｈｅ」）には、別段の指示がない限り、複数の参照物も含まれる。したがって、例えば、「１つの構成成分（ａ　ｃｏｍｐｏｎｅｎｔ）」又は「その構成成分（ｔｈｅ　ｃｏｍｐｏｎｅｎｔ）」についての言及は、２つ以上の構成成分を含む。

【００２０】

用語「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅ）」、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」、及び「含んでいる（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」は、排他的なものではなく、他を包含し得るものとして解釈されるべきである。同様にして、用語「含む（ｉｎｃｌｕｄｅ）」、「含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」及び「又は（ｏｒ）」は全て、このような解釈が文脈から明確に妨げられない限りは他を包含し得るものであると解釈される。しかしながら、本明細書に開示されている組成物は、本明細書において具体的に開示されていない要素を含まない場合がある。したがって、「含む／備える（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」という用語を用いた実施形態の開示は、特定されている構成要素「を本質的に含む（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ　ｏｆ）」実施形態、及び「を含む（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｏｆ）」実施形態の開示を含む。本明細書で開示される任意の実施形態は、本明細書で開示される任意の他の実施形態と組み合わせることができる。

【００２１】

本明細書において使用する場合、用語「例」及び「例えば～など（ｓｕｃｈ　ａｓ）」は、その後に用語の列挙が続くときは特に、単に例示的かつ説明的なものにすぎず、排他的又は網羅的なものとみなされるべきではない。本明細書で使用するとき、別の状態「に関連する／伴う（ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ　ｗｉｔｈ）」又は「と関連付けられる（ｌｉｎｋｅｄ　ｗｉｔｈ）」状態は、これらの状態が同時に起こることを意味し、好ましくは、これらの状態が同じ基礎症状によって引き起こされることを意味し、最も好ましくは、特定されている状態のうちの一方が他方の特定されている状態によって引き起こされることを意味する。

【００２２】

用語「食品」、「食品製品」、及び「食品組成物」は、ヒトなどの個体による摂取が意図され、かかる個体に対して少なくとも１種の栄養素を提供する、製品又は組成物を意味する。食品製品は、典型的には、タンパク質、脂質、炭水化物のうちの少なくとも１つを含み、任意に１種以上のビタミン及びミネラルを含む。用語「飲料」又は「飲料製品」は、人間などの個体が経口摂取するものを意図し、個体に少なくとも１種の栄養素を提供する液体製品又は液体組成物を意味する。

【００２３】
本明細書に記載されている多くの実施形態を含む本開示の組成物は、本明細書に開示されている要素、並びに本明細書に記載されている又は記載されていなくとも食生活において有用である任意の追加の又は任意選択の成分、構成成分又は要素を含む、それらを含む（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ　ｏｆ）、又はそれらを本質的に含むことができる。
【００２４】
本明細書で使用するとき、用語「単離された」は、単離されていない場合に、例えば自然界においてその化合物と一緒に見られ得る、１種以上の別の化合物又は成分から分けられていることを意味する。好ましくは、例えば「単離された」は、特定されている化合物が、自然界で典型的に一緒に見られる細胞材料の少なくとも一部から分離されていることを意味する。一実施形態では、単離された化合物は、任意の他の化合物を含まない。
【００２５】
「予防」は、状態又は障害のリスク、発生率及び／又は重症度の低減を含む。「処置／治療（ｔｒｅａｔｍｅｎｔ）」、「処置する／治療する（ｔｒｅａｔ）」及び「緩和すること（ｔｏ　ａｌｌｅｖｉａｔｅ）」という用語は、（標的とする病態又は障害の発症を予防する及び／又は遅らせる）予防用の（ｐｒｏｐｈｙｌａｃｔｉｃ）処置又は予防的な（ｐｒｅｖｅｎｔｉｖｅ）処置と、診断された病態又は疾患を治癒させる、遅らせる、その症状を減弱する、かつ／又はその進行を止める治療的手段を含む、治癒的、治療的又は疾患修飾処置との両方；並びに疾患にかかるリスクを有する、又は疾患にかかったと推測される患者の処置に加えて、病気である、又は疾患若しくは医学的状態に罹患していると診断された患者の処置を含む。この用語は、必ずしも完治するまで対象が処置／治療されることを意味するものではない。「処置／治療」及び「処置／治療する」という用語はまた、疾患に罹患してはいないが不健康な状態を招きやすい可能性のある個体の健康を維持及び／又は促進することも指す。「処置／治療」、「処置／治療する」及び「緩和すること」という用語はまた、１つ以上の主たる予防的又は治療的手段の相乗作用、又は別の増強作用を含むことも意図している。「処置／治療」、「処置／治療する」及び「緩和すること」という用語は更に、疾患若しくは状態の、食事による管理（ｄｉｅｔａｒｙ　ｍａｎａｇｅｍｅｎｔ）、又は疾患若しくは状態の予防（ｐｒｏｐｈｙｌａｘｉｓ若しくはｐｒｅｖｅｎｔｉｏｎ）のための、食事による管理を含むことも意図している。治療は患者に関連するものであってもよく、又は医師に関連するものであってもよい。
【００２６】
本明細書で使用するとき、「単位剤形」という用語は、ヒト対象及び動物対象のための投与量単位として好適な物理的に小分けされた単位を指し、各単位は、薬学的に許容可能な希釈剤、担体、又はビヒクルとともに、所望の効果をもたらすのに十分な量の、所定量の本明細書に開示される組成物を含有する。単位剤形の仕様は、使用される具体的な化合物、達成しようとする効果、及びホスト体内の各化合物に関連する薬力学によって決まる。
【００２７】
本明細書で使用するとき、「有効量」とは、欠乏を予防する、個体の疾患若しくは医学的状態を治療する、又はより一般的には、症状を軽減させる、疾患の進行を管理する、又は個体に対して栄養学的、生理学的若しくは医学的利益をもたらす、量である。相対用語「改善する」、「向上させる」、「増強する／増進させる」、「促進する」などは、本明細書に開示される組成物、すなわち、還元型ニコチンアミドリボシドを含む組成物の、ニコチンアミドリボシドを含まないこと以外は同一である組成物と比較した効果を指す。本明細書で使用するとき、「促進すること」とは、本明細書に開示される組成物の投与前の値と比較して増強又は誘導することを指す。
【００２８】
本明細書で使用するとき、「還元型ニコチンアミドリボシド」はまた、プロトン化されたニコチンアミドリボシド、ジヒドロニコチンアミドリボシド、ジヒドロ－１－β－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミド、又は１－（β－Ｄ－リボフラノシル）－

ジヒドロニコチンアミドとして既知であり得る。還元型ニコチンアミドリボシドの合成の説明は、実施例１に記載されている。プロトン化部位の位置は、異なる形態の「還元型ニコチンアミドリボシド」を生じさせることができる。例：１，４－ジヒドロ－１－β－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミド；１，２－ジヒドロ－１－β－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミド；及び１，６－ジヒドロ－１－β－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミド（Ｍａｋａｒｏｖ　ａｎｄ　Ｍｉｇａｕｄ，２０１９）。

【００２９】

肝疾患及び状態

肝疾患は肝臓の炎症及び肥大として始まり得、最初は可逆的であり得る。肝疾患は、未治療で放置すると肝線維症に進行して肝臓に瘢痕を生じ、肝臓を通過する血流を妨げる場合がある。後者の段階では、これは肝硬変として知られている。肝硬変の結果として肝不全が生じる場合、この肝不全は末期肝疾患（ＥＳＬＤ）として知られている。ＮＡＤ＋、ＮＲＨを増加させるその能力により、ＤＮＡ損傷修復酵素の活性維持が助けられ、細胞死が防止され、肝細胞の生存及び増殖が可能となり肝臓が再生する。

