

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7607935号

(P7607935)

(45)発行日 令和7年1月6日(2025.1.6)

(24)登録日 令和6年12月20日(2024.12.20)

(51)国際特許分類

F I

C 0 8 B 37/16 (2006.01)

C 0 8 B 37/16

A 6 1 K 31/724 (2006.01)

A 6 1 K 31/724

A 6 1 P 9/10 (2006.01)

A 6 1 P 9/10

A 6 1 P 9/04 (2006.01)

A 6 1 P 9/04

A 6 1 P 25/28 (2006.01)

A 6 1 P 25/28

請求項の数 24 (全154頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2021-539154(P2021-539154)

(86)(22)出願日 令和2年1月3日(2020.1.3)

(65)公表番号 特表2022-518147(P2022-518147
A)

(43)公表日 令和4年3月14日(2022.3.14)

(86)国際出願番号 PCT/US2020/012225

(87)国際公開番号 WO2020/142716

(87)国際公開日 令和2年7月9日(2020.7.9)

審査請求日 令和4年12月22日(2022.12.22)

(31)優先権主張番号 62/787,869

(32)優先日 平成31年1月3日(2019.1.3)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/850,334

(32)優先日 令和1年5月20日(2019.5.20)

最終頁に続く

(73)特許権者 523007878

サイクラリティ・セラピューティクス・

インコーポレイテッド

CYCLARITY THERAPEU

TICS, INC.

アメリカ合衆国94945カリフォルニ

ア州ノバト、レッドウッド・ブルバー

ド8001

(74)代理人 100145403

弁理士 山尾 憲人

(74)代理人 100150500

弁理士 森本 靖

(74)代理人 100176474

弁理士 秋山 信彦

(72)発明者 オコナー, マシュー エス

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 シクロデキストリン二量体、それらの組成物、及びそれらの使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の構造：

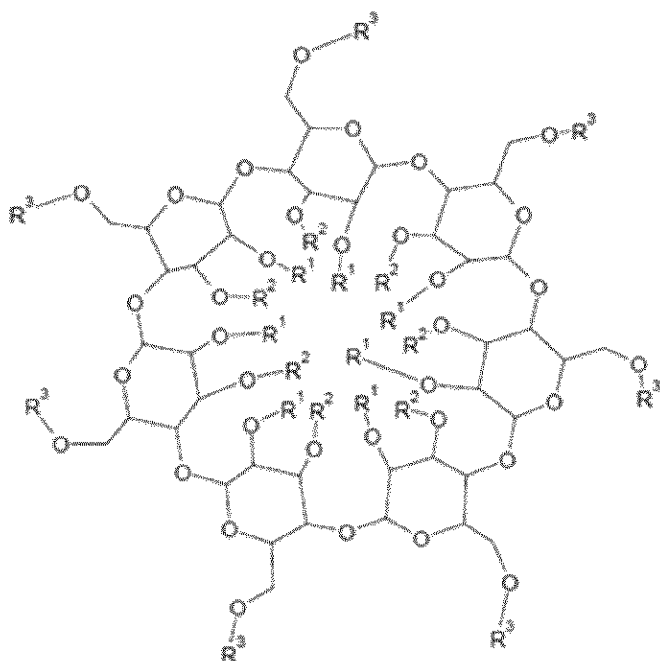
C D - L - C D

を有するシクロデキストリン(CD)二量体であって、

式中、リンカー(L)は、各CD分子の大面(下底)と連結しており、各CDの前記リンカーとの前記連結は、独立して、各CDサブユニットのC2またはC3炭素と連結したO、S、またはNを通じたものであるか、あるいは前記CDサブユニットの2個の隣接酸素に結合したアセタールを通じたものであり；

式中、各CDは、式Xの構造を有し：

【化 1】



(式 X)

式中、L は、1～20 個の原子の長さを有し、前記 1～20 個の原子はそれぞれ、C、N、O、または S であり；

式中、R¹、R²、および R³ はそれぞれ、独立して、H、メチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、第四級アンモニウム、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$ 、マルトシル、カルボキシメチル、パルミトイル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、アルキル、低級アルキル、アルキレン、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルコキシアルキル、アルコキシアルコキシアルキル、アルキルカルボニルオキシアルキル、アルキルカルボニル、アルキルスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、アルキルアミノ、アルコシアミノ、アルキルスルファニル、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキルアミノアルキル、ジアルキルアミノアルキル、アミノアルキル、アミノアルコキシ、アルキルスルホニルアミド、アミノカルボニルオキシアルキル、アミノスルホニル、アンモニウム、アンモニア、アルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキニルアルコキシ、アリーール、アリーールアルキル、アリーールスルホニル、アリーールオキシ、アラキルオキシ、アジド、ブromo、クロロ、シアノアルキル、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキルアルキル、シクロアルキレン、シクロアルキルアルキレン、デオキシ、グルコシル、ヘテロアルキル、ヘテロアリーール、ヘテロアリーールアルキル、ヘテロアリーールスルホニル、ヘテロアリーールオキシ、ヘテロアラキルオキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ハロゲン、ハロアルキル、ハロアルコキシ、ヘテロシクロアミノ、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロシクリルオキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ヒドロキシアルコキシ、ヒドロキシアルキルアミノ、ヒドロキシアルキルアミノアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキルオキシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシシクロアルキル、ヨード、ウレイド、カルバマート、カルボキシ、スルファート、スルフリル、スルホンアミド、ニトロ、ニトリト、シアノ、ホスファート、ホスホリル、フェノキシ、アセチル基、脂肪酸、パルミトイル、単糖、または二糖から選択され、ただし、前記 R¹、R²、および R³ 基のうち 1～40 は、H ではなく、任意選択で、前記 R¹、R²、および R³ 基のうち 1～28 は、H ではなく、任意選択で、前記 R¹、R²、および R³ 基のうち 2～15 または 4～20 は、H ではなく；ならびに、任意選択で、前記 C D 単

量体は、1つまたは複数の追加の置換基を有し；
 式中、CD二量体は、1～40の平均置換度を有し；および
 式中、CD二量体は、28個以下のメチル基を含む、
 前記シクロデキストリン二量体。

【請求項2】

請求項1に記載のシクロデキストリン二量体であって、
 (式X)中、

(a) R^1 、 R^2 、および R^3 はそれぞれ、独立して、H、メチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、マルトシル、カルボキシメチル、第四級アンモニウム、 $-CH_2CH(OH)CH_2N(CH_3)_3^+$ 、グルコシル、パルミトイル、ホスファート、ホスホリル、アミノ、アジド、スルファート、スルフリル、アルキル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、ブromo、クロロから選択される；または

(b) R^1 、 R^2 、および R^3 はそれぞれ、独立して、H、メチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、マルトシル、カルボキシメチル、第四級アンモニウム、 $-CH_2CH(OH)CH_2N(CH_3)_3^+$ から選択される；および

(c) CD二量体は、1～28のヒドロキシプロピル(HP)基、2～15のHP基または4～20のHP基、または2～5のHP基でHP置換されている；

(d) CD二量体は、1～20のメチル(Me)基、2～15のMe基または2～10のMe基でMe置換されている；

(e) CD二量体は、1～28のスルホブチル基、1～14のスルホブチル基、任意選択で2～10のスルホブチル基、または2～5のスルホブチル基でスルホブチル置換されている；

(f) CD二量体は、1～28のスクシニル基、任意選択で2～15のスクシニル基または4～20のスクシニル基、または2～5のスクシニル基でスクシニル置換されている；または

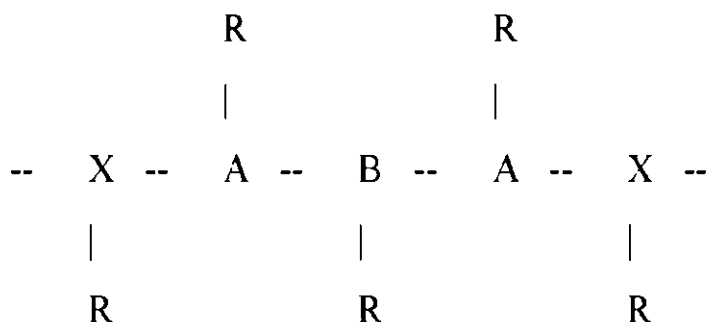
(g) CD二量体は、1～28の第四級アンモニウム基、2～15の第四級アンモニウム基、4～20の第四級アンモニウム基、または2～5の第四級アンモニウム基で第四級アンモニウム置換されており、前記第四級アンモニウム基は、 $-CH_2CH(OH)CH_2N(CH_3)_3^+$ を含む、

前記シクロデキストリン二量体。

【請求項3】

Lは、以下の構造：

【化2】



を有し、

各Rは、独立して、H、X、SH、NH、NH₂、またはOHから選択されるか、あるいは存在せず；

各Xは、置換または無置換のアルカン、アルケン、もしくはアルキンであり；

各Aは、独立して、単結合、二重結合、もしくは三重結合の共有結合、S、N、NH、O、あるいは置換または無置換のアルカン、アルケン、もしくはアルキンから選択され；

Bは、置換または無置換の五員もしくは六員環、S、N、NH、NR、Oであるか、あるいは存在しない；および／または
 リンカーの長さは、2～7個の原子、3～6個の原子、4～7個の原子、4～6個の原子、4～5個の原子、4、3または2個の原子である、
 請求項1または2に記載のシクロデキストリン二量体。

【請求項4】

前記リンカーの長さは、4である、請求項1から3のいずれか1項に記載のシクロデキストリン二量体。

【請求項5】

前記リンカーは、無置換のアルキルである、請求項1から3のいずれか1項に記載のシクロデキストリン二量体。

【請求項6】

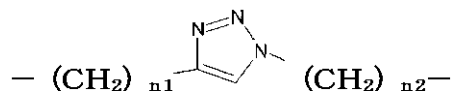
前記リンカーは、置換または無置換のブチルリンカーである、請求項1から3のいずれか1項に記載のシクロデキストリン二量体。

【請求項7】

(a) 前記リンカーは、トリアゾールを含む；

(b) 前記リンカーは、式：

【化3】



(式XI)の構造を含み、式中、 $n1$ および $n2$ はそれぞれ、1～8、または1～4であり、あるいは式中、 $n1$ は1であり、および $n2$ は3である；または

(c) 前記リンカーは、式A-W：

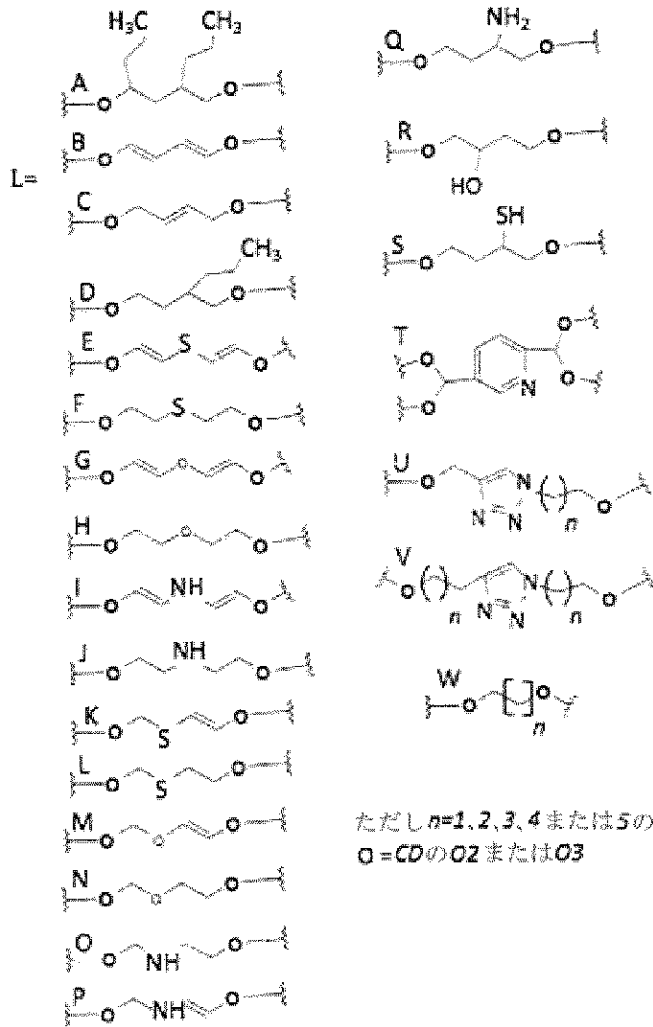
10

20

30

40

50



10

20

30

のいずれかを含み、式中、 n は 1、2、3、4 または 5 個の炭素であり、式中、各リンカーの各末端に描かれた酸素原子は、前記リンカーが連結した前記シクロデキストリン単量体の一部を形成している、

請求項 1 から 6 のいずれか 1 項に記載のシクロデキストリン二量体。

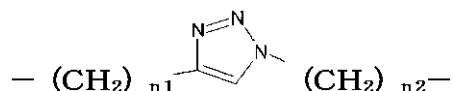
【請求項 8】

請求項 1 に記載のシクロデキストリン二量体であって、

(式 X) 中、

(a) 前記リンカーは、式：

【化 4】



40

(式 XI) の構造を含み、式中、 $n1$ および $n2$ はそれぞれ、1～8、または 1～4 であり、あるいは式中、 $n1$ は 1 であり、および $n2$ は 3 である；または式中、リンカーの長さは、4～7 個の原子、4～6 個の原子、または 4～5 個の原子である；

(b) R^1 、 R^2 、および R^3 はそれぞれ、独立して、H、メチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニルまたは第四級アンモニウム、 $-CH_2CH(OH)CH_2N(CH_3)_3^+$ から選択され、式中、 R^1 、 R^2 、および R^3 基のうち 1～20 は、H では

50

ない；および

(c) 前記CD二量体は、1～28、1～20、2～15、2～10、2～8、または2～5の平均置換度を有する、前記シクロデキストリン二量体。

【請求項9】

さらに、

(a) 少なくとも1つのメチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、第4級アンモニウム基、もしくは $-CH_2CH(OH)CH_2N(CH_3)_3^+$ および／または

(b) 少なくとも1つのアルキル、低級アルキル、アルキレン、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルコシアルキル、アルコシアルコシアルキル、アルキルカルボニルオシアルキル、アルキルカルボニル、アルキルスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、アルキルアミノ、アルコシアミノ、アルキルスルファニル、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキルアミノアルキル、ジアルキルアミノアルキル、アミノアルキル、アミノアルコキシ、アルキルスルホニルアミド、アミノカルボニルオシアルキル、アミノスルホニル、アルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキニルアルコキシ、アリアル、アリアルアルキル、アリアルスルホニル、アリアルオキシ、アラルキルオキシ、シアノアルキル、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキルアルキル、シクロアルキレン、シクロアルキルアルキレン、ヘテロアルキル、ヘテロアリアル、ヘテロアリアルアルキル、ヘテロアリアルスルホニル、ヘテロアリアルオキシ、ヘテロアラルキルオキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ハロゲン、ハロアルキル、ハロアルコキシ、ヘテロシクロアミノ、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロシクリルオキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ヒドロキシアルコキシ、ヒドロキシアルキルアミノ、ヒドロキシアルキルアミノアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキルオシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシシクロアルキル、ウレイド、カルバマート、カルボキシ、スルホンアミド、ニトロ、シアノ、フェノキシ、アセチル基、アンモニウム、アンモニア、アジド、プロモ、クロロ、デオキシ、グルコシル、ヨード、スルファート、スルフリル、ニトリト、ホスファート、ホスホリル、脂肪酸、パルミトイル基、単糖、もしくは二糖、および／または

(c) 少なくとも1つのマルトシル、カルボキシメチル、アミノ、アジド、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、またはイソブチル基で置換されている、請求項1から8のいずれか1項に記載のシクロデキストリン二量体。

【請求項10】

(i) Lは、各CD単量体のC2炭素と連結している；(ii) Lは、各CD単量体のC3炭素と連結している；または(iii) 一方のCD単量体のC2炭素および他方のCD単量体のC3炭素と連結している、請求項1から9のいずれか1項に記載のシクロデキストリン二量体。

【請求項11】

前記シクロデキストリン二量体は、(i) コレステロールに対してよりも高い親和性を7KCに対して呈し、任意選択で、前記より高い親和性は混濁度試験により特定される；または(ii) コレステロールに対してよりも少なくとも1.1倍～10倍高い親和性を7KCに対して呈する、請求項1から10のいずれか1項に記載のシクロデキストリン二量体。

【請求項12】

請求項1から11のいずれか1項に記載のシクロデキストリン二量体の混合物を含み、平均置換度が2～10である；あるいは、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、または第4級アンモニウム基での平均置換度が2～5である；あるいは、メチル基での平均置換度が2～10である、組生物であって、ただし前記平均置換度は、NMRにより、または質量分析により測定されている、前記組生物。

【請求項13】

請求項 1 から 1 1 のいずれか 1 項に記載のシクロデキストリン二量体または請求項 1 2 に記載の組成物と、および薬学上許容されるキャリアとを含む、医薬組成物であって、

前記シクロデキストリン二量体は、前記組成物中の唯一の活性成分であり、前記医薬組成物は、前記シクロデキストリン二量体および前記薬学上許容されるキャリアからなるか、または前記シクロデキストリン二量体および前記薬学上許容されるキャリアから本質的になる、医薬組成物。

【請求項 1 4】

(i) 治療を必要としている対象に投与するため；または (i i) 7 K C の有害または毒性効果に苦しんでいる、7 K C の量を減少させる必要がある対象において、7 K C の量を減少させるための請求項 1 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 5】

(a) 前記対象に、非経口（皮下、筋肉内、もしくは静脈内）、外用、経皮、経口、舌下、または頬側投与を介して投与される；または

(b) 前記シクロデキストリン二量体は、静脈内投与される；および

(c) 前記医薬組成物は、前記シクロデキストリン二量体を約 1 m g ～ 2 0 g 、 1 ～ 1 0 g 、または 5 0 m g ～ 5 g 含む、
請求項 1 3 または 1 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 6】

粥状動脈硬化／冠動脈疾患、動脈硬化症、冠動脈石灰化病変による冠状動脈硬化症、心不全（全段階）、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、ハンチントン病、血管性認知症、多発性硬化症、スミス・レムリ・オピッツ症候群、小児性神経セロイドリポフスチン沈着症、リソソーム酸リパーゼ欠損症、脳腱黄色腫症、X連鎖副腎白質ジストロフィー、鎌状赤血球症、ニーマン・ピック病 A 型、ニーマン・ピック病 B 型、ニーマン・ピック病 C 型、ゴーシェ病、シュタルガルト病、加齢黄斑変性症（萎縮型）、突発性肺線維症、慢性閉塞性肺疾患、嚢胞性線維症、肝損傷、肝不全、非アルコール性脂肪性肝炎、非アルコール性脂肪性肝疾患、過敏性腸症候群、クローン病、潰瘍性大腸炎、および／または高コレステロール血症のうち 1 種または複数についてその症候を予防、治療、寛解させる、請求項 1 3 から 1 5 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物であって、任意選択で、別の治療と併用して投与される、前記医薬組成物。

【請求項 1 7】

粥状動脈硬化の症候を予防、治療、寛解させるための、請求項 1 3 から 1 6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 1 8】

さらに、第二治療を、同時に、またはいずれかの順序で順次、適用される、請求項 1 7 に記載の医薬組成物であって、前記第二治療は、フィブラート系もしくはスタチン系薬剤から選択される抗コレステロール薬、抗血小板薬、降圧薬、または栄養補助食品のうち 1 種または複数を含む、医薬組成物。

【請求項 1 9】

前記スタチン系薬剤は、(i) ナイアシン徐放性およびロバスタチン、(ii) ロバスタチン徐放性、(iii) アムロジピン・アトルバスタチン合剤、(iv) ロバスタチン、(v) シタグリプチンおよびシンバスタチン、(vi) フルバスタチン、(vii) フルバスタチン徐放性、(viii) アトルバスタチン、(ix) ピタバスタチン、(x) ロバスタチン、プラバスタチンを含むスタチン系薬剤、(xi) ナイアシン徐放性およびシンバスタチン、(xii) エゼチミブおよびシンバスタチン、または (xiii) シンバスタチンを含む、スタチン系薬剤または該薬剤の組み合わせを含む、請求項 1 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 2 0】

オキシステロールを含む組成物を、請求項 1 から 1 1 のいずれか 1 項に記載のシクロデキストリン二量体と接触させ、それにより前記オキシステロールを前記シクロデキストリン二量体に可溶化させること；および前記シクロデキストリン二量体および可溶化オキシステロールを回収することを含む、オキシステロールの精製方法。

10

20

30

40

50

【請求項 2 1】

(a) 前記オキシステロールは、7 K Cを含む、または7 K Cからなり；

(b) 前記方法が、さらに、前記可溶化オキシステロール中の7 K Cの量または濃度を測定し、それにより前記組成物中の7 K Cの相対濃度を特定し；および／または

(c) 前記組成物は、患者試料を含む、

請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

オキシステロールを含む試料を、請求項 1 から 1 1 のいずれか 1 項に記載のシクロデキストリン二量体と接触させ、それにより前記オキシステロールを前記シクロデキストリン二量体に可溶化させること；ならびに前記試料と、前記シクロデキストリン二量体および可溶化ステロールとを分離させ、および任意選択で、前記試料を得た対象に、前記試料を再導入すること、を含む、試料からオキシステロールを取り出す *in vitro* 方法。

【請求項 2 3】

コレステロールを含む製品を、請求項 1 から 1 1 のいずれか 1 項に記載のシクロデキストリン二量体と接触させ、それにより、前記コレステロールを前記シクロデキストリン二量体中に可溶化すること；ならびに前記製品から、前記シクロデキストリン二量体および可溶化コレステロールを除去することを含む、コレステロールの減少した製品の生成方法。

【請求項 2 4】

前記製品は、食品であるか、または前記食品は、肉製品および／または乳製品である、請求項 2 3 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

本出願は、2019年1月3日出願の米国仮出願第62／787,869号（代理人整理番号第48731.1600号）及び2019年5月20日出願の米国仮出願第62／850,334号（代理人整理番号第48731.1601号）の優先権を主張する。これらはそれぞれ、そのまま全体が本明細書により参照として援用される。

【背景技術】

【0 0 0 2】

7-ケトコレステロール（7 K C）は、酸素ラジカルがコレステロールと非酵素反応することにより生じるオキシステロールである。7 K Cは、生体中で形成される、または食物から摂取される可能性があるが、潜在的に毒性があり、ヒト及び他の真核生物において何の役にも立たないと考えられている。7 K Cは、コレステロールと同様に、動脈硬化プラークで見つかる。7 K Cは、動脈硬化プラークにおいて最も豊富な非酵素生成オキシステロールであり、粥状動脈硬化及び他の加齢性疾患の病態形成の一因である可能性がある。7 K Cは、ニーマン・ピック病C型（NPC）などのリソソーム蓄積症の病態形成の一因であるとも考えられている。

【0 0 0 3】

シクロデキストリン（CD）は、6つ（ α CD）、7つ（ β CD）、または8つ（ γ CD）の糖環からなる環状オリゴ糖重合体である（図1A）。アルファ、ベータ、及びガンマシクロデキストリンは、最も一般的な形状であり、多くの医薬、産業、民生、及び食物関連用途がある。シクロデキストリンは、多様な用途で使用されてきており、例えば、食品添加物としての食物繊維などが挙げられる。シクロデキストリンは、低分子疎水性薬物のエーロゾル化剤として及び賦形剤として、典型的には、活性医薬成分との併用で医薬組成物にも使用されてきている。

【0 0 0 4】

ヒドロキシプロピル-ベータ-シクロデキストリン（HP β CD）は、ベータシクロデキストリンを構成する7つのグルコース単量体のうち一部または全部においてある個数のヒドロキシプロピル（HP）基がO2、O3、またはO6酸素に（または当該酸素と置換

10

20

30

40

50

された原子に) 付加している β CDである。シクロデキストリンのヒドロキシプロピル化は、様々な目的で、特に活性薬剤用賦形剤として、ヒトに使用される程度までその水溶性と安全性を改善する。これは、FDAによるHP β CD GRAS (一般に安全と認められる) リスト指定を獲得済みである。最も多く市販されているHP β CDは、平均して4~9つのHP置換基を有し、入手可能な製品は全て、置換数及び位置の混合物を含有し、それらは通常、広告表示された平均置換度(DS)に反映されている。

【0005】

他のCD置換基として、とりわけ、メチル、スクシニル、スルホブチル、マルトシル、カルボキシメチル、及び第四級アンモニウムが挙げられ、これらは、荷電基であるか中性基であるかに関係なく、非常に水溶性が高く細胞毒性が低いCDを作り出すことができる。市販されている β CDは、様々な置換度を有する可能性があり、置換度は、特定の置換基及び業者次第で約1しかない低さから最大置換(21の置換基)まで異なる可能性がある。

【発明の概要】

【0006】

本開示は、様々なシクロデキストリン(CD)二量体の設計及び試験について記載するものであり、CD二量体として、とりわけ、HP β CD二量体、メチル β CD二量体、スクシニル β CD二量体、スルホブチル β CD二量体、及び第四級アンモニウム二量体を含む。ある種の二量体は、7KC及びコレステロールに対する親和性が、単量体CDに比べて劇的に上昇することが実証される。例示される二量体は、ステロールと選択的に相互作用しこれを可溶化する能力を含む、特性の改善された連結置換シクロデキストリン二量体の新規クラスを代表するものである。以下に記載する分子モデリング実験は、予測相互作用機構を示す。さらに、実施例により、新規置換シクロデキストリン二量体の、コレステロールと比較した場合の7KCの選択的可溶化を含むステロール可溶化について予測される能力を確認する。

【0007】

1つの態様において、本開示は、構造CD-L-CDであるCD二量体を提供し、式中、各CDはベータシクロデキストリンであり、Lは、各CD単量体のC2またはC3炭素と連結しており、及びCD単量体の一方または両方は、少なくとも1つの官能基、例えば、メチル、ヒドロキシプロピル(HP)、スルホブチル(SB)、スクシニル(SUC)、 $-CH_2CH(OH)CH_2N(CH_3)_3^+$ などの第四級アンモニウム(QA)、またはそれらの組み合わせで置換されている。典型的には、各CD単量体は、D型のグルコース単量体で構成されている。CD二量体は、官能基で置換されており、典型的には、1~28の置換度(DS)を有し、この置換度は、両CDサブユニットに存在する当該官能基置換の合計数を示す。当該置換基は、CDサブユニットの片方に存在する場合も両方に存在する場合もある。リンカー長は、シクロデキストリン二量体の2つのCDサブユニットを接続するリンカーを通る最短経路で、2~8の原子長、例えば4~8の原子長が可能である。当該リンカーは、アルキル(例えば、ブチル)リンカー及び/またはトリアゾールリンカーを含むことができ、リンカーは、任意選択で置換される。CD二量体の例は、式I~式IX(それぞれ、図3B~図3J)のものである。任意選択で、当該CD二量体は、さらに置換される。

【0008】

別の態様において、本開示は、構造CD-L-CDである β CD二量体を提供し、式中、各CDはベータシクロデキストリンであり、Lは、各CD単量体のC2またはC3炭素と連結しており、及びCD単量体の一方または両方は、少なくとも1つのヒドロキシプロピル基で置換されている。典型的には、各CD単量体は、D型のグルコース単量体で構成されている。 β CD二量体は、ヒドロキシプロピル(HP)で置換されており、典型的には、1~40の置換度(DS)を有し、この置換度は、両CDサブユニットに存在する置換基の合計数を示す。当該置換基は、CDサブユニットの片方に存在する場合も両方に存在する場合もある。リンカー長は、シクロデキストリン二量体の2つのCDサブユニット

10

20

30

40

50

を接続するリンカーを通る最短経路で、4～8の原子長が可能である。当該リンカーは、アルキル（例えば、ブチル）リンカー及び／またはトリアゾールリンカーを含むことができ、リンカーは、任意選択で置換される。 β CD二量体の例は、式Ⅰ、式ⅠⅠ、または式ⅠⅠⅠ（それぞれ、図3B～図3D）のものである。任意選択で、当該 β CD二量体は、さらに置換される。

【0009】

7KCは、心疾患、嚢胞性線維症、肝損傷及び肝不全、ならびに高コレステロール血症合併症に関与すると考えられている。高コレステロール血症に罹患している場合、7KCは、細胞膜を通じて拡散する可能性があり、その場合、7KCは受容体及び酵素機能に影響を及ぼす。高コレステロール血症において認知症率が高いことは、7KC蓄積と関連するとされてきた。肝臓では、7KCは、組織の開窓及び空隙率に影響を及ぼすが、これは年齢とともに上昇する。7KCは、細胞質NADPHオキシダーゼ構成要素が好中球（白血球細胞）の膜へと移動するのも促進し、及び迅速な活性酸素種産生も向上させる。他の加齢性疾患、例えば、加齢黄斑変性症（AMD－萎縮型）、アルツハイマー病、ならびにニーマン・ピック病C型（NPC）などのリソソーム蓄積症の病態形成も、7KCのレベル上昇と結び付けられてきた。オキシステロールは、7KCも含めて、フリーラジカルレベルの上昇にも関与しており、この上昇は、次に嚢胞性線維症における脂質循環に影響を及ぼす。7KCのようなオキシステロールにより引き起こされるフリーラジカルの増加は、アポトーシス、細胞毒性、内皮機能の障害、ならびに炎症及び脂肪酸代謝に関与する酵素の調節に関与すると考えられる。

【0010】

7KCは、酸素ラジカルとコレステロールの非酵素反応から形成され、このことは、7KC形成が有益ではない可能性があることを示す。実際、7KCは、身体のある場所ではフリーラジカルの生成を増強すると考えられているが、心臓及び血管組織では、これは特に懸念されることである。フリーラジカルは、コレステロールが介在する組織損傷に関して重要である細胞及び酵素反応に影響し、このことは心臓及び血管組織において特に重大である。フリーラジカルは、脈管構造において炎症を増強すると考えられている。7KCは、細胞及び細胞小器官膜の機能を破壊することにより、ミトコンドリア及びリソソームの機能障害を引き起こすと考えられており、動脈硬化プラークにおいてマクロファージから泡沫細胞が形成される頻度を上昇させるのに関与すると考えられている。これらマクロファージの清掃機能は、プラークを寛解する助けとなることが予想されるが、これらがコレステロール及びオキシステロールで充満している場合は、そうではなくて、プラークの一部となる可能性がある。

【0011】

例示の実施形態は、7KC蓄積と関連した及び／または7KC蓄積により悪化する疾患の治療を提供し、そのような疾患とは、例えば、粥状動脈硬化、AMD、動脈硬化症、冠動脈石灰化病変による冠状動脈硬化症、心不全（全段階）、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、ハンチントン病、血管性認知症、多発性硬化症、スミス・レムリ・オピッツ症候群、小児性神経セロイドリポフスチン沈着症、リソソーム酸リパーゼ欠損症、脳髄黄色腫症、X連鎖副腎白質ジストロフィー、鎌状赤血球症、ニーマン・ピック病A型、ニーマン・ピック病B型、ニーマン・ピック病C型、ゴーシェ病、シュタルガルト病、突発性肺線維症、慢性閉塞性肺疾患、嚢胞性線維症、肝損傷、肝不全、非アルコール性脂肪性肝炎、非アルコール性脂肪性肝疾患、過敏性腸症候群、クローン病、潰瘍性大腸炎、及び／または高コレステロール血症もしくは高コレステロール血症関連認知症である。好適なシクロデキストリン（例えば、HP β CD、Me β CD、SUCC β CD、QA β CD、またはSB β CD）二量体は、7KCに対して（コレステロールに比べて）選択的である。好ましいことに、当該CD二量体は、7KCを優先的に可溶化し、一方で、コレステロールの過剰な除去から生じる可能性がある潜在的な有害または毒性効果を最小限に抑えるまたは回避する。

【0012】

本発明の例示の実施形態は、7KCを可溶化及び／または除去するためのシクロデキストリン（例えば、HPβCD、MeβCD、SUCCβCD、QAβCD、またはSBβCD）二量体の使用を提供し、これは、*in vitro*でも*in vivo*でも行うことができる。

【0013】

例示の実施形態において、当該シクロデキストリン（例えば、HPβCD、MeβCD、SUCCβCD、QAβCD、またはSBβCD）二量体は、コレステロールよりも7KCに対して高い結合親和性及び／または可溶化を呈する。コレステロールよりも7KCに対して高い特異性は、飽和未満濃度で最も明白であるが、それより高い濃度では、両ステロールの可溶化は100%に近づく可能性がある。この特異性により、7KCを優先的に可溶化及び除去する目的で当該シクロデキストリン二量体を使用することが可能になる。

10

【0014】

例示の実施形態において、本開示は、以下の構造を有するシクロデキストリン二量体を提供し：

【0015】

CD-L-CD

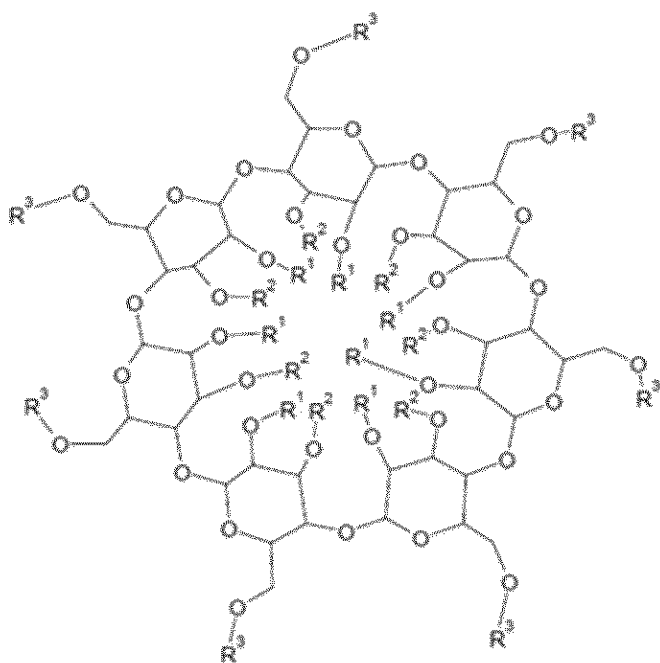
【0016】

式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて（R¹の代わりに）及び／またはC3炭素を通じて（R²の代わりに）各CD分子の大面（下底）と連結しており；

【0017】

式中、CDは、式Xの構造を有し：

【化1】



30

40

（式X）

【0018】

式中、Lは、二量体の2つのCDサブユニットを接続するリンカーを通る最短経路で8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSであり；

【0019】

ならびに、CDは、1～40の基で、例えば、1～28の基で、任意選択で2～15の基、または4～20の基で置換されている。当該置換数は、HではないR¹、R²、及び

50

／または R^3 基の合計数を示す。当該CDは、1つまたは複数の追加置換基を有することができる。

【0020】

当該 R^1 、 R^2 、及び R^3 は、それぞれ独立して、H、メチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、 $-CH_2CH(OH)CH_2N(CH_3)_3^+$ などの第四級アンモニウム、アルキル、低級アルキル、アルキレン、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルコシアルキル、アルコシアルコシアルキル、アルキルカルボニルオキシアルキル、アルキルカルボニル、アルキルスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、アルキルアミノ、アルコシアミノ、アルキルスルファニル、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキルアミノアルキル、ジアルキルアミノアルキル、アミノアルキル、アミノアルコキシ、アルキルスルホニルアミド、アミノカルボニルオキシアルキル、アミノスルホニル、アンモニウム、アンモニア、アルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキニルアルコキシ、アリール、アリールアルキル、アリールスルホニル、アリーロキシ、アラルキルオキシ、アジド、ブromo、クロロ、シアノアルキル、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキルアルキル、シクロアルキレン、シクロアルキルアルキレン、デオキシ、グルコシル、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールスルホニル、ヘテロアリーロキシ、ヘテロアラルキルオキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ハロゲン、ハロアルキル、ハロアルコキシ、ヘテロシクロアミノ、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロシクリロキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ヒドロキシアルコキシ、ヒドロキシアルキルアミノ、ヒドロキシアルキルアミノアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキルオキシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシシクロアルキル、ヨード、ウレイド、カルバマート、カルボキシ、スルファート、スルフリル、スルホンアミド、ニトロ、ニトリト、シアノ、ホスファート、ホスホリル、フェノキシ、アセチル基、パルミトイル基などの脂肪酸、単糖、または二糖から選択することができる。例示の実施形態において、当該置換基は、好ましくはマルトシル基またはカルボキシメチル基である。

【0021】

例示の実施形態において、当該 R^1 、 R^2 、及び／または R^3 基は、それぞれ独立して、H、メチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、マルトシル、カルボキシメチル、第四級アンモニウム（ $-CH_2CH(OH)CH_2N(CH_3)_3^+$ など）、グルコシル、パルミトイル、ホスファート、ホスホリル、アミノ、アジド、スルファート、スルフリル、アルキル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、ブromo、クロロから選択することができ、ただし、当該 R^1 、 R^2 、及び R^3 基のうち1～40、例えば、1～28、または任意選択で、2～15または4～20は、Hではない。

【0022】

例示の実施形態において、当該 R^1 、 R^2 、及び R^3 基は、それぞれ独立して、H、メチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、マルトシル、カルボキシメチル、 $-CH_2CH(OH)CH_2N(CH_3)_3^+$ などの第四級アンモニウムから選択することができ、ただし、当該 R^1 、 R^2 、及び R^3 基のうち1～40、例えば、1～28は、Hではなく、任意選択で、当該 R^1 、 R^2 、及び R^3 基のうち2～15または4～20は、Hではない。当該 R^1 、 R^2 、及び R^3 基は、1つまたは複数のマルトシル基またはカルボキシメチル基を含むことができる。

【0023】

さらなる例示の実施形態において、本開示は、以下の構造を有するCD二量体を提供し：

【0024】



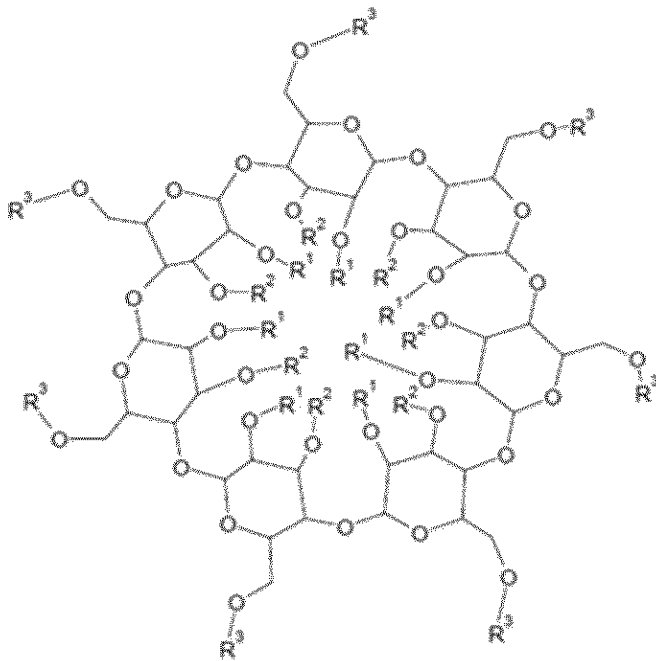
【0025】

式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて（ R^1 の代わりに）及び／またはC3炭素を通じて（ R^2 の代わりに）各CD分子の大面（下底）と連結しており；

【0026】

式中、CDは、式Xの構造を有し：

【化2】



(式X)

【0027】

式中、Lは、二量体の2つのCDサブユニットを接続するリンカーを通る最短経路で8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSであり；

【0028】

CDは、1～28のヒドロキシプロピル（HP）基、任意選択で2～15のHP基または4～20のHP基、好ましくは2～5つのHP基で、HP置換されており、任意選択で当該CDは、1つまたは複数の追加置換基を有する。当該CDは、2～4つのHP基を有することができ、または2つのHP基、3つのHP基、4つのHP基、もしくは5つのHP基を有することができる。

【0029】

さらなる例示の実施形態において、本開示は、以下の構造を有するCD二量体を提供し：

【0030】

CD-L-CD

【0031】

式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて（R¹の代わりに）及び／またはC3炭素を通じて（R²の代わりに）各CD分子の大面（下底）と連結しており；

【0032】

式中、CDは、式Xの構造を有し：

10

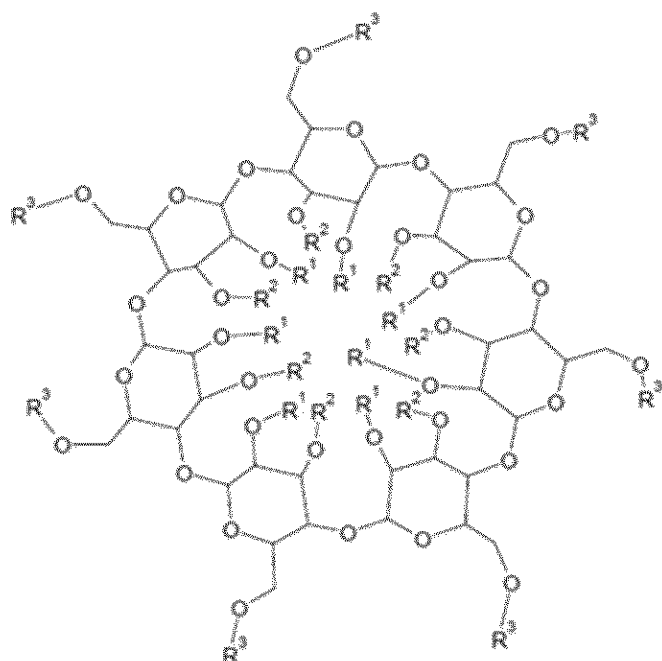
20

30

40

50

【化 3】



(式 X)

【0033】

式中、Lは、二量体の2つのCDサブユニットを接続するリンカーを通る最短経路で8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSであり；

【0034】

CDは、1～40のメチル(Me)基、任意選択で1～28のMe基、任意選択で2～15のMe基または4～20のMe基、好ましくは2～10のMe基で、Me置換されており、任意選択で当該CDは、1つまたは複数の追加置換基を有する。理論に固執するつもりはないが、メチル基は、多数の置換基でこのようなCD二量体を置換するのに特に好適であると思われる。なぜなら、メチル基の大きさは、特に小さく、したがって、ゲスト(7KCまたはコレステロールなど)がCD二量体結合空洞に進入するのに干渉しないからである。さらに、1つまたは複数のメチル置換基が本開示のいずれかのシクロデキストリン二量体に追加可能であることを想定しており、この想定には、本明細書中の一般式で指定されるよりも多い数、例えば、メチル以外の置換基及び追加されるメチル置換基の両方を含めた場合に水素ではない置換基として合計で最大40という数が含まれる。

【0035】

さらなる例示の実施形態において、本開示は、以下の構造を有するCD二量体を提供し：

【0036】

$$CD-L-CD$$

【0037】

式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて(R¹の代わりに)及び／またはC3炭素を通じて(R²の代わりに)各CD分子の大面(下底)と連結しており；

【0038】

式中、CDは、式Xの構造を有し：

10

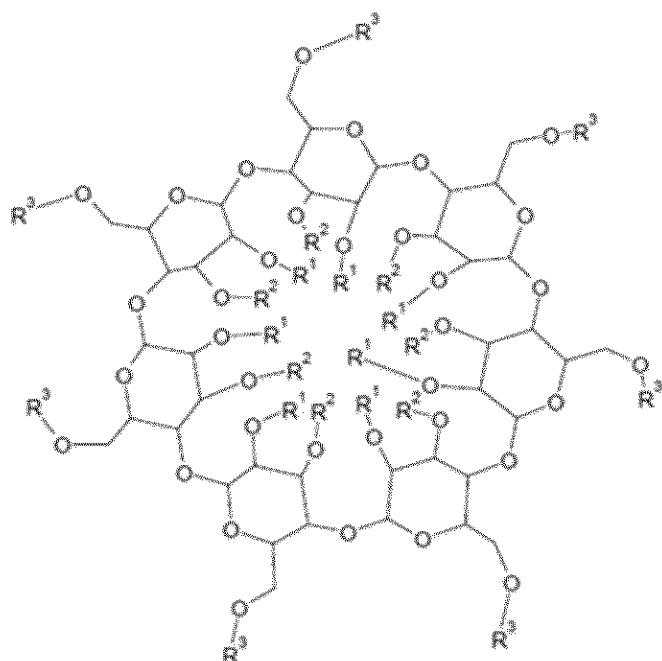
20

30

40

50

【化 4】



(式 X)

【0039】

式中、Lは、二量体の2つのCDサブユニットを接続するリンカーを通る最短経路で8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSであり；

【0040】

CDは、1～28のスルホブチル基、例えば、1～14のスルホブチル基、任意選択で、2～10のスルホブチル基、好ましくは2～5のスルホブチル基で、スルホブチル置換されており、任意選択で当該CDは、1つまたは複数の追加置換基を有する。当該CDは、2～4のスルホブチル基を有することができ、または2つのスルホブチル基、3つのスルホブチル基、4つのスルホブチル基、もしくは5つのスルホブチル基を有することができる。

【0041】

さらなる例示の実施形態において、本開示は、以下の構造を有するCD二量体を提供し：

【0042】

$$CD-L-CD$$

【0043】

式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて（R¹の代わりに）及び／またはC3炭素を通じて（R²の代わりに）各CD分子の大面（下底）と連結しており；

【0044】

式中、CDは、式Xの構造を有し：

10

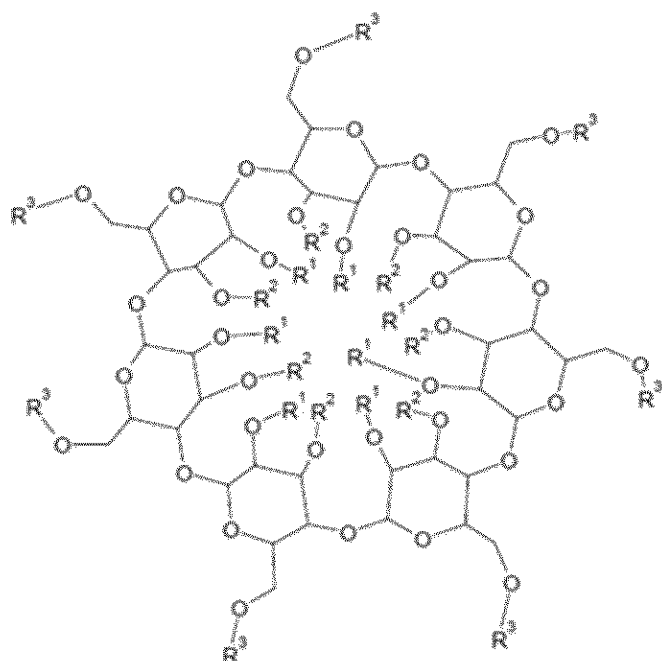
20

30

40

50

【化 5】



(式 X)

【0045】

式中、Lは、二量体の2つのCDサブユニットを接続するリンカーを通る最短経路で8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSであり；

【0046】

CDは、1～28のスクシニル基、任意選択で2～15のスクシニル基または4～20のスクシニル基、好ましくは2～5のスクシニル基で、スクシニル置換されており、任意選択で当該CDは、1つまたは複数の追加置換基を有する。当該CDは、2～4のスクシニル基を有することができ、または2つのスクシニル基、3つのスクシニル基、4つのスクシニル基、もしくは5つのスクシニル基を有することができる。

【0047】

さらなる例示の実施形態において、本開示は、以下の構造を有するCD二量体を提供し：

【0048】

$$CD-L-CD$$

【0049】

式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて（R¹の代わりに）及び／またはC3炭素を通じて（R²の代わりに）各CD分子の大面（下底）と連結しており；

【0050】

式中、CDは、式Xの構造を有し：

10

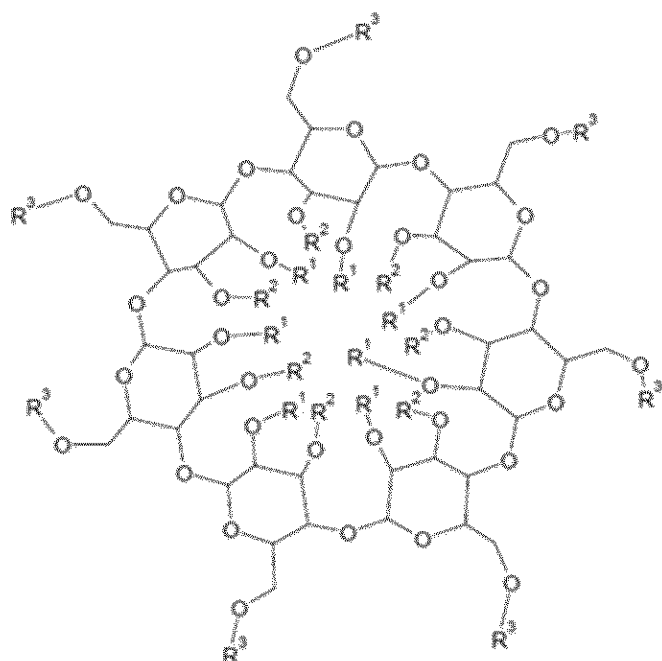
20

30

40

50

【化 6】



(式 X)

【0051】

式中、Lは、二量体の2つのCDサブユニットを接続するリンカーを通る最短経路で8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSであり；

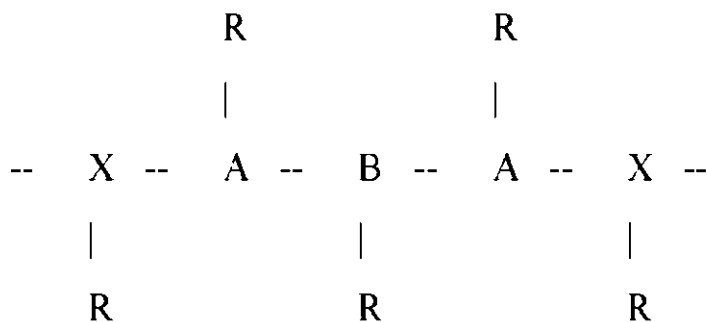
【0052】

CDは、1～28の第四級アンモニウム基、任意選択で2～15の第四級アンモニウム基または4～20の第四級アンモニウム基、好ましくは2～5つの第四級アンモニウム基で置換されており、当該第四級アンモニウム基は、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$ 、例えば、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$ を含み、及び任意選択で当該CDは、1つまたは複数の追加置換基を有する。当該CDは、2～4つの第四級アンモニウム基を有することができ、または2つの第四級アンモニウム基、3つの第四級アンモニウム基、4つの第四級アンモニウム基、もしくは5つの第四級アンモニウム基を有することができる。当然のことながら、当該第四級アンモニウムの任意の薬学上許容される塩が、本開示の範囲内に含まれる。

【0053】

Lは、以下の構造を有する場合があります：

【化 7】



10

20

30

40

50

【0054】

式中、各Rは、独立して、H、X、SH、NH、NH₂、またはOHから選択されるか、あるいは存在しない場合があり；

【0055】

各CDとリンカーとの連結は、独立して、CDのC2またはC3炭素と連結したO、S、またはNを通じてであるか、あるいは、CDの2個の隣接酸素を通じたアセタール結合を通じてであり；

【0056】

各Xは、置換または無置換のアルカン、アルケン、もしくはアルキンであり；

【0057】

各Aは、独立して、単結合、二重結合、または三重結合の共有結合、S、N、NH、O、あるいは置換または無置換のアルカン、アルケン、もしくはアルキンから選択され；ならびに

【0058】

Bは、置換または無置換の五員もしくは六員環、S、N、NH、NR、Oであるか、あるいは存在しない。

【0059】

当該リンカーの長さは、2～7、3～6、4～7、4～6、4～5、または4、あるいは2～3の場合がある。

【0060】

当該リンカーは、無置換のアルキル、例えば、無置換のブチルの場合がある。

【0061】

当該リンカーは、置換または無置換のブチルリンカーの場合がある。

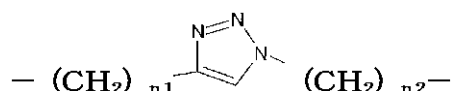
【0062】

当該リンカーは、トリアゾールを含む場合がある。

【0063】

当該リンカーは、以下の構造：

【化8】



(式XI)を有する場合があり、式中、n1及びn2はそれぞれ、1～8または1～4であり、好ましくは式中、n1は1であり、n2は3である。

【0064】

例示の実施形態において、当該リンカーがトリアゾールを含む、例えば、式XIの構造を有する場合、当該リンカーLは、各CD単量体のO2位置で連結することができ、ただし、n1及びn2はそれぞれ、0～8、例えば、それぞれ1～4であり、好ましくは、当該リンカーの全長は、8以下、例えば、8、7、6、5、4、3、またはそれらの間の任意の数値範囲にあることが可能であり、好適な実施形態において、n1は1であり、n2は3である。

【0065】

例示の実施形態において、当該リンカーLが置換または無置換のアルキルを含み、好ましくは長さが原子8個以下、例えば2～7、2～6、または4～7もしくは4～6もしくは4～5であり、あるいは長さが8、7、6、5、4、3、また2、またはそれらの間の任意の数値範囲にある場合、当該リンカーLは、各CD単量体のO2位置、一方のCD単量体のO2位置及び他方のCD単量体のO3位置、または両CD単量体のO3位置で連結することができ、ただし、好ましくは当該リンカーは、置換または無置換のブチル、より好ましくは無置換のブチルである。

【0066】

当該リンカーは、各CD単量体と単一の結合点を有することができる。当該リンカーは、一方のCD単量体と単一の結合点を有し、他方のCD単量体と複数（2つ以上）の結合点を有することができる。当該リンカーは、各CD単量体と複数（それぞれ2つ以上）の結合点を有することができる。当該リンカーは、図8Dに描かれるリンカーのどれでも含むことができる。当然のことながら、描かれるリンカーは、各末端に酸素原子を有し、この酸素原子は、リンカーが連結したシクロデキストリンの一部を形成する。当該酸素原子は、リンカー長を決定するという目的に関してリンカーの一部であるとは見なされない。同じく、一方または両方のシクロデキストリン単量体と複数の部位で接続するリンカーの場合、左側に示す接続は、一方の単量体と接続しており、右側に示す接続は、他方の単量体と接続している。

10

【0067】

例示の実施形態において、本開示は、以下の構造を有するCD二量体を提供し：

【0068】



【0069】

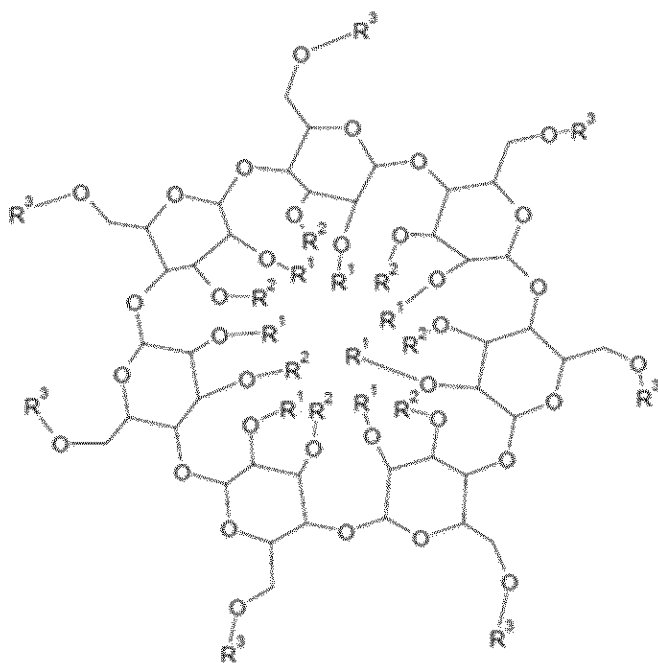
式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて（R¹の代わりに）及び／またはC3炭素を通じて（R²の代わりに）各CD分子の大面（下底）と連結しており；

【0070】

式中、CDは、式Xの構造を有し：

20

【化9】



30

(式X)

【0071】

式中、Lは、トリアゾールであり、8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSであり；

【0072】

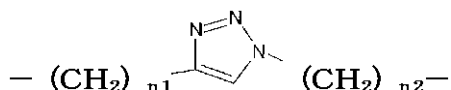
CDは、0～28の基で置換されており、任意選択で基の数は0であるか、または任意選択で、当該CDは、1つまたは複数の置換基を有する。

【0073】

当該リンカーは、以下の構造：

50

【化 10】



(式XI)を有する場合があり、式中、 n_1 及び n_2 はそれぞれ、1～8または1～4であり、好ましくは式中、 n_1 は1であり、 n_2 は3である。

【0074】

当該リンカーの長さは、3～7、3～6、4～7、4～6、または5～6の場合がある。

【0075】

当該リンカーの長さは、4～5の場合がある。

【0076】

当該シクロデキストリンは、さらに、(a)少なくとも1つのメチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、もしくはスクシニル基、及び／または(b)少なくとも1つのアルキル、低級アルキル、アルキレン、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルコシアルキル、アルコシアルコシアルキル、アルキルカルボニルオキシアルキル、アルキルカルボニル、アルキルスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、アルキルアミノ、アルコシアミノ、アルキルスルファニル、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキルアミノアルキル、ジアルキルアミノアルキル、アミノアルキル、アミノアルコキシ、アルキルスルホニルアミド、アミノカルボニルオキシアルキル、アミノスルホニル、アルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキニルアルコキシ、アリール、アリールアルキル、アリールスルホニル、アリールオキシ、アラルキルオキシ、シアノアルキル、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキルアルキル、シクロアルキレン、シクロアルキルアルキレン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールスルホニル、ヘテロアリールオキシ、ヘテロアラルキルオキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ハロゲン、ハロアルキル、ハロアルコキシ、ヘテロシクロアミノ、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロシクリルオキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ヒドロキシアルコキシ、ヒドロキシアルキルアミノ、ヒドロキシアルキルアミノアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキルオキシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシシクロアルキル、ウレイド、カルバマート、カルボキシ、スルホンアミド、ニトロ、シアノ、フェノキシ、アセチル基アンモニウム、アンモニア、アジド、ブロモ、クロロ、デオキシ、グルコシル、ヨード、スルファート、スルフリル、ニトリト、ホスファート、ホスホリル、パルミトイル基などの脂肪酸、単糖、もしくは二糖、及び／または(c)少なくとも1つのメチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、マルトシル、カルボキシメチル、第四級アンモニウム(例えば、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$)、グルコシル、パルミトイル、ホスファート、ホスホリル、アミノ、アジド、スルファート、スルフリル、アルキル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、ブロモ、もしくはクロロ基で置換されている場合がある。

【0077】

シクロデキストリン二量体は、式I～式IX(それぞれ、図3B～図3J)のいずれか1つに従う構造を有することができる。

【0078】

各 R^1 、各 R^2 、及び各 R^3 は、独立して、(a)メチル、H、ヒドロキシプロピル、スルホブチルエーテル、スクシニル、スクシニル-ヒドロキシプロピル、第四級アンモニウム、カルボキシメチル、カルボキシメチル-ヒドロキシプロピル、ヒドロキシエチル、マルトシル、アセチル、カルボキシエチル、硫酸化、スルホプロピル、リン酸ナトリウム、もしくはグルコシル、及び／または(b)水素、アルキル、低級アルキル、アルキレン、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルコシアルキル、アルコシアルコシアル

キル、アルキルカルボニルオキシアルキル、アルキルカルボニル、アルキルスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、アルキルアミノ、アルコキシアミノ、アルキルスルファニル、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキルアミノアルキル、ジアルキルアミノアルキル、アミノアルキル、アミノアルコキシ、アルキルスルホニルアミド、アミノカルボニルオキシアルキル、アミノスルホニル、アルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキニルアルコキシ、アリール、アリールアルキル、アリールスルホニル、アリールオキシ、アラルキルオキシ、シアノアルキル、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキルアルキル、シクロアルキレン、シクロアルキルアルキレン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールスルホニル、ヘテロアリールオキシ、ヘテロアラルキルオキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ハロゲン、ハロアルキル、ハロアルコキシ、ヘテロシクロアミノ、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロシクリルオキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ヒドロキシアルコキシ、ヒドロキシアルキルアミノ、ヒドロキシアルキルアミノアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキルオキシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシシクロアルキル、ウレイド、カルバマート、カルボキシ、スルホンアミド、ニトロ、シアノ、フェノキシ、もしくはアセチル基から選択することができる。

10

【0079】

Lは、各CD単量体のC2炭素と、各CD単量体のC3炭素と、または一方のCD単量体のC2炭素及び他方のCD単量体のC3と連結することができる。リンカーが単一のCD単量体に対して複数の結合点を有する場合、リンカーは、その単量体のC2炭素、C3炭素、またはC2炭素とC3炭素の組み合わせと連結することができる。連結の形成に利用される反応、精製工程に基づいて、及び／またはリンカーの構造に基づいて、特定の配置が優先される場合がある。

20

【0080】

当該シクロデキストリン二量体は、コレステロールに対してよりも高い親和性を7KCに対して呈する可能性がある。当該より高い親和性は、本明細書中開示される混濁度試験を用いて特定することができる。

【0081】

当該シクロデキストリン二量体は、コレステロールに対してよりも少なくとも1.1倍、1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、または10倍強い親和性を、7KCに対して呈する可能性がある。当該シクロデキストリン二量体は、混濁度試験で、コレステロールと比べた7KCの相対混濁度に、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、または50%、またはそれ以上の低下を呈する可能性がある。

30

【0082】

例示の実施形態において、本開示は、本明細書中開示されるとおりのシクロデキストリン二量体の混合物を含む組成物を提供し、任意選択で、混合物の平均置換度は、2~10、例えば2~8、例えば3~7、または2~5であることが可能である。当該組成物は、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、または第四級アンモニウム基での置換度が2~5である、例えば当該置換基を約2つ、約3つ、約4つ、または約5つ有するCD二量体の混合物を含むことができる。当該組成物は、メチル基での置換度が2~10であるCD二量体の混合物を含むことができる。当該置換度は、NMRにより測定可能である。当該置換度は、質量分析、例えば、MALDIにより測定可能である。

40

【0083】

例示の実施形態において、本開示は、本明細書中開示されるとおりの、例えば、式I~式III（それぞれ図3B~図3D）に従うシクロデキストリン二量体の混合物を含む組成物を提供する。

【0084】

例示の実施形態において、本開示は、本明細書中開示されるとおりのシクロデキストリン二量体またはその組成物、及び薬学上許容されるキャリアを含む医薬組成物を提供する

50

。当該シクロデキストリン二量体は、当該組成物中の唯一の活性成分である場合がある。当該医薬組成物は、当該シクロデキストリン二量体及び当該薬学上許容されるキャリアからなる、またはそれらから本質的になる場合がある。

【0085】

例示の実施形態において、本開示は、治療を必要としている対象に、本明細書中開示されるとおりのシクロデキストリン二量体またはその組成物を有効量で投与することを含む治療法を提供する。治療を必要としている対象は、7 K Cの有害または毒性効果に苦しんでいる場合がある。

【0086】

例示の実施形態において、本開示は、7 K C量の減少を必要としている対象に、本明細書中開示されるとおりのシクロデキストリン二量体を有効量で投与することを含む、7 K C量の減少を必要としている対象における7 K C量の減少法を提供する。

【0087】

当該シクロデキストリン二量体は、当該患者に、非経口（例えば、皮下、筋肉内、もしくは静脈内）、外用、経皮、経口、舌下、または頬側投与を介して、好ましくは、静脈内で投与することができる。

【0088】

当該方法は、当該患者に、当該シクロデキストリン二量体を約1 mg～10 g、例えば、10 mg～1 g、50 mg～200 mg、または100 mg投与することを含む場合がある。例示の実施形態において、シクロデキストリン二量体1～10 g、例えば、約2 g、約3 g、約4 g、または約5 gが、投与される場合がある。例示の実施形態において、シクロデキストリン二量体50 mg～5 g、例えば、100 mg～2.5 g、100 mg～2 g、250 mg～2.5 g、例えば、約1 gが、投与される場合がある。

【0089】

当該方法は、粥状動脈硬化、動脈硬化症、冠動脈石灰化病変による冠動脈硬化症、心不全（全段階）、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、ハンチントン病、血管性認知症、多発性硬化症、スミス・レムリ・オピッツ症候群、小児性神経セロイドリポフスチン沈着症、リソソーム酸リパーゼ欠損症、脳髄黄色腫症、X連鎖副腎白質ジストロフィー、鎌状赤血球症、ニーマン・ピック病A型、ニーマン・ピック病B型、ニーマン・ピック病C型、ゴーシェ病、シュタルガルト病、加齢黄斑変性症（萎縮型）、突発性肺線維症、慢性閉塞性肺疾患、嚢胞性線維症、肝損傷、肝不全、非アルコール性脂肪性肝炎、非アルコール性脂肪性肝疾患、過敏性腸症候群、クローン病、潰瘍性大腸炎、及び／または高コレステロール血症のうち1種または複数、好ましくは、粥状動脈硬化についてその症候を予防、治療、及び／または寛解させる可能性がある。

【0090】

当該方法は、さらに、当該患者に第二治療を投与することを含む場合があり、当該第二治療は、同時にまたはいずれかの順序で順次投与することができる。

【0091】

当該第二治療は、抗コレステロール薬、例えばフィブラート系もしくはスタチン系薬剤、抗血小板薬、降圧薬、または栄養補助食品のうち1種または複数を含む場合がある。当該スタチン系薬剤は、ADVICOR（R）（ナイアシン徐放性／ロバスタチン）、ALTOPREV（R）（ロバスタチン徐放性）、CADUET（R）（アムロジピン・アトルバスタチン合剤）、CRESTOR（R）（ロスバスタチン）、JUVISYNC（R）（シタグリブチン／シンバスタチン）、LESCOL（R）（フルバスタチン）、LESCOLXL（フルバスタチン徐放性）、LIPITOR（R）（アトルバスタチン）、LIVALO（R）（ピタバスタチン）、MEVACOR（R）（ロバスタチン）、PRAVACHOL（R）（プラバスタチン）、SIMCOR（R）（ナイアシン徐放性／シンバスタチン）、VYTORIN（R）（エゼチミブ／シンバスタチン）、またはZOCOR（R）（シンバスタチン）を含む場合がある。

【0092】

当該第二治療は、抗コレステロール薬及び降圧薬を含む場合がある。

【0093】

例示の実施形態において、本開示は、オキシステロールの精製法を提供し、本方法は以下を含む：オキシステロールを含む組成物を、本明細書中開示されるとおりのシクロデキストリン二量体と接触させ、それにより、当該オキシステロールを当該シクロデキストリン二量体に可溶化させること；及び当該シクロデキストリン二量体及び可溶化したオキシステロールを回収すること。当該オキシステロールは、7KCを含む、または7KCからなる。当該方法は、さらに、当該可溶化したオキシステロール中の7KC濃度を測定し、それにより、組成物中の7KCの相対濃度を特定することを含む場合がある。当該組成物は、患者試料を含む場合がある。当該方法は、患者試料中の7KC濃度の測定に利用することができ、この濃度を、診断及び／または治療計画に利用することができる。