【００３０】

非アルコール性脂肪性肝疾患（ＮＡＦＬＤ）

ＮＡＦＬＤは、アルコールの過剰摂取を伴わずに肝臓に脂肪が蓄積することで始まる、進行性の複合肝疾患である。ＮＡＦＬＤは、肥満、インスリン抵抗性、及び脂質異常症の因子を組み合わせた結果であるメタボリックシンドロームに強く関連している。ＮＡＦＬＤは、真性糖尿病、高脂血症、インスリン抵抗性、及び高血圧によって悪化し得る。ＮＡＦＬＤは、未治療で放置すると、非アルコール性脂肪性肝炎（Ｎｏｎ－ａｌｃｏｈｏｌｉｃ　ｓｔｅａｔｏｈｅｐａｔｉｔｉｓ、ＮＡＳＨ）などのより高度な疾患に進行する場合があり、繊維化、肝硬変、及び肝がん（ＨＣＣ）に発展し得る。

【００３１】

アルコール性脂肪性肝疾患

慢性的に過度にアルコールを乱用した後は、正常な肝機能が破壊され得る。肝臓はアルコールを解毒するのに必要な主な臓器であり、肝組織が破壊される又は変化することで、脂肪肝、及び／又は肝臓での永久的な瘢痕化若しくは硬変が引き起こされ得る。

【００３２】

肝脂肪変性、脂肪性肝炎、及び非アルコール性脂肪性肝炎（ＮＡＳＨ）

ＮＡＳＨは非アルコール性脂肪性肝炎の略称であり、一連の非アルコール性脂肪性肝疾患のうち、より重症な末路を表すものである。脂肪性肝炎は、炎症を伴う脂肪肝を有するものとして定義される。ＮＡＳＨである成人の最大２０％が肝硬変を発症し、最大１１％が肝臓関連の死を経験し得る。多くの個体は慢性肝不全を発症し、肝移植を必要とする。ＮＡＳＨの有病率は、一般集団で２～６％である。

【００３３】

肝硬変

肝硬変は疾患ではなく、肝臓の永続的なダメージ又は瘢痕化から生じる状態である。肝硬変により、肝臓を通過する血流が遮断され、正常な代謝プロセス及び制御プロセスが妨げられる。

【００３４】

肝損傷、手術による外傷、及び肝移植からの肝臓の回復及び再生

肝移植が必要な場合、大部分の患者は６ヵ月以内に日常の活動に戻る。移植を受けた患者は、自身の身体が新しい臓器を拒絶することを防ぐための投薬を含む、生涯にわたる医療が必要となる。

【００３５】

本発明の化合物、組成物、及び方法は、損傷、外傷、及び肝移植後の肝臓の回復及び再生を始めとする上述の肝疾患及び状態の予防及び／又は治療に、特に、肝機能の維持又は改善に有益であり得ることが理解され得る。

【００３６】
実施形態
本発明は、還元型ニコチンアミドリボシドを含有する化合物及び組成物を提供する。本発明の別の態様は、還元型ニコチンアミドリボシドを含む組成物の単位剤形であり、単位剤形は、還元型ニコチンアミドリボシドを、細胞内ＮＡＤ＋の増加を必要とする対象において細胞内ＮＡＤ＋を増加させるのに有効な量で含有する。
【００３７】
ＮＡＤ＋生合成の増加は、腎疾患の予防又は治療に関して、例えば、ヒト（例えば、医学的治療を受けているヒト）、ペット若しくはウマ（例えば、医学的治療を受けているペット若しくはウマ）、又はウシ若しくは家禽（例えば、農業で使用されているウシ若しくは家禽）などの個体に１つ以上の利点を提供することができる。
【００３８】
げっ歯類などの非ヒト哺乳動物に関するいくつかの実施形態は、非ヒト哺乳動物の体重１ｋｇ当たり、１．０ｍｇ～１．０ｇ、好ましくは１０ｍｇ～５００ｍｇ、より好ましくは２５ｍｇ～４００ｍｇ、最も好ましくは５０ｍｇ～３００ｍｇの還元型ニコチンアミドリボシドを提供する量の組成物を投与することを含む。
【００３９】
ヒトに関するいくつかの実施形態は、ヒトの体重１ｋｇ当たり、１．０ｍｇ～１０．０ｇ、好ましくは１０ｍｇ～５．０ｇ、より好ましくは５０ｍｇ～２．０ｇ、最も好ましくは１００ｍｇ～１．０ｇの還元型ニコチンアミドリボシドを提供する量の組成物を投与することを含む。
【００４０】
いくつかの実施形態では、還元型ニコチンアミドリボシドの少なくとも一部は、天然の植物素材から単離される。追加的に又は代替的に、還元型ニコチンアミドリボシドの少なくとも一部は、化学合成することができる。例えば、以下の実施例１により化学合成することができる。
【００４１】
本明細書で使用するとき、「還元型ニコチンアミドリボシドを本質的に含む組成物」は、還元型ニコチンアミドリボシドを含有し、かつ「還元型ニコチンアミドリボシド」以外のＮＡＤ＋産生に影響を及ぼす任意の追加の化合物を含まない、又は実質的に含まない、又は全く含まない。特定の非限定的な実施形態では、組成物は、還元型ニコチンアミドリボシド、及び１種の添加物、又は１種以上の添加物を含む。
【００４２】
いくつかの実施形態では、還元型ニコチンアミドリボシドを本質的に含む組成物は、ニコチンアミドリボシドなどの他のＮＡＤ＋前駆体を任意に実質的に含まない、又は全く含まない。
【００４３】
本明細書で使用するとき、「実質的に含まない」は、組成物中に存在する任意の他の化合物が、還元型ニコチンアミドリボシドの量に対して１．０重量％以下、好ましくは還元型ニコチンアミドリボシドの量に対して０．１重量％以下、より好ましくは還元型ニコチンアミドリボシドの量に対して０．０１重量％以下、最も好ましくは還元型ニコチンアミドリボシドの量に対して０．００１重量％以下であることを意味する。
【００４４】
本発明の別の態様は、細胞内ＮＡＤ＋の増加を必要とする哺乳動物において細胞内ＮＡＤ＋を増加させる方法であり、哺乳動物に、ＮＡＤ＋の生合成を向上させるのに有効な量の還元型ニコチンアミドリボシドを本質的に含む又は含む組成物を投与する工程を含む。本方法は、細胞及び組織の生存並びに全体的な細胞及び組織の健康を改善するために、細胞及び組織における、例えば、肝細胞及び組織、特に肝細胞及び組織における、細胞内ＮＡＤ＋値の増加を促進することができる。
【００４５】

ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（ＮＡＤ＋）は、コエンザイムであり、かつ細胞のエネルギーを生成する酸化還元反応における必須補因子であると考えられる。ＮＡＤＨのＮＡＤ＋への酸化は、ヒドリドの移動を促進し、結果としてミトコンドリア酸化的リン酸化によるＡＴＰ生成を促進するため、エネルギー代謝において重要な役割を果たす。ＮＡＤ＋はまた、複数の酵素の分解基質としても機能する（Ｃａｎｔｏ　ｅｔ　ａｌ．２０１５；Ｉｍａｉ　ｅｔ　ａｌ．２０００；Ｃｈａｍｂｏｎ　ｅｔ　ａｌ．１９６３；Ｌｅｅ　ｅｔ　ａｌ．１９９１）。