10

【0094】

例示の実施形態において、本開示は、試料からオキシステロールを取り出す *in vitro* 方法を提供し、本方法は、以下を含む：オキシステロールを含む試料を、本明細書中開示されるとおりのシクロデキストリン二量体と接触させ、それにより、当該オキシステロールを当該シクロデキストリン二量体に可溶化させること；及び、当該試料と、当該シクロデキストリン二量体及び可溶化したステロールとを、分離すること。

【0095】

例示の実施形態において、本開示は、コレステロールの減少した製品の製造法を提供し、本方法は、以下を含む：コレステロールを含む製品を、本明細書中開示されるとおりのシクロデキストリン二量体と接触させ、それにより、当該コレステロールを当該シクロデキストリン二量体に可溶化させること；及び当該製品から、当該シクロデキストリン二量体及び可溶化したコレステロールを除去すること。当該製品は、食品、例えば、肉製品及び／または乳製品の場合がある。

20

【0096】

別の態様において、本開示は、本明細書中記載されるとおりのシクロデキストリン二量体、例えば、無置換または置換アルキルリンカーを有するシクロデキストリン二量体の作製法を提供し、本方法は、以下を含む：(a) 上底が保護されたβ-シクロデキストリンを、ジアルキル化剤と反応させ、それにより下底を通じて連結された上底保護βCD二量体を生成すること、及び任意選択で、当該上底保護βCD二量体を精製すること；(b) 当該上底保護βCD二量体を脱保護し、それにより脱保護βCD二量体を生成すること、及び任意選択で、当該脱保護βCD二量体を精製すること；ならびに(c) 当該脱保護βCDをヒドロキシプロピル化し、それによりシクロデキストリン二量体を生成すること、及び任意選択で、当該シクロデキストリン二量体を精製すること。上底が保護された当該β-シクロデキストリンは、ヘプタキス(6-O-tert-ブチルジメチルシリル)-β-シクロデキストリンを含む場合がある。当該ジアルキル化剤は、ジブromoアルカン、任意選択で、1,4-ジブromoブタンを含む場合がある。工程(a)は、無水条件で及び／または塩基として水素化ナトリウムを用いて行う場合がある。工程(a)の当該精製は、均一溶媒溶出させる順相クロマトグラフィーを含む場合がある。工程(b)は、テトラヒドロフラン(THF)中、テトラブチルアンモニウムフルオリドを用いて行う場合がある。工程(b)の当該精製は、均一溶媒溶出させる順相クロマトグラフィーを含む場合がある。工程(c)は、当該脱保護βCD二量体を、プロピレンオキシドなどのヒドロキシプロピル化剤、ヨウ化メチルなどのメチル化試薬、無水コハク酸などのスクシニル化試薬、1,4-ブタンスルトンなどのスルホブチル化試薬、及び／またはグリシジルトリメチルアンモニウムクロリドなどの第四級アンモニウム連結試薬と反応させることを含む場合がある。

30

40

【0097】

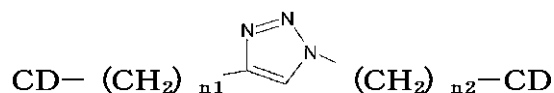
工程(c)は、水性条件で行う場合があり、任意選択で、塩基として水酸化ナトリウムを含む場合がある。工程(c)は、イオン交換樹脂処理、活性炭清澄化、及び透析のうち1種または複数を含む場合がある。

50

【0098】

別の態様において、本開示は、本明細書中記載されるとおりのシクロデキストリン二量体、例えば、トリアゾールリンカーを有するシクロデキストリン二量体の作製法を提供し、本方法は、以下を含む：(a) $2-O-(n\text{-アジドアルキル})-\beta CD$ と $2-O-(n\text{-アルキン})-\beta CD$ を反応させ、それにより、構造 $\beta CD\text{-alk1-トリアゾール-alk2-}\beta CD$ を有する $\beta CD\text{-トリアゾール-}\beta CD$ 二量体を形成させること、及び任意選択で(b) 当該 $\beta CD\text{-トリアゾール-}\beta CD$ 二量体を精製すること。工程(a)は、銅(I)触媒、任意選択で、約15mMの銅(I)のものを用いて行う場合がある。工程(a)は、水性溶液中で行う場合がある。水性溶液は、ジメチルホルムアミド(DMF)を、任意選択で約50%DMF(v/v)を含む場合がある。工程(b)は、クロマトグラフィーを含む場合がある。当該方法は、さらに、工程(a)の前に、当該 $2-O-(n\text{-アジドアルキル})-\beta CD$ を生成させることを含む場合があり、生成させるための方法は、以下を含む：(1) 任意選択で触媒量のヨウ化リチウムを用いて、 $n\text{-アジド-1-プロモ-アルカン}$ を、 $\beta\text{-シクロデキストリン}$ と反応させ、それにより、当該 $2-O-(n\text{-アジドアルキル})-\beta CD$ を生成させること；及び(2) 任意選択で、当該 $2-O-(n\text{-アジドアルキル})-\beta CD$ を精製すること。工程(2)は、クロマトグラフィーを含む場合がある。当該方法は、さらに、工程(a)の前に、 $2-O-(n\text{-アルキン})-\beta CD$ を生成させることを含む場合があり、生成させるための方法は、以下を含む：(i) 任意選択で触媒量のヨウ化リチウムを用いて、 $n\text{-プロモ-1-アルキン}$ を $\beta\text{-シクロデキストリン}$ と反応させ、それにより、当該 $2-O-(n\text{-アルキン})-\beta CD$ を生成させること、及び(ii) 任意選択で、当該 $2-O-(n\text{-アルキン})-\beta CD$ を精製すること。工程(2)は、シリカゲルクロマトグラフィーを含む場合がある。工程(1)は、乾燥DMSO中で行う場合がある。工程(1)の反応は、水素化リチウムを含む場合がある。当該 $\beta CD\text{-トリアゾール-}\beta CD$ 二量体は、以下の構造：

【化11】



(式XII)を含む場合があり、式中、 $n1$ は1～8が可能であり、及び／または $n2$ は1～8が可能であり、任意選択で、 $n1$ は1、2、3、または4が可能であり、及び／または $n2$ は1、2、3、または4が可能であり、好ましくは、 $n1$ は1であり、 $n2$ は3である。当該トリアゾールリンカーの長さは、5～8が可能である。当該方法は、さらに、当該 $\beta CD\text{-トリアゾール-}\beta CD$ 二量体をヒドロキシプロピル化し、それによりシクロデキストリン二量体を生成させること、及び任意選択で、当該シクロデキストリン二量体を精製することを含む場合がある。工程(c)は、当該 $\beta CD\text{-トリアゾール-}\beta CD$ 二量体を、プロピレンオキシドなどのヒドロキシプロピル化剤、ヨウ化メチルなどのメチル化試薬、無水コハク酸などのスクシニル化試薬、1,4-ブタンスルトンなどのスルホブチル化試薬、及び／またはグリシジルトリメチルアンモニウム＝クロリドなどの第四級アンモニウム連結試薬と反応させることを含む場合がある。

【0099】

工程(c)は、水性条件で行う場合があり、任意選択で、塩基として水酸化ナトリウムを含む場合がある。工程(c)の当該精製は、イオン交換樹脂処理、活性炭清澄化、膜濾過、及び透析のうち1種または複数を含む場合がある。

【0100】

本発明の実施形態は、粥状動脈硬化を治療または予防するための組成物及び方法を提供する。7KCは、動脈硬化プラーク中で最も大量に非酵素産生されるオキシステロールであり、粥状動脈硬化の病態形成の一因であると考えられる。本発明のCD(例えば、本開示のHP βCD または別のCD)二量体を用いた治療は、動脈硬化プラーク形成の予防及

び／または反転に有益であることが予想される。

【0101】

本発明の実施形態は、7KCが関連するとされてきた疾患及び症状を治療または予防するための組成物及び方法を提供する。そのような疾患及び症状として、加齢性疾患、例えば、粥状動脈硬化、AMD、動脈硬化症、冠動脈石灰化病変による冠状動脈硬化症、心不全（全段階）、アルツハイマー病、パーキンソン病、血管性認知症、慢性閉塞性肺疾患、非アルコール性脂肪性肝疾患、及び／または高コレステロール血症もしくは高コレステロール血症関連の認知症などが挙げられるが、これらに限定されない。同じく7KC蓄積が関連する他の孤発性及び／または先天性疾患として、ハンチントン病、多発性硬化症、スミス・レムリ・オピッツ症候群、小児性神経セロイドリポフスチン沈着症、リソソーム酸リパーゼ欠損症、筋萎縮性側索硬化症、脳髄黄色腫症、X連鎖副腎白質ジストロフィー、鎌状赤血球貧血、ニーマン・ピック病A型、ニーマン・ピック病B型、ニーマン・ピック病C型、ゴーシェ病、シュタルガルト病、突発性肺線維症、嚢胞性線維症、肝損傷、肝不全、非アルコール性脂肪性肝炎、潰瘍性大腸炎、クローン病、及び他の過敏性腸症候群が挙げられる。

【0102】

別の例示の実施形態において、本開示は、置換度が1～40、例えば、1～28または4～20、好ましくは2～15であり、置換基は、メチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$ などの第四級アンモニウム、アルキル、低級アルキル、アルキレン、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルコキシアルキル、アルコキシアルコキシアルキル、アルキルカルボニルオキシアルキル、アルキルカルボニル、アルキルスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、アルキルアミノ、アルコシミアミノ、アルキルスルファニル、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキルアミノアルキル、ジアルキルアミノアルキル、アミノアルキル、アミノアルコキシ、アルキルスルホニルアミド、アミノカルボニルオキシアルキル、アミノスルホニル、アンモニウム、アンモニア、アルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキニルアルコキシ、アリール、アリールアルキル、アリールスルホニル、アリーロキシ、アラールキルオキシ、アジド、プロモ、クロロ、シアノアルキル、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキルアルキル、シクロアルキレン、シクロアルキルアルキレン、デオキシ、グルコシル、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールスルホニル、ヘテロアリーロキシ、ヘテロアラールキルオキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ハロゲン、ハロアルキル、ハロアルコキシ、ヘテロシクロアミノ、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロシクリロキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ヒドロキシアルコキシ、ヒドロキシアルキルアミノ、ヒドロキシアルキルアミノアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキルオキシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシシクロアルキル、ヨード、ウレイド、カルバマート、カルボキシ、スルファート、スルフリル、スルホンアミド、ニトロ、ニトリト、シアノ、ホスファート、ホスホリル、フェノキシ、アセチル基、パルミトイル基などの脂肪酸、単糖、または二糖から選択されるシクロデキストリン二量体組成物を提供し、本組成物は、構造CD-L-CDのシクロデキストリン二量体を含み、式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて(R^1 の代わりに)及び／またはC3炭素を通じて(R^2 の代わりに)各CD分子の大面(下底)と連結しており；式中、各CDは、 R^1 、 R^2 、及び／または R^3 のうち1つまたは複数に当該置換基を有する式Xの構造を有し、ただし、Lは、8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSである。当該置換基は、カルボキシメチルまたはマルトシルであることが可能である。当該置換基は、好ましくは、メチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、第四級アンモニウム(例えば、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$)である。当該置換度は、NMRにより測定可能である。当該置換度は、質量分析、例えば、MALDIにより測定可能である。

【0103】

別の例示の実施形態において、本開示は、置換度が1～40、例えば、1～28または4～20、好ましくは、2～15であり、置換基は、メチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、マルトシル、カルボキシメチル、第四級アンモニウム（例えば、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$ ）、グルコシル、パルミトイル、ホスファート、ホスホリル、アミノ、アジド、スルファート、スルフリル、アルキル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、プロモ、またはクロロから選択されるシクロデキストリン二量体組成物を提供し、本組成物は、構造 $\text{CD}-\text{L}-\text{CD}$ のシクロデキストリン二量体を含み、式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて（ R^1 の代わりに）及び／またはC3炭素を通じて（ R^2 の代わりに）各CD分子の大面（下底）と連結しており；式中、各CDは、 R^1 、 R^2 、及び／または R^3 のうち1つまたは複数に当該置換基を有する式Xの構造を有し、ただし、Lは、8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSである。当該置換度は、NMRにより測定可能である。当該置換度は、質量分析、例えば、MALDIにより測定可能である。

【0104】

別の例示の実施形態において、本開示は、置換度が1～40、例えば、1～28または4～20、好ましくは、2～15であり、置換基は、メチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、マルトシル、カルボキシメチル、または $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$ などの第四級アンモニウムから選択されるシクロデキストリン二量体組成物を提供し、本組成物は、構造 $\text{CD}-\text{L}-\text{CD}$ のシクロデキストリン二量体を含み、式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて（ R^1 の代わりに）及び／またはC3炭素を通じて（ R^2 の代わりに）各CD分子の大面（下底）と連結しており；式中、各CDは、 R^1 、 R^2 、及び／または R^3 のうち1つまたは複数に当該置換基を有する式Xの構造を有し、ただし、Lは、8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSである。当該置換度は、NMRにより測定可能である。当該置換度は、質量分析、例えば、MALDIにより測定可能である。

【0105】

別の例示の実施形態において、本開示は、置換度が1～40、例えば、1～28または4～20、好ましくは2～15、より好ましくは2～5、さらにより好ましくは2～4であり、ヒドロキシプロピル置換基を持つシクロデキストリン二量体組成物を提供し、本組成物は、構造 $\text{CD}-\text{L}-\text{CD}$ のシクロデキストリン二量体を含み、式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて（ R^1 の代わりに）及び／またはC3炭素を通じて（ R^2 の代わりに）各CD分子の大面（下底）と連結しており；式中、各CDは、 R^1 、 R^2 、及び／または R^3 のうち1つまたは複数に当該置換基を有する式Xの構造を有し、ただし、Lは、8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSである。当該置換度は、NMRにより測定可能である。当該置換度は、質量分析、例えば、MALDIにより測定可能である。

【0106】

別の例示の実施形態において、本開示は、置換度が1～40、例えば、1～28または4～20、好ましくは2～15、より好ましくは2～10であり、メチル置換基を持つシクロデキストリン二量体組成物を提供し、本組成物は、構造 $\text{CD}-\text{L}-\text{CD}$ のシクロデキストリン二量体を含み、式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて（ R^1 の代わりに）及び／またはC3炭素を通じて（ R^2 の代わりに）各CD分子の大面（下底）と連結しており；式中、各CDは、 R^1 、 R^2 、及び／または R^3 のうち1つまたは複数に当該置換基を有する式Xの構造を有し、ただし、Lは、8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSである。当該置換度は、NMRにより測定可能である。当該置換度は、質量分析、例えば、MALDIにより測定可能である。

【0107】

別の例示の実施形態において、本開示は、置換度が1～40、例えば、1～28または

4～20、好ましくは2～15、より好ましくは2～5、さらにより好ましくは2～4であり、スルホブチル置換基を持つシクロデキストリン二量体組成物を提供し、本組成物は、構造CD-L-CDのシクロデキストリン二量体を含み、式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて(R¹の代わりに)及び/またはC3炭素を通じて(R²の代わりに)各CD分子の大面(下底)と連結しており; 式中、各CDは、R¹、R²、及び/またはR³のうち1つまたは複数に当該置換基を有する式Xの構造を有し、ただし、Lは、8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSである。当該置換度は、NMRにより測定可能である。当該置換度は、質量分析、例えば、MALDIにより測定可能である。

【0108】

別の例示の実施形態において、本開示は、置換度が1～40、例えば、1～28または4～20、好ましくは2～15、より好ましくは2～5、さらにより好ましくは2～4であり、スクシニル置換基を持つシクロデキストリン二量体組成物を提供し、本組成物は、構造CD-L-CDのシクロデキストリン二量体を含み、式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて(R¹の代わりに)及び/またはC3炭素を通じて(R²の代わりに)各CD分子の大面(下底)と連結しており; 式中、各CDは、R¹、R²、及び/またはR³のうち1つまたは複数に当該置換基を有する式Xの構造を有し、ただし、Lは、8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSである。当該置換度は、NMRにより測定可能である。当該置換度は、質量分析、例えば、MALDIにより測定可能である。

【0109】

別の例示の実施形態において、本開示は、置換度が1～40、例えば、1～28または4～20、好ましくは2～15、より好ましくは2～5、さらにより好ましくは2～4であり、第四級アンモニウム置換基、好ましくは-CH₂CH(OH)CH₂N(CH₃)₃⁺を持つシクロデキストリン二量体組成物を提供し、本組成物は、構造CD-L-CDのシクロデキストリン二量体を含み、式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて(R¹の代わりに)及び/またはC3炭素を通じて(R²の代わりに)各CD分子の大面(下底)と連結しており; 式中、各CDは、R¹、R²、及び/またはR³のうち1つまたは複数に当該置換基を有する式Xの構造を有し、ただし、Lは、8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSである。当該置換度は、NMRにより測定可能である。当該置換度は、質量分析、例えば、MALDIにより測定可能である。

【0110】

別の例示の実施形態において、本開示は、置換度が0～40であるシクロデキストリン二量体組成物を提供し、本組成物は、構造CD-L-CDのシクロデキストリン二量体を含み、式中、Lは、各CDサブユニットのC2炭素を通じて(R¹の代わりに)及び/またはC3炭素を通じて(R²の代わりに)各CD分子の大面(下底)と連結しており; 式中、各CDは、1つまたは複数の置換基で任意選択に置換された式Xの構造を有し、ただし、Lは、8個以下の原子の長さを有し、当該8個以下の原子はそれぞれ、好ましくは、C、N、O、またはSである。当該シクロデキストリン二量体組成物は、1つまたは複数の置換基で置換されたシクロデキストリン二量体組成物の合成に使用可能である。当該置換度は、NMRにより測定可能である。当該置換度は、質量分析、例えば、MALDIにより測定可能である。

【0111】

当該リンカーLは、以下の構造を有する場合があります:

10

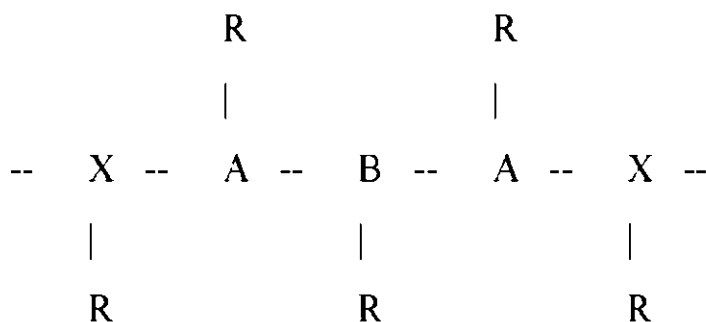
20

30

40

50

【化 1 2】



10

【0 1 1 2】

式中、各 R は、独立して、H、X、SH、NH、NH₂、または OH から選択されるか、あるいは存在せず；

【0 1 1 3】

各 CD とリンカーとの連結は、独立して、CD の C₂ または C₃ 炭素と連結した O、S、または N を通じてであるか、あるいは、CD の 2 個の隣接酸素を通じたアセタール結合を通じてであり；

【0 1 1 4】

各 X は、置換または無置換のアルカン、アルケン、もしくはアルキンであり；

【0 1 1 5】

各 A は、独立して、単結合、二重結合、または三重結合の共有結合、S、N、NH、O、あるいは置換または無置換のアルカン、アルケン、もしくはアルキンから選択され；ならびに

【0 1 1 6】

B は、置換または無置換の五員もしくは六員環、S、N、NH、NR、O であるか、あるいは存在しない。

【0 1 1 7】

当該リンカーの長さは、2～7 の場合がある。当該リンカーの長さは、3～6 の場合がある。当該リンカーの長さは、2 または 3 の場合がある。当該リンカーの長さは、4～7 の場合がある。当該リンカーの長さは、4～6 の場合がある。当該リンカーの長さは、4～5 の場合がある。当該リンカーの長さは、4 の場合がある。

30

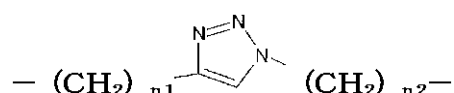
【0 1 1 8】

当該リンカーは、置換または無置換のアルキル、例えば、無置換アルキル、例えば、無置換ブチルの場合がある。当該リンカーは、トリアゾールを含む場合がある。

【0 1 1 9】

当該リンカーは、以下の構造：

【化 1 3】



40

(式 XI) を有する場合がある。n₁ 及び n₂ は、それぞれ、0～8、例えば、それぞれ 1～4 である場合がある。好ましくは、当該リンカーの全長は、8 以下、例えば、8、7、6、5、4、またはそれらの間の任意の数値範囲にあることが可能である。好適な実施形態において、n₁ は 1 であり、n₂ は 3 である。

【0 1 2 0】

例示の実施形態において、当該リンカーがトリアゾールを含む、例えば、式 XI の構造

50

を有する場合、当該リンカーLは、各CD単量体のO2位置で連結することができ、ただし、式中、n1及びn2は、それぞれ、0～8、例えば、それぞれ1～4であり、好ましくは、当該リンカーの全長は、8以下、例えば、8、7、6、5、4、またはそれらの間の任意の数値範囲にあることが可能であり、好適な実施形態において、n1は1であり、n2は3である。

【0121】

例示の実施形態において、当該リンカーが置換または無置換のアルキルを含み、好ましくは長さが原子8個以下、例えば2～7、2～6、または4～7もしくは4～6もしくは4～5であり、あるいは長さが8、7、6、5、4、3、もしくは2、またはそれらの間の任意の数値範囲にある場合、当該リンカーLは、各CD単量体のO2位置、一方のCD単量体のO2位置及び他方のCD単量体のO3位置、または両CD単量体のO3位置で連結することができ、ただし、好ましくは当該リンカーは、置換または無置換のブチル、より好ましくは無置換のブチルである。

【0122】

当該リンカーは、図8Dに描かれるリンカーのどれでも含むことができ、ただし、各リンカーの各末端に描かれる酸素原子は、リンカーが連結したシクロデキストリン単量体の一部を形成する。

【0123】

当該シクロデキストリン二量体組成物は、さらに、当該シクロデキストリン二量体が、
(a) 少なくとも1つのメチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、もしくは $-CH_2CH(OH)CH_2N(CH_3)_3^+$ などの第四級アンモニウム基、及び／または
(b) 少なくとも1つのアルキル、低級アルキル、アルキレン、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルコキシアルキル、アルコキシアルコキシアルキル、アルキルカルボニルオキシアルキル、アルキルカルボニル、アルキルスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、アルキルアミノ、アルコシアミノ、アルキルスルファニル、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキルアミノアルキル、ジアルキルアミノアルキル、アミノアルキル、アミノアルコキシ、アルキルスルホニルアミド、アミノカルボニルオキシアルキル、アミノスルホニル、アルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキニルアルコキシ、アリール、アリールアルキル、アリールスルホニル、アリーロキシ、アラールキルオキシ、シアノアルキル、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキルアルキル、シクロアルキレン、シクロアルキルアルキレン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールスルホニル、ヘテロアリーロキシ、ヘテロアラールキルオキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ハロゲン、ハロアルキル、ハロアルコキシ、ヘテロシクロアミノ、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロシクリルオキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ヒドロキシアルコキシ、ヒドロキシアルキルアミノ、ヒドロキシアルキルアミノアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキルオキシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシシクロアルキル、ウレイド、カルバマート、カルボキシ、スルホンアミド、ニトロ、シアノ、フェノキシ、アセチル基、アンモニウム、アンモニア、アジド、ブロモ、クロロ、デオキシ、グルコシル、ヨード、スルファート、スルフリル、ニトリト、ホスファート、ホスホリル、パルミトイル基などの脂肪酸、単糖、もしくは二糖、及び／または
(c) 少なくとも1つのメチル、ヒドロキシプロピル、スルホブチル、スクシニル、マルトシル、カルボキシメチル、第四級アンモニウム（例えば、 $-CH_2CH(OH)CH_2N(CH_3)_3^+$ ）、グルコシル、パルミトイル、ホスファート、ホスホリル、アミノ、アジド、スルファート、スルフリル、アルキル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、ブロモ、クロロ基で置換されていることができる。

【0124】

当該シクロデキストリン二量体組成物は、式I～式IX（それぞれ、図3B～図3J）のいずれか1つに従う構造を有するシクロデキストリン二量体を含むことができる。

【0125】

各 R^1 、各 R^2 、及び各 R^3 は、特に指定がない限り、独立して、(a) メチル、H、ヒドロキシプロピル、スルホブチルエーテル、スクシニル、スクシニルヒドロキシプロピル、 $-CH_2CH(OH)CH_2N(CH_3)_3^+$ などの第四級アンモニウム、カルボキシメチル、カルボキシメチルヒドロキシプロピル、ヒドロキシエチル、マルトシル、アセチル、カルボキシエチル、硫酸化、スルホプロピル、リン酸ナトリウム、もしくはグルコシル、及び／または (b) 水素、アルキル、低級アルキル、アルキレン、アルケニル、アルキニル、アルコキシ、アルコキシアルキル、アルコキシアルコキシアルキル、アルキルカルボニルオキシアルキル、アルキルカルボニル、アルキルスルホニル、アルキルスルホニルアルキル、アルキルアミノ、アルコキシアミノ、アルキルスルファニル、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アルキルアミノアルキル、ジアルキルアミノアルキル、アミノアルキル、アミノアルコキシ、アルキルスルホニルアミド、アミノカルボニルオキシアルキル、アミノスルホニル、アルキルアミノスルホニル、ジアルキルアミノスルホニル、アルキニルアルコキシ、アリール、アリールアルキル、アリールスルホニル、アリーロキシ、アラルキルオキシ、シアノアルキル、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキルアルキル、シクロアルキレン、シクロアルキルアルキレン、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールスルホニル、ヘテロアリーロキシ、ヘテロアラルキルオキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ハロゲン、ハロアルキル、ハロアルコキシ、ヘテロシクロアミノ、ヘテロシクリル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロシクリルオキシ、ヘテロシクリルアルコキシ、ヒドロキシアルコキシ、ヒドロキシアルキルアミノ、ヒドロキシアルキルアミノアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキルオキシカルボニルアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシシクロアルキル、ウレイド、カルバマート、カルボキシ、スルホンアミド、ニトロ、シアノ、フェノキシ、もしくはアセチル基から選択することができる。

【0126】

当該リンカー L は、各 CD 単量体の C2 炭素と連結することができる。当該リンカー L は、各 CD 単量体の C3 炭素と連結することができる。当該リンカー L は、一方の CD 単量体の C2 炭素及び他方の CD 単量体の C3 炭素と連結することができる。

【0127】

当該シクロデキストリン二量体組成物は、コレステロールに対してよりも高い親和性を 7KC に対して呈する可能性があり、任意選択で、当該親和性は、混濁度試験により測定される。

【0128】

当該シクロデキストリン二量体組成物は、コレステロールに対してよりも少なくとも 1.1 倍、1.5 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、または 10 倍強い親和性を、7KC に対して呈する可能性がある。当該シクロデキストリン二量体は、混濁度試験で、コレステロールと比べた 7KC の相対混濁度に、少なくとも 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、または 50%、またはそれ以上の低下を呈する可能性がある。

【0129】

当該置換度は、2 の場合がある。当該置換度は、3 の場合がある。当該置換度は、4 の場合がある。当該置換度は、5 の場合がある。当該置換度は、6 の場合がある。当該置換度は、7 の場合がある。当該置換度は、8 の場合がある。当該置換度は、9 の場合がある。当該置換度は、10 の場合がある。

【0130】

当該シクロデキストリン二量体組成物は、異なる置換基数及び／または異なるリンカー結合点を個別に有するシクロデキストリン二量体分子の混合物を含む場合があり、この場合、組成物の平均置換度は、指定されるとおりである。

【0131】

別の態様において、本開示は、本明細書中開示されるとおりのシクロデキストリン二量体組成物及び薬学上許容されるキャリアを含む医薬組成物を提供する。当該医薬組成物は

10

20

30

40

50

、例えば、非経口（例えば、皮下、筋肉内、もしくは静脈内）、外用、経皮、経口、舌下、または頬側投与、好ましくは静脈内または皮下投与、より好ましくは静脈内投与で対象に投与するのに適している場合がある。当該シクロデキストリン二量体組成物は、当該組成物中の唯一の活性成分である場合がある。当該医薬組成物は、当該シクロデキストリン二量体及び当該薬学上許容されるキャリアからなる、または本質的にそれらからなる場合がある。

【0132】

別の態様において、本開示は、治療を必要としている対象に、本明細書中開示されるとおりのシクロデキストリン組成物を有効量で投与することを含む治療法を提供する。当該対象は、7KCの有害または毒性効果あるいは7KCの有害または毒性効果に関連した症状に苦しんでいる場合がある。

10

【0133】

別の態様において、本開示は、7KC量の減少を必要としている対象に、本明細書中開示されるとおりのシクロデキストリン二量体組成物または本明細書中開示されるとおりのシクロデキストリン二量体組成物を含む医薬組成物を有効量で投与することを含む、7KC量の減少を必要としている対象における7KC量の減少法を提供する。

【0134】

当該シクロデキストリン二量体組成物は、当該対象に、非経口（例えば、皮下、筋肉内、もしくは静脈内）、外用、経皮、経口、舌下、または頬側投与を介して、好ましくは、静脈内投与で投与することができる。

20

【0135】

当該方法は、（a）当該対象に、当該シクロデキストリン二量体組成物を約1mg～20g、例えば、10mg～1g、50mg～200mg、または100mg、あるいは（b）当該シクロデキストリン二量体組成物を1～10g、例えば、約2g、約3g、約4g、または約5g、あるいは（c）当該シクロデキストリン二量体組成物を50mg～5g、例えば、100mg～2.5g、100mg～2g、250mg～2.5g、当該対象に投与することを含むことができる。

【0136】

当該方法は、粥状動脈硬化／冠動脈疾患、動脈硬化症、冠動脈石灰化病変による冠状動脈硬化症、心不全（全段階）、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、ハンチントン病、血管性認知症、多発性硬化症、スミス・レムリ・オピッツ症候群、小児性神経セロイドリポフスチン沈着症、リソソーム酸リパーゼ欠損症、脳腱黄色腫症、X連鎖副腎白質ジストロフィー、鎌状赤血球症、ニーマン・ピック病A型、ニーマン・ピック病B型、ニーマン・ピック病C型、ゴーシェ病、シュタルガルト病、加齢黄斑変性症（萎縮型）、突発性肺線維症、慢性閉塞性肺疾患、嚢胞性線維症、肝損傷、肝不全、非アルコール性脂肪性肝炎、非アルコール性脂肪性肝疾患、過敏性腸症候群、クローン病、潰瘍性大腸炎、及び／または高コレステロール血症のうち1種または複数についてその症候を予防、治療、及び／または寛解させるために使用される場合があり、任意選択で、当該治療は、別の治療と併用投与される。当該方法は、当該対象に第二治療を投与することを含む場合があり、当該第二治療は、同時にまたはいずれかの順序で順次投与することができる。

30

40

【0137】

当該方法は、粥状動脈硬化の症候を予防、治療、及び／または寛解させるためのものである場合がある。当該シクロデキストリン二量体組成物は、粥状動脈硬化の治療または予防用の別の治療、例えば、抗コレステロール薬、降圧薬、抗血小板薬、栄養補助食品、または手術もしくは行動介入、と併用投与される場合があり、そのような別の治療として、本明細書中記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。当該抗コレステロール薬は、フィブラート系もしくはスタチン系薬剤、抗血小板薬、降圧薬、または栄養補助食品を含む場合がある。当該スタチン系薬剤は、ADVICOR（R）（ナイアシン徐放性／ロバスタチン）、ALTOPREV（R）（ロバスタチン徐放性）、CADUET（

50

R) (アムロジピン・アトルバスタチン合剤)、CRESTOR (R) (ロスバスタチン)、JUVISYNC (R) (シタグリプチン／シンバスタチン)、LESCOL (R) (フルバスタチン)、LESCOL XL (フルバスタチン徐放性)、LIPITOR (R) (アトルバスタチン)、LIVALO (R) (ピタバスタチン)、MEVACOR (R) (ロバスタチン)、PRAVACHOL (R) (プラバスタチン)、SIMCOR (R) (ナイアシン徐放性／シンバスタチン)、VYTORIN (R) (エゼチミブ／シンバスタチン)、またはZOCOR (R) (シンバスタチン)を含む場合がある。

【0138】

当該方法は、萎縮型加齢黄斑変性症の症候を予防、治療、及び／または寛解させるためのものである場合がある。当該方法は、シュタルガルト病の症候を予防、治療、及び／または寛解させるためのものである場合がある。当該シクロデキストリン二量体組成物は、萎縮型AMDまたはシュタルガルト病の治療または予防用の別の治療、例えば、LBS-008 (Belite Bio) (レチノール結合タンパク質4の非レチノイドアンタゴニスト)、ビタミンC及びビタミンE、ベータカロテン、亜鉛、及び銅を含むAREDS栄養補助処方、ビタミンC及びビタミンE、亜鉛、銅、ルテイン、ゼアキサントール、及びオメガ3脂肪酸を含む栄養補助処方を含むAREDS2栄養補助処方、またはそれらの組み合わせと併用投与される場合がある。