【００４６】

哺乳類生物は、異なる４つの原料からＮＡＤ＋を合成することができる。第１に、ＮＡＤ＋は、１０段階のデノボ経路を介してトリプトファンから得ることができる。第２に、ニコチン酸（ＮＡ）はまた、３段階Ｐｒｅｉｓｓ－Ｈａｎｄｌｅｒ経路を介してＮＡＤ＋に変換することができ、これはデノボ経路に収束する。第３に、ニコチンアミド（ＮＡＭ）からの細胞内ＮＡＤ＋サルベージ経路は、細胞がＮＡＤ＋を構築する主要経路を構成し、ＮＡＭが最初にＮＡＭ－ホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＮＡＭＰＴ）の触媒活性を介してＮＡＭ－モノヌクレオチド（ＮＭＮ）に変換され、次にＮＭＮアデニリルトランスフェラーゼ（ＮＭＮＡＴ）酵素を介してＮＡＤ＋に変換される２段階反応によって発生する。最後に、ニコチンアミドリボシド（Ｎｉｃｏｔｉｎａｍｉｄｅ　Ｒｉｂｏｓｉｄｅ、ＮＲ）は更に、ＮＲキナーゼ（ＮＲ　ｋｉｎａｓｅｓ、ＮＲＫ）によりＮＲが最初にリン酸化されてＮＭＮになることを特徴とする、ＮＡＤ＋への第４の経路を構成する（Ｂｒｅｇａｎｏｗｓｋｉ　ｅｔ　ａｌ．２００４）。

【００４７】

トリプトファン、ニコチン酸（ＮＡ）、ニコチンアミド（ＮＡＭ）、ニコチン酸リボシド（ＮａＲ）、及びニコチンアミドリボシド（ＮＲ）という５つの分子がそのまま細胞外ＮＡＤ＋前駆体として働くことが以前から知られている。本発明は、細胞外ＮＡＤ＋前駆体として作用することができる新規分子、還元型ニコチンアミドリボシド（ＮＲＨ）を開示する。ＮＲ分子のＮＲＨ分子への還元は、細胞内ＮＡＤ＋値を増加させる能力が非常に強力であるだけでなく、その細胞使用に関して選択性が異なってもいる。

【００４８】

本発明は、ＮＡＤ＋前駆体として機能することができる新しい分子、すなわちＮＲＨに関する。この還元型ＮＲは、ＮＡＤ＋の増加に関し無類の能力を示し、ニコチンアミドリボシド（ＮＲ）よりも強力及び即効性であるという利点を有する。ＮＲＨは、ＮＲＫとは独立して、ＮＲとは異なる経路を利用してＮＡＤ＋を合成する。本発明は、ＮＲＨが血漿中における分解に対して保護されており、経口投与後の循環において検出され得ることを実証する。本発明のこれらの利点は、その治療有効性を裏付ける。

【００４９】

本方法は、還元型ニコチンアミドリボシドを本質的に含む、又は還元型ニコチンアミドリボシドを含む有効量の組成物を、個体に投与する工程を含む。

【００５０】

本明細書に開示される組成物及び方法のそれぞれにおいて、組成物は、好ましくは、食品添加物、食品原材料、機能性食品、ダイエタリー・サプリメント、医療食品、栄養食品、経口栄養補助食品（ＯＮＳ）、又は栄養補助食品を含む食品製品又は飲料製品である。

【００５１】

組成物は、１週間に少なくとも１日、好ましくは１週間に少なくとも２日、より好ましくは１週間に少なくとも３日若しくは４日（例えば、１日おき）、最も好ましくは１週間に少なくとも５日、１週間に６日、又は１週間に７日、投与してよい。投与期間は、少なくとも１週間、好ましくは少なくとも１カ月間、より好ましくは少なくとも２カ月間、最も好ましくは少なくとも３カ月間、例えば、少なくとも４カ月間であり得る。いくつかの実施形態では、投与は、少なくとも毎日であり、例えば、対象は、１日当たり１回以上の投与、一実施形態では１日当たり複数回の投与を受け得る。いくつかの実施形態では、投与は、個体の残りの寿命にわたって継続される。別の実施形態では、投与は、医学的状態

について検出可能な症状がなくなるまで行われる。具体的な実施形態において、投与は、少なくとも１つの症状について検出可能な改善が見られるまで行われ、更なる場合においては、寛解を維持するために継続される。

【００５２】

本明細書に開示される組成物は、経腸的に、例えば経口的に、又は非経口的に対象に投与されてもよい。非経口投与の非限定的な例としては、静脈内、筋肉内、腹腔内、皮下、関節内、滑液嚢内、眼内、髄腔内、局所、及び吸入によるものが挙げられる。したがって、組成物の形態の非限定的な例としては、自然食品、加工食品、天然果汁、濃縮物及び抽出物、注射液、マイクロカプセル、ナノカプセル、リポソーム、硬膏、吸入形態、点鼻スプレー、点鼻液、点眼液、舌下錠、及び持続放出性製剤が挙げられる。

【００５３】

本明細書に開示される組成物には、治療目的での投与のための様々な製剤のいずれかを使用することができる。より詳細には、医薬組成物は、適切な薬学的に許容可能な担体又は希釈剤を含むことができ、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、軟膏剤、液剤、坐剤、注射剤、吸入剤、ゲル剤、マイクロスフェア、及びエアゾール剤などの固体、半固体、液体又は気体形態の製剤として処方され得る。したがって、組成物の投与は、経口、頬側、直腸内、非経口、腹腔内、皮内、経皮、及び気管内投与を含む様々な方法で達成することができる。活性薬剤は、投与後に全身性のものであってもよく、又は局所投与の使用、壁内投与の使用、若しくは埋め込み部位において有効用量を保持するように作用する埋入物（インプラント）の使用によって局在化させてもよい。

【００５４】

医薬剤形では、化合物は、薬学的に許容可能な塩として投与されてもよい。これらはまた、別の薬学的に活性な化合物と適切に関連させて使用してもよい。以下の方法及び添加物は、単なる例示であり、決して限定するものではない。

【００５５】

経口製剤では、化合物は、単独で使用することができ、又は、錠剤、散剤、顆粒剤若しくはカプセル剤を製造するための適切な添加剤と組み合わせて、例えば、乳糖、マンニトール、トウモロコシデンプン、若しくはバレイショデンプンなどの従来の添加剤と；結晶セルロース、セルロース機能性誘導体、アラビアゴム、トウモロコシデンプン又はゼラチンなどの結合剤と；トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、又はカルボキシメチルセルロースナトリウムなどの崩壊剤と；タルク又はステアリン酸マグネシウムなどの滑沢剤と；及び所望であれば、希釈剤、緩衝剤、湿潤剤、保存剤及び香味物質と組み合わせて、使用することができる。

【００５６】

化合物は、水性又は非水性溶剤中に、例えば、植物油若しくは他の類似の油、合成脂肪族酸グリセリド、高級脂肪族酸のエステル又はプロピレングリコールなどに、また所望であれば、可溶化剤、等張化剤、懸濁化剤、乳化剤、安定化剤、及び保存剤などの従来の添加剤と一緒に、溶解、懸濁又は乳化することによって、注射用の製剤として処方することができる。

【００５７】

化合物は、吸入により投与されるエアゾール製剤において利用することができる。例えば、化合物は、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、及び窒素などの加圧された許容可能な噴射剤中に配合することができる。

【００５８】

更に、化合物は、乳化基剤又は水溶性基剤などの様々な基剤と混合することによって坐剤として製造することができる。化合物は、坐剤によって直腸内に投与することができる。坐剤は、ココアバター、カーボワックス、及びポリエチレングリコールなどの、体温では融解するが室温では凝固するビヒクルを含むことができる。

【００５９】

シロップ剤、エリキシル剤、及び懸濁剤などの経口又は直腸内投与用の単位剤形が提供

されてもよく、各投与量単位、例えば、小さじ１杯、大さじ１杯、錠剤又は坐剤は、規定量の組成物を含有する。同様に、注射又は静脈内投与用の単位剤形は、滅菌水、生理食塩水又は別の薬学的に許容可能な担体による溶液としての組成物中に化合物を含んでもよく、各投与量単位、例えばｍＬ又はＬは、化合物のうちの１つ以上を含有する組成物を規定量含有する。

【００６０】

非ヒト動物を対象とする組成物としては、動物の必要栄養量を補給する食品組成物、動物用トリート（例えば、ビスケット）、及び／又はダイエタリー・サプリメントが挙げられる。組成物は、ドライ組成物（例えば、キブル）、セミモイスト組成物、ウェット組成物、又はそれらの任意の混合物であってよい。一実施形態では、組成物は、グレイビー、飲料水、飲料、ヨーグルト、粉末、顆粒、ペースト、懸濁液、噛むもの（ｃｈｅｗ）、一口で食べるもの（ｍｏｒｓｅｌ）、トリート、スナック、ペレット、丸薬、カプセル、錠剤、又は他の適切な送達形態のものなどのダイエタリー・サプリメントである。ダイエタリー・サプリメントは、高濃度のＵＦＡ及びＮＯＲＣと、ビタミンＢ類及び抗酸化物質とを含み得る。これにより、かかる栄養補助食品を動物に少量投与することが可能になり、あるいは動物に投与する前に希釈することができる。ダイエタリー・サプリメントは、動物に投与する前に、水又は他の希釈剤と混合する必要がある場合があり、又は混合することができる。

【００６１】

参照文献

Ｂｉｅｇａｎｏｗｓｋｉ，Ｐ．ａｎｄ Ｃ．Ｂｒｅｎｎｅｒ，２００４．Ｄｉｓｃｏｖｅｒｉｅｓ ｏｆ ｎｉｃｏｔｉｎａｍｉｄｅ ｒｉｂｏｓｉｄｅ ａｓ ａ ｎｕｔｒｉｅｎｔ ａｎｄ ｃｏｎｓｅｒｖｅｄ ＮＲＫ ｇｅｎｅｓ ｅｓｔａｂｌｉｓｈ ａ Ｐｒｅｉｓｓ－Ｈａｎｄｌｅｒ ｉｎｄｅｐｅｎｄｅｎｔ ｒｏｕｔｅ ｔｏ ＮＡＤ＋ ｉｎ ｆｕｎｇｉ ａｎｄ ｈｕｍａｎｓ．Ｃｅｌｌ．１１７（４）：４９５－５０２．

Ｃａｎｔｏ，Ｃ．，Ｋ．Ｊ．Ｍｅｎｚｉｅｓ，ａｎｄ Ｊ．Ａｕｗｅｒｘ，２０１５．ＮＡＤ（＋） Ｍｅｔａｂｏｌｉｓｍ ａｎｄ ｔｈｅ Ｃｏｎｔｒｏｌ ｏｆ Ｅｎｅｒｇｙ Ｈｏｍｅｏｓｔａｓｉｓ：Ａ Ｂａｌａｎｃｉｎｇ Ａｃｔ ｂｅｔｗｅｅｎ Ｍｉｔｏｃｈｏｎｄｒｉａ ａｎｄ ｔｈｅ Ｎｕｃｌｅｕｓ．Ｃｅｌｌ Ｍｅｔａｂ．２２（１）：３１－５３．

Ｃｈａｍｂｏｎ，Ｐ．，Ｊ．Ｄ．Ｗｅｉｌｌ，ａｎｄ Ｐ．Ｍａｎｄｅｌ，１９６３．Ｎｉｃｏｔｉｎａｍｉｄｅ ｍｏｎｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ ａｃｔｉｖａｔｉｏｎ ｏｆ ｎｅｗ ＤＮＡ－ｄｅｐｅｎｄｅｎｔ ｐｏｌｙａｄｅｎｙｌｉｃ ａｃｉｄ ｓｙｎｔｈｅｓｉｚｉｎｇ ｎｕｃｌｅａｒ ｅｎｚｙｍｅ．Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｂｉｏｐｈｙｓ Ｒｅｓ Ｃｏｍｍｕｎ．１１３９－４３．

Ｉｍａｉ，Ｓ．，Ｃ．Ｍ．Ａｒｍｓｔｒｏｎｇ，Ｍ．Ｋａｅｂｅｒｌｅｉｎ，ａｎｄ Ｌ．Ｇｕａｒｅｎｔｅ，２０００．Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔｉｏｎａｌ ｓｉｌｅｎｃｉｎｇ ａｎｄ ｌｏｎｇｅｖｉｔｙ ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｉｒ２ ｉｓ ａｎ ＮＡＤ－ｄｅｐｅｎｄｅｎｔ ｈｉｓｔｏｎｅ ｄｅａｃｅｔｙｌａｓｅ．Ｎａｔｕｒｅ．４０３（６７７１）：７９５－８００．

Ｌｅｅ，Ｈ．Ｃ．ａｎｄ Ｒ．Ａａｒｈｕｓ，１９９１．ＡＤＰ－ｒｉｂｏｓｙｌ ｃｙｃｌａｓｅ：ａｎ ｅｎｚｙｍｅ ｔｈａｔ ｃｙｃｌｉｚｅｓ ＮＡＤ＋ ｉｎｔｏ ａ ｃａｌｃｉｕｍ－ｍｏｂｉｌｉｚｉｎｇ ｍｅｔａｂｏｌｉｔｅ．Ｃｅｌｌ Ｒｅｇｕｌ．２（３）：２０３－９．

Ｍａｋａｒｏｖ，Ｍ．ａｎｄ Ｍ．Ｍｉｇａｕｄ，２０１９．Ｓｙｎｔｈｅｓｅｓ ａｎｄ ｃｈｅｍｉｃａｌ ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ ｏｆ β－ｎｉｃｏｔｉｎａｍｉｄｅ ｒｉｂｏｓｉｄｅ ａｎｄ ｉｔｓ ａｎａｌｏｇｕｅｓ ａｎｄ ｄｅｒｉｖａｔｉｖｅｓ．Ｂｅｉｌｓｔｅｉｎ Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．１５：４０１－４３０．

【図面の簡単な説明】

【００６２】

【図１】酸化（ＮＲ）型及び還元（ＮＲＨ）型のニコチンアミドリボシドの化学構造　１：１－ｂ－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミド塩　２：１，４－ジヒドロ－１－ｂ－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミド　３：１，２－ジヒドロ－１－ｂ－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミド　４：１，６－ジヒドロ－１－ｂ－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミド　Ｘ－：アニオン（例えば、トリフレート）

【図２】用量反応実験により、ＮＲＨは、ＮＲよりも有意にＮＡＤ＋を増加させ得ることが明らかになった。　１０μＭの濃度から開始し、ＮＲＨは、５０倍高濃度のＮＲで達したものと同様の細胞内ＮＡＤ＋値の増加を達成した。ＮＲＨは、およそミリモルの範囲でＮＡＤ＋合成に対する最大効果を達成し、細胞内ＮＡＤ＋値を１０倍超増加させるよう作用した。