【0139】

当該方法は、ニーマン・ピック病の症候を予防、治療、及び／または寛解させるためのものである場合がある。当該シクロデキストリン二量体組成物は、ニーマン・ピック病の治療または予防用の別の治療、例えば、ミグルスタット (ZAVESCA (R))、HPβCD (TRAPPSOL CYCLO、VTS-270)、及び理学療法のうち1種または複数と併用投与される場合がある。

【0140】

当該方法は、アルツハイマー病の症候を予防、治療、及び／または寛解させるためのものである場合がある。当該シクロデキストリン二量体組成物は、アルツハイマー病の治療または予防用の別の治療、例えば、コリンエステラーゼ阻害剤 (ARICEPT (R)、EXELON (R)、RAZADYNE (R))、及びメマンチン (NAMENDA (R)) またはそれらの組み合わせと併用投与される場合がある。

【0141】

当該方法は、心不全の症候を予防、治療、及び／または寛解させるためのものである場合がある。当該シクロデキストリン二量体組成物は、心不全の治療または予防用の別の治療、例えば、1種または複数のアルドステロンアンタゴニスト、ACE阻害剤、ARB (アンジオテンシンII受容体遮断薬)、ARNI (アンジオテンシン受容体ネプリライシン阻害剤)、ベータ遮断薬、血管拡張薬、カルシウムチャネル遮断薬、ジゴキシン、利尿薬、心臓ポンプ薬物、カリウム、マグネシウム、選択的洞結節阻害剤、またはそれらの組み合わせと併用投与される場合がある。

【0142】

別の態様において、本開示は、本明細書中記載されるとおりのシクロデキストリン二量体組成物、例えば、無置換または置換アルキルリンカーを有するシクロデキストリン二量体組成物の作製法を提供し、本方法は、以下を含む：(a) 上底が保護されたβ-シクロデキストリンを、ジアルキル化剤と反応させ、それにより下底を通じて連結された上底保護βCD二量体を生成すること、及び任意選択で、当該上底保護βCD二量体を精製すること；(b) 当該上底保護βCD二量体を脱保護し、それにより脱保護βCD二量体を生成すること、及び任意選択で、当該脱保護βCD二量体を精製すること；ならびに(c) 当該脱保護βCDをヒドロキシプロピル化し、それによりシクロデキストリン二量体組成物を生成すること、及び任意選択で、当該シクロデキストリン二量体組成物を精製すること。上底が保護された当該β-シクロデキストリンは、ヘプタキス(6-O-tert-ブチルジメチルシリル)-β-シクロデキストリンを含む場合がある。当該ジアルキル化剤は、ジブロモアルカン、任意選択で1,4-ジブロモブタンを含む場合がある。工程(

10

20

30

40

50

a) は、無水条件で及び／または塩基として水素化ナトリウムを用いて行う場合がある。工程 (a) の当該精製は、均一溶媒溶出させる順相クロマトグラフィーを含む場合がある。工程 (b) は、テトラヒドロフラン (THF) 中、テトラブチルアンモニウムフルオリドを用いて行う場合がある。工程 (b) の当該精製は、均一溶媒溶出させる順相クロマトグラフィーを含む場合がある。工程 (c) は、当該脱保護 β CD 二量体を、プロピレンオキシドなどのヒドロキシプロピル化剤、ヨウ化メチルなどのメチル化試薬、無水コハク酸などのスクシニル化試薬、1, 4-ブタンスルホンなどのスルホブチル化試薬、及び／またはグリシジルトリメチルアンモニウム＝クロリドなどの第四級アンモニウム連結試薬と反応させることを含む場合がある。当該シクロデキストリン二量体組成物は、本明細書中開示されるとおりのシクロデキストリン二量体組成物である場合がある。当該シクロデキストリン二量体組成物は、置換基による置換度が1～40、例えば、1～28または4～20、好ましくは2～15、より好ましくは2～5または2～10である場合がある。

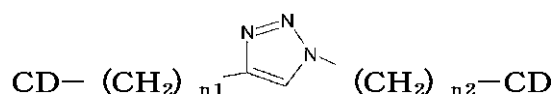
【0143】

工程 (c) は、水性条件で行う場合があり、任意選択で、塩基として水酸化ナトリウムを含む場合がある。工程 (c) は、イオン交換樹脂処理、活性炭清澄化、及び透析のうち1種または複数を含む場合がある。

【0144】

別の態様において、本開示は、本明細書中記載されるとおりのシクロデキストリン二量体組成物、例えば、トリアゾールリンカーを有するシクロデキストリン二量体組成物の作製法を提供し、本方法は、以下を含む：(a) 2-O-(n-アジドアルキル)- β CD と 2-O-(n-アルキン)- β CD を反応させ、それにより、構造 β CD-a lk 1-トリアゾール-a lk 2- β CD を有する β CD-トリアゾール- β CD 二量体を形成させること、及び任意選択で (b) 当該 β CD-トリアゾール- β CD 二量体を精製すること。工程 (a) は、銅 (I) 触媒、任意選択で、約 15 mM の銅 (I) のものを用いて行う場合がある。工程 (a) は、水性溶液中で行う場合がある。水性溶液は、ジメチルホルムアミド (DMF) を、任意選択で約 50 % DMF (v/v) を含む場合がある。工程 (b) は、クロマトグラフィーを含む場合がある。当該方法は、さらに、工程 (a) の前に、当該 2-O-(n-アジドアルキル)- β CD を生成させることを含む場合があり、生成させるための方法は、以下を含む：(1) 任意選択で触媒量のヨウ化リチウムを用いて、n-アジド-1-ブromo-アルカンを、 β -シクロデキストリンと反応させ、それにより、当該 2-O-(n-アジドアルキル)- β CD を生成させること；及び (2) 任意選択で、当該 2-O-(n-アジドアルキル)- β CD を精製すること。工程 (2) は、クロマトグラフィーを含む場合がある。当該方法は、さらに、工程 (a) の前に、2-O-(n-アルキン)- β CD を生成させることを含む場合があり、生成させるための方法は、以下を含む：(i) 任意選択で触媒量のヨウ化リチウムを用いて、n-bromo-1-アルキンを β -シクロデキストリンと反応させ、それにより、当該 2-O-(n-アルキン)- β CD を生成させること、及び (ii) 任意選択で、当該 2-O-(n-アルキン)- β CD を精製すること。工程 (2) は、シリカゲルクロマトグラフィーを含む場合がある。工程 (1) は、乾燥 DMSO 中で行う場合がある。工程 (1) の反応は、水素化リチウムを含む場合がある。当該 β CD-トリアゾール- β CD 二量体は、以下の構造：

【化14】



(式XII)を含む場合があり、式中、n1は1～8が可能であり、及び／またはn2は1～8が可能であり、任意選択で、n1は1、2、3、または4が可能であり、及び／またはn2は1、2、3、または4が可能であり、好ましくは、n1は1であり、n2は3である。当該トリアゾールリンカーの長さは、5～8が可能である。当該方法は、さらに

、当該βCD-トリアゾール-βCD二量体組成物をヒドロキシプロピル化し、それによりシクロデキストリン二量体組成物を生成させること、及び任意選択で、当該シクロデキストリン二量体組成物を精製することを含む場合がある。工程(c)は、当該βCD-トリアゾール-βCD二量体を、プロピレンオキシドなどのヒドロキシプロピル化剤、ヨウ化メチルなどのメチル化試薬、無水コハク酸などのスクシニル化試薬、1,4-ブタンソルトンなどのスルホブチル化試薬、及び／またはグリシジルトリメチルアンモニウムクロリドなどの第四級アンモニウム連結試薬と反応させることを含む場合がある。当該シクロデキストリン二量体組成物は、本明細書中開示されるとおりのシクロデキストリン二量体組成物である場合がある。当該シクロデキストリン二量体組成物は、置換基による置換度が1~40、例えば、1~28または4~20、好ましくは2~15、より好ましくは2~5または2~10である場合がある。

10

【0145】

工程(c)は、水性条件で行う場合があり、任意選択で、塩基として水酸化ナトリウムを含む場合がある。工程(c)の当該精製は、イオン交換樹脂処理、活性炭清澄化、膜濾過、及び透析のうち1種または複数を含む場合がある。

【0146】

別の態様において、本開示は、当該CD（例えば、本開示のHPβCDまたは別のCD）二量体を含む医薬組成物を提供する。

【0147】

別の態様において、本開示は、本明細書中開示されるとおりのシクロデキストリン二量体及び疎水性薬物を含む医薬組成物を提供する。当該疎水性薬物は、ホルモンまたはステロイド、例えば、エストロゲン、エストロゲン類似体などを含む場合がある。当該シクロデキストリン二量体は、当該疎水性薬物を可溶化するのに有効な量で存在することができる。

20

【0148】

「薬学上許容される」という語句は、本明細書中、合理的な医学的判断の範囲内で、生きている生物または生きている生体組織に投入するのに適切であり、好ましくは重大な毒性、刺激、またはアレルギー反応を伴わない、化合物、材料、組成物、及び／または剤形を示すのに使用される。本発明は、患者にシクロデキストリン二量体を投与することを含む方法を包含し、方法中、シクロデキストリン二量体は、医薬組成物中に含まれている。本発明の医薬組成物は、薬学上許容されるキャリア、賦形剤、及び適切な輸送、送達、耐性などを提供する他の作用剤とともに配合されている。適切な配合物は、薬化学者に既知の処方集、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Paにおいて、多数見つけることが可能である。こうした配合物として、例えば、散剤、ペースト剤、軟膏、ゼリー剤、ワックス剤、油剤、脂質、脂質（カチオン性またはアニオン性）含有小胞（例えば、LIPOFECTIN（商標））、DNA複合体、無水吸収ペースト剤、水中油及び油中水乳剤、カーボワックス乳剤（種々分子量のポリエチレングリコール）、半固体ゲル、ならびにカーボワックス含有半固体混合物が挙げられる。（Powell [et al.], J. Pharm. Sci. Technol., 52: 238-311, (1998)）も参照。

30

40

【0149】

「薬学上許容されるキャリア」という語句は、本明細書中使用される場合、概して、活性作用剤を身体に導入するのに有用な、薬学上許容される組成物、例えば、液体もしくは固体の充填剤、希釈剤、賦形剤、製造助剤（例えば、潤滑剤、タルク、マグネシウム、ステアリン酸カルシウムもしくはステアリン酸亜鉛、またはステアリン酸）、または溶媒封入材料を示す。各キャリアは、配合物中の他の成分と適合性があり、患者にとって有害ではないという意味において、「許容できる」ものでなければならぬ。本発明の医薬組成物に使用可能な水性及び非水性の適切なキャリアの例として、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）

50

、植物油（例えば、オリーブ油）、及び注射用有機エステル（例えば、オレイン酸エチル）、ならびにそれらの適切な混合物が挙げられる。適切な流動性は、例えば、レシチンなどの被覆材料を使用することにより、分散剤の場合は必要な粒子径を維持することにより、及び界面活性剤を使用することにより、維持することができる。

【0150】

薬学上許容されるキャリアとなり得る材料の他の例として、以下が挙げられる：（１）糖類、例えば、ラクトース、グルコース、及びスクロースなど、（２）デンプン、例えば、コーンデンプン及びジャガイモデンプンなど、（３）セルロース及びその誘導体、例えば、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、エチルセルロース、及び酢酸セルロースなど、（４）粉末トラガカント、（５）モルト、（６）ゼラチン、（７）タルク、（８）賦形剤、例えば、カカオバター及び坐剤ワックスなど、（９）油、例えば、ピーナッツ油、綿実油、サフラワー油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油、及び大豆油など、（１０）グリコール、例えば、プロピレングリコールなど、（１１）ポリオール、例えば、グリセリン、ソルビトール、マンニトール、及びポリエチレングリコールなど、（１２）エステル、例えば、オレイン酸エチル及びラウリン酸エチルなど、（１３）寒天、（１４）緩衝剤、例えば、水酸化マグネシウム及び水酸化アルミニウムなど、（１５）アルギン酸、（１６）パイロジェンを含まない水、（１７）等張性生理食塩水、（１８）リンガー溶液、（１９）エチルアルコール、（２０）pH緩衝液、（２１）ポリエステル、ポリカーボネート、及び／またはポリ無水物、ならびに（２２）医薬配合物で使用される他の無毒で適合性のある物質。

【0151】

様々な助剤、例えば、湿潤剤、乳化剤、潤滑剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム及びステアリン酸マグネシウム）、着色剤、離型剤、被覆剤、甘味剤、香味剤、保存剤、及び抗酸化剤なども、医薬組成物に含ませることができる。薬学上許容される抗酸化剤の例の一部として、以下が挙げられる：（１）水溶性抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸、システイン塩酸塩、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウムなど、（２）油溶性抗酸化剤、例えば、パルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール（ＢＨＡ）、ブチル化ヒドロキシトルエン（ＢＨＴ）、レシチン、没食子酸プロピル、アルファートコフェロールなど、及び（３）金属キレート化剤、例えば、クエン酸、エチレンジアミンテトラ酢酸（ＥＤＴＡ）、ソルビトール、酒石酸、リン酸など。実施形態によっては、医薬配合物は、例えば、セルロース、リポソーム、ミセル形成剤（例えば、胆汁酸）、ならびに重合体キャリア、例えば、ポリエステル及びポリ無水物から選択される賦形剤を含む。懸濁剤は、活性化合物に加えて、懸濁化剤、例えば、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビトール及びソルビタンエステル、結晶セルロース、アルミニウムメタヒドロキシド、ベントナイト、寒天及びトラガカント、ならびにそれらの混合物を含有する場合がある。活性化合物での微生物の活動は、様々な抗細菌剤及び抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノールソルビン酸などを含ませることにより、確実に防ぐことができる場合がある。等張化剤、例えば、糖類、塩化ナトリウムなどを組成物に含ませることもまた、望ましい場合がある。また、吸収を遅らせる作用剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンを含ませることにより、長期吸収される注射剤形をもたらすことができる。

【0152】

本発明の医薬配合物は、製薬分野で既知の任意の方法により調製することができる。単一剤形を製造するためにキャリア材料と混合することが可能な、活性成分（すなわち、ＣＤ二量体、例えば、本開示のＨＰβＣＤ二量体または別のＣＤ二量体など）量は、治療される宿主及び特定の投与様式に応じて変化することになる。単一剤形を製造するためにキャリア材料と混合することが可能な活性成分量は、一般に、治療効果をもたらす化合物量になる。活性化合物の量は、約０．１～９９．９％の範囲、より典型的には、約８０～９９．９％、より典型的には、約９９％の場合がある。活性化合物の量は、約０．１～９９％、より典型的には、約５～７０％、より典型的には、約１０～３０％の範囲の場合があ

10

20

30

40

50

る。例示の実施形態において、濃度 0.5%~0.001%、例えば、0.12%~0.0105%、例えば、約 0.01% (W/V) の水溶液である静脈内投与用の剤形が提供される。例示の実施形態において、濃度 2.5%~0.25%、例えば 2%~0.5%、例えば、約 1% (W/V) の水溶液である静脈内投与用の剤形が提供される。例示の実施形態において、最大 500 mL の 1% 溶液 (W/V) を静脈内投与するための剤形が提供され、これは結果的に最大 5 グラムの投薬量になる。

【0153】

例示の実施形態において、シクロデキストリン二量体は、1 mg~10 g、例えば、10 mg~1 g、100 mg~500 mg の量で患者に投与することができる。例示の実施形態において、シクロデキストリン二量体約 400 mg を投与することができる。例示の実施形態において、シクロデキストリン二量体 1~10 g、例えば、約 2 g、約 3 g、約 4 g、または約 5 g を投与することができる。例示の実施形態において、シクロデキストリン二量体 50 mg~5 g、例えば、100 mg~2.5 g、100 mg~2 g、250 mg~2.5 g、例えば、約 1 g を投与することができる。

【0154】

例示の実施形態は、単一剤形を提供し、この剤形は、上記量のシクロデキストリン二量体を含むことができ、この剤形は、個別投与用に包装することができ、任意選択で、さらに、薬学上許容されるキャリアまたは賦形剤を含む。当該単一剤形中の当該シクロデキストリン二量体の合計量は、上記に提示されるとおりであることが可能であり、例えば、シクロデキストリン二量体 1 mg~10 g、例えば、10 mg~1 g、100 mg~500 mg、1~10 g、50 mg~5 g、100 mg~2.5 g、100 mg~2 g、250 mg~2.5 g、例えば、約 1 g、2 g、約 3 g、約 4 g、または約 5 g である。

【0155】

経口投与に適した本発明の配合物は、カプセル剤、カシェ剤、丸剤、錠剤、ロゼンジ剤（香味基材、通常は、スクロースとアカシアゴムまたはトラガカントとを使用）、散剤、粒剤の形状、あるいは水性または非水性液体中の液剤もしくは懸濁剤として、あるいは水中油または油中水液状乳剤として、あるいはエリキシル剤またはシロップ剤として、またはトローチ剤として（不活性基材、例えば、ゼラチンとグリセリン、またはスクロースとアカシアゴムを使用）、及び／または洗口液などの形状にあることが可能であり、それぞれ、活性成分として本発明の化合物を予め定めた量で含有する。活性化合物は、ボーラス投与、舐剤、またはペースト剤として投与することも可能である。

【0156】

こうした配合物または組成物の調製法は、一般に、本発明の化合物をキャリアと、及び任意選択で 1 種または複数の助剤と混合する工程を含む。固体剤形（例えば、カプセル剤、錠剤、丸剤、散剤、粒剤、トローチ剤など）の場合、活性化合物を、微粉化された固体キャリアと混合し、そして典型的には、成形する、例えば、ペレット化、打錠、顆粒化、粉末化、または被覆することができる。一般に、固体キャリアとして、例えば、クエン酸ナトリウムまたはリン酸二カルシウム、及び／または以下のいずれかを挙げることができる：（1）充填剤または増量剤、例えば、デンプン、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール、及び／またはケイ酸など、（2）結合剤、例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロース、及び／またはアカシアゴムなど、（3）保湿剤、例えば、グリセロールなど、（4）崩壊剤、例えば、寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモもしくはタピオカデンプン、アルギン酸、ある種のケイ酸塩、及び炭酸ナトリウムなど、（5）溶解遅延剤（solution retarding agent）、例えば、パラフィンなど、（6）吸収促進剤、例えば、第四級アンモニウム化合物及び界面活性剤など、例えば、ポロキサマー及びラウリル硫酸ナトリウムなど、（7）湿潤剤、例えば、セチルアルコール、モノステアリン酸グリセロール、及び非イオン性界面活性剤など、（8）吸収剤、例えば、カオリン及びベントナイト粘土など、（9）潤滑剤、例えば、タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固形ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸亜鉛、ステ

アリン酸ナトリウム、ステアリン酸、及びこれらの混合物など、(10)着色剤、ならびに(11)放出制御剤、例えば、クロスポビドンまたはエチルセルロースなど。カプセル剤、錠剤、及び丸剤の場合、医薬組成物は、緩衝剤も含むことができる。ラクトースまたは乳糖などの賦形剤、ならびに高分子量ポリエチレングリコールなどを用いる軟及び硬殻ゼラチンカプセル剤の充填剤と同種の固形組成物も、使用される場合がある。

【0157】

錠剤は、任意選択で1種または複数の助剤成分とともに、圧縮または成形により製造することができる。圧縮錠剤は、結合剤（例えば、ゼラチンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロース）、潤滑剤、不活性希釈剤、保存剤、崩壊剤（例えば、デンプングリコール酸ナトリウムまたは架橋ナトリウムカルボキシメチルセルロース）、界面活性剤、または分散剤を用いて製剤することができる。

10

【0158】

錠剤、及び活性作用剤の他の固形剤形、例えば、カプセル剤、丸剤、及び粒剤は、任意選択で、コーティング及び殻、例えば、腸溶コーティング及び医薬製造分野で周知の他のコーティングを用いて、表面加工（scored）または製剤することができる。こうした剤形は、剤形中の活性成分の徐放または制御放出をもたらすように配合することもでき、例えば、所望の放出プロファイルをもたらすためにヒドロキシプロピルメチルセルロースを様々な割合で使用したり、他の重合体マトリクス、リポソーム、及び／または微小球体を使用したりする。こうした剤形は、代替的に、急速放出用に配合することもでき、例えば、凍結乾燥することができる。

20

【0159】

一般に、剤形は滅菌されていることが必要である。この目的のため、剤形は、例えば、細菌捕集フィルターでの濾過により、あるいは使用直前に滅菌水または他のある種の滅菌注射媒体に溶解可能な滅菌固形組成物の形状で滅菌剤を組み込むことにより、滅菌することができる。医薬組成物は、不透明剤も含有することができ、活性成分（複数可）を、胃腸管の特定部分においてのみまたはそこで優先的に、任意選択で遅延した様式で、放出する組成物であることもできる。使用可能な包埋組成物の例として、重合体物質及びワックスが挙げられる。活性成分は、マイクロカプセル化形状にあることも可能であり、適宜、上記の賦形剤の1種または複数を伴う。

【0160】

30

液状剤形は、典型的には、活性作用剤の薬学上許容される乳剤、マイクロ乳剤、液剤、懸濁剤、シロップ剤、またはエリキシル剤である。液状剤形は、活性成分に加えて、当該分野で一般的に使用される不活性希釈剤、例えば、水または他の溶媒、可溶化剤、及び乳化剤、例えば、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、油（詳細には、綿実油、落花生油、コーン油、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油、及びゴマ油）、グリセロール、テトラヒドロフリルアルコール、ポリエチレングリコール、及びソルビタン脂肪酸エステル、ならびにこれらの混合物を含有することができる。

【0161】

外用または経皮投与を特に目的とする剤形は、例えば、散剤、スプレー剤、軟膏、ペースト剤、クリーム剤、ローション剤、ゲル剤、液剤、またはパッチの形状にあることが可能である。眼用配合物、例えば、眼軟膏、散剤、液剤なども、本明細書中企図される。活性化合物は、滅菌条件下、薬学上許容されるキャリアと、及び必要であれば任意の保存剤、緩衝剤、または噴射剤と混合することができる。外用または経皮剤形は、本発明の活性化合物に加えて、1種または複数の賦形剤、例えば、動植物油脂、ワックス、パラフィン、デンプン、トラガカント、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコン、ベントナイト、ケイ酸、タルク、及び酸化亜鉛、ならびにこれらの混合物から選択されるものなどを含有することができる。スプレー剤は、通常の噴射剤、例えば、クロロフルオロ炭化水素ならびに揮発性無置換炭化水素、例えば、ブタン及びプロパンなども含有することができる。

40

50

【0162】

本発明の目的に関して、経皮パッチは、本発明の化合物を身体に制御送達できるという利点を提供することができる。当該剤形は、化合物を適切な媒体に溶解または分散させることにより作製可能である。皮膚を横断する化合物の流動を増加させるため吸収促進剤も使用可能である。そのような流動速度は、速度制御膜を使用する、または化合物を重合体マトリクスもしくはゲルに分散させる、いずれかにより制御可能である。

【0163】

非経口投与に適した本発明の医薬組成物は、一般に、本発明の1種または複数の化合物を、1種または複数の薬学上許容される滅菌等張性の水性もしくは非水性の溶液、分散液、懸濁液、または乳濁液と、あるいは使用前に滅菌注射液または分散液に再構築することが可能な滅菌粉末と組み合わせて含み、そのような滅菌粉末は、糖類、アルコール、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、または配合物を目的のレシピエントの血液と等張性にする溶質を含有することができる。

10

【0164】

場合によっては、薬物の効果を長期化する目的で、皮下または筋肉内注射からの薬物吸収を遅くすることが望ましい。これは、水溶性の乏しい結晶性または非晶質材料の液状懸濁剤を使用することにより達成可能である。その場合、薬物の吸収速度は、溶解速度に依存し、したがって、結晶寸法及び結晶形に依存する可能性がある。あるいは、非経口投与される剤形の吸収遅延は、薬物を油性ビヒクルに溶解または懸濁させることにより達成される。

20

【0165】

注射用デポー剤形は、活性化合物がポリラクチド-ポリグリコリドなどの生分解性重合体に含まれているマイクロカプセル化マトリクスを形成することにより作製可能である。薬物対重合体比、及び使用される特定重合体の性質に応じて、薬物放出速度を制御することができる。他の生分解性重合体の例として、ポリ（オルトエステル）及びポリ（無水物）が挙げられる。デポー注射配合物は、身体組織と適合性であるリポソームまたはマイクロ乳剤中に薬物を捕捉させることによっても調製される。

【0166】

医薬組成物は、マイクロ乳剤の形状にあることも可能である。マイクロ乳剤の形状では、活性作用剤の生体利用度が改善される可能性がある。参照として（Dorunoo [et al.], Drug Development and Industrial Pharmacy, 17 (12): 1685-1713 (1991)）及び（Sheen [et al.], J. Pharm. Sci., 80 (7): 712-714, (1991)）が挙げられ、これらの内容は、そのまま全体が本明細書中参照として援用される。

30

【0167】

医薬組成物は、本発明の化合物及び少なくとも1種の両親媒性キャリアから形成されたミセルを含有することもでき、この場合、ミセルは、約100 nm未満の平均径を有する。実施形態によっては、ミセルは、約50 nm未満の平均径、または約30 nm未満の平均径、または約20 nm未満の平均径を有する。

【0168】

任意の適切な両親媒性キャリアが本明細書中考慮されるものの、両親媒性キャリアは、概して、一般に安全と認められる（GRAS）地位が承認済みであり、本発明の化合物を溶解すること及びその後の段階で溶液が複雑水相（例えば、生きている生体組織中に見られるもの）と接触したときにそれをマイクロ乳化することの両方が可能であるものである。通常、これらの必要条件を満たす両親媒性成分は、HLB（親水性対親油性バランス）値が2～20であり、それらの構造には、C-6～C-20の範囲の直鎖脂肪族ラジカルが含まれている。両親媒性剤の例の一部として、ポリエチレングリコール化脂肪グリセリド及びポリエチレングリコールが挙げられる。

40

【0169】

特に好適な両親媒性キャリアは、飽和及びモノ不飽和ポリエチレングリコール化脂肪酸

50

グリセリド、例えば、様々な植物油を完全または部分水素化することにより得られるものである。当該油は、有利なことに、トリ、ジ、及びモノ脂肪酸グリセリド、ならびに対応する脂肪酸のジ及びモノポリエチレングリコールエステルからなる場合があり、特に好適な脂肪酸組成物は、カプリン酸 4～10%、カプリン酸 3～9%、ラウリン酸 40～50%、ミリスチン酸 14～24%、パルミチン酸 4～14%、及びステアリン酸 5～15%を含む。両親媒性キャリアの別の有用なクラスは、飽和もしくはモノ不飽和脂肪酸（SPANシリーズ）または対応するエトキシ化類似体（TWEENシリーズ）を用いた、部分エステル化ソルビタン及び／またはソルビトールを含む。市販されている両親媒性キャリアが特に企図されており、そのようなキャリアとして、Gelucire（登録商標）シリーズ、Labrafil（登録商標）、Labrasol（登録商標）、または Laurglycol（登録商標）、PEG-モノオレアート、PEG-ジオレアート、PEG-モノラウラート及びジラウラート、レシチン、ポリソルベート 80 が挙げられる。

【0170】

CD（例えば、本開示のHPβCDまたは別のCD）二量体は、任意の適切な手段により投与することができる。好適な投与経路として、非経口（例えば、皮下、筋肉内、または静脈内）、外用、経皮、経口、舌下、または頬側が挙げられる。当該投与は、眼（例えば、点眼液の形状にある）、硝子体内、後眼窩、網膜下、強膜下用である場合もあり、これらは、AMDなどの眼疾患の場合に好適である可能性がある。

【0171】

CD（例えば、本開示のHPβCDまたは別のCD）二量体は、対象に投与される場合もあれば、*in vitro*で使用される、例えば、動物から取り出された細胞または組織に使用される場合もある。次いで、当該細胞または組織を、対象に導入することができるが、当該細胞または組織を取り出したのがその対象であるか別の個体であるかは問わず、ただし別の個体は、好ましくは同種のものである。

【0172】

治療を受ける対象（すなわち、患者）は、典型的には、動物、一般的には、哺乳類、好ましくは、ヒトである。対象は、非ヒト動物であることも可能であり、非ヒト動物として、全ての脊椎動物、例えば、哺乳類及び非哺乳類、例えば、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ニワトリ、両生類、及び爬虫類が挙げられる。実施形態によっては、対象は、家畜、例えば、ウシ、ブタ、ヒツジ、家禽、及びウマなど、または伴侶動物、例えば、イヌ及びネコなどである。対象は、遺伝子的にオスでもメスでもよい。対象は、任意の年齢であることが可能であり、例えば、高齢（一般に、少なくとも60歳、70歳、または80歳以上）、成人から高齢に移行段階の年齢の対象、成人、成人前から成人に移行段階の年齢の対象、及び若年（例えば、13歳から、16、17、18、または19歳まで）を含む成人前、小児（一般に、13歳以下または思春期前）、ならびに乳幼児である。対象はまた、任意の人種集団または遺伝子型に属するものであることが可能である。ヒト人種集団の例の一部として、コーカサス人種、アジア人種、ラテンアメリカ人種、アフリカ人種、アフリカ系アメリカン、ネイティブアメリカン、セム族、及び太平洋諸島民族が挙げられる。本発明の方法は、一部の人種集団、例えば、コーカサス人種、特に北欧人種集団、及びアジア人種集団により適切である場合がある。

【0173】

本開示は、本明細書中記載される二量体型CD（例えば、本開示のHPβCDまたは別のCD）のさらなる置換を含む。化学修飾は、二量体化の前に行う場合も後に行う場合もある。シクロデキストリンの化学修飾は、適切に官能基導入されたシクロデキストリンに化学試薬（求核試薬または求電子試薬）を反応させることにより、天然ベータシクロデキストリン環に直接行うことが可能である（Adair-Kirk [et al.], Nat. Med., 14 (10): 1024-5, (2008)）;（Khan, [et al.], Chem. Rev., 98 (5): 1977-1996, (1998)）。これまでに、1,500を超えるシクロデキストリン誘導体が、天然シクロデキストリンの化学修飾により作成されている。シクロデキストリンは、新規合成により調製することも可

10

20

30

40

50

能であり、新規合成は、グルコピラノース連結したオリゴピラノシドから開始する。そのような合成は、各種化学試薬または生物学的酵素、例えば、シクロデキストリントランスグリコシラーゼなどを用いて達成することができる。薬物送達系における薬物キャリアとしての化学修飾シクロデキストリンについての概説は、例えば、(Stella, [et al.], Toxicol. Pathol., 36(1):30-42, (2008))に記載されており、その開示は、そのまま全体が本明細書中参照として援用される。米国特許第3,453,259号及び同第3,459,731号は、電気的中性シクロデキストリンを記載しており、それらの開示は、そのまま全体が本明細書中参照として援用される。他の誘導体として、カチオン性質を持つシクロデキストリン、米国特許第3,453,257号に開示のとおり；不溶性架橋シクロデキストリン、米国特許第3,420,788号に開示のとおり；及びアニオン性質を持つシクロデキストリン、米国特許第3,426,011号に開示のとおり、が挙げられ、これらの開示は全て、そのまま全体が本明細書により参照として援用される。アニオン性質を持つシクロデキストリン誘導体の中では、カルボン酸、亜リン酸、亜ホスフィン酸、ホスホン酸、リン酸、チオホスホン酸、チオスルフィン酸、及びスルホン酸が、親シクロデキストリンに付加されたことがあり、例えば、米国特許第3,426,011号に開示されるとおりである。スルホアルキルエーテルシクロデキストリン誘導体も、例えば、米国特許第5,134,127号に記載されており、この開示は、そのまま全体が、本明細書により参照として援用される。実施形態によっては、環状オリゴ糖は、1つまたは複数の単糖単位がトリアゾール環で置き換えられていることが可能であり、これは、アジド-アルキンヒュスゲン環化付加反応により合成可能である((Bodine, [et al.], J. Am. Chem. Soc., 126(6):1638-9, (2004)))。

【0174】

本開示の二量体型シクロデキストリンは、リンカーにより接続している。CDサブユニットとリンカーを接続するのに使用可能な方法は、実施例に記載されている。CDサブユニットとリンカーを接続するさらなる方法は、当該分野で既知である。(Georgeta [et al.], J. Bioact. Compat. Pol., 16:39-48, (2001)), (Liu [et al.], Acc. Chem. Res., 39:681-691, (2006)), (Ozmen [et al.], J. Mol. Catal. B-Enzym., 57:109-114, (2009)), (Trotta [et al.], Compos. Interface, 16:39-48, (2009))、これらはそれぞれ、そのまま全体が、本明細書により参照として援用される。例えば、ヒドロキシル基に反応する部分(例えば、カルボキシル基、これはカルボジイミドにより活性化される可能性がある)を有するリンカー基を、シクロデキストリンと反応させて、シクロデキストリンと共有結合を形成させることができる。別の例では、シクロデキストリンの1つまたは複数のヒドロキシル基を、既知の方法(例えば、トシル化)により活性化させて、リンカーの反応性基(例えば、アミノ基)と反応させることができる。

【0175】

一般に、リンカーは、最初から、各CD単量体と反応して結合する反応部分を2つ有する。1つの実施形態において、最初に、リンカーをシクロデキストリンに結合させて、リンカー-シクロデキストリン化合物を生成させ、これを単離し、次いで、リンカー-シクロデキストリン化合物のリンカーの残りの反応部分を、引き続き第二のシクロデキストリンと反応させる。リンカーの第二の反応部分は、第一の反応基の反応中、保護しておくことができるが、リンカーの第一反応部分と第二反応部分が2つの分子と異なって反応する場合には、保護を用いない場合がある。リンカーは、両分子と同時に反応してそれらをひとまとまりに連結することができる。他の実施形態において、リンカーは、他の分子と連結する目的で、追加の反応基を有することができる。