【図３】ＮＲＨは、処理から５分後以降に速やかに作用する。ＮＲＨでの処理後５分以内にＮＡＤ＋値の有意な増加が観察されたことから、ＮＲＨの作用も非常に速かった。ＮＡＤ＋の最高値は、処理後４５分～１時間で達成された。

【図４】ＮＲＨは、アデノシンキナーゼ依存経路を介してＮＡＤ＋生合成をもたらす。ＡＭＬ１２細胞をアデノシンキナーゼ阻害剤（５－ＩＴ；１０ｍＭ）で１時間処理した後、記載の用量でＮＲＨ処理した。次に、１時間後に酸抽出物を得てＮＡＤ＋値を測定した。図中の全ての値は、３回の独立した実験の平均＋／－ＳＥＭとして表す。＊は、それぞれのビヒクル処理群に対するｐ＜０．０５での統計的差異を示す。

【図５】ＮＲＨは、マウスにおける経口活性ＮＡＤ＋前駆体である。８週齢のＣ５７Ｂｌ／６ＮＴａｃマウスに、生理食塩水（ビヒクルとして）、ＮＲ（５００ｍｇ／ｋｇ）、又はＮＲＨ（５００ｍｇ／ｋｇ）のいずれかを経口投与した。１時間後、肝臓、骨格筋、腎臓のＮＡＤ＋値を評価した。全ての結果は、グループ当たりｎ＝５マウスの平均＋／－ＳＥＭとして表す。＊は、生理食塩水で処理したマウスに対するｐ＜０．０５での統計的差異を示す。＃は、ＮＲで処理したマウスに対するｐ＜０．０５での統計的差異を示す。

【図６】ＮＲＨは、投与後のマウス組織においてインタクトであることが判明している。８週齢のＣ５７ＢＬ／６ＮＴａｃマウスに、生理食塩水（ビヒクルとして）、及びＮＲＨ（２５０ｍｇ／ｋｇ）のいずれかを経口投与した。２時間後、肝臓、骨格筋、腎臓のＮＲＨ値を評価した。全ての結果は、組織の総タンパク質量で補正したＬＣ－ＭＳ分析によるシグナル下面積として、１群当たりｎ＝４のマウスの平均＋／－ＳＥＭで表す。

【図７】ＮＲＨは、肝臓のミトコンドリアＮＡＤ＋を増加させる。　ＮＲ、ＮＲＨ及びＮＡＭは全て肝臓内のＮＡＤ＋を増加させるが、ＮＲＨのみがミトコンドリアＮＡＤ＋値を増加させる。全ての結果は、グループ当たりｎ＝４である被験動物の平均＋／－ＳＥＭである。＊は、対照／ビヒクル群に対するｐ＜０．０５での統計的差異を示す。

【実施例】

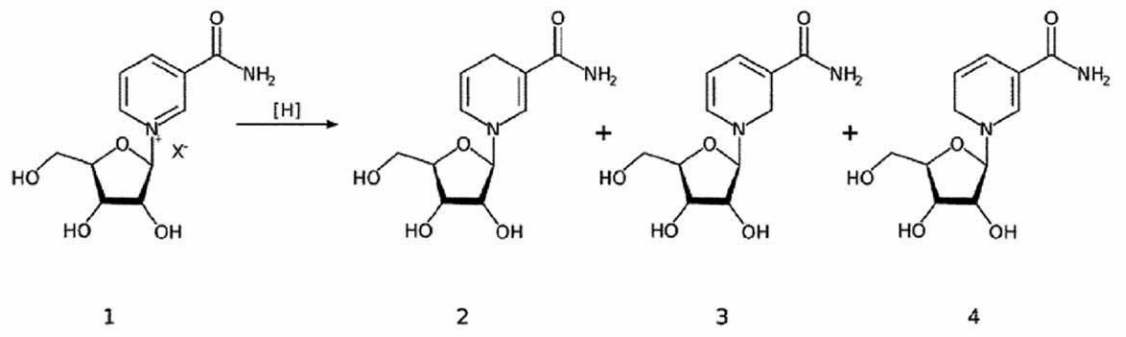
【００６３】

実施例１：還元型ニコチンアミドリボシド（ＮＲＨ）の合成

還元型ニコチンアミドリボシド（ＮＲＨ）は、以下に示すように、ピリジニウム塩（例えば、トリフレート）をジヒドロピリジン（１，２－ジヒドロピリジン、１，４－ジヒドロピリジン、及び１，６－ジヒドロピリジン）に還元することにより、ＮＲ（１）から得た。

【００６４】

【化１】



１：１－ｂ－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミド塩
２：１，４－ジヒドロ－１－β－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミド
３：１，２－ジヒドロ－１－β－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミド
４：１，６－ジヒドロ－１－β－Ｄ－リボフラノシル－３－ピリジンカルボキサミド
Ｘ－：アニオン（例えば、トリフレート）

【００６５】

水素化ホウ素ナトリウム（ＮａＢＨ４）及び亜ジチオン酸ナトリウム（Ｎａ２Ｓ２Ｏ４）を、Ｎ－置換ピリジニウム誘導体の還元剤として使用した。還元剤の位置選択性は異なり、１つのジヒドロピリジンのみ、又は３つの異性体全ての異なる割合（２，３，４）での混合物のいずれかになる。

【００６６】

３位及び５位に電子求引性置換基を有するピリジニウム塩のジチオネート還元により、ほぼ独占的に１，４－ジヒドロピリジン生成物が得られた。酸性媒体中での還元生成物の不安定性のために、還元は温和な条件（例えば、重炭酸ナトリウム水溶液又はリン酸水素カリウム水溶液の二塩基性媒体中で）で行われた。還元を行うために、リボフラノース部分中のヒドロキシル基をベンジルル置換基又はアセチル置換基のいずれかで保護した。還元後に、ボールミル条件下で水酸化ナトリウムメタノール溶液により脱保護した。

【００６７】

実施例２：生体サンプル中のＮＲＨ及び他のＮＡＤ＋関連代謝産物の測定

メタノール：水：クロロホルムが５：３：５（ｖ／ｖ）である混合物を使用した冷温液－液抽出（ｃｏｌｄ　ｌｉｑｕｉｄ－ｌｉｑｕｉｄ　ｅｘｔｒａｃｔｉｏｎ）を用いることで、生体サンプル中のＮＲＨ及び他のＮＡＤ関連代謝産物の値を取得し、そこから、親水性相互作用超高速液体クロマトグラフィー質量分析（ｕｌｔｒａ－ｈｉｇｈ　ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ　ｌｉｑｕｉｄ　ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒａｐｈｙ　ｍａｓｓ　ｓｐｅｃｔｒｏｍｅｔｒｙ、ＵＨＰＬＣ－ＭＳ）の分析用に極性相を回収した。ＵＨＰＬＣは、バイナリポンプ、冷却オートサンプラ、及びカラムオーブン（ＤＩＯＮＥＸ　Ｕｌｔｉｍａｔｅ　３０００　ＵＨＰＬＣ　＋　Ｆｏｃｕｓｅｄ、Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）で構成し、加熱エレクトロスプレーイオン化（Ｈ－ＥＳＩ）ソースを備えたトリプル四重極分光計（ＴＳＱ　Ｖａｎｔａｇｅ、Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）に接続した。各サンプルのうち２μＬを、３５℃で操作するプレカラム（２．１ｍｍ×２０ｍｍ、２００Å　ＨＩＬＩＣＯＮ　ｉＨＩＬＩＣ（登録商標）Ｆｕｓｉｏｎ（Ｐ）Ｇｕａｒｄ　Ｋｉｔ）によって保護した分析カラム（２．１ｍｍ×１５０ｍｍ、５μｍ孔径、２００Å　ＨＩＬＩＣＯＮ　ｉＨＩＬＩＣ（登録商標）－Ｆｕｓｉｏｎ（Ｐ））に注入した。移動相（ｐＨ９の１０ｍＭ酢酸アンモニウム、Ａ、及びアセトニトリル、Ｂ）を、有機溶媒を減少させる直線勾配（０．５～１６分、９０～２５％Ｂ）で０．２５ｍＬ／分の流速で送液し、その後、合計実行時間３０分の再平衡化を行った。ＭＳは、多重反応モニタリング（ｍｕｌｔｉｐｌｅ　ｒｅａｃｔｉｏｎ　ｍｏｎｉｔｏｒｉｎｇ、ＭＲＭ）を用いて３５００Ｖのポジティブモードで作動させた。機器の制御、データの取得、及び処理にはソフトウェアＸｃａｌｉｂｕｒ　ｖ４．１．３１．９（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）