【0176】

複数のリンカーが、当該分野で既知である。そのようなリンカーは、反応性リンカーと反応して連結することができる基を保持するまたは保持するように官能基導入されている

様々な基のどれでもひとまとまりに連結するために使用可能である。二重反応性リンカーと反応することができる一部の基として、アミノ、チオール、ヒドロキシル、カルボキシル、エステル、及びアルキルハライド基が挙げられる。例えば、連結される各基が少なくとも1つのアミノ基を保持する場合に、アミノアミノカップリング試薬を用いて、環状オリゴ糖と多糖（または、例えば、フルオロフォアを持つこれらの基のいずれか、または相互に）を連結することができる。アミノアミノカップリング試薬の一部の例として、ジイソシアン酸化合物、アルキルジハライド、ジアルデヒド、スベリン酸ジスクシンイミジル（DSS）、酒石酸ジスクシンイミジル（DST）、酒石酸ジスルホスクシンイミジル（スルホ-DST）が挙げられ、これらは全て、市販されている。他の実施形態において、アミノチオールカップリング剤を用いて、一方の分子のチオール基と別の分子のアミノ基とを連結することができる。アミノチオールカップリング試薬の一部の例として、スクシンイミジル=4-（N-マレイミドメチル）-シクロヘキサン-1-カルボキシラート（SMCC）、及びスルホスクシンイミジル=4-（N-マレイミドメチル）-シクロヘキサン-1-カルボキシラート（スルホ-SMCC）が挙げられる。さらに他の実施形態において、チオール-チオールカップリング剤を用いて、少なくとも1つのチオール基を持つ基を連結することができる。

【0177】

実施形態によっては、リンカーは、長さが原子1個分（例えば、-O-、-CH₂-、または-NH-連結）、または2個もしくは3個分（例えば、アミド、ウレイド、カルバマート、エステル、カーボナート、スルホン、エチレン、またはトリメチレン連結）しかないほど小さい。他の実施形態において、リンカーは、少なくとも原子4、5、6、7、または8個分から最大で、例えば、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、または30個分までの長さであることにより、より高い運動自由度を提供する。好適なリンカー長は、2~12個の原子、または4~8個の原子である。例示の実施形態において、リンカーは、C₄アルキルであり、このアルキルは無置換であってよい。例示の実施形態において、リンカーは、トリアゾールを含む。

【0178】

粥状動脈硬化

【0179】

本明細書に記載される例示のシクロデキストリン二量体は、粥状動脈硬化などの疾患を予防または治療するのに有用である。シクロデキストリン二量体と1種または複数の活性作用剤、例えば本明細書に記載されるもの（例えば、スタチン系薬剤などの抗高脂血症薬）との組み合わせは、あらゆる粥状動脈硬化、ならびに粥状動脈硬化の兆候、症候、または合併症を治療するのに有用である。粥状動脈硬化（動脈硬化性血管病またはASVDとしても、及び冠動脈疾患またはCADとしても知られる）は、コレステロールなどの脂肪物質が蓄積した結果、動脈壁が肥厚化する症状である。粥状動脈硬化は、数十年間無症候のままの可能性もある慢性疾患である。粥状動脈硬化は、動脈血管に影響を及ぼす症候群であり、動脈壁における慢性炎症反応は、マクロファージ白血球細胞の蓄積によるところが大きく、機能性高密度リポタンパク質（HDL）によりマクロファージから脂肪及びコレステロールが適切に除去されないと、この慢性炎症反応は低密度リポタンパク質（コレステロール及びトリグリセリドを運搬する血漿タンパク質）により促進されと考えられる。粥状動脈硬化は、一般に、動脈の硬化または動脈壁への蓄積（furring）と称する。これは、動脈内に複数のプラークが形成されることにより引き起こされる。

【0180】

動脈硬化性病変の病理生理学は複雑であるが、一般的には、安定動脈硬化プラーク、これは無症候である傾向があるが、これが細胞外基質及び平滑筋細胞に豊富にあり、一方で不安定プラークが、マクロファージ及び泡沫細胞に豊富にあり、そして病変と動脈管腔を隔てる細胞外基質（線維皮膜としても知られる）が、通常は、脆弱で破裂しやすい。線維皮膜の破裂は、コラーゲンなどの血栓形成材料を血液循環に露出させ、最終的に管腔での血栓形成を誘導する。形成の際、管腔内血栓は、完全閉塞の可能性もあるが（例えば、冠

10

20

30

40

50

動脈閉塞)、もっと頻繁に起こるのは、それらが剥離して、血液循環に入り、最終的に下流のより小さな支流を閉塞させて血栓塞栓症を引き起こす可能性がある(例えば、頸動脈での血栓形成により脳卒中が引き起こされることが多い)。血栓塞栓症とは別に、動脈硬化性病変の慢性的な拡大により、管腔が完全に閉塞する可能性がある。病変の慢性的な拡大は、下流組織(複数可)への血液供給が不十分になり、その結果虚血になるほど管腔狭窄が重篤化するまで、無症候であることが多い。

【0181】

進行粥状動脈硬化のこうした合併症は、慢性であり、徐々に進行し、また累積的である。場合によっては、ソフトプラークが突然破裂して血栓の形成を引き起こし、これが急速に血流の鈍化または停止をもたらし、動脈により供給を受けている組織の死亡をまねく(梗塞)。冠動脈の冠動脈血栓症も、心筋梗塞を招く可能性のある共通合併症である。脳に行く動脈の遮断は、脳卒中をもたらす可能性がある。進行動脈硬化性疾患では、脚部への不十分な血液供給による跛行が生じる可能性があり、これは、典型的には、狭窄及び血餅で狭くなった動脈瘤セグメント両方の組み合わせにより引き起こされる可能性がある。

【0182】

粥状動脈硬化は、全動脈樹に影響する可能性もあるが、典型的には、冠動脈、腎動脈、大腿動脈、脳動脈、及び頸動脈などの大型で高圧の血管ほどリスクが高い。

【0183】

粥状動脈硬化の兆候、症候、及び合併症として、上記で検討されるとおり、上昇した血漿中総コレステロール、VLDL-C、LDL-C、遊離コレステロール、コレステロールエステル、トリグリセリド、リン脂質、及び動脈の病変(例えば、プラーク)の存在が挙げられるが、これらに限定されない。場合によっては、コレステロール(例えば、総コレステロール、遊離コレステロール、及びコレステロールエステル)の上昇が、血漿、大動脈組織、及び大動脈プラークの1つまたは複数で見られる可能性がある。

【0184】

個体によっては、粥状動脈硬化の素因を有する可能性がある。したがって、本開示は、粥状動脈硬化またはその兆候、症候、もしくは合併症を予防するため、対象に、シクロデキストリン二量体を単独で、あるいは1種または複数の治療薬(例えば、スタチン系薬剤などの抗高脂血症薬)と併用して投与方法に関する。実施形態によっては、粥状動脈硬化の素因を有する対象は、以下の特性のうち1つまたは複数呈している場合がある: 高齢、心疾患の家族歴、生物学的状態、高い血液コレステロール。実施形態によっては、生物学的状態は、血液中の低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-C)が高レベルである、血液中の高密度リポタンパク質コレステロール(HDL-C)が低レベルである、高血圧、インスリン抵抗性、糖尿病、過剰な体重、肥満、睡眠時無呼吸、一因となる生活スタイルの選択(複数可)、及び/または一因となる行動習慣(複数可)を含む。実施形態によっては、行動習慣は、喫煙及び/またはアルコール摂取を含む。実施形態によっては、生活スタイルの選択は、活動的ではない生活スタイル及び/または高いストレスレベルを含む。

【0185】

例示の実施形態は、粥状動脈硬化である患者に、本開示のシクロデキストリン二量体を、任意選択で1種または複数の追加作用剤と併用して、投与することを提供する。患者は、粥状動脈硬化の兆候または症候を1つまたは複数呈している場合がある。粥状動脈硬化は、ドップラー超音波検査、足関節上腕血圧比、心電図、ストレス試験、血管造影図(任意選択で心臓カテーテル検査を併用)、コンピューター断層撮影法(CT)、核磁気共鳴血管撮影(MRA)、または他の動脈画像化もしくは血流測定法のうち1種または複数に基づいて診断可能である。

【0186】

例示の実施形態は、本開示のシクロデキストリン二量体と1種または複数の追加治療とを含む併用療法の投与を提供する。粥状動脈硬化を治療するためのこれら併用療法は、本開示のシクロデキストリン二量体と、粥状動脈硬化の治療または予防用の別療法、例えば

10

20

30

40

50

、抗コレステロール薬、降圧薬、抗血小板薬、栄養補助食品、または手術もしくは行動介入などを含むことができ、別療法として、以下に記載されるものが挙げられるが、それらに限定されない。さらなる併用療法は、本開示のCD二量体と、及び心不全の治療のための別療法、例えば、1種または複数のアルドステロンアンタゴニスト、ACE阻害剤、ARB（アンジオテンシンII受容体遮断薬）、ARNI（アンジオテンシン受容体ネプリライシン阻害剤）、ベータ遮断薬、血管拡張薬、カルシウムチャネル遮断薬、ジゴキシン、利尿薬、心臓ポンプ薬物、カリウム、マグネシウム、選択的洞結節阻害剤、またはこれらの組み合わせなどを含む。萎縮型加齢黄斑変性症（AMD）またはシュタルガルト病を治療するための併用療法は、本開示のCD二量体と、及びAMDの治療のための別療法、例えば、LBS-008（Belite Bio）（レチノール結合タンパク質4の非レチノイドアンタゴニスト）、ビタミンC及びビタミンE、ベータカロテン、亜鉛、及び銅を含むAREDS栄養補助処方、ビタミンC及びビタミンE、亜鉛、銅、ルテイン、ゼアキサンチン、及びオメガ3脂肪酸を有する栄養補助処方を含むAREDS2栄養補助処方、またはこれらの組み合わせなどを含む。アルツハイマー病を治療するための併用療法は、本開示のCD二量体と、ならびに1種または複数のコリンエステラーゼ阻害剤（ARICEPT（R）、EXELON（R）、RAZADYNE（R））及びメマンチン（NAMENDA（R））、またはこれらの組み合わせとを含む。ニーマン・ピック病の併用療法は、本開示のCD二量体と、ならびにミグルスタット（ZAVESCA（R））、HPβCD（TRAPPSOL CYCLO、VTS-270）、及び理学療法のうち1種または複数とを含む。併用療法は、同時、本質的に同時、または任意の順序で順次のいずれで投与されてもよい。併用療法は、単一配合物で同時投与される場合もあれば、別々の場合もあり、別々の場合は任意選択で、併用療法の各処方を含む投薬キットまたはパックにし、キットまたはパックは、例えば、併用療法の各薬物の1回用量を1つまたは複数提供する好都合に定量された様式になっている。併用療法は、相乗効果を呈する可能性があり、この場合、組み合わせた療法の効果は、個々の治療単独の効果を越えるものである。併用療法は、一般に、CD二量体及び組み合わせた療法を有効量で投与することを含むが、併用療法は、CD及び／または組み合わせた療法の投薬量を減らした上で有効な治療をもたらす可能性があり、これは有利なことに、通常（非併用）投薬量に伴う副作用を低下させる可能性がある。

【0187】

併用療法は、粥状動脈硬化に関連した疾患または症状、例えば、冠動脈疾患、狭心症、心臓発作、脳血管疾患、一過性脳虚血発作、及び／または末梢動脈疾患の治療または予防のための療法を含む場合がある。併用療法は、粥状動脈硬化形成及び／または予後を悪化させる一因となる可能性がある症状、例えば、高血圧、高コレステロール血症、高血糖、及び糖尿病の治療または予防のための療法を含む場合がある。

【0188】

例示の実施形態において、本発明のシクロデキストリン二量体は、抗コレステロール薬、例えば、フィブラート系薬剤またはスタチン系薬剤、例えば、ADVICOR（R）（ナイアシン徐放性／ロバスタチン）、ALTOPREV（R）（ロバスタチン徐放性）、CADUET（R）（アムロジピン・アトルバスタチン合剤）、CRESTOR（R）（ロスバスタチン）、JUVISYNC（R）（シタグリプチン／シンバスタチン）、LESCOL（R）（フルバスタチン）、LESCOL XL（フルバスタチン徐放性）、LIPITOR（R）（アトルバスタチン）、LIVALO（R）（ピタバスタチン）、MEVACOR（R）（ロバスタチン）、PRAVACHOL（R）（プラバスタチン）、SIMCOR（R）（ナイアシン徐放性／シンバスタチン）、VYTORIN（R）（エゼチミブ／シンバスタチン）、及び／またはZOCOR（R）（シンバスタチン）などと同時投与される。抗コレステロール薬は、高コレステロール血症を予防または治療するのに有効な量で投与することができる。

【0189】

例示の実施形態において、本発明のシクロデキストリン二量体は、抗血小板薬、例えば

、アスピリンなどと同時投与される。

【0190】

例示の実施形態において、本発明のシクロデキストリン二量体は、降圧薬と同時投与される。降圧薬の例として、ベータ遮断薬、アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害剤、カルシウムチャネル遮断薬、及び／または利尿薬が挙げられる。

【0191】

例示の実施形態において、本発明のシクロデキストリン二量体は、栄養補助食品、例えば、アルファーリノレン酸（ALA）、オオムギ、ベーターシトステロール、紅茶、オオバコ、カルシウム、カカオ、タラ肝油、補酵素Q10、魚油、葉酸、ニンニク、緑茶、ナイアシン、オーツ麦ふすま、オメガ3脂肪酸（例えば、エイコサペンタエン酸（EPA）及び／またはドコサヘキサエン酸（DHA）など）、シトスタノール、及び／またはビタミンCのうち1種または複数と同時投与される。

【0192】

例示の併用療法は、患者の行動及び／または生活スタイルへの介入も含み、そのような介入として、禁煙、運動、及び健康的な食事、例えば、低密度リポタンパク質（LDL）が少なく及び任意選択で高密度リポタンパク質（HDL）が高い食事などの相談及び／または支援を含む。

【0193】

例示の併用療法は、外科的介入、例えば、血管形成術、ステント留置、またはその両方なども含む。

【0194】

本発明の方法は、ヒト対象において粥状動脈硬化を治療するまたは予防するのに有用である。場合によっては、患者は、粥状動脈硬化を呈していること以外は健康である。例えば、患者は、治療の時点で、心血管系、血栓性、または他の疾患もしくは障害の他のどのようなリスク因子も呈していない場合がある。しかしながら、他の場合では、患者は、粥状動脈硬化が原因であるもしくは粥状動脈硬化と関連する疾患または障害であると診断されていること、あるいはそのような疾患または障害を発症するリスクがあることに基づいて選択される。例えば、本発明の医薬組成物の投与時点で、またはその投与前に、患者は、循環器疾患または障害、例えば、冠動脈疾患、急性心筋梗塞、無症候性頸動脈粥状動脈硬化、脳卒中、末梢動脈閉塞性疾患などであると診断されている、あるいはそのような疾患または障害を発症するリスクがあると同定されている場合がある。循環器疾患または障害は、場合によっては、高コレステロール血症である。

【0195】

他の場合において、本発明の医薬組成物の投与時点で、またはその投与前に、患者は、粥状動脈硬化であると診断されている、または粥状動脈硬化を発症するリスクがあると同定されている場合がある。

【0196】

さらに他の場合において、本発明の方法で治療しようとする患者は、年齢（例えば、40、45、50、55、60、65、70、75、または80歳より高齢）、人種、性別（男性または女性）、運動習慣（例えば、定期的な運動を行う、行わない）、他の既存の病状（例えば、II型糖尿病、高血圧など）、及び現在の医学的状态（例えば、現在、スタチン系薬剤、例えば、セリバスタチン、アトルバスタチン、シンバスタチン、ピタバスタチン、ロスバスタチン、フルバスタチン、ロバスタチン、プラバスタチンなど、ベータ遮断薬、ナイアシンなどを服薬している）からなる群より選択される1つまたは複数の要因に基づいて選択される。

【0197】

以下の図面において、以下の略号を使用する：MeまたはMEまたはmeまたはmet：メチル；SB：スルホブチル；QA＝第四級アンモニウム、例えば、 $-CH_2CH(OH)CH_2N(CH_3)_3^+$ 、例えば $-CH_2CH(OH)CH_2N(CH_3)_3Cl$ ；SUCC：スクシニル；DMSO：ジメチルスルホキシド。

【図面の簡単な説明】

【0198】

【図1A】シクロデキストリン(CD)、すなわち6つ(α CD)、7つ(β CD)、または8つ(γ CD)の糖環(左から右へ)で構成される環状オリゴ糖重合体の構造。全てのCD中の全ての糖環は、D-グルコース分子である。

【図1B】置換CDの構造であり、 R^1 、 R^2 、及び R^3 が置換基である場合、

【図1C】置換CDの構造であり、 β CD(DS0)、すなわち、各 R^1 、 R^2 、及び R^3 が水素である場合、

【図1D】ヒドロキシプロピルBCD(DS4)である、置換CDの構造、

【図1E】メチル β CD(DS6)である、置換CDの構造、

【図1F】スルホブチルBCD(DS4)である、置換CDの構造、

【図1G】BCDのC2、C3、またはC6位が第四級アンモニウム(DS3)基置換されている、置換CDの構造、

【図1H】BCDのC2、C3、またはC6位がスクシニル(DS1)基置換されている、置換CDの構造、

【図1I】BCDのC2、C3、またはC6位がカルボキシメチル(DS4)基置換されている、置換CDの構造、ならびに

【図1J】BCDのC2、C3、またはC6位がマルトシル(DS1)基置換されている、置換CDの構造。

【図2A】様々なコレステロール誘導体の、HP β CD(DS4.5)単量体による可溶化を、相対混濁度により評価したもの、ただし、PBS中で試験して、300 μ Mのステロールを含有する水性懸濁液の吸光度を100と定義する。図2Aに示すのは、コレステロール(菱形)、7KC(四角)、ビタミンD2(三角)、ビタミンD3(X)、及びデスモステロール(+の結果である。この図及び続く図において、結果を見やすくする目的で、データ点を滑らかな曲線でつないである。

【図2B】様々なステロールの、ヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン(DS4.5)単量体による可溶化を、相対混濁度により評価したもの、ただし、PBS中で試験して、300 μ Mのステロールを含有する水性懸濁液の吸光度を100と定義する。図2Bは、7-ケトコレステロール(7KC(線付きのX))、4- β -ヒドロキシコレステロール(4-OH(四角))、25-ヒドロキシコレステロール(25OH(三角))、コレステロールエポキシド(菱形)、及び27-ヒドロキシコレステロール(27OH(丸))の結果を示す。

【図2C】様々な形状のヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン単量体による7KCの可溶化を、相対混濁度により評価したもの。DS=1分子あたりの平均ヒドロキシプロピル置換数。

【図2D】様々な形状のヒドロキシプロピル- β -シクロデキストリン単量体によるコレステロールの可溶化を、相対混濁度により評価したもの。DS=1分子あたりの平均ヒドロキシプロピル置換数。

【図2E】分子ドッキングにより計算したHP β CD分子の予想相対親和性。DSは、1分子あたりのヒドロキシプロピル置換数を示す。

【図2F】様々な置換度合いのMe β CDによる*in vitro*でのコレステロール可溶化を相対混濁度により評価したもの。

【図2G】様々な置換度合いのMe β CDによる*in vitro*での7KC可溶化を相対混濁度により評価したもの。

【図2H】様々な単量体型 β CDによる*in vitro*でのコレステロール可溶化を相対混濁度により評価したもの。

【図2I】様々な単量体型 β CDによる*in vitro*での7KC可溶化を相対混濁度により評価したもの。

【図3A】本開示のHP β CD二量体構造。 β -シクロデキストリン単量体は、大面(下底)を通じて連結している、すなわち、リンカーは、各CDサブユニットのC2炭素ま

10

20

30

40

50

たはC 3炭素と連結している。HP置換基は、C 2炭素、C 3炭素、及び／またはC 6炭素と（典型的には組み合わせて）連結している。

【図3B】式I。トリアゾールリンカーを用いたC 2-C 2シクロデキストリン二量体。

【図3C】式II。トリアゾールリンカーを用いたC 2-C 3シクロデキストリン二量体。

【図3D】式III。トリアゾールリンカーを用いたC 3-C 3シクロデキストリン二量体。

【図3E】式IV。リンカーLを用いた下底連結メチル置換BCD。

【図3F】式V。リンカーLを用いた下底連結スルホブチル置換BCD。ナトリウム塩が描かれているが、他の塩も本開示の化合物に包含される。

【図3G】式VI。リンカーLを用いた下底連結スクシニル置換BCD。

【図3H】式VII。リンカーLを用いた下底連結マルトシル置換BCD。

【図3I】式VIII。リンカーLを用いた下底連結第四級アンモニウム置換BCD。

【図3J】式IX。リンカーLを用いた下底連結カルボキシメチル置換BCD。ナトリウム塩が描かれているが、他の塩も本開示の化合物に包含される。

【図4A】HPβCD単量体とステロールの会合（上段）またはHPβCDブチル連結二量体とステロールの会合（下段）の構造モデル。これは、単量体-ステロール及び二量体-ステロールのホストゲスト相互作用の図解として示される。

【図4B】ブチル連結及びトリアゾール連結二量体のコレステロール及び7KCに対して予想される相対親和性。様々なヒドロキシプロピル化度合いの連結HPβCD二量体で、ドッキング計算を行った。

【図4C】分子動態シミュレーションに用いた計測の説明。CDのO 4原子（矢印で示す）、CDの下底及び上底、ならびにステロールのヘッド及びテイル基を規定するため、シクロデキストリン及びステロールの記述体系が含まれている。O 4面とリガンドの間の角度は、リガンドがどのくらい上手くCD空洞の内側に収まっているかを示す。30度は、可溶化した「アップ」配置（ステロールのヘッドがCDの下底と、テイルが上底と会合）に対応し、150度は、可溶化した「ダウン」配置（ステロールのテイルがCDの下底と、ヘッドが上底と会合）に対応する。

【図4D】DSOのβCDのMDシミュレーション：天然（すなわち、無置換の）単量体型ベータCDに関する、GROMOS力場における、リガンドのアップ及びダウン方向での、全てのO 4酸素からなる重心とリガンドの重心の間の距離（上段）；CDのO 4原子が形成する面に対して垂直なベクトルとリガンドの主軸の間の角度（中段）；シクロデキストリンとリガンドの間の相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギー（下段）。図4D～図4Lに含まれるグラフにおいて、明色線のグラフはコレステロールに関する結果であり、暗色線は7KCに関するものである。

【図4E】GROMOS力場における、DSOの天然単量体型βCDによるリガンドの可溶化。

【図4F】両方向での7KC及びコレステロールとDSOの天然βCDとの複合体形成の軌跡を映像化（GROMOS力場）。

【図4G】DSOの天然単量体型ベータシクロデキストリンに関する、AMBER力場における、リガンドのアップ及びダウン方向での、全てのO 4酸素からなる重心とリガンドの重心の間の距離；CDのO 4原子が形成する面に対して垂直なベクトルとリガンドの主軸の間の角度；シクロデキストリンとリガンドの間の相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギー。

【図4H】AMBER力場における、DSOの天然単量体型βCDによるリガンドの可溶化。

【図4I】両方向での7KC及びコレステロールとDSOの天然βCDとの複合体形成の軌跡を映像化（AMBER力場）。使用した略号：「ms」：マイクロ秒。

【図4J】平行移動した天然単量体型ベータシクロデキストリン（DSO）に関する、GROMOS力場における、リガンドのアップ及びダウン方向での、全てのO 4酸素からなる重心とリガンドの重心の間の距離；CDのO 4原子が形成する面に対して垂直なベクト

10

20

30

40

50

ルとリガンドの主軸の間の角度；シクロデキストリンとリガンドの間の相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギー。

【図 4 K】 GROMOS 力場における、平行移動した単量体型 β CD によるリガンドの可溶化。

【図 4 L】 GROMOS 力場における、両方向での 7 KC 及びコレステロールと平行移動した天然 β CD (DS0) との複合体形成の軌跡を映像化。

【図 4 M】 平行移動した天然単量体型ベータシクロデキストリン (DS0) に関する、AMBER 力場における、リガンドのアップ及びダウン方向での、全ての O4 酸素からなる重心とリガンドの重心の間の距離；CD の O4 原子が形成する面に対して垂直なベクトルとリガンドの主軸の間の角度；シクロデキストリンとリガンドの間の相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギー。

10

【図 4 N】 AMBER 力場における、平行移動した単量体型 β CD によるリガンドの可溶化。

【図 4 O】 両方向での 7 KC 及びコレステロールと DS0 の天然 β CD との複合体形成の軌跡を映像化 (AMBER 力場)。

【図 4 P】 DS0 の天然単量体型ベータシクロデキストリンに関する、GROMOS 力場における、リガンドのアップ及びダウン方向での、全ての O4 酸素からなる重心とリガンドの重心の間の距離；CD の O4 原子が形成する面に対して垂直なベクトルとリガンドの主軸の間の角度；シクロデキストリンとリガンドの間の相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギー。

20

【図 4 Q】 GROMOS 力場における、天然単量体型 β CD によるリガンドの可溶化。

【図 4 R】 両方向での 7 KC 及びコレステロールと天然単量体型 β CD との複合体形成の軌跡を映像化 (GROMOS 力場)。

【図 4 S】 HP β CD (DS5) とコレステロールまたは 7 KC との間での、AMBER 力場における、リガンドのアップ及びダウン方向での、全ての O4 酸素からなる重心とリガンドの重心の間の距離；CD の O4 原子が形成する面に対して垂直なベクトルとリガンドの主軸の間の角度；相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギー。

【図 4 T】 AMBER 力場における、HP β CD (DS5) によるリガンドの可溶化。

【図 4 U】 両方向での 7 KC 及びコレステロールと HP β CD (DS5) との複合体形成の軌跡を映像化 (AMBER 力場)。

30

【図 4 V】 HP β CD (DS5) とコレステロールまたは 7 KC との間での、GROMOS 力場における、リガンドのアップ及びダウン方向での、全ての O4 酸素からなる重心とリガンドの重心の間の距離；CD の O4 原子が形成する面に対して垂直なベクトルとリガンドの主軸の間の角度；相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギー。

【図 4 W】 GROMOS 力場における、単量体型 HP β CD (平行移動) によるリガンドの可溶化。

【図 4 X】 両方向での 7 KC 及びコレステロールと単量体型 HP β CD (DS5、平行移動) との複合体形成の軌跡を映像化 (GROMOS 力場)。

【図 4 Y】 HP β CD (DS5、平行移動) とコレステロールまたは 7 KC との間での、AMBER 力場における、リガンドのアップ及びダウン方向での、全ての O4 酸素からなる重心とリガンドの重心の間の距離；CD の O4 原子が形成する面に対して垂直なベクトルとリガンドの主軸の間の角度；相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギー。

40

【図 4 Z】 AMBER 力場における、単量体型 HP β CD (DS5、平行移動) によるリガンドの可溶化。

【図 4 AA】 両方向での 7 KC 及びコレステロールと単量体型 HP β CD (DS5、平行移動) との複合体形成の軌跡を映像化 (AMBER 力場)。

【図 4 BB】 プチル二量体化 HP β CD (DS5) とコレステロールまたは 7 KC との間での、GROMOS 力場における、リガンドのアップ及びダウン方向での、全ての O4 酸素からなる重心とリガンドの重心の間の距離；CD の O4 原子が形成する面に対して垂直

50

なベクトルとリガンドの主軸の間の角度；相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギー。

【図 4 C C】 G R O M O S 力場における、ブチル二量体化 H P β C D (D S 5) による 7 K C 及びコレステロールの可溶化。

【図 4 D D】 両方向での 7 K C 及びコレステロールとブチル二量体化 H P β C D (D S 5) との複合体形成の軌跡を映像化 (G R O M O S 力場) 。

【図 4 E E】 ブチル二量体化 H P β C D (D S 5) に関する、 A M B E R 力場における、リガンドのアップ及びダウン方向での、全ての O 4 酸素からなる重心とリガンドの重心の間の距離； C D の O 4 原子が形成する面に対して垂直なベクトルとリガンドの主軸の間の角度；シクロデキストリンとリガンドの間の相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギー。

10

【図 4 F F】 A M B E R 力場における、ブチル二量体化 H P β C D (D S 5) によるリガンドの可溶化。

【図 4 G G】 両方向での 7 K C 及びコレステロールとブチル二量体化 H P β C D (D S 5) との複合体形成の軌跡を映像化 (A M B E R 力場) 。

【図 4 H H】 二量体化ヒドロキシプロピルベータシクロデキストリン (D S 5 、平行移動) に関する、 G R O M O S 力場における、リガンドのアップ及びダウン方向での、全ての O 4 酸素からなる重心とリガンドの重心の間の距離； C D の O 4 原子が形成する面に対して垂直なベクトルとリガンドの主軸の間の角度；シクロデキストリンとリガンドの間の相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギー。

20

【図 4 I I】 G R O M O S 力場における、ブチル二量体化 H P β C D (D S 5 、平行移動) による 7 K C 及びコレステロールの可溶化。

【図 4 J J】 両方向での 7 K C 及びコレステロールとブチル二量体化 H P β C D (D S 5 、平行移動) との複合体形成の軌跡を映像化 (G R O M O S 力場) 。

【図 4 K K】 ブチル二量体化ヒドロキシプロピルベータシクロデキストリン (D S 5 、平行移動) に関する、 A M B E R 力場における、リガンドのアップ及びダウン方向での、全ての O 4 酸素からなる重心とリガンドの重心の間の距離； C D の O 4 原子が形成する面に対して垂直なベクトルとリガンドの主軸の間の角度；シクロデキストリンとリガンドの間の相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギー。

【図 4 L L】 A M B E R 力場における、ブチル二量体化 H P β C D (D S 5 、平行移動) による 7 K C 及びコレステロールの可溶化。

30

【図 4 M M】 両方向での 7 K C 及びコレステロールとブチル二量体化 H P β C D (D S 5 、平行移動) との複合体形成の軌跡を映像化 (A M B E R 力場) 。

【図 4 N N】 無置換 (D S 0) のブチル二量体化ベータシクロデキストリンに関する、 G R O M O S 力場における、リガンドのアップ及びダウン方向での、全ての O 4 酸素からなる重心とリガンドの重心の間の距離； C D の O 4 原子が形成する面に対して垂直なベクトルとリガンドの主軸の間の角度；シクロデキストリンとリガンドの間の相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギー。

【図 4 O O】 両方向での 7 K C 及びコレステロールと無置換 (D S 0) のブチル二量体化 β C D との複合体形成の軌跡を映像化 (A M B E R 力場) 。

40

【図 4 P P】 トリアゾール連結した D S 0 のシクロデキストリンの M D 解析。無置換 (D S 0) の二量体化ベータシクロデキストリンに関する、 G R O M O S 力場における、リガンドのアップ及びダウン方向での、 C D の O 4 原子が形成する面に対して垂直なベクトルとリガンドの主軸の間の角度、ならびにシクロデキストリンとリガンドの間の相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギー。

【図 4 Q Q】 両方向での 7 K C 及びコレステロールとトリアゾール二量体化 β C D (D S 0) との複合体形成の軌跡を映像化。

【図 4 R R】 トリアゾール連結 H P β C D (D S 4) の M D 解析。平行移動した二量体化ヒドロキシプロピルベータシクロデキストリン (D S 4) に関する、 G R O M O S 力場における、リガンドのアップ及びダウン方向での、 C D の O 4 原子が形成する面に対して垂

50

直なベクトルとリガンドの主軸の間の角度、ならびにシクロデキストリンとリガンドの間の相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギー。

【図 4 S S】トリアゾール連結ヒドロキシプロピル β C D 二量体 (D S 4) と 7 K C / コレステロールの間の相互作用について両方向で 1 0 0 n s 間の軌跡を映像化。

【図 5 A】広範囲に渡る可能な二量体化 M e β C D 分子の相対親和性を分子ドッキングにより予測したもの。ブチル連結 (左) 及びトリアゾール連結 (右) 二量体のステロールに対する親和性。ドッキング計算は、連結 M e β C D 二量体のメチル化度合いを変化させて行なった。コレステロール (点線) と 7 K C (実線) の比較。

【図 5 B】アップ方向及びダウン方向の両方でブチル連結メチル β C D 二量体 (D S 4) と 7 K C / コレステロールの間の 1 0 0 n s 間の相互作用を記述する M D シミュレーション。凡例: 7 K C (暗色線) 及びコレステロール (明灰色線) であり、破線はダウン方向、実線はアップ方向である。

【図 5 C】アップ方向及びダウン方向の両方でブチル連結メチル β C D 二量体 (D S 4) と 7 K C / コレステロールの軌跡を映像化。

【図 5 D】アップ方向及びダウン方向の両方でトリアゾール連結メチル β C D 二量体 (D S 4) と 7 K C / コレステロールの間の 1 0 0 n s 間の相互作用を記述する M D シミュレーション。凡例は図 5 B のとおり。