を使用した。保持時間及び質量の検出は、標準物質（ａｕｔｈｅｎｔｉｃ　ｓｔａｎｄａｒｄｓ）によって確認した。

【００６８】

生体試験に使用したＮＲＨの構造の確認は核磁気共鳴（ＮＭＲ）によって行った。

【００６９】

実施例３：ＮＲＨは強力なＮＡＤ＋前駆体である

ＡＭＬ１２肝細胞をＮＲＨで処理したところ、細胞内ＮＡＤ＋を増加させるＮＲＨの能力はＮＲの能力よりも優れていることが観察された。

【００７０】

用量反応実験により、ＮＲＨは、１０μＭの濃度でＮＡＤ＋値を有意に増加させ得ることが明らかになった（図２）。このような比較的低用量でさえ、ＮＲＨは、５０倍高濃度のＮＲで達したものと同様の細胞内ＮＡＤ＋値の増加を達成した。ＮＲＨは、およそミリモルの範囲でＮＡＤ＋合成に対する最大効果を達成し、細胞内ＮＡＤ＋値を１０倍超増加させるよう作用した。

【００７１】

ＮＲＨでの処理後５分以内にＮＡＤ＋値の有意な増加が観察されたことから、ＮＲＨの作用も非常に速かった（図３）。ＮＡＤ＋の最高値は、ＮＲと同様、処理後４５分～１時間で達成された。

【００７２】

ＮＲＨがＮＡＤ＋を強力に増加させる能力を、他の細胞型モデルにおいても同様に試験した。ＮＲＨ処理は、Ｃ２Ｃ１２筋管、ＩＮＳ１細胞、及び３Ｔ３線維芽細胞のＮＡＤ＋値を大幅に上昇させ、ＮＲＨ代謝が様々なタイプの細胞間で広く保存されているという考えを裏付けた。

【００７３】

実施例４：ＮＲＨにより誘導されるＮＡＤ＋合成の経路

この経路では、ＮＲＨがＮＭＮＨに変換され、次にＮＡＤＨに変換され、最終的にＮＡＤ＋に酸化される。したがって、ＮＲＨ及びＮＭＮＨは、ＮＲＨ処理の５分後以降に細胞内で検出され得るが、ＮＲ処理では検出されない。興味深いことに、ＮＲＨ処理は、細胞内ＮＲ及びＮＭＮの増加にもつながり、ＮＲ自体によって引き起こされるものよりも大きくなり、ＮＲＨがＮＲに酸化され、正規のＮＲＫ／ＮＭＮＡＴ経路を使用してＮＡＤ＋を合成できる可能性を開く。

【００７４】

ＮＲＨがＮＡＤ＋を合成する正確な経路を理解するために、最初に、ＮＲＨが平衡型ヌクレオシドトランスポーター（ＥＮＴ）によって細胞内に輸送され得るかを評価した。この可能性を確認したところ、ＮＲＨは、Ｓ－（４－ニトロベンジル）－６－チオイノシン（ＮＢＴＩ）などのＥＮＴ介在性輸送を遮断する試剤の存在下で、細胞外ＮＡＤ＋前駆体としての能力が大幅に低下した。それにもかかわらず、ＥＮＴの遮断後もＮＲＨの実質的な作用が残っていたことから、ＮＲＨが他のトランスポーターを介して細胞内に移動できる可能性があることが示唆された。

【００７５】

ＮＲＨの作用は、ＮＡＭＰＴ阻害剤であるＦＫ８６６を使用した実験ではＮＡＭＰＴに依存しなかった。ＮＲＨがＮＭＮＨの形成を介してＮＡＤ＋合成を生じさせた場合、この仮定経路ではＮＲＨのＮＭＮＨへのリン酸化が必要になる。ＮＲリン酸化におけるＮＲＫ１の本質的で律速的な働きから、本発明者らは、ＮＡＤ＋値を高めるＮＲＨの能力はＮＲＫ１に依存するものであるのかという疑問を持った。この疑問を解消するために、本発明者らは、対照マウス又はＮＲＫ１ノックアウト（ＮＲＫ１ＫＯ）マウスのいずれかに由来する初代肝細胞においてＮＲＨの作用を評価した。１時間の処理後、ＮＲはＮＲＫ１ＫＯ由来の初代肝細胞のＮＡＤ＋値を増加させることはできず、ＮＲＨの作用はＮＲＫ１の欠乏による影響を受けなかった。これらの結果は、ＮＲＨの作用がＮＲＫ１に依存しないことを示している。更に、ＮＲＨにより誘導されたＮＡＤ＋輸送がＮＲＨのＮＲへの酸化に

よって駆動される可能性を除外する。

【００７６】

ＮＲＨの分子構造を考慮して、本発明者らは、代替となるヌクレオシドキナーゼがＮＲＨのリン酸化に関与している可能性があると考えた。この予想を確認したところ、アデノシンキナーゼ（ＡＫ）阻害剤５－ヨードツベルシジン（５－ＩＴ）は、ＮＲＨの作用を完全に取り除いた。ＮＲＨ介在性ＮＡＤ＋合成におけるＡＫの役割は、２種類目の構造的に異なるＡＫ阻害剤としてＢＴ－７０２を使用して確認した。ＡＫが阻害されると、ＮＲＨが効果的に細胞内に移動したとしてもＮＭＮＨ、ＮＡＤＨ、及びＮＡＤ＋の生成が完全に鈍化することがメタボロミクス分析により更に確認された。興味深いことに、５－ＩＴ処理は、ＮＲＨ処理後のＮＲ及びＮＭＮの生成も防止した。

【００７７】

この防止は、ＮＲＨ処理後のＮＲの生成は、ＮＲＨのＮＲへの細胞内酸化に単純に起因するものではないことを示す。全体として、これらの実験は、ＮＲＨのＮＭＮＨへの変換を触媒することによりＮＡＤ＋への変換を開始する酵素活性からアデノシンキナーゼを説明する。

【００７８】

フォローアップ工程として、ＮＭＮＡＴ酵素はＮＭＮＨからＮＡＤＨへの変換を触媒する可能性がある。したがって、ＮＭＮＡＴ阻害剤としてガロタンニンを使用すると、ＮＲＨ処理後のＮＡＤ＋合成が大きく低下した。更に、ＮＲＨを最大用量で使用した場合、ＮＲＨの作用の一部は、ガロタンニン処理後に残存した。しかしながら、ＮＲＨの作用は、最大用量以下のガロタンニンによって完全に遮断されるため、０．５ｍＭで残存している効果はガロタンニンによるＮＭＮＡＴ活性の阻害が不完全であることに起因する可能性があることを示唆している。同様に、これらの結果は、アデノシンキナーゼ及びＮＭＮＡＴが、ＮＲＨがＮＡＤＨを介してＮＡＤ＋合成をもたらす経路を脊椎動物化することを示す。