【図 5 E】アップ方向及びダウン方向の両方でトリアゾール連結メチル β C D 二量体 (D S 4) と 7 K C / コレステロールの軌跡を映像化。

【図 6 A】広範囲に渡る可能な二量体化スルホブチル化 β C D 分子の相対親和性を分子ドッキングにより予測したもの。ブチル連結及びトリアゾール連結二量体のステロールに対する親和性。ドッキング計算は、連結 S B β C D 二量体のスルホブチル化度合いを変化させて行なった。コレステロール (点線) と 7 K C (実線) の比較。

【図 6 B】アップ方向及びダウン方向の両方でブチル連結スルホブチル β C D 二量体 (D S 4) と 7 K C / コレステロールの間の 1 0 0 n s 間の相互作用を記述する M D シミュレーション。凡例は図 5 B のとおり。

【図 6 C】アップ方向及びダウン方向の両方でブチル連結スルホブチル β C D 二量体 (D S 4) と 7 K C / コレステロールの軌跡を映像化。

【図 6 D】アップ方向及びダウン方向の両方でトリアゾール連結スルホブチル β C D 二量体 (D S 4) と 7 K C / コレステロールの間の 1 0 0 n s 間の相互作用を記述する M D シミュレーション。凡例は図 5 B のとおり。

【図 6 E】アップ方向及びダウン方向の両方でトリアゾール連結スルホブチル β C D 二量体 (D S 4) と 7 K C / コレステロールの軌跡を映像化。

【図 7 A】アップ方向及びダウン方向の両方でブチル連結第四級アンモニウム β C D 二量体 (D S 4) と 7 K C / コレステロールの間の 1 0 0 n s 間の相互作用を記述する M D シミュレーション。凡例は図 5 B のとおり。

【図 7 B】アップ方向及びダウン方向の両方でブチル連結第四級アンモニウム β C D 二量体 (D S 4) と 7 K C / コレステロールの軌跡を映像化。

【図 7 C】アップ方向及びダウン方向の両方でトリアゾール連結第四級アンモニウム β C D 二量体 (D S 4) と 7 K C / コレステロールの間の 1 0 0 n s 間の相互作用を記述する M D シミュレーション。凡例は図 5 B のとおり。

【図 7 D】アップ方向及びダウン方向の両方でトリアゾール連結第四級アンモニウム β C D 二量体 (D S 4) と 7 K C / コレステロールの軌跡を映像化。凡例は図 5 B のとおり。

【図 8 A】D S 8 ならびに D S 4 のトリアゾール連結及びブチル連結二量体のヒドロキシプロピル化部位を様々に変更した場合、これには小面または大面のためのヒドロキシプロピル化が含まれる。H P β C D 二量体のヒドロキシプロピル化部位を様々に変更してドッキング計算を行い、ステロールとの結合に対する、ヒドロキシプロピル基の位置を変化させることの効果を特定した。ヒドロキシプロピル化の部位は、ほぼ対称的な分子に対する置換の性質が確率的であるため、現実的には様々である。標識「C」、「D」、及び「E」は、C D 単量体の小面と大面の間で等しい H P 基分布を有するが異なる (互いに識別され

10

20

30

40

50

る) 変異構造を示す。凡例：上段 (明灰色) 棒は、コレステロールの場合の値を表し、下段 (暗色) 棒は、7 K C の場合の値を表す。

【図 8 B】アルキル連結 H P β C D 二量体 (D S 5) の長さを様々に変更した場合。ヒドロキシプロピル化部位の度合いを様々に変更し、及び炭素のみリンカーの長さを様々に変更してドッキング計算を行った。各集団内の棒は、上から下の順で、D S 2 0、D S 1 6、D S 1 2、D S 8、D S 4、及び D S 0 である。

【図 8 C】トリアゾール連結 H P β C D 二量体 (D S 5) の長さを様々に変更した場合。トリアゾール環のいずれかの側の炭素数を変更することによりトリアゾールリンカーの長さを様々に変更してドッキング計算を行った。リンカーの各側の長さは、n 1 または n 2 で識別され、コレステロールは、縞模様の棒で表し、一方 7 K C は塗り潰した棒で表す。各集団内の棒は、上から下の順で、N 1 = 2 及び 7 K C ; N 1 = 2 及び コレステロール ; N 1 = 3 及び 7 K C ; N 1 = 3 及び コレステロール ; N 1 = 4 及び 7 K C ; ならびに N 1 = 4 及び コレステロール である。

【図 8 D】ステロール結合におけるリンカー依存変動性を特定するためにドッキング計算 (図 8 E) で試験したリンカー。D S 4 及び D S 8 のヒドロキシプロピル二量体について連結 H P β C D 二量体組成物を、リンカー組成物の様々な側鎖、環、二重結合の付加、及び / または硫黄、窒素、及び / または酸素原子での置換に基づき、4 炭素リンカー (リンカー W、式中、n = 3 炭素) 及びトリアゾール連結二量体 (リンカー U、式中、n = 1 炭素、及びリンカー V、式中、n = 1 炭素) と比較。

【図 8 E】異なるリンカーを持つ様々な H P β C D 二量体についてのドッキング結果。D S 4 及び D S 8 のヒドロキシプロピル二量体について連結 H P β C D 二量体の 7 K C 優先性を、リンカー A ~ W (図 8 D) に基づき、4 炭素リンカー (リンカー W、式中、n = 3 炭素) 及びトリアゾール連結二量体 (リンカー U、式中、n = 1 炭素、及びリンカー V、式中、n = 1 炭素) と比較。凡例：上段 (明灰色) 棒は、コレステロールの場合の値を表し、下段 (暗色) 棒は、7 K C の場合の値を表す。

【図 8 F】コレステロール及び 7 K C で予測される親和性に対するトリアゾール連結及びブチル連結二量体の C D 結合部位の効果を分子ドッキングで予測した場合。ドッキング計算は、対称なブチルリンカー及びトリアゾールリンカーで連結された二量体に対して行われており、したがって、あり得る連結として 3 通りが可能である。C 2 - C 2、C 3 - C 3、及び C 2 - C 3 であるが、C 2 - C 3 は、リンカーの対称性故に、C 3 - C 2 連結した二量体と同じである。凡例：上段 (明灰色) 棒は、コレステロールの場合の値を表し、下段 (暗色) 棒は、7 K C の場合の値を表す。

【図 8 G】非対称リンカーの結合点を様々に変更した場合。ドッキング計算は、非対称 4 原子リンカー C、D、K、N、及び R (図 8 D を参照) で連結された二量体に対して行なった。これらの非対称リンカーの場合、あり得る連結として 4 通りが可能である：C 2 - C 2、C 3 - C 3、C 2 - C 3、及び C 3 - C 2 である。これらの場合、リンカーの非対称性故に、C 3 - C 2 は、C 2 - C 3 と同じではない。凡例：棒の各集団は、上から下の順に、コレステロールと C 3 / C 2 連結 ; コレステロールと C 2 / C 3 連結 ; 7 K C と C 3 / C 2 連結、及び 7 K C と C 2 / C 3 連結を表す。

【図 8 H】両方向での窒素連結ヒドロキシプロピル β C D 二量体 (D S 4) と 7 K C / コレステロールの間の 1 0 0 n s 間の相互作用を記述する M D シミュレーション (リンカー O)。凡例は図 5 B のとおり。

【図 8 I】両方向での窒素連結ヒドロキシプロピル β C D 二量体 (D S 4) と 7 K C / コレステロールの軌跡を映像化 (リンカー O)。

【図 9 A】広範囲の連結二量体について、分子ドッキングにより予測した 7 K C 特異性。7 K C 特異性は、 β C D 二量体の多岐にわたるリンカー及び置換基種類で維持される。各集団内の棒の順序は、左から右に向かって、：スルホブチル (D S 4) ; ヒドロキシプロピル (D S 4) ; メチル (D S 4) ; 第四級アンモニウム (D S 4) ; スクシニル (D S 4) ; カルボキシメチル (D S 4) ; マルトシル (D S 4) である。

【図 9 B】ヒドロキシプロピル、メチル、及びスルホブチル置換 (D S 4) で様々な長さ

10

20

30

40

50

のアルキルリンカーについてのステロール親和性を、分子ドッキングによりモデル計算した場合。各集団内の棒の順序は、上から下に向かって、メチル、スルホブチル、及びヒドロキシプロピルである。

【図9C】ヒドロキシプロピル、メチル、及びスルホブチル置換（DS4）で様々な長さのトリアゾールリンカーについてのステロール親和性を、分子ドッキングによりモデル計算した場合。棒の順序は、図9Bのとおりである。

【図9D】ブチル連結及びトリアゾール連結 β CD二量体の7KC特異性を複数の置換位置について予測したもの、分子ドッキングによりモデル計算した場合。X軸は、7KCに対する親和性がコレステロールの何倍であるかを示す。各集団において、上段棒はトリアゾールを表し、下段棒はブチルを表す。

【図9E】他の β CD変異体のドッキングスクリーニング。7KC特異性は、置換基の組み合わせであったとしても、ブチル連結及びトリアゾール連結 β CD二量体で見られる；分子ドッキングによりモデル計算した場合。X軸は、7KCに対する親和性がコレステロールの何倍であるかを示す。棒の順序は、図9Dのとおりである。

【図10A】1, 4-ジブプロモブタンに基づく1つのリンカーユニットで接続されたヒドロキシプロピル化二量体の合成戦略（ブチル連結HP β CD二量体をもたらす）。

【図10B】3-アジド-1-ブプロモ-ブタンに基づく1つのリンカーユニットで接続されたヒドロキシプロピル化二量体の合成戦略（トリアゾール連結HP β CD二量体をもたらす）。

【図10C】反応の進行及び変換率を見積もるために用いたTLC分析。

【図10D】TBDMS- β CD-ブター β CD-TBDMSのMALDIスペクトル。

【図10E】反応の進行及び変換率を見積もるために用いたTLC分析。

【図10F】合成大面ブチル連結ベター-シクロデキストリン（ β CD-ブター β CD）、DS=0のMALDIスペクトル。

【図10G】合成大面ブチル連結ヒドロキシプロピルベター-シクロデキストリンHP（ β CD-ブター β CD）、DS約3のMALDIスペクトル。一部のピークは、密集により標識されていないが、予想される分子量を示す。

【図10H】合成大面ブチル連結ヒドロキシプロピルベター-シクロデキストリンHP（ β CD-ブター β CD）、DS約6のMALDIスペクトル。一部のピークは、密集により標識がついていないが、予想される分子量を示す。

【図10I】合成大面ブチル連結ヒドロキシプロピルベター-シクロデキストリンHP（ β CD-ブター β CD）、DS約8のMALDIスペクトル。

【図10J】HP（ β CD-ブター β CD）（D2O、298K）の ^1H -NMRスペクトルであり、シグナルを標識してある。

【図10K】HP（ β CD-ブター β CD）、DS8について予想される異性体の1種の構造、リンカーの名称体系を付してある。

【図10L】HP（ β CD-ブター β CD）のDEPT編集HSQCスペクトル（D2O、298K）。

【図10M】HP（ β CD-ブター β CD）のDEPT編集HSQCスペクトル、熱マッピングによりリンカー周波数が帰属されている（D2O、298K）。

【図10N】HP（ β CD-ブター β CD）のDEPT編集HSQCスペクトル、全て帰属済み（D2O、298K）。

【図10O】合成大面トリアゾール連結ベター-シクロデキストリン（ β CD-（トリアゾール）1-BCD、DS=0）のMALDIスペクトル。

【図10P】合成大面トリアゾール連結ベター-シクロデキストリンHP（ β CD-トリアゾール- β CD）、DS約3のMALDIスペクトル。一部のピークは、密集により標識がついていないが、予想される分子量を示す。

【図10Q】合成大面トリアゾール連結ベター-シクロデキストリンHP（ β CD-トリアゾール- β CD）、DS約7のMALDIスペクトル。一部のピークは、密集により標識がついていないが、予想される分子量を示す。

10

20

30

40

50

【図10R】HP (β CD-トリアゾール- β CD)、DS約7のDEPT編集HSQCスペクトル、リンカーが帰属されている(D₂O、298K)(左)、及びリンカー画分を含むTLC(右)。

【図10S】反応のモニタリングを示すTLCプレートであり、スポットが帰属されている。

【図10T】2-O-プロパルギル- β -CDのMALDIスペクトル。

【図10U】2-O-プロパルギル- β -CDの¹H-NMRスペクトルであり、一部のピークを取り上げている(DMSO-d₆、298K)。

【図10V】BCD-(トリアゾール)₁-BCD二量体の¹H-NMRスペクトル(D₂O、298K)。

【図10W】HP (β CD-トリアゾール- β CD)の¹H-NMRスペクトル(D₂O、298K)であり、シグナルに標識してある。図16B及び他の箇所でCD-トリアゾール-CD、DS3と標識される分子に該当する。

【図10X】HP (β CD-トリアゾール- β CD)の¹H-NMRスペクトル(D₂O、298K)であり、シグナルに標識してある。図16BでCD-トリアゾール-CD、DS6と標識される分子に該当する。

【図10Y】HP (β CD-トリアゾール- β CD)の¹H-NMRスペクトル(D₂O、298K)であり、シグナルに標識してある。図16BでCD-トリアゾール-CD、DS7と標識される分子に該当する。

【図11A】メチル化 β CD二量体の合成スキーム。

【図11B】反応の進行及び変換率を見積もるために用いたTLC分析。

【図11C】(A)の反応で得られる最終化合物のMALDIスペクトル。

【図11D】(B)の反応で得られる最終化合物のMALDIスペクトル。

【図11E】(C)の反応で得られる最終化合物のMALDIスペクトル。

【図11F】(D)の反応で得られる最終化合物のMALDIスペクトル。

【図11G】反応形跡のMALDIスペクトルの重ね合わせ。反応A(DS0)、反応B(DS1)、反応C(DS2)、及び反応D(DS4、5、6)。

【図11H】Me (β CD-トリアゾール- β CD)二量体のMALDIスペクトル。

【図11I】Me (β CD-トリアゾール- β CD)二量体のMALDIスペクトルを拡大したもの。

【図11J】Me (β CD-トリアゾール- β CD)二量体の可能な異性体の1種の構造であり、原子に番号を付してある。

【図11K】Me (β CD-トリアゾール- β CD)二量体のHNMRスペクトルであり、周波数は全て帰属済み。

【図11L】Me (β CD-トリアゾール- β CD)二量体のHNMRスペクトル及び積分値。

【図11M】Me (β CD-トリアゾール- β CD)二量体のDEPT編集HSQCスペクトルであり、全て帰属済み。

【図11N】Me (β CD-トリアゾール- β CD)二量体のCOSY-NMRスペクトルであり、帰属済み。

【図12A】スルホブチル化 β CD二量体の合成スキーム。

【図12B】SB β CD試作の反応の進行及び変換率を見積もるために用いたTLC分析。

【図12C】SB- β CD試作反応AのDSを見積もるために用いたフィンガープリントクロマトグラム重ね合わせ分析。

【図12D】SB- β CD試作反応BのDSを見積もるために用いたフィンガープリントクロマトグラム重ね合わせ分析。

【図12E】SB- β CD二量体(低DS)のMALDI。

【図12F】SB- β CD二量体の可能な異性体の1種であり、原子に番号が付してある。

【図12G】スルホブチル化二量体(低DS)のHNMRスペクトルであり、全て帰属済み(D₂O、298K)。

10

20

30

40

50

【図12H】スルホブチル化二量体（低DS）のHNMRスペクトル及び積分値（D2O、298K）。NMRに基づくDS値の計算を解説する。

【図12I】SB二量体（低DS）のDEPT編集HSQCスペクトルであり、全て帰属済み（D2O、298K）。

【図12J】SB二量体（低DS）のCOSYスペクトルであり、全て帰属済み（D2O、298K）。

【図12K】SB二量体（高DS）のMALDIスペクトル。

【図12L】SB二量体（DS3）の可能な異性体の1種の構造であり、原子に番号が付してある。

【図12M】SB二量体（高DS）のHNMRスペクトルであり、全て帰属済み（D2O、298K）。

10

【図12N】SB二量体（高DS）のHNMRスペクトル及び積分値（D2O、298K）。NMRに基づくDS値の計算を解説する。

【図12O】SB二量体（高DS）のDEPT編集HSQCスペクトルであり、全て帰属済み（D2O、298K）。

【図12P】SB二量体（高DS）のCOSYスペクトルであり、全て帰属済み（D2O、298K）。

【図13A】第四級アンモニウムβ-シクロデキストリン二量体の合成スキーム。

【図13B】第四級アンモニウムβ-シクロデキストリン二量体反応AのMALDIスペクトル。

20

【図13C】第四級アンモニウムβ-シクロデキストリン二量体反応BのMALDIスペクトル。

【図13D】第四級アンモニウムβ-シクロデキストリン二量体反応CのMALDIスペクトル。

【図13E】第四級アンモニウムβ-シクロデキストリン二量体反応DのMALDIスペクトル。

【図13F】第四級アンモニウムβ-シクロデキストリン二量体のMALDIスペクトル。

【図13G】QA二量体異性体（DS3）の可能な異性体の1種の構造であり、原子に番号が付してある。

【図13H】QA二量体のHNMRスペクトルであり、全て帰属済み（D2O、298K）。

30

【図13I】QA二量体のHNMRスペクトル及び積分値（D2O、298K）。NMRに基づくDS値の計算を解説する。

【図13J】QA二量体のDEPT編集HSQCスペクトルであり、全て帰属済み（D2O、298K）。

【図13K】QA二量体のCOSYスペクトルであり、一部帰属されている（D2O、298K）。

【図14A】スクシニル化二量体の合成スキーム。

【図14B】スクシニル化二量体反応AのMALDI。

【図14C】スクシニル化二量体反応BのMALDI。

40

【図14D】スクシニル化二量体反応CのMALDI。

【図14E】スクシニル化二量体反応DのMALDI。

【図14F】スクシニル化二量体のMALDI。

【図14G】SUCC二量体異性体（DS3）の可能な異性体の1種の構造であり、原子に番号が付してある。

【図14H】スクシニル化二量体のHNMRスペクトルであり、全て帰属済み（D2O、298K）。

【図14I】スクシニル化二量体のHNMRスペクトル及び積分値（D2O、298K）。NMRに基づくDS値の計算を解説する。

【図14J】スクシニル化二量体のDEPT編集HSQCスペクトルであり、全て帰属済

50

み (D2O、298K)。

【図14K】スクシニル化二量体のCOSYスペクトルであり、一部帰属されている (D2O、298K)。

【図15A】DS8のHPβCD二量体とともにインキュベーション後の7KC血球細胞流出濃度。

【図15B】HPβCD単量体とともにインキュベーション後の7KC血球細胞流出濃度。

【図15C】血漿コレステロールは、HPβCD二量体とともにインキュベートしても攪乱されない。血漿コレステロールを質量分析により測定して、HPβCD二量体とともにインキュベートすることにより引き起こされた、血球細胞からのコレステロール流出を特定した。

【図15D】様々なブチル連結ならびにトリアゾール連結HPβCD及びメチル二量体の潜在的細胞毒性の尺度としての溶血アッセイ。

【図15E】様々なトリアゾール連結βCD二量体：無置換のβCD、SBβCD（低及び高DS）、QAβCD、及びスクシニル化βCD二量体の潜在的細胞毒性の尺度としての溶血アッセイ。

【図16A】ブチル連結HPβCD二量体は、7KC及びコレステロールの可溶化において、単量体型HPβCDよりも大いに優れている。置換度が約3、約6、及び約8である二量体を試験した。

【図16B】トリアゾール連結HPβCD二量体は、7KC及びコレステロールの可溶化において、単量体型HPβCDよりも大いに優れている。置換度が0、約3、約5、及び約6である二量体を試験した。HPBCDは単量体型HPβCDを示し、CD-トリアゾール-CDは、表示される置換度を持つトリアゾール連結二量体を示す。

【図16C】ブチル連結HPβCD二量体 (DS約8) による様々なコレステロール誘導体及びオキシステロールの可溶化。コレステロール、7-ケトコレステロール (7KC)、ビタミンD2、ビタミンD3、デスモステロール、27-ヒドロキシコレステロール (27OH)、4-ベータヒドロキシコレステロール (4BOH)、25-ヒドロキシコレステロール (25OH)、及びコレステロールエポキシドについて、結果を示す。

【図16D】ブチル連結HPBCD二量体 (DS約8) による化合物の可溶化。試験したステロールホルモンは、エストラジオール、エストリオール、エストロン、プレグネノロン、及びプロゲステロンであった。

【図16E】ブチル連結HPβCD二量体 (DS約3) (「DS3ブチル二量体」) は、7KCに対して親和性及び特異性を有する。HPBCDは、単量体型HPβCDを示す。

【図16F】トリアゾール連結HPβCD二量体 (DS約3) は、7KCに対して親和性及び特異性を有する。

【図16G】トリアゾール連結MeβCD二量体 (DS約3) (「メチル二量体DS3」) は、7KC及びコレステロールの可溶化について、HPβCD二量体 (DS約3) (「HPBCD二量体DS3」) と同様に有効である。

【図16H】トリアゾール連結無置換βCD (「CD-トリアゾール-CD、DS0」)、トリアゾール連結SBβCD二量体 (DS約3.4) (「SB-CD-トリアゾール-CD、DS3.4」)、トリアゾール連結QAβCD二量体 (DS約2) (QA-CD-トリアゾール-CD、DS2)、及びトリアゾール連結スクシニル化βCD二量体 (DS約2) (「SUCC-CD-トリアゾール-CD、DS2」) は全て、*in vitro*で、コレステロールよりも7KCに対する特異性を有する。トリアゾール連結SBβCD二量体 (DS約14.6) (「SB-CD-トリアゾール-CD、DS14.6」) は、コレステロール及び7KC両方に対して親和性が低い。

【発明を実施するための形態】

【0199】

定義

【0200】

特に記載がない限り、明細書及び特許請求の範囲を含む本出願で使用される以下の用語

10

20

30

40

50

は、本明細書中与えられる定義を有する。

【0201】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形の「a」、「an」、及び「the」は、文脈から明白に決定されない限り、複数についての言及を含む。

【0202】

リンカー長。本明細書中使用される場合、リンカーの長さまたはそれと同義の「リンカー長」は、シクロデキストリン二量体の2つのCDサブユニットを接続するリンカーを通る最短経路でのリンカー原子数を示す。明白にするため、リンカーの長さには、リンカーが結合した各CDサブユニットの酸素原子（または当該酸素から置き換わって存在する場合がある他の原子）は含まれない。例えば、図3Bにおいて、リンカー長は、トリアゾール環を通る最短経路を反映して、 $3 + n_1 + n_2$ である。リンカーが、シクロデキストリン単量体の一方または両方と複数点で結合している場合、リンカー長は、各シクロデキストリンの異なる場所から始まり終わる可能性がある全ての可能な経路の中で2つのシクロデキストリンを接続する最短経路である。

【0203】

ヘッド・ヘッドシクロデキストリン二量体。本明細書中使用される場合、「ヘッド・ヘッドシクロデキストリン二量体」という用語は、2つのCD単量体が、典型的には、各CD単量体のC2炭素及び／またはC3炭素を介して結合し、シクロデキストリンの大面（下底）を通じて連結しているCD二量体を示す。

【0204】

テイル・テイルシクロデキストリン二量体。本明細書中使用される場合、「テイル・テイルシクロデキストリン二量体」という用語は、2つのCD単量体が、典型的には、各CD単量体のC6炭素を介して結合し、シクロデキストリンの小面（上底）を通じて結合しているCD二量体を示す。

【0205】

ヘッド・テイルシクロデキストリン二量体。本明細書中使用される場合、「ヘッド・テイルシクロデキストリン二量体」という用語は、2つのCD単量体が対向する端で結合している、すなわち、一方の単量体は小面（上底）から、典型的には、C6炭素を介して結合し、他方の単量体は、大面（下底）から、典型的には、C2炭素及び／またはC3炭素を介して結合しているCD二量体を示す。

【0206】

置換度（DS）。本明細書中使用される場合、「置換度」または「DS」は、単量体または二量体に結合した所定のサブ基の数を示す。例えば、 $Me\beta CD(DS3)$ は、CDのO2、O3、またはO6に付加されたメチルR基を平均で3つ有する βCD を示し、一方、 $HP\beta CD(DS3)$ は、単量体または二量体が、CDのO2、O3、またはO6に付加されたヒドロキシプロピル基を平均で3つ有することを示す。CD二量体について言及する場合、特に記載がない限り、DSは、構成単量体両方の合計平均置換基を示すのに使用され、全ての置換基が含まれる（例えば、ヒドロキシプロピル置換基とメチル置換基の混合など混合置換基の場合、全てが数に含まれる）。「置換基Xでの置換度」などの用語は、CD二量体あたりの当該置換基Xの平均数を示す、すなわち、他の置換基は、存在するかもしれないが、数に含まれない。DSは、質量分析（例えば、マトリクス支援レーザー脱離イオン化法、「MALDI」）により、またはNMRにより測定可能である。MALDIは、例えば、図10G～図10I、10P～図10Q、図11C～図11G、図11I、図12E、及び図12Kでメチル置換基、ヒドロキシプロピル置換基、及びスルホブチル置換基について呈するとおり、質量スペクトルにイオンのより典型的なガウス分布を与える置換基を有するシクロデキストリン誘導体について好適である。MALDIにより特定する場合の平均DSは、問題のCDの各DS種に該当するピークのピーク高さを平均化することにより計算する。他の例では、例えば、様々な付加体、断片化、切断産物などの形成のため、通常あまり見られないイオンピークパターンが存在する場合がある。他の質量分析技法を利用して、こうした問題を潜在的に回避することができる。あるいは

、NMRを使用して、DS値を特定することができ、これは、MALDIで観察されるMSスペクトルがより複雑であることを考えると、スクシニル基及び第四級アンモニウム基について好適であった。そうすると、平均置換度(DS)の計算を達成するには、核二量体のプロトンに該当するピークを同定し、最初に、ピーク面積がその構造中の個数既知の当該プロトンに相当するように測定値の尺度を決定する。次いで、置換基中のプロトンに該当するシグナルを、調べ、適切に尺度計算して、平均置換度を得る。これより単純な場合、置換基プロトンに該当する明白に分解されたピークが同定され、上記の通りすでに尺度計算されているので、次いで、当該ピーク中に存在するプロトンの個数で除算し、置換基の平均数を得る。例えば、ヒドロキシプロピル置換基の場合、核構造(グルコピラノースの芳香族領域)の14個のプロトンに該当するとして同定されたピークが、同定され及びシグナル化により14に規格化され、次いでメチル置換基の3個のプロトンに該当するピークが同定され、最後に当該ピークの面積を3で除算することにより、1分子あたり存在するヒドロキシプロピル基の平均数が得られる。他の例では、置換基ピーク及びシクロデキストリン核ピークは、非常に近接しているまたは重なり合っている場合がある。この場合、シクロデキストリン核構造の寄与プロトンの数が同定され、次いで、ピーク面積から差し引かれ(ピーク面積は、すでに、1プロトンあたり1の積分面積に尺度計算されている)、次いで、残りの面積が、寄与プロトンの数で除算され、平均置換度を得られる。例えば、メチル置換基の場合(図11K~図11Lに示す)、ピークの集まりが、置換基の3個のメチル水素、及び追加で、核シクロデキストリン二量体構造の86個のプロトンの集団に該当すると同定された。ヒドロキシプロピル置換基例と同様に、核構造(グルコピラノースの芳香族領域)の14個のプロトンに該当するとして同定されたピークが、同定及びシグナル化により14に規格化され;メチル水素及び核シクロデキストリン水素を含むピークの面積が、92.77であると決定され、このシグナルから核シクロデキストリン構造の86個のプロトンを差し引くと、残り6.77であり;各メチル基の3個のプロトンで除算した後、平均置換度は、2.26であると見積もられた。HP及びME置換CDの場合、積分値を3で除算し、QAの場合、積分値を9で除算し、SBの場合、積分値を2で除算し、SUCCの場合、積分値を4で除算する。上記の計算は、置換基構造中のプロトンに該当するピークの同定に基づき、他種の置換基に単刀直入に適用される。NMRを用いたDS計算を、図10X~図10Y、図11L、図12H、図12N、図13I、及び図14Iで解説する。CD組成物、例えば、CD二量体組成物(以下で定義)などは、それぞれが異なる個数の置換基で置換された分子の混合物を含む場合があり、その場合、DS値は、置換数の平均(中央値)として表される。分数のDS値は、中央値が整数の置換基の間を取り得る場合を反映している。特に記載がない限り、整数のDS値は、最も近い整数に丸めた場合のDS数を有するCD組成物を示す。例えば、DS4は、DS値が少なくとも3.5かつ4.5未満であることを示す。

【0207】

ヒドロキシプロピル基での平均置換度。本明細書中使用される場合、「ヒドロキシプロピル基での平均置換度」という用語は、ヒドロキシプロピル基以外のあらゆる置換基を無視した上での上記で定義されるとおりの置換度を示す。同様に、指定される置換基での平均置換度についての言及は、上記で定義されるとおりであるが、他種の置換基を無視した置換度を示す。

【0208】

ヒドロキシプロピル(HPまたはHp)置換シクロデキストリン(CD)。本明細書中使用される場合、「ヒドロキシプロピル置換シクロデキストリン」または「HP置換CD」という用語は、ヒドロキシプロピル基、すなわち、 $-CH_2-CH(OH)-CH_3$ と連結したシクロデキストリンを示す。典型的には、HP基は、CDのC2炭素、C3炭素、及び/またはC6炭素と連結した酸素原子と連結する(最も一般的には、これらの結合部位が混在している)。

【0209】

HPβCD、HPBCD、HPβCD、HPBCD、HP-BCD、HP-BCD、H

P-βCD、HP-βCD、2-HPβCD、及び同様な用語で略記されるヒドロキシプロピルベータシクロデキストリンは、1つまたは複数のヒドロキシプロピル基、すなわち、-CH₂-CH(OH)-CH₃で置換されたベータシクロデキストリンを示し、この基は、典型的には、CDのC2炭素、C3炭素、及び／またはC6炭素と連結した酸素原子と連結する（最も一般的には、これらの結合部位が混在している）。

【0210】

HP(CD-L-CD)またはHP(CD-L-CD)またはHP(βCD-L-βCD)またはHP(βCD-L-βCD) HP及び同様な用語で略記されるヒドロキシプロピルベータシクロデキストリン二量体は、リンカーLを用いて共有結合で連結したヒドロキシプロピルベータシクロデキストリン二量体を示す。特定の平均数で置換基が存在することができ、例えば、DS4は、平均して4つのHP基が存在することを示す。本明細書中さらに記載されるとおり、追加の置換基が存在することができる。

10

【0211】

同様な慣例が、他の置換シクロデキストリン及びシクロデキストリン二量体、例えばメチル(Me)、第四級アンモニウム(QA)、スクシニル(SUC)、スルホブチル(SB)などについても使用される。例えば、MeβCDは、メチルベータシクロデキストリンを示すといった具合である。同様に、メチルベータシクロデキストリン二量体は、場合によっては、Me(CD-L-CD)またはMe(CD-L-CD)またはMe(βCD-L-βCD)またはMe(βCD-L-βCD) Me及び同様な用語で略記され、これは、リンカーLを用いて共有結合で連結したメチルベータシクロデキストリン二量体を示す。特定の平均数で置換基が存在することができ、例えば、DS4は、平均して4つのMe基が存在することを示す。本明細書中さらに記載されるとおり、追加の置換基が存在することができる。

20

【0212】

シクロデキストリン二量体組成物。本明細書中使用される場合、「シクロデキストリン二量体組成物」または「CD二量体組成物」という用語は、シクロデキストリン二量体の混合物、例えば、同じ置換基で置換されているがその個数は異なるCD二量体の混合物を示す。典型的には、CD二量体組成物は、指定された置換基での指定された置換度を有することにより特性決定される。CD二量体組成物は、大部分はCD分子の対称性故に、個々のCD分子が置換基の個数及び位置において様々に異なるような確率論的様式で、置換基がCD二量体に付加する合成プロセスから生じる可能性がある。さらに、CD二量体組成物は、リンカー結合部位が異なる（例えば、O2とO2、O2とO3、O3とO2、またはO3とO3）個別の分子の混合物を含む場合もあれば、そうではなくて、リンカー結合部位が均一である場合もある（例えば、O2とO2のみ、O2とO3のみ、O3とO2のみ、またはO3とO3のみ）。CD二量体組成物の置換度は、NMR及び／または質量分析により、例えば、上記のとおりに特定することができる。

30

【0213】

「特異的に結合する」などの用語は、分子、例えば、本開示のシクロデキストリン二量体が、結合パートナー、例えば、コレステロール（オキシステロール、例えば、7KCなど）と、生理学的条件下で比較的安定な複合体を形成することを意味する。分子が結合パートナーと特異的に結合するかどうかを特定する方法は、当該分野で周知であり、そのような方法として、例えば、平衡透析、表面プラズモン共鳴などが挙げられる。例示の実施形態において、本開示のシクロデキストリン二量体は、コレステロール、オキシステロール、または7KCと、約5 μM～約100 μM、約10 μM～約90 μM、約20 μM～約80 μM、約30 μM～約70 μM、約40 μM～約60 μM、約0.5 μM～約50 μM、約1 μM～約40 μM、約2 μM～約30 μM、約3 μM～約20 μM、約4 μM～約10 μM、約1000 μM未満、約500 μM未満、約300 μM未満、約200 μM未満、約100 μM未満、約90 μM未満、約80 μM未満、約70 μM未満、約60 μM未満、約50 μM未満、約40 μM未満、約30 μM未満、約20 μM未満、約10 μM未満、約5 μM未満、約4 μM未満、約3 μM未満、約2 μM未満、約1 μM未満、