【００７９】

実施例５：ＩＰ注射後の循環血液中にＮＲＨを検出可能である

ＮＡＭへのＮＲの分解は、当該分子の薬理学的有効性の制限になるものと考えられてきた。ＮＲＨもＮＡＭへの分解を受けやすいかを評価するために、単離したマウス血漿にＮＲＨ又はＮＲを添加した。２時間のインキュベート後、ＮＡＭ値の増加と並行して血漿中のＮＲ値が低下した。対照的に、値が２時間のテスト中に一定を保ったことから、ＮＡＭはＮＲＨからは生成されなかった。また、他のマトリックスでＮＲＨの安定性を試験した。培養細胞での以前の実験を踏まえて、本発明者らは、ＮＲの場合に生じるように、ＮＲＨがＦＢＳ添加培地でＮＡＭに分解されないことを確認した。最後に、本発明者らは、水中（ｐＨ＝７、室温）で４８時間のＮＲＨ安定性も証明した。

【００８０】

上記の結果により、本発明者らはＮＲＨがｉｎ　ｖｉｖｏで効果的なＮＡＤ＋前駆体として作用できるかを試験する動機を得た。そのため、本発明者らは、まずはＮＲ又はＮＲＨ（５００ｍｇ／ｋｇ）のいずれかをマウスに腹腔内（ＩＰ）注射した。１時間後、いずれの化合物も肝臓（図５）、筋肉、腎臓のＮＡＤ＋値を増加させた。予想通り、ＮＡＭ値はＮＲ投与時に循環血液において大きく増加したが、ＮＲＨでは非常に穏やかな増加しか観察されなかった。重要なことに、ＮＲＨはＩＰ注射後に循環血液中に検出された。

【００８１】

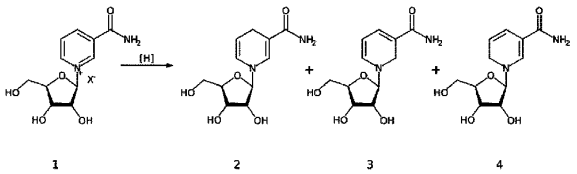
驚いたことに、ＮＲは、ＮＲＨ処理後に、ＮＲ注射そのものの後に検出された値よりもはるかに高い値で循環血液中に検出された。単離血漿におけるＮＲＨインキュベートがＮＲ生成を生じさせなかったことを考えると、ＮＲの出現は、細胞内産生と循環血液への放出の結果によるものである可能性がある。同様に、単離血漿においてＮＲＨをインキュベートしたときにはＮＡＭ値が有意には変化しなかったことから、ＮＲＨ処理後に残存ＮＡＭが出現するのは、放出されたＮＲの分解によって、又はＮＡＤ＋の分解産物としての細胞内ＮＡＭの放出によって説明される可能性がある。

【００８２】
実施例６：ＮＲＨは生物学的に利用可能なＮＡＤ＋前駆体の経口投与後に検出可能であり血漿中での直接分解を克服する
ＮＲＨの経口投与は、ＩＰ投与後に観察された結果と非常に類似した結果をもたらした。まず、ＮＲＨは肝臓のＮＡＤ＋値に対してＮＲよりも強力な効果を有した。ＮＲＨは、経口投与の１時間後に血漿中に検出された。対照的に、ＮＲ値は、ＮＲ投与後１時間では検出できなかった。予想通り、ＮＲ処理は循環血液中のＮＡＭの大幅な増加をもたらし、この増加はＮＲＨ処理後に観察されたものよりも約４倍大きかった。定量的測定により、強制経口投与後、血漿中のＮＲＨ濃度は１１．１６±１．７４マイクロモルに達し、ＮＡＤ＋合成を効果的に促進するのに十分であることが明らかになった。これらの結果は、ＮＲＨが、血漿中でのＮＡＭへの直接分解を克服する、強力であり経口で生物学的に利用可能なＮＡＤ＋前駆体であることを示す。
【００８３】
実施例７：ＮＲＨは、経口投与後、肝臓、腎臓、及び筋肉にインタクトで見られる
ＮＲＨは循環血液中に見られるだけでなく、強制投与の２時間後にマウスの肝臓、腎臓、筋肉でもインタクトで高レベルで見られた（図６）。この結果は、ＮＲＨの経口投与により標的組織における効率的な生体内分布が可能であることを示す。
【００８４】
図８：ＮＲＨは、肝臓のミトコンドリアＮＡＤ＋を増加させる。
【００８５】
１０週齢のメスのマウスを２時間絶食させた後、対照／ビヒクルとしての生理食塩水、ニコチンアミドリボシド（ＮＲ；５００ｍｇ／ｋｇ）、又は等モル量のジヒドロニコチンアミドリボシド（ＮＲＨ）若しくはニコチンアミド（ＮＡＭ）を腹腔内注射（ＩＰ）した。次いで、１時間後にマウスを安楽死させ、肝臓の一部を瞬間凍結した。一方で残りの部分は、公開されている手順（Ｆｒｅｚｚａ　ｅｔ　ａｌ．，２００７；Ｎａｔｕｒｅ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ）に従ってミトコンドリアの単離に使用した。瞬間凍結した肝臓の一部を秤量し、酸性抽出を行い、酵素法によりＮＡＤ＋値を評価した。単離したミトコンドリアに関してタンパク質を定量し、２００マイクログラムのタンパク質を、酸性抽出及び酵素法によるＮＡＤ＋測定に使用した。図７は、ＮＲ、ＮＲＨ及びＮＡＭは全て肝臓内のＮＡＤ＋を増加させるが、ＮＲＨのみがミトコンドリアＮＡＤ＋値を増加させることを示している。全ての結果は、グループ当たりｎ＝４である被験動物の平均＋／－ＳＥＭである。＊は、対照／ビヒクル群に対するｐ＜０．０５での統計的差異を示す。