40

50

または約 $0.5 \mu\text{M}$ 未満の K_D で結合する。

【0214】

コレステロールに対してよりも高い 7KC に対する親和性。本明細書中使用される場合、「コレステロールに対してよりも高い 7KC に対する親和性」という用語は、化合物（例えば、シクロデキストリン）が、コレステロールに対してよりも高い 7KC の可溶化能力を有することを示す。より高い親和性は、分子ドッキングにより予測する、分子動態シミュレーションにより予測する、または、熱量測定により測定することも可能である。例示の実施形態において、シクロデキストリン二量体は、コレステロールとの結合親和性に比べて、少なくとも 1.5 倍、少なくとも 2 倍、少なくとも 3 倍、少なくとも 4 倍、少なくとも 5 倍、少なくとも 8 倍、少なくとも 10 倍、少なくとも 15 倍、少なくとも 20 倍、少なくとも 30 倍、または少なくとも 50 倍強い、 7KC との結合親和性を有し、これは、任意選択で、例えば、本明細書中の実施例に記載される手順を用いて、懸濁液中の 7KC の 50% が可溶化される濃度を比較することにより特定される場合がある。例示の実施形態において、シクロデキストリン二量体は、コレステロールとの結合親和性に比べて、少なくとも 1.1 倍、 1.5 倍、 2 倍、 3 倍、 4 倍、 5 倍、または 10 倍強い、 7KC との結合親和性を有し、これは、任意選択で、コンピューター計算されたまたは測定されたコレステロールとの結合親和性 (K_D) を、コンピューター計算された 7KC との結合親和性で除算することにより特定される場合がある。

10

【0215】

一方の化合物に対する親和性が他方に対してよりも高いこと、例えば、コレステロールに対してよりも高い 7KC に対する親和性は、 PBS 中 3% エタノール、 $300 \mu\text{M}$ のステロール、及び試験対象のシクロデキストリン 1mM を含有する水性懸濁液で行う「混濁度試験」を用いて特定することができる。試験結果を規格化する目的で、この単一濃度のシクロデキストリンを用いる。試験を行うため、試料を 37°C で 30 分間インキュベートし、次いで 350nm での吸光度を、例えば、分光光度計プレートリーダーを用いて測定する。相対混濁度は、シクロデキストリンの存在下で測定された混濁度をシクロデキストリンなしのベースライン混濁度で除算することにより特定される。 7KC 懸濁液の相対混濁度が、コレステロール溶液の相対混濁度より低い場合、そのシクロデキストリンは、コレステロールに対してよりも高い 7KC に対する親和性を有する。

20

【0216】

疎水性薬物。本明細書中使用される場合、「疎水性薬物」という用語は、ある種の界面活性剤または他の溶媒が存在しなければ、水に溶解しない薬物を示す。疎水性薬物として、ホルモン、例えば、エストロゲン、プロゲステロン、及びテストステロンが挙げられるが、これらに限定されない。本開示のシクロデキストリン二量体は、疎水性薬物用の賦形剤として使用することができる。疎水性薬物の追加例として、数例をあげると、デキストロメトルフアン HBr (DXM)、ジフェンヒドラミン HCl (DPH)、リドカイン HCl (LDC)、ヘパリン、ベンドロフルメチアジド、アシクロビル、レバプラザン、クルクミン、及びテストステロンプロピオン酸塩 (TP) が挙げられる。シクロデキストリン二量体は、分子の溶解性を上昇させる及び／またはより良好な薬物送達の助けとなるのに十分な量で存在することができる。薬物対シクロデキストリンの分子比は、 $1:1$ の比である場合も、 $1:1$ を超える場合もある。

30

【0217】

当該疎水性薬物を可溶化するのに有効な量。本明細書中使用される場合、「当該疎水性薬物を可溶化するのに有効な量」という語句は、典型的には、水性組成物、例えば、リン酸緩衝食塩水 (PBS) または水に、疎水性薬物を可溶化することができる、物質（例えば、シクロデキストリン二量体）の濃度を示す。可溶化は、当該分野で既知である分光測定法または他の手段により測定可能である。可溶化は、室温、生理的温度 (37°C)、または別の適切な温度（例えば、 $0 \sim 4^\circ\text{C}$ ）で測定することができる。

40

【0218】

「アルキル」は、炭素原子及び水素原子のみからなり、 1 個～ 12 個の炭素原子を有す

50

る一価の直鎖もしくは分岐鎖飽和炭化水素部分を意味する。

【0219】

「低級アルキル」は、1個～6個の炭素原子を持つアルキル基、例えば、C3アルキルを示す。アルキル基の例として、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、n-ヘキシル、オクチル、ドデシルなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【0220】

「アルキレン」は、1個～12個の炭素原子を持つ二価の直鎖もしくは分岐鎖飽和炭化水素ラジカル、または3個から6個の炭素原子を持つ二価の分岐鎖飽和炭化水素を意味し、例えば、メチレン、エチレン、2,2-ジメチルエチレン、プロピレン、2-メチルプロピレン、ブチレン、ペンチレンなどである。

10

【0221】

「アルケニル」は、少なくとも1つの二重結合を有する、2個～12個の炭素原子を持つ一価の直鎖炭化水素ラジカルまたは3個～12個の炭素原子を持つ一価の分岐鎖炭化水素ラジカルを意味する。アルケニル基の例として、エテニル（ビニル、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ）、1-プロペニル（ $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$ ）、2-プロペニル（アリル、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2$ ）部分が挙げられるが、これらに限定されない、メトキシ、エトキシ、isopropoxyなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【0222】

「アルコキシアルキル」は、式 $\text{Ra}-\text{O}-\text{Rb}-$ である部分を意味し、式中、Raはアルキルであり、Rbはアルキレンであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。アルコキシアルキル基の例として、例えば、2-メトキシエチル、3-メトキシプロピル、1-メチル-2-メトキシエチル、1-(2-メトキシエチル)-3-メトキシプロピル、及び1-(2-メトキシエチル)-3-メトキシプロピルが挙げられる。

20

【0223】

「アルコキシアルコキシアルキル」は、式 $-\text{R}-\text{O}-\text{R}'-\text{O}-\text{R}''$ である基を意味し、式中、R及びR'はそれぞれアルキレンであり、R''はアルキルであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。

【0224】

「アルキルカルボニルオキシアルキル」は、式 $-\text{R}-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{R}'$ である基を意味し、式中、Rはアルキレンであり、R'はアルキルであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。

30

【0225】

「アルキルカルボニル」は、式 $-\text{R}'-\text{R}''$ である部分を意味し、式中、R'は $-\text{C}(=\text{O})-$ であり、R''はアルキルであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。

【0226】

「アルキルスルホニル」は、式 $-\text{R}'-\text{R}''$ である部分を意味し、式中、R'は $-\text{SO}_2-$ であり、R''はアルキルであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。

【0227】

「アルキルスルホニルアルキル」は、式 $-\text{R}'-\text{R}''-\text{R}'''$ である部分を意味し、式中、R'はアルキルであり、R''は $-\text{SO}_2-$ であり、R'''はアルキルであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。

40

【0228】

「アルキルアミノ」は、式 $-\text{NR}-\text{R}'$ である部分を意味し、式中、Rは水素またはアルキルであり、R'はアルキルであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。

【0229】

「アルコシミアミノ」は、式 $-\text{NR}-\text{OR}'$ である部分を意味し、式中、Rは水素またはアルキルであり、R'はアルキルであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。

【0230】

「アルキルスルファニル」は、式 $-\text{SR}$ である部分を意味し、式中、Rは本明細書中定

50

義されるとおりのアルキルである。

【0231】

「アルカリ金属イオン」は、Ⅰ族金属、例えば、リチウム、ナトリウム、カリウム、ルビジウム、またはセシウムなど、好ましくはナトリウムまたはカリウムの一価イオンを意味する。

【0232】

「アルカリ土類金属イオン」は、Ⅱ族金属、例えば、ベリリウム、マグネシウム、カルシウム、ストロンチウム、またはバリウム、好ましくはマグネシウムまたはカルシウムの二価イオンを意味する。

【0233】

「アミノ」は、基 $-NR'R''$ を意味し、式中、 R' 及び R'' はそれぞれ独立して、水素またはアルキルである。したがって、「アミノ」は、本明細書中使用される場合、「アルキルアミノ」及び「ジアルキルアミノ」を包含する。

【0234】

「アルキルアミノアルキル」は、基 $-R-NHR'$ を意味し、式中、 R はアルキレンであり、 R' はアルキルである。アルキルアミノアルキルとして、メチルアミノメチル、メチルアミノエチル、メチルアミノプロピル、エチルアミノエチルなどが挙げられる。

【0235】

「ジアルキルアミノアルキル」は、基 $-R-NR'R''$ を意味し、式中、 R はアルキレンであり、 R' 及び R'' はアルキルであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。ジアルキルアミノアルキルとして、ジメチルアミノメチル、ジメチルアミノエチル、ジメチルアミノプロピル、 N -メチル- N -エチルアミノエチルなどが挙げられる。

【0236】

「アミノアルキル」は、基 $-R-R'$ を意味し、式中、 R' はアミノであり、 R はアルキレンであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。「アミノアルキル」として、アミノメチル、アミノエチル、1-アミノプロピル、2-アミノプロピルなどが挙げられる。

【0237】

「アミノアルコキシ」は、基 $-OR-R'$ を意味し、式中、 R' はアミノであり、 R はアルキレンであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。

【0238】

「アルキルスルホニルアミド」は、式 $-NR'SO_2-R$ である部分を意味し、式中、 R はアルキルであり、 R' は水素またはアルキルである。

【0239】

「アミノカルボニルオキシアルキル」または「カルバミルアルキル」は、基 $-R-OC(=O)-R'$ を意味し、式中、 R' はアミノであり、 R はアルキレンであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。

【0240】

「アミノスルホニル」は、基 $-SO_2-NR'R''$ を意味し、式中、 R' 及び R'' はそれぞれ独立して、水素またはアルキルである。したがって、「アミノスルホニル」は、本明細書中使用される場合、「アルキルアミノスルホニル」及び「ジアルキルアミノスルホニル」を包含する。

【0241】

「アルキニルアルコキシ」は、式 $-O-R-R'$ である基を意味し、式中、 R はアルキレンであり、 R' はアルキニルであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。

【0242】

「アリール」は、単環、二環、または三環式芳香環からなる一価の環状芳香族炭化水素部分を意味する。アリール基は、任意選択で、本明細書中定義されたとおりに置換することができる。アリール部分の例として、任意選択で置換されたフェニル、ナフチル、フェナントリル、フルオレニル、インデニル、ペンタレニル、アズレニル、オキシジフェニル

10

20

30

40

50

、ビフェニル、メチレンジフェニル、アミノジフェニル、ジフェニルスルフィジル、ジフェニルスルホニル、ジフェニルイソプロピリデニル、ベンゾジオキサニル、ベンゾフラニル、ベンゾジオキシリル、ベンゾピラニル、ベンゾオキサジニル、ベンゾオキサジノニル、ベンゾピペラジニル、ベンゾピペラジニル、ベンゾピロリジニル、ベンゾモルホリニル、メチレンジオキシフェニル、エチレンジオキシフェニルなど、ならびにそれらの部分水素化誘導体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0243】

「アリアルアルキル」及び「アラルキル」は、同義で使用可能であり、これらは、ラジカル- R^aR^b を意味し、式中、 R^a はアルキレン基であり、 R^b はアリアル基であり、これらは本明細書中定義されるとおりである。例えば、ベンジル、フェニルエチル、3-(3-クロロフェニル)-2-メチルペンチルなどのフェニルアルキルは、アリアルアルキルの例である。

10

【0244】

「アリアルスルホニル」は、式- SO_2-R である基を意味し、式中、 R は本明細書中定義されるとおりのアリアルである。

【0245】

「アリアルオキシ」は、式- $O-R$ である基を意味し、式中、 R は本明細書中定義されるとおりのアリアルである。

【0246】

「アラルキルオキシ」または「アリアルアルキルオキシ」は、式- $O-R-R'$ である基を意味し、式中、 R はアルキレンであり、 R' はアリアルであり、これらは本明細書中定義されるとおりである。

20

【0247】

「シアノアルキル」は、式- $R'-R''$ である部分を意味し、式中、 R' は本明細書中定義されるとおりのアルキレンであり、 R'' はシアノまたはニトリルである。

【0248】

「シクロアルキル」は、単環または二環式環からなる一価の飽和炭素環式部分を意味する。シクロアルキルは、任意選択で、1つまたは複数の置換基で置換可能であり、各置換基は、特に具体的に示されない限り、独立して、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロ、ハロアルキル、アミノ、モノアルキルアミノ、またはジアルキルアミノである。シクロアルキル部分の例として、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルなど、ならびにそれらの部分不飽和誘導体が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0249】

「シクロアルケニル」は、単環または二環式環からなり、少なくとも1つの二重結合を有する、一価の不飽和炭素環式部分を意味する。シクロアルケニルは、任意選択で、1つまたは複数の置換基で置換可能であり、各置換基は、特に具体的に示されない限り、独立して、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロ、ハロアルキル、アミノ、モノアルキルアミノ、またはジアルキルアミノである。シクロアルケニル部分の例として、シクロプロペニル、シクロブテニル、シクロペンテニル、シクロヘキセニル、シクロヘプテニルが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0250】

「シクロアルキルアルキル」は、式- $R'-R''$ である部分を意味し、式中、 R' はアルキレンであり、 R'' はシクロアルキルであり、これらは本明細書中定義されるとおりである。

【0251】

「シクロアルキレン」は、単環または二環式環からなる二価の飽和炭素環式ラジカルを意味する。シクロアルキレンは、任意選択で、1つまたは複数の置換基で置換可能であり、各置換基は、特に具体的に示されない限り、独立して、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、ハロ、ハロアルキル、アミノ、モノアルキルアミノ、またはジアルキルアミノである。

50

【0252】

「シクロアルキルアルキレン」は、式 $-R'-R''-$ である部分を意味し、式中、 R' はアルキレンであり、 R'' はシクロアルキレンであり、これらは本明細書中定義されるとおりである。

【0253】

「ヘテロアルキル」は、本明細書中定義されるとおりのアルキルラジカル中、1個、2個、または3個の水素原子が、 $-OR^a$ 、 $-NR^bR^c$ 、及び $-S(O)^nR^d$ （式中、 n は、0～2の整数）からなる群より独立して選択される置換基に置き換わったものを意味し、ただし、ヘテロアルキルラジカルの結合点は、炭素原子を通り、式中、 R^a は、水素、アシル、アルキル、シクロアルキル、またはシクロアルキルアルキルであり； R^b 及び R^c は、互いに独立して、水素、アシル、アルキル、シクロアルキル、またはシクロアルキルアルキルであり； n が0の場合、 R^d は、水素、アルキル、シクロアルキル、またはシクロアルキルアルキルであり、 n が1または2の場合、 R^d は、アルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、アミノ、アシルアミノ、モノアルキルアミノ、またはジアルキルアミノである。代表例として、2-ヒドロキシエチル、3-ヒドロキシプロピル、2-ヒドロキシ-1-ヒドロキシメチルエチル、2,3-ジヒドロキシプロピル、1-ヒドロキシメチルエチル、3-ヒドロキシブチル、2,3-ジヒドロキシブチル、2-ヒドロキシ-1-メチルプロピル、2-アミノエチル、3-アミノプロピル、2-メチルスルホニルエチル、アミノスルホニルメチル、アミノスルホニルエチル、アミノスルホニルプロピル、メチルアミノスルホニルメチル、メチルアミノスルホニルエチル、メチルアミノスルホニルプロピルなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【0254】

「ヘテロアリール」は、環原子が5個～12個であり、N、O、またはSから選択される1個、2個、または3個の環ヘテロ原子を含有する少なくとも1つの芳香環を有し、残りの環原子はCである、単環式または二環式ラジカルを意味し、ヘテロアリールラジカルの結合点は、芳香環に存在することになる。ヘテロアリール環は、任意選択で、本明細書中定義されるとおりに置換可能である。ヘテロアリール部分の例として、任意選択で置換されるイミダゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、オキサジアゾリル、チアジアゾリル、ピラジニル、チエニル、ベンゾチエニル、チオフェニル、フラニル、ピラニル、ピリジニル、ピロリル、ピラゾリル、ピリミジニル、キノリニル、イソキノリニル、ベンゾフリル、ベンゾチオフェニル、ベンゾチオピラニル、ベンズイミダゾリル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾオキサジアゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾチアジアゾリル、ベンゾピラニル、インドリル、イソインドリル、トリアゾリル、トリアジニル、キノキサリニル、プリニル、キナゾリニル、キノリジニル、ナフチリジニル、プテリジニル、カルバゾリル、アゼピニル、ジアゼピニル、アクリジニルなど、ならびにそれらの部分水素化誘導体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0255】

「ヘテロアリールアルキル」または「ヘテロアラルキル」は、式 $-R-R'$ である基を意味し、式中、 R はアルキレンであり、 R' はヘテロアリールであり、これらは本明細書中定義されるとおりである。

【0256】

「ヘテロアリールスルホニル」は、式 $-SO_2-R$ である基を意味し、式中、 R は本明細書中定義されるとおりのヘテロアリールである。

【0257】

「ヘテロアリールオキシ」は、式 $-O-R$ である基を意味し、式中、 R は本明細書中定義されるとおりのヘテロアリールである。

【0258】

「ヘテロアラルキルオキシ」は、式 $-O-R-R''$ である基を意味し、式中、 R はアルキレンであり、 R'' はヘテロアリールであり、これらは本明細書中定義されるとおりである。

10

20

30

40

50

【0259】

「ヘテロシクリルアルコキシ」は、式 $-O-R-R'$ である基を意味し、式中、Rはアルキレンであり、R'はヘテロシクリルであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。

【0260】

「ハロ」、「ハロゲン」、及び「ハライド」という用語は、同義で使用可能であり、これらの用語は、置換基フルオロ、クロロ、ブロモ、またはヨードを示す。実施形態によっては、ハロは、フルオロ置換基を示す。

【0261】

「ハロアルキル」は、本明細書中定義されたとおりのアルキル中、1個または複数の水素が同一または異なるハロゲンに置き換わったものを意味する。実施形態によっては、ハロアルキルは、フルオロアルキルである。実施形態によっては、ハロアルキルは、ペルフルオロアルキルである。ハロアルキルの例として、 $-CH_2Cl$ 、 $-CH_2CF_3$ 、 $-CH_2CCl_3$ 、ペルフルオロアルキル（例えば、 $-CF_3$ ）、などが挙げられる。

【0262】

「ハロアルコキシ」は、式 $-OR$ である部分を意味し、式中、Rは本明細書中定義されたとおりのハロアルキル部分である。実施形態によっては、ハロアルコキシは、フルオロアルコキシである。実施形態によっては、ハロアルコキシは、ペルフルオロアルコキシである。ハロアルコキシの例は、ジフルオロメトキシである。

【0263】

「ヘテロシクロアミノ」は、少なくとも1個の環原子が、N、NH、またはN-アルキルであり、残りの環原子がアルキレン基を形成する飽和環を意味する。

【0264】

「ヘテロシクリル」は、1～3つの環からなり、1個、2個、または3個、または4個のヘテロ原子（窒素、酸素、または硫黄から選択される）を組み込んだ、一価の飽和部分を意味する。ヘテロシクリル環は、任意選択で、本明細書中定義されたとおりに置換可能である。ヘテロシクリル部分の例として、任意選択で置換されるピペリジニル、ピペラジニル、ホモピペラジニル、アゼピニル、ピロリジニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピリジニル、ピリダジニル、ピリミジニル、オキサゾリジニル、イソオキサゾリジニル、モルホリニル、チアゾリジニル、イソチアゾリジニル、キヌクリジニル、キノリニル、イソキノリニル、ベンズイミダゾリル、チアジアゾリジニル、ベンゾチアゾリジニル、ベンゾアゾリジニル、ジヒドロフリル、テトラヒドロフリル、ジヒドロピラニル、テトラヒドロピラニル、チアモルホリニル、チアモルホリニルスルホキシド、チアモルホリニルスルホン、ジヒドロキノリニル、ジヒドロイソキノリニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニルなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【0265】

「ヘテロシクリルアルキル」は、式 $-R-R'$ である部分を意味し、式中、Rはアルキレンであり、R'はヘテロシクリルであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。

【0266】

「ヘテロシクリルオキシ」は、式 $-OR$ である部分を意味し、式中、Rは本明細書中定義されたとおりのヘテロシクリルである。

【0267】

「ヘテロシクリルアルコキシ」は、式 $-OR-R'$ である部分を意味し、式中、Rはアルキレンであり、R'はヘテロシクリルであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。

【0268】

「ヒドロキシアアルコキシ」は、式 $-OR$ である部分を意味し、式中、Rは本明細書中定義されたとおりのヒドロキシアアルキルである。

【0269】

「ヒドロキシアアルキルアミノ」は、式 $-NR-R'$ である部分を意味し、式中、Rは水素

10

20

30

40

50

またはアルキルであり、 R' はヒドロキシアルキルであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。

【0270】

「ヒドロキシアルキルアミノアルキル」は、式 $-R-NR'-R''$ である部分を意味し、式中、 R はアルキレンであり、 R' は水素またはアルキルであり、 R'' はヒドロキシアルキルであり、これらは本明細書中定義されたとおりである。

【0271】

「ヒドロキシアルキル」は、本明細書中定義されたとおりのアルキル部分が、1つまたは複数、好ましくは1つ、2つ、または3つのヒドロキシ基で置換されたものを意味し、ただし、同一炭素原子は1つより多いヒドロキシ基を有さない。代表例として、ヒドロキシメチル、2-ヒドロキシエチル、2-ヒドロキシプロピル、3-ヒドロキシプロピル、1-(ヒドロキシメチル)-2-メチルプロピル、2-ヒドロキシブチル、3-ヒドロキシブチル、4-ヒドロキシブチル、2, 3-ジヒドロキシプロピル、2-ヒドロキシ-1-ヒドロキシメチルエチル、2, 3-ジヒドロキシブチル、3, 4-ジヒドロキシブチル、及び2-(ヒドロキシメチル)-3-ヒドロキシプロピルが挙げられるが、これらに限定されない。

【0272】

「ヒドロシカルボニルアルキル」または「カルボキシアルキル」は、式 $-R-(CO)-OH$ である基を意味し、式中、 R は本明細書中定義されたとおりのアルキレンである。

【0273】

「ヒドロキシアルキルオキシカルボニルアルキル」または「ヒドロキシアルコキシカルボニルアルキル」は、式 $-R-C(O)-O-R-OH$ である基を意味し、式中、各 R はアルキレンであり、同一の場合も異なる場合もある。

【0274】

「ヒドロキシアルキル」は、本明細書中定義されたとおりのアルキル部分が、1つまたは複数、好ましくは1つ、2つ、または3つのヒドロキシ基で置換されたものを意味し、ただし、同一炭素原子は1つより多いヒドロキシ基を有さない。代表例として、ヒドロキシメチル、2-ヒドロキシエチル、2-ヒドロキシプロピル、3-ヒドロキシプロピル、1-(ヒドロキシ-5-メチル)-2-メチルプロピル、2-ヒドロキシブチル、3-ヒドロキシブチル、4-ヒドロキシブチル、2, 3-ジヒドロキシプロピル、2-ヒドロキシ-1-ヒドロキシメチルエチル、2, 3-ジヒドロキシブチル、3, 4-ジヒドロキシブチル、及び2-(ヒドロキシメチル)-3-ヒドロキシプロピルが挙げられるが、これらに限定されない。

【0275】

「ヒドロキシシクロアルキル」は、本明細書中定義されたとおりのシクロアルキル部分であって、シクロアルキルラジカルの1個、2個、または3個の水素原子がヒドロキシ置換基に置き換わっているものを意味する。代表例として、2-, 3-, または4-ヒドロキシシクロヘキシルなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【0276】

「尿素」または「ウレイド」は、式 $-NR'-C(O)-NR''-R'''$ である基を意味し、式中、 R 、 R'' 、及び R''' はそれぞれ独立して、水素またはアルキルである。

【0277】

「カルバマート」は、式 $-O-C(O)-NR'R''$ である基を意味し、式中、 R' 及び R'' はそれぞれ独立して、水素またはアルキルである。

【0278】

「カルボキシ」は、式 $-C(O)OH$ である基を意味する。

【0279】

「スルホンアミド」は、式 $-SO_2-NR'R''$ である基を意味し、式中、 R' 、 R'' 、及び R''' はそれぞれ独立して、水素またはアルキルである。

【0280】

10

20

30

40

50

「ニトロ」は、 $-\text{NO}_2$ を意味する。

【0281】

「シアノ」は、 $-\text{CN}$ を意味する。

【0282】

「フェノキシ」は、少なくとも1つの $-\text{OH}$ 基で置換されたフェニル環を意味する。

【0283】

「アセチル」は、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$ を意味する。

【0284】

「 $\text{C}_n\text{-m}$ 」は、例えば、 C_{1-12} -アルキルまたは C_{5-12} -ヘテロアリールのように、接頭語として、官能基の前で使用され、「 n 」及び「 m 」には整数値（すなわち、0、1、2、12）が入れられる。この接頭語は、官能基に存在する炭素原子の個数または個数範囲を示す。環系の場合、この接頭語は、環原子の個数、または環原子の個数範囲を示し、環原子が炭素原子であるかヘテロ原子であるかを問わない。官能基が環部分及び非環部分からなる場合（すなわち、「アリールアルキル」なら、アリール部分とアルキル部分からなる）、この接頭語は、どのくらい多くの炭素原子及び環原子が合計で存在するかを示すのに使用される。例えば、アリールアルキルの場合、「 C_{7-} アリールアルキル」は、「フェニル $-\text{CH}_2-$ 」を示すのに使用することができる。一部の官能基の例では、存在する炭素原子がゼロ個の場合があり、例えば、 C_0 -アミノスルホニル（すなわち、 $-\text{SO}_2-\text{NH}_2$ 、可能なR基は両方とも水素）では、「0」は、炭素原子が存在しないことを示す。

【0285】

「ペプチド」は、1つのアミノ酸のアミノ基とカルボキシル基が結合することによる2つ以上のアミノ酸から生じるアミド誘導体を意味する。「モノペプチド」は、1のアミノ酸を意味し、「ジペプチド」は、2つのアミノ酸を含むアミド化合物を意味し、「トリペプチド」は、3つのアミノ酸を含むアミド化合物を意味するといった具合である。「ペプチド」のC末端は、エステル官能基を介して別の部分と結合することができる。

【0286】

「任意選択で置換された」は、「アリール」、「フェニル」、「ヘテロアリール」、「シクロヘキシル」、または「ヘテロシクリル」に関して使用される場合、1つ～4つの置換基、好ましくは1つまたは2つの置換基で独立して、任意選択で置換されたアリール、フェニル、ヘテロアリール、シクロヘキシル、またはヘテロシクリルを意味し、置換基は、アルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアルキル、ヒドロキシアルキル、ハロ、ニトロ、シアノ、ヒドロキシ、アルコキシ、アミノ、アシルアミノ、モノアルキルアミノ、ジアルキルアミノ、ハロアルキル、ハロアルコキシ、ヘテロアルキル、 $-\text{COR}$ （式中、Rは、水素、アルキル、フェニル、またはフェニルアルキルである）、 $-(\text{CR}'\text{R}'')_n-\text{COOR}$ （式中、 n は、0～5の整数であり、 R' 及び R'' は独立して、水素またはアルキルであり、Rは、水素、アルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、フェニル、またはフェニルアルキルである）、あるいは $-(\text{CR}'\text{R}'')_n-\text{CONRaRb}$ （式中、 n は、0～5の整数であり、 R' 及び R'' は独立して、水素またはアルキルであり、 Ra 及び Rb は互いに独立して、水素、アルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、フェニル、またはフェニルアルキルである）から選択される。

【0287】

「脱離基」は、有機合成化学においてこの用語に従来付随してきた意味を有する基を意味する、すなわち、置換反応条件下で置き換わることが可能な原子または基である。脱離基の例として、ハロゲン、アルカンもしくはアリーレンスルホニルオキシ、例えば、メタンスルホニルオキシ、エタンスルホニルオキシ、チオメチル、ベンゼンスルホニルオキシ、トシルオキシ、及びチエニルオキシなど、ジハロホスフィノイルオキシ、任意選択で置換されたベンジルオキシ、イソプロピルオキシ、アシルオキシなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【0288】

10

20

30

40

50

「モジュレータ」は、標的と相互作用する分子を意味する。相互作用として、本明細書中定義されるとおりの、アゴニスト、アンタゴニストなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【0289】

「任意選択の」または「任意選択で」は、続いて記載される事象または状況が生じる可能性があるが、必ずしも生じるとは限らないこと、及びその記載が、事象または状況が生じる場合及び事象または状況が生じない場合を含むことを意味する。

【0290】

「疾患」及び「疾患状態」は、任意の疾患、症状、症候、障害、または兆候を意味する。

【0291】

「不活性有機溶媒」または「不活性溶媒」は、その溶媒と合わせて記載される反応の条件下、その溶媒が不活性であることを意味し、そのような溶媒として、例えば、ベンゼン、トルエン、アセトニトリル、テトラヒドロフラン、N, N-ジメチルホルムアミド、クロロホルム、塩化メチレンまたはジクロロメタン、ジクロロエタン、ジエチルエーテル、酢酸エチル、アセトン、メチルエチルケトン、メタノール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、tert-ブタノール、ジオキサン、ピリジンなどが挙げられる。特に異論がない場合、本開示の反応で使用される溶媒は、不活性溶媒である。

【0292】

「薬学上許容される」は、概して安全、無毒であり、かつ生物学的にも他の意味でも望ましくないところがない、医薬組成物の調製に有用であるものを意味し、ヒトの医薬用途だけでなく獣医学的に許容可能なものを含む。

【0293】

化合物の「薬学上許容される塩」は、本明細書中定義されるとおりの薬学上許容される塩であって、親化合物の所望の薬理活性を保持するものを意味する。そのような塩として以下が挙げられる：無機酸、例えば塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などで形成された酸付加塩；または有機酸、例えば、酢酸、ベンゼンスルホン酸、安息香酸、カンファースルホン酸、クエン酸、エタンスルホン酸、フマル酸、グルコヘプトン酸、グルコン酸、グルタミン酸、グリコール酸、ヒドロキシナフトエ酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、乳酸、マレイン酸、リンゴ酸、マロン酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、ムコン酸、2-ナフタレンスルホン酸、プロピオン酸、サリチル酸、コハク酸、酒石酸、p-トルエンスルホン酸、トリメチル酢酸などで形成された酸付加塩；あるいは、親化合物に存在する酸性プロトンが、金属イオン、例えば、アルカリ金属イオン、アルカリ土類イオン、もしくはアルミニウムイオンで置き換えられた場合に形成されるか；あるいは、有機もしくは無機塩基が配位することにより形成される塩。許容される有機塩基として、ジエタノールアミン、エタノールアミン、N-メチルグルカミン、トリエタノールアミン、トリメチルアミン、トロメタミンなどが挙げられる。許容される無機塩基として、水酸化アルミニウム、水酸化カルシウム、水酸化カリウム、炭酸ナトリウム、及び水酸化ナトリウムが挙げられる。好適な薬学上許容される塩とは、酢酸、塩酸、硫酸、メタンスルホン酸、マレイン酸、リン酸、酒石酸、クエン酸、ナトリウム、カリウム、カルシウム、亜鉛、及びマグネシウムで形成された塩である。薬学上許容される塩の言及には全て、当該酸付加塩の本明細書中定義されるとおりの溶媒付加形（溶媒和物）または結晶多形（多形）が含まれる。一般に、特定の塩が本明細書中の式に含まれる場合、当然のことながら、本開示の範囲内で、他の薬学上許容される塩に置き換えることが可能であり、例えば、式V E Eの第四級アンモニウム塩の場合、クロリドもしくは別の陰性イオンまたはそれらの組み合わせが含まれる可能性があり、同様に、式IXのカルボキシメチルナトリウム塩の場合、別の陽性イオンが表示されるナトリウムと置き換わる可能性がある。

【0294】

「保護性基」または「保護基」は、合成化学においてこの用語に従来付随してきた意味において、別の保護されていない反応性部位で化学反応が選択的に生じることが可能であるように多官能基化合物中の1つの反応性部位を選択的にブロックする基を意味する。本

10

20

30

40

50

開示のある特定のプロセスは、保護基が反応体に存在する反応性窒素原子及び／または酸素原子をブロックすることに頼る。例えば、「アミノ保護基」及び「窒素保護基」という用語は、本明細書中同義で使用され、これらの用語は、合成手順中の望ましくない反応から窒素原子を保護することを目的とする有機基を示す。窒素保護基の例として、トリフルオロアセチル、アセトアミド、ベンジル（Bn）、ベンジロキシカルボニル（カルボベンジロキシ、CBZ）、p-メトキシベンジロキシカルボニル、p-ニトロベンジロキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル（BOC）などが挙げられるが、これらに限定されない。当業者なら、外しやすさ及びその後の反応に耐えることを理由に基をどのように選択するかがわかるだろう。