【図面】

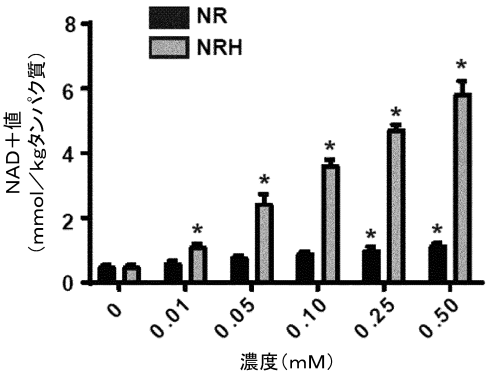
【図１】

Figure 1



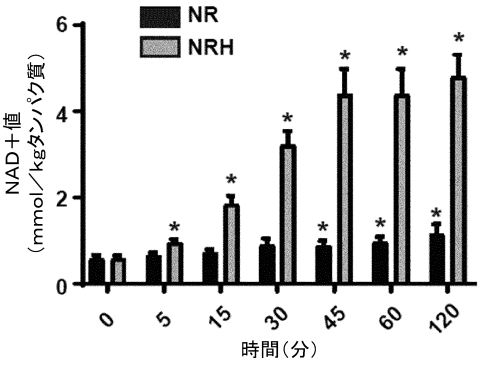
【図２】

Figure 2



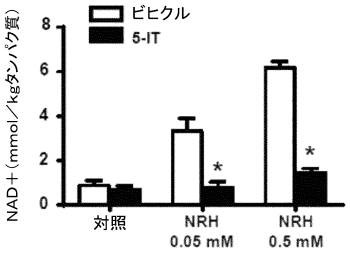
【図３】

Figure 3



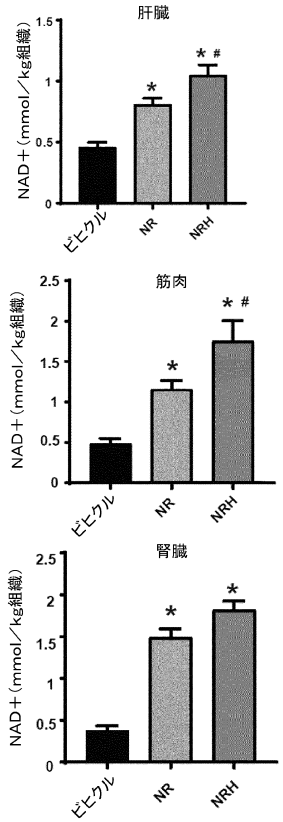
【図４】

Figure 4



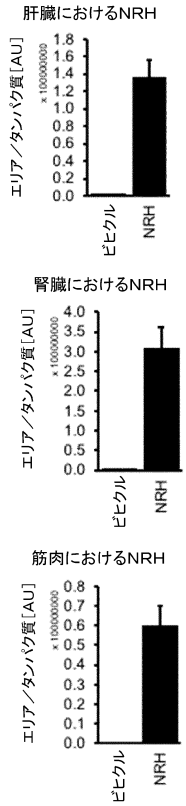
【図５】

Figure 5



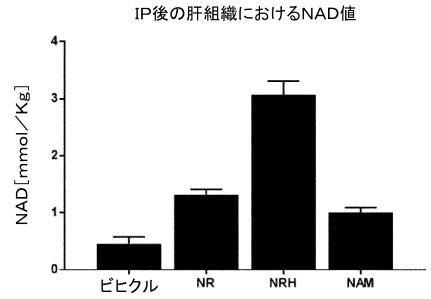
【図６】

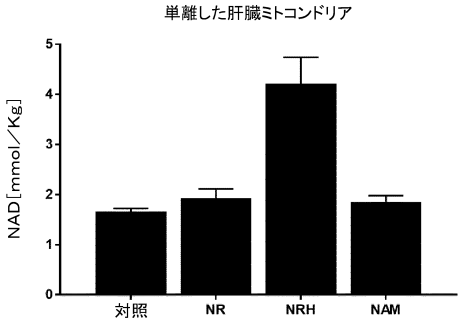
Figure 6



【図７】

Figure 7


IP後の肝組織におけるNAD値
NAD[mmol／Kg]
0
1
2
3
4
ビヒクル
NR
NRH
NAM


単離した肝臓ミトコンドリア
NAD[mmol／Kg]
0
1
2
3
4
5
対照
NR
NRH
NAM

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2020/065335

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K31/706 A61P1/16 A61P31/22 A61P43/00 A23L2/00
A23L2/52
ADD.
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2015/186114 A1 (GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL PROPERTY NO) 10 December 2015 (2015-12-10) abstract page 4, line 12 - page 10, line 19 page 50, line 26 - page 51, line 7 page 52, line 28 - line 30 page 75, line 5 page 84, line 23 - line 26 page 91, line 1 - line 2 examples 23-25,27-30 claims 1-51 ----- -/--	1-18

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

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
30 July 2020	07/08/2020

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Taylor, Mark

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2020/065335

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2017/184885 A1 (CHROMADEX INC [US]) 26 October 2017 (2017-10-26) abstract paragraph [0002] paragraph [0034] paragraph [0045] - paragraph [0046] paragraph [0116] paragraph [0121] paragraph [0138] paragraph [0165] - paragraph [0176] examples 1-9	1-18
X	WO 2018/236814 A2 (GANAPATI GANGADHARA [US]; ARVIND ATIGNAL SHANKARA RAO [IN]) 27 December 2018 (2018-12-27) abstract page 3, line 1 - line 9 page 16, line 16 - line 29 page 36, line 6 - line 18 page 37, line 2 - line 8 page 38, line 23 - line 25 examples 1-9 claims 1-83	1-18
A	MIKHAIL V MAKAROV ET AL: "Syntheses and chemical properties of [beta]-nicotinamide riboside and its analogues and derivatives", BEILSTEIN JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, vol. 15, 13 February 2019 (2019-02-13), pages 401-430, XP055638913, GB ISSN: 1860-5397, DOI: doi:10.3762/bjoc.15.36 Section 3.3 figures 5,6,8 Scheme 16	1-18
T	JUDITH GIROUD-GERBETANT ET AL: "A reduced form of nicotinamide riboside defines a new path for NAD+ biosynthesis and acts as an orally bioavailable NAD+ precursor", MOLECULAR METABOLISM, vol. 30, 3 October 2019 (2019-10-03), pages 192-202, XP055638821, ISSN: 2212-8778, DOI: https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.09.013 the whole document	1-18

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2020/065335

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2015186114 A1	10-12-2015	AU 2015270090 A1	22-12-2016
		BR 112016028672 A2	22-08-2017
		CA 2951287 A1	10-12-2015
		CN 106715455 A	24-05-2017
		EP 3152220 A1	12-04-2017
		JP 6559713 B2	14-08-2019
		JP 2017516833 A	22-06-2017
		KR 20170008320 A	23-01-2017
		US 2017189433 A1	06-07-2017
		WO 2015186114 A1	10-12-2015
WO 2017184885 A1	26-10-2017	AU 2017254657 A1	15-11-2018
		BR 112018071573 A2	12-02-2019
		CA 3021571 A1	26-10-2017
		CN 109640984 A	16-04-2019
		EP 3445359 A1	27-02-2019
		JP 2019514874 A	06-06-2019
		KR 20190008246 A	23-01-2019
		US 2017304338 A1	26-10-2017
		WO 2017184885 A1	26-10-2017
		ZA 201807736 B	27-05-2020
WO 2018236814 A2	27-12-2018	EP 3642214 A2	29-04-2020
		SG 11201912267S A	30-01-2020
		US 2018362570 A1	20-12-2018
		WO 2018236814 A2	27-12-2018

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
A61P 31/22 (2006.01)		A61P	31/22		
A61P 3/00 (2006.01)		A61P	3/00		
A23L 33/10 (2016.01)		A61P	3/00	171	
		A23L	33/10		

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

シュマン デ ウーシュ ６

(72)発明者 クリステン， ステファン
スイス連邦， １０２４ エキュブラン， シュマン ド ラ シエサ １５

(72)発明者 ジネール， マリア ピラール
スイス連邦， シーエイチ‐１０９９ プリ， シュマン ド パリン ５

(72)発明者 ジルー‐ジェルベタン， ジュディス
スペイン王国， カタルーニャ， イグアラダ ０８７００， アベニーダ アンドラ エヌ ８ １イーアール １アールエー

(72)発明者 モコ， ソフィア
スイス連邦， １００３ ローザンヌ， ルー デュ プチ‐サン‐ジャン １

(72)発明者 ミガード， マリー
アメリカ合衆国， アラバマ州， モバイル， デメトロポリス ロード ２６０５

Ｆターム（参考） 4B018 LB08 LB10 MD18 ME14 MF14
4C057 BB02 DD01 LL03 LL41
4C086 AA01 AA02 EA16 NA14 ZA75 ZB33 ZC21