【0295】

「対象」は、哺乳類及び非哺乳類を意味する。哺乳類は、哺乳綱の任意のメンバーを意味し、そのようなメンバーとして、ヒト；非ヒト霊長類、例えば、チンパンジー及び他の類人猿、ならびにサル種など；牧畜動物、例えば、ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、及びブタなど；家畜動物、例えば、ウサギ、イヌ、及びネコなど；齧歯類をはじめとする実験動物、例えば、ラット、マウス、及びモルモットなどが挙げられるが、これらに限定されない。非哺乳類の例として、鳥類などが挙げられるが、これらに限定されない。「対象」という用語は、特定の年齢または性別を示さない。

【0296】

「治療上有効量」は、疾患状態を治療するために対象に投与した場合に、疾患状態のための当該治療を発揮するのに十分な化合物量を意味する。「治療上有効量」は、化合物、治療される疾患状態、治療される疾患の重篤度、対象の年齢及び相対的な健康状態、投与経路及び形式、担当医師または獣医師の判断、及び他の要因に応じて変わることになる。

【0297】

「上記で定義されるもの」及び「本明細書中定義されるもの」という用語は、可変項目について言及する場合、言及により、その可変項目の広義の定義、ならびにもしあれば、優先される定義、より優先される定義、及び特に優先される定義を組み込む。

【0298】

疾患状態を「治療する」または疾患状態の「治療」は、以下を含む：（i）疾患状態を防止する、すなわち、疾患状態になるまたはその素因を有する可能性があるが、まだ疾患状態の症候を経験していないまたは症候が出ていない対象において疾患状態の臨床症候が発症しないようにすること、（ii）疾患状態を阻害する、すなわち、疾患状態またはその臨床症候の発生を抑止すること、あるいは（iii）疾患状態を緩和する、すなわち、疾患状態またはその臨床症候の一時的または永続的な後退を引き起こすこと。

【0299】

本明細書中の構造における炭素、酸素、硫黄、または窒素原子に出現する非共有電子対はどれでも、水素原子の存在を示す。

【実施例】

【0300】

実施例1．HPβCDによる化合物の可溶化

【0301】

実施例1は、HPβCD（DS4.5）単量体が様々なステロール、ビタミン、オキシステロール、及びステロイドホルモンを可溶化する能力を実証する（図2A～図2B）。混濁度が低いほど、所定のステロールを可溶化する能力が高いことを示す。図2A～図2Bは、HPβCD（DS4.5）単量体による各種ステロール及びステロール誘導体の可溶化を相対混濁度で評価して示す。

【0302】

本発明者らは、HPβCD上のヒドロキシプロピル基の個数を変えて試験することにより、HPβCDの変異体についても試験した。本発明者らは、3.7～21（可能な置換基数の最大）の範囲で試験した。データは雑音が多かったものの、7KC及びコレステロールを可溶化する能力は、置換度が高くなるほど低下した（図2C～図2D）。このこと

は、単量体型 H P β C D に広範囲の置換基がある場合の分子ドッキングにより、強力に支持された (図 2 E)。単量体及びステロールは、既知の化学特性に基づき P y M O L で設計した。各ヒドロキシプロピル基の最も可能性の高い配置を採用し、各対についての親和性スコアを特定するのに上位 20 位までの高次構造を検討した。ステロールの原子のいずれかが、シクロデキストリンの O 4 酸素により形成される面を通過する場合は、その高次構造を計算に含めた。D S の低い H P β C D ほど、コレステロールよりも 7 K C を優先的に可溶化することを示し、このことは、そのような H P β C D が 7 K C に対する特異性を有することを示唆する。理論に固執するつもりはないが、説明として可能性があるのは、7 K C の 7 位のケト基と水素結合するために最大数のヒドロキシル基が利用可能だということである。しかし、この理論は、本発明を実施する上で必要ではない。

10

【0303】

実施例 2. シクロデキストリン単量体及び二量体とコレステロール及び 7 K C との相互作用のコンピューターモデリング

【0304】

概要

【0305】

この実施例では、分子モデリング及びコンピューターシミュレーションを説明する。この分子モデリング及びコンピューターシミュレーションは、C D がステロールと結合する機構を調べ、シクロデキストリン二量体のコレステロール及び 7 K C に対する相対的な結合能力を予測し、ならびにコレステロールに対してよりも 7 K C に対してより高い親和性を有することが予測されるシクロデキストリン二量体を同定するために行った。おそらく、ステロールが C D または C D 二量体により完全に封じ込められる立体配置は、疎水性ステロールを親水性溶媒から遮蔽し、したがって、ステロールが溶液になることを可能にする。

20

【0306】

最初のドッキング分析のため (図 2 E [単量体]、図 4 B [二量体])、コンピューターモデリングプログラム P y M O L (P y M O L M o l e c u l a r G r a p h i c s S y s t e m、バージョン 2.0、S c h r o d i n g e r、L L C.) を用いて、様々な置換レベルの H P β C D 単量体及び二量体を構築し、次いで S c r i p p s R e s e a r c h I n s t i t u t e (L a J o l l a, C A, U S A) で開発された拡張 A u t o D o c k V i n a (T r o t t [e t a l.], J. C o m p u t. C h e m., 31 (2): 455-61, (2010)) を用いて、これらの仮説 C D 分子と 7 K C またはコレステロールの相互作用をモデリングした。A u t o d o c k V i n a は、以前の A u t o d o c k 4 に比べて顕著な精度及び速度の改善を示す分子ドッキングソフトウェアである。このソフトウェアは、系の標準化学ポテンシャルを近似するのにスコアリング関数を用いて、分子間の非共有結合による結合を予測して、エネルギー的に有利な高次構造ならびに結合親和性を予測する。D S が約 2~6 のヒドロキシプロピル二量体及び単量体が、7 K C に対して最良の特異性を示すことが、概して明らかとなった。

30

【0307】

3 種のベーターシクロデキストリンの誘導体、天然単量体型 (D S 0) ベーターシクロデキストリン (β C D)、単量体型ヒドロキシプロピルベーターシクロデキストリン (D S 5、H P β C D)、及び D S 5 の二量体化ヒドロキシプロピルベーターシクロデキストリン (2 つの H P β C D 単量体は、D S 2 単量体の O 2 酸素と D S 3 単量体の O 3 酸素を通じてブチル鎖を介して連結されており、結果として合計 D S は 5 である) と、7 K C またはコレステロールいずれかとの結合について、A u t o D o c k V i n a を用いたドッキングシミュレーションに加えて、G R O M A C S 2018 (特に、U n i v e r s i t y o f G r o n i n g e n, G r o n i n g e n, N e t h e r l a n d s; B e k k e r [e t a l.], W o r l d S c i e n t i f i c (1993); 及び B e r e n d s e n [e t a l.], C o m p. P h y s. C o m m., 91: 43-56, (1995)) を用いた分子動態シミュレーションを行った。これらのリガンドは両

40

50

方とも非対称であり、そのためシミュレーションは、リガンドの方向について、アップ及びダウンの両方で行った。次いで、これらのシミュレーションを、AMBER力場中及び平行移動した位置で繰り返し、これらの新規分子に関してどの位置／力場が最も有益なデータをもたらすかを確立した（初期MD解析、図4D～図4MM）。GROMOS力場で最初の位置というのが、CD二量体とステロールの相互作用を捉えるのに最も有効であったと特定されたので、この力場及び位置を、その後の、他のCD二量体についての簡略MDシミュレーションに用いた（その後のMD解析、図4NN～図4SS、図5B～図C、図6B～図7B）。

【0308】

概して、ヒドロキシプロピル基を付加すると、結果として複合体はより不安定になるが、それと同時に、天然、無置換のβCDで見られるものとは異なる、コレステロールより7KCに対するいくらかの特異性がもたらされることがわかった。これが見られたのは、7KCが、アップ方向及びダウン方向の両方で幾分安定な複合体を形成及び再形成できる一方で、コレステロールは安定な複合体をそれほど形成することができないためであり、その理由として可能性があるのは、特に「ダウン」方向では、コレステロールは7KCほど完全にβCDに封入されるようには見受けられないことである。βCDの二量体化は、ステロール標的、例えば、7KC及びコレステロールに対して著しくより高い親和性をもたらした。このことは、全てのリガンド及び方向に関して強いエネルギーの相互作用で安定二量体複合体が形成されることにより明らかになり、この場合、リガンドは、CD二量体の疎水性核の内側に収まることで、リガンドが水性溶液に可溶化することを可能にする。

【0309】

βCD二量体上の小さな修飾の効果をさらに解析するため、様々なリンカー及びHPβCDの置換度に関して追加のドッキングシミュレーション及び分子動態シミュレーションを行った（図8）。本発明者らは、この解析を拡張して、選択した他の種類の置換基及び選択した他のリンカーを含めたところ（図9）、試験した中で、概して、約2～6のDSが、広範囲の置換基及びリンカー種類に関して、最良の7KC特異性を示すことがわかった。

【0310】

この拡張コンピューター計算解析に基づき、本発明者らは、ステロールとの強力で安定な複合体を形成するには、使用する置換基もしくはリンカーの種類または位置に関係なく、βCDの二量体化が最高であると考え。多岐に渡る二量体化βCD分子を試験したところ、それら二量体化βCD分子は、多くの種類の置換基及びリンカーに関して、たとえそれらがお互いに化学的には非常に異なっているとしても、単量体型のβCDよりもはるかに高いステロール親和性を示す。

【0311】

コンピューター計算方法

【0312】

初期ドッキングシミュレーション

【0313】

本発明者らは、シクロデキストリンと様々なステロールとの結合を、全軌跡を解析することなく、AutoDock Vinaを用いてより迅速かつ簡便にコンピューターで予測する方法を開発した。全軌跡を解析するのは、非常に時間がかかりかつ計算コストが高い。この技法をシクロデキストリン系に適用することで、本発明者らが設計した多種多様なシクロデキストリンを用いた数百のドッキングシミュレーションを行うことが可能になった。この種のコンピューターモデリングは、様々なシクロデキストリンと様々なステロールの間で起こる可能性がある相互作用を提示し、空間情報及び結合親和性データの両方を提供する。

【0314】

これらの構造予測は、複数の異なるステロール及び／またはCD誘導体についてのモデリングとして行うことが可能であり、潜在的な機構の特長が明らかになる可能性がある。

本発明者らは、複数の結合仮説を考えており、コンピューター計算技法を用いてこれらを試験したいと考えている。本発明者らは、本発明者らの結合理論を試験するために H P β C D の異なるモデルを開発した：

【0315】

単量体－ステロール会合：本発明者らは、ステロールが単量体と二量体の H P β C D のどちらにより結合する可能性が高そうであるか、及び単量体が 7 K C とコレステロールのどちらに特異性を示すかを判定する補助とする目的で、二量体会合と比較するため、単量体対ステロール親和性を試験した（図 4 A）。

【0316】

連結二量体－ステロール：新規有望分子の試験だけでなく複数工程の必要性を排除するため、2つの単量体を複数種類のリンカーで共有結合により連結し、ステロールと会合させて、これらの予め連結した二量体について親和性及び特性を調べた（図 4 A）。

【0317】

これらファイルの出力を互いに比較可能にする目的で、ステロールとの複合体化についてのスコアリングシステムを開発した。このシステムでは、最も好適な親和性を、二量体がヘッド・ヘッド型（可能な場合）であるかどうか、及びステロールが実際に樽型の H P β C D 空洞内にあるかどうかに基づいて調整した。ついで、「複合体形成した高次構造」のこの数（最大 20 の立体配置のうち）を、最も好適な親和性の絶対値に加算した。すなわち、ステロールと複合体形成する（ヘッド・ヘッド型及び／またはステロールが C D 空洞内にある）立体配置を 15 / 20 もたらし、最高親和性が -10 kJ/mol である会合は、スコアが 25 ($|-10| + 15 = 25$) となる。このコンピューター計算では、リガンドのいずれかの原子が C D の O 4 原子により形成される面を横断していれば、空洞への挿入角度または度合いに関係なく、そのリガンドは複合体になっているとみなした。得られる値は、「親和性スコア」と称する。

【0318】

次いで、このドッキング解析を拡張して、多種多様な置換基（荷電基を含む）及びリンカーを含めることで、7 K C 特異性が、これらの要因により影響されるかどうかを判定した。スルホブチル置換基及びメチル置換基をトリアゾールリンカー及びブチルリンカーと合わせて、0～20 の全 D S 範囲で試験したところ、ヒドロキシプロピルと同様なパターンが示され、この場合、7 K C 特異性が最も高い D S は、約 4 であった（図 5 A 及び図 6 A）。したがって、第四級アンモニウム及びカルボキシメチル化など他のシクロデキストリンについては、低 D S（約 4）でのみ試験した。

【0319】

初期分子動態シミュレーション（図 4 D～図 4 M M）

【0320】

この初期シミュレーションセットは、GROMACS 2018 (University of Groningen, Groningen, Netherlands) を用いて、GROMOS 54a7 力場及び AMBER 99SB 力場の両方で行い、結果としてこれらのシミュレーションの 2 つの再現が得られ、観察された相互作用の一貫性を判定するのに役立った。次いで、3 種の C D 分子それぞれ及びリガンドの各方向でのこれら 2 つの再現を、異なる初期構造で繰り返した。繰り返しでは、リガンドを移動させて、初期構造ならびに力場に対するこれらの計算の依存性を判定する。次いで、得られる 48 通りのヒドロキシプロピル二量体の軌跡を、GROMACS ツールを用いて解析した。

【0321】

分子動態は、ドッキングとは異なり、ドッキングにより提供されるようなエネルギー的に有利な高次構造の単なるスナップショットではなく、シミュレーションする分子を時間依存式に相互作用させることが可能である。最初の 3 種の C D－ステロール複合体のそれぞれについて、シミュレーションを、1 マイクロ秒 (MD シミュレーションにとって非常に長時間) まで延長することで、複合体が安定するのに十分な時間を取った。次いで、アウトプットを解析して、全ての O 4 酸素からなる重心（二量体及び単量体の両方にとって

10

20

30

40

50

C D空洞の中心) とリガンドの重心の間の距離、C DのO 4原子が形成する面に対して垂直なベクトルとリガンドの主軸の間の角度(図4 Cを参照)、ならびにシクロデキストリンとリガンドの間の相互作用のレナード・ジョーンズ及びクーロンエネルギーの両方を特定した。

【0322】

こうすると、距離は、リガンドとシクロデキストリンの近さを示し、角度は、リガンドがどのくらい上手くC D空洞の内側に収まっているかを示し、相互作用エネルギーは、2つの分子がどのくらい強く相互作用しているかを表す(負の相互作用エネルギーが大きいほど、相互作用が強いと規定する)。図4 Cは、リガンドが周囲の水分子からどのくらい十分遮蔽されているかを特定するのに「角度」測定がどのくらい有用であることを示す：ゼロまたは180度は、リガンドがシクロデキストリンの面に対して完全に垂直であることを示し、一方90度は、リガンドがC D面と平行であり、したがって、空洞内で複合体形成しないことを示すと思われる。これらのシミュレーションでは、本発明者らは、30度が、「アップ」配置(ステロールのヘッドがC Dの下底と、テイルが上底と会合し、リガンド全体がC Dの空洞に挿入されている)で複合体形成して開始する場合に相当し、及び150度が、最初に「ダウン」配置(ステロールのテイルがC Dの下底と、ヘッドが上底と会合し、リガンド全体がC Dの空洞に挿入されている)で複合体形成した場合であると選択した。なお、二量体に関して、一方のC D単量体の面のみをC Dとリガンドの間の角度において考慮するが、二量体が完璧に形成されているならば、この面は、他方の単量体の面の鏡面である。

【0323】

リガンドから3 Å以内の水分子の個数を経時的に求めて、C Dがリガンドを周囲の溶媒からどのくらい十分遮蔽しているかを特定した。おそらく、リガンド周囲の水分子が多いほど、リガンドは周囲の水からそれほど十分に遮蔽されておらず、したがって、溶液になっていないことを示すと思われる。これらのシミュレーションは全て、1マイクロ秒(1000 ns)まで延長され、これは、C Dとステロールの間の相互作用を正確に記述するのに十分な長さのはずである。

【0324】

この長い初期解析は、シミュレーションが、C D単量体及び二量体とステロールリガンドの相互作用を適切に捉えており、したがって、そのような労力のかかる方法を必要とせず、他のC D単量体及び二量体に拡張することができることの証明を提供する。

【0325】

追加の分子動態シミュレーション(図4 NN~図4 SS、図5 B~図5 C、図6 B~図6 C、図7 A~図7 B、図8 H~図8 I)

【0326】

初期HPβCDシミュレーションに基づいて、GROMOS力場で平行移動していない位置というのが、これらの複合体について最良かつ最も動的な結果をもたらすという結論になった。この長い初期解析は、これらの新規分子をモデリングするための先例を確立するために重要であり、こうすることで、他種の二量体についてより短時間でよりの絞ったシミュレーションを行うことができる。すなわち、有望な各種リンカー及び置換基を用いて分子動態解析の拡張を行った。最初に、様々なDSでメチル(図5 A)及びスルホブチル(図6 A)βCD二量体についてドッキング計算を行った。これにより、最良の7KC特異性を持つ二量体という観点で、低DS(約4)が最も有望な結果を示すことが実証された。したがって、追加のMDシミュレーションは、トリアゾールリンカー及びブチルリンカーを持つDS4のβCD二量体について行った(図4 RR~図4 SS、図5 B~図5 C、図6 B~図6 C、図7 A~図7 B)。本発明者らは、DS0のβCD二量体についてもシミュレーションを行った(図4 NN~図4 QQ)。これらのシミュレーションは、100 ns間行われ、これらの分子相互作用とブチル連結ヒドロキシプロピル二量体でのものとの間の主な違いまたは類似性を評価するために角度及び相互作用エネルギーについてのみ解析された。

【0327】

追加のドッキングシミュレーション

【0328】

初期シミュレーションが、実現可能な範囲の置換基及びリンカーについて同様な有望性を証明した後、上記と同じドッキング技法を用いて、さらに多くのリンカー、置換基、さらには置換位置についてさえもスクリーニングを行った。この解析は、これら分子の有効性が、大きく（完全にではないとしても）、 β CDの実際の二量体化によりもたらされ、リンカーまたは置換基の種類によらないことを示すのに役立つ。

【0329】

コンピューター計算結果及び結論

【0330】

ドッキング：

【0331】

本発明者らは、最初に、HP β CDが、単量体として、コレステロール及び7KCと結合可能であるかどうかを調べ（図2E）、次いで、HP β CDが二量体として、コレステロール及び7KCと結合可能であるかどうかを調べた（図4B）。

【0332】

HP β CD単量体（図2E）は、低置換度（DS）ではコレステロール及び7KCの両方に対して高い親和性を有するが、DSが上昇するにつれて、両ステロールに対する親和性が低下するように見えることがわかった。これは、ヒドロキシプロピル基が密集することにより、ステロールが単量体の核に入っていけなくなるためである可能性が高い。さらに、CDの内側表面で7KCのカルボニル基と水素結合するのに利用可能なヒドロキシル基が少なくなる。最良の特異性（最良の親和性ではない）は、DS4でのスパイクとして見られるが、7KCに対する優先性は、DS2からDS6まで及び、DS7以上でコレステロールへと切り替わる。DS10以後、これらのモデルではほとんどまたは全く親和性が観察されない。

【0333】

ブチル連結二量体は、単量体型CDと比較した場合に、ステロールに対してより高い親和性を示し、7KCに対する最良の親和性／特異性は、二量体化DS10及びDS4においてであった（図4B）。しかしながら、この特異性は、これらの計算に関して特定のDSの二量体にのみ存在するように見受けられ、これらの計算で示された異なるDS間での変化は、顕著である。トリアゾール連結二量体は、DS6を除いて全体的により良好な特異性を示し、ブチル連結二量体と同様な親和性を持つ。この特異性は、7KCとの追加の水素結合を、水素結合供与窒素と7KCの水素結合吸引ケトンの間で形成することによると仮説される。

【0334】

初期分子動態解析：

【0335】

図4D～図4Oは、天然（無置換、DS0）単量体型 β CDが、7KC及びコレステロールの両方と、アップ方向及びダウン方向で複合体形成することができるが、7KCは、ダウン方向でコレステロールよりも安定な複合体形成を維持し、アップ方向ではその逆になるという仮説を支持する。コレステロールは、アップ方向での軌跡全体にわたり、それほど変動性を示さず、コレステロールが、アップ方向で複数回にわたってどのようにCDから離脱及びCDと再会合するかを示す（なお、約150nsで角度が大きく変化し、このときコレステロールは周りを回転して逆方向で会合する）（図4D）。この角度変化は、ダウン方向が、著しくより安定であることを示し、あまりに安定なため、コレステロールは、空洞を出て180度回転してから再会合し、及びコレステロールの全体での親和性は、シミュレーションにおいてこの大掛かりな動きを完了することが可能であるため、非常に高い。

【0336】

10

20

30

40

50

一方で、7KCは、いずれの方向でも、いったん複合体が分離すると、再会合することではなく、しかしダウン方向は、半分を超える軌跡に関して著しくより安定であり、このことは、7KCにとってダウン方向が好適であるという仮説を支持する。これは、7KC及びコレステロール両方が、ダウン方向を優先することを示し、この場合、ヘッド基は上底と会合し、テイルは下底と会合するが、この優先高次構造において、コレステロールだけが、実際にはCDから離脱及びCDと再会合することができる。これにより、なぜ天然CDが、コレステロール及びその誘導体を可溶化するのに非常に優れているものの、7KCに対する特異性を示さないかを説明することができる。天然、単量体型 β CDが示すコレステロールに対するこのわずかな優先性は、予想されるものであり、報告された実験結果と一致 (Zidovetzki [et al.], *Biochim. Biophys. Acta.*, 1768 (6): 1311-1324. (2007)) し、さらに、リガンドを取り囲む水分子の数により支持される (図4E)。コレステロールは、特に「アップ」方向で、水が7KCよりも非常に少ない。

【0337】

AMBER力場 (図4G～図4I) は、天然 β CDとステロールの間の著しくより強い相互作用を示した。両リガンドが、両方向で、軌跡の全体にわたりシクロデキストリン環の内側にあり続け、7KCまたはコレステロールに対する優先性はほとんど観察されなかった。AMBER力場は、GROMOS力場よりも強く長い相互作用を2つの分子間で示し、AMBER力場で天然 β CDによるステロールの可溶化は、2つのリガンド間で、アップ方向及びダウン方向の両方で、ほぼ同じであるように見受けられる。この強力な安定な相互作用にも関わらず、AMBER力場は、複合体がまったく分離しない故に、 β CDとステロールの間の相互作用を完全に捉えない可能性がある。起こっている相互作用を完全に解明するためには何らかの動きが必要であるが、これは、当該2分子間で強力な複合体が実際形成されていることの良い証拠である。

【0338】

リガンドをCD空洞の内側のより深くまで平行移動した場合 (図4J～図4O) でさえ、天然の複合体は、両方の力場で依然として有効に形成されたが、この場合も、AMBERよりもGROMOSで一貫性が低かった。GROMOS力場は、7KCについては「アップ」方向及びコレステロールについては「ダウン」方向に対する顕著な優先性を示したが、AMBERは、両リガンドとCDの間の強い相互作用を示しただけだった。これは、7KC及びコレステロールが、天然 β CDと同様かつ強力に相互作用することを示し、このことは、実験データと一致するが、もっとも、リガンドの方向は、観察した複合体形成において違いをもたらすように見受けられる。これらの軌跡の微妙な差異を以下に詳細に説明する。

【0339】

DS5の単量体型HP β CD (図4P～図4AA) は、GROMOS力場において、CDとステロールの間の相互作用の一貫性が、天然CDより低いことを示すが、同時に、図4Pに見られるとおり、7KCについてダウン方向を優先するようにも見受けられた。AMBER力場 (図4S、図4Y) は、ここでもまた、より強くより一貫した相互作用を示したが、形成した安定複合体は、両方の力場で依然として同じであった。全体として、シクロデキストリン単量体にヒドロキシプロピル基を付加すると、両方の力場において、両方のリガンドに関して複合体形成の可能性は低くなるが、7KCはコレステロールよりも一貫して、安定複合体の形成及び再形成を行うことができることがわかる。コレステロールは、概して両方の力場において、7KCよりもコレステロールの方が接近できる水分子が多いため、7KCほど容易にはHP β CDと複合体形成できないように見受けられる。このことは、図4Rで明らかであり、7KCは、「ダウン」方向で複合体の形成及び再形成を行い、一方コレステロールは、同じようには複合体を形成しない。この軌跡の映像化は、7KCがどのくらい「アップ」方向を強く優先しているか、そしてそれでも約500 nsで「ダウン」方向の複合体も依然形成することも示す。

【0340】

リガンドを平行移動させる場合、初期位置のリガンドがCDの空洞により深く埋め込まれているほど、HPβCDは両方のステロールとより有効に複合体形成することができた。GROMOSでのこの平行移動軌跡の場合（図4V）、コレステロールよりも7KCに対する優先性は、先のシミュレーションにおいてよりもさらに明白であり、7KCは両方向で安定複合体を形成できるが、コレステロールは「ダウン」方向でのみ安定複合体を形成できる。さらに、アップ方向の7KCは、最初に空洞の外側にあり、空洞と会合することができ、300ns以内で非常に安定な複合体を形成する。AMBER力場はまたしても、HPβCDとステロールの間の著しくより強力な相互作用を示したが、両方のリガンドに関して依然として同じ安定複合体を形成し、かつアップ方向を優先し、軌跡全体を通じて、概して7KCを取り囲む水がやや少なかった（図4Tを参照）。これは、おそらく、「ダウン」方向が、「アップ」方向におけるよりも大きく空洞の外に突き出たステロールのヘッド基を示すことによる。このことは、本発明者らの実験データと一致し（図2）、HPβCD単量体が、KC及びコレステロールの両方と依然として安定な、見かけ上可溶化した複合体を形成しながらも、7KCに対する何らかの特異性を有することを示したとおりである。これらのシミュレーションの全てについて、以下に詳細に説明する。

【0341】

本発明者らの新規のブチル連結したDS5のヒドロキシプロピルβ-シクロデキストリン二量体を、次いで、図4BB～図4MMに見られるとおり、GROMOS力場及びAMBER力場において7KC及びコレステロールとともにモデリングした。これらの軌跡のプロットと単量体型HPβCD及び天然βCDについてのプロットの間の対比は、二量体化版が、一貫して、ヒドロキシプロピル化されていなくてもその対応する単量体型版よりも著しく確実にステロールと結合することの明らかな証拠を提供する。これは、本発明者らの実験データと一致する（図16）。角度、距離、及びエネルギー、ならびにリガンドを取り囲む水分子は、全て、単量体型シミュレーションにおいてよりも非常に安定であり、見るかぎり、より溶解化した立体配置にある。GROMOS力場は、複合体がダウン方向で完全に形成された場合、リガンドとCDの重心の間が5Å未満であることを示し（図4BB）、一方で、GROMOS力場の単量体は、複合体が形成された場合、分子間は5～10Åを超えることを一貫して示した。AMBER力場も、ステロールと二量体化CDの間の非常に強い相互作用を示し、相互作用エネルギーは、単量体の約-150kJ/molと比べた場合に、ダウン方向で-300kJ/molに近づいた（図4BB）。これは、二量体が、両リガンドと、特にダウン方向で、特に単量体型βCDと比較した場合に、非常に強力に安定な複合体を形成することを示す。

【0342】

AMBER力場の結果（図4EE、図4KK）は、HPβCDの二量体化が、より強くより安定な相互作用をCDとステロールの間に作り出し、2つの分子間の距離は非常に小さく、相互作用エネルギーは非常に大きいというGROMOS力場シミュレーションからの知見を支持する。二量体化CDは、またしても、特にダウン方向において、5つ未満の水分子がリガンドを取り囲むことを一貫して示し、一方で単量体型CDは、10を超える水分子がリガンドを取り囲むことを示した（図4CC）。単量体と7KC及びコレステロールの場合にもこれに届くことがときどきあるものの、ステロール周囲の水の存在は、全体として、二量体化により著しく減少していた。HPβCDの二量体化は、7KCに対するいくらかの特異性ももたらし、このことは、7KCが、力場または平行移動に関係なく、全軌跡の間、2つの連結CDのうち少なくとも1つと常に会合したままであり、一方で、コレステロールは、一般的に、軌跡の少なくとも一部分の間、両方の単量対から解離し、さらには変形したヘッド・テイル二量体配置さえ作り出し、その配置では、コレステロールは二量体により完全に封入することができなかったということで明らかである。これらの軌跡について、以下の節で詳細に説明する。

【0343】

これらのシミュレーションは、HPβCDの二量体化が、疎水性ステロールを周囲の水分子から遮蔽する封入複合体を形成することにより、ステロールとの複合体形成を促進す

10

20

30

40

50

ることの強力な証拠を提供する。データは、二量体化H P β C Dが、全体として、単量体よりも非常に強いステロール親和性を有すること、及び7 K Cがコレステロールよりも著しく長く少なくとも一方のC Dと会合しているとおりの、二量体化H P β C Dが7 K Cに対する優先性を有することを暗示する。本発明者らは、この方法から、A M B E R力場での強力な複合体形成は本発明者らの複合体形成及び安定性の正当性に関する良い証拠であるものの、より有益な情報をG R O M O S力場から収集することが可能であると結論づけることができる。これは、G R O M O S力場が、A M B E Rとは異なり、ただ1つの非常に（場合によっては非現実的に）安定な複合体ではなくて、分子間の動的相互作用を示すからである。

【0344】

それぞれ1マイクロ秒の長さにわたるヒドロキシプロピル- β -タシクロデキストリン二量体の48通りの軌跡の詳細を、以下に詳細に説明する。

【0345】

初期分子動態軌跡の詳細な説明（図4）：

【0346】

天然単量体型 β C Dと7 K C、アップ方向、G R O M O S力場：

【0347】

図4 Fでは、7 K Cは、ヘッド基をC D空洞に挿入し、テイルを下底の外に伸ばしている状態で開始する。134 nsで、複合体は分離して、7 K Cは下底に向かって移動し、空洞の外で回転する。その後、7 K Cは依然として下底と会合しているものの、ヘッド基を空洞の内外へと動かし、150 nsでついに複合体が完全に解離すると、7 K Cはボックス周囲を移動して、上底と再会合する。7 K Cは、上底との会合及び上底からの解離を続けるが、軌跡の残りの間、空洞に再度入ることはない。

【0348】

天然単量体型 β C Dとコレステロール、アップ方向、G R O M O S力場：

【0349】

図4 Fは、コレステロール（アップ）が、テイルをC D空洞に挿入し、ヘッド基を下底の外に伸ばしている状態で開始することを示す。約150 nsで、複合体は分離し、コレステロールの「角度」の大きな変化により視認されたとおり、コレステロールは、空洞を出て外側に向かって回転し、シクロデキストリンと平行になり、次いで、反対方向で再会合し、テイルが下底の外に伸びている。次いで、コレステロールは、ヘッド基を再挿入し、約200 nsの間、ヘッド基を挿入することとC Dに平行になることを周期的に繰り返す。このことは、図4 Dのコレステロール（アップ）の角度、エネルギー、及び距離の変化として視認される。約300 nsで、複合体は、完全に分離し（図4 Dのコレステロールのスパイクに相当）、コレステロールは、C D分子の周囲をランダムに移動する。2つの分子は、310 nsから約1ナノ秒間、一時的に再会合し、このときコレステロールはC Dの上底と平行に横たわっている。次いで、コレステロールはさらに約2ナノ秒間ランダムな動きを再開し、330 nsでついに下底と再会合すると、コレステロールのテイルは、ゆるやかにC D空洞に挿入される。次いで、約400 nsで、コレステロールはひるがえってヘッド基をC D空洞と会合させ、この立体配置は、相対的に安定を維持し、ヘッド基は規則的に会合と解離を繰り返すが、約560 nsでついに複合体は再び分離する。この時点で、コレステロールは、一時的にランダムにC Dの周囲を移動し、次いで、テイルをC Dの下底と会合させる。580 nsまでに、コレステロールのテイルは、C D分子にぴったり挿入され、ヘッド基はC D下底から伸びている。次いで、582 nsで、複合体は再び分離し、610 nsでついにヘッド基が下底から挿入されて再び複合体を形成する。約680 nsで、複合体は再び分離し、750 nsで再形成され、次いで880 nsで再び分離し、920 nsで再形成され、軌跡の終わりまで約10 nsごとに、分離と再形成を続ける（ただし常に920 nsで見られるように会合する）。シミュレーション時間内で、コレステロールがC Dの空洞を完全に出て、その後再会合するという事実は、このプログラムが、2つの分子を分子自身により会合させることが可能であり、どのような

10

20

30

40

50

外部状況にもよらないものであったことを示す。このことは、この相互作用が、合理的であり、再発し、シミュレーションにより有効に捉えられていることの強力な証拠を提供する。

【0350】

天然単量体型 β CDと7KC、ダウン方向、GROMOS力場：

【0351】

図4Fでは、7KCは、テイルをCD空洞に挿入し、ヘッド基を上底の外に伸ばしている状態で開始する。この複合体は、この高次構造を維持し、7KCは、空洞中を前後に動き傾いている。600nsまで複合体は分離しないが、600nsの時点で7KCは素早く空洞を出て、下底に回り込む。7KCは、シミュレーションボックス周囲を浮遊しはじめ、720nsでのものと類似の高次構造でCDと周期的に一時的に会合する。全体として、複合体は、シミュレーションの終わりまで解離したままである。この解離にも関わらず、複合体は600nsの間安定であり、このことは、いったん7KCがCDの空洞内に入ると、7KCは、相互作用力によりそこに固定されることを示す。この軌跡は、7KC（アップ）のプロットが約600nsまで相対的に平坦なままであることから、図4Dにおいて数量化可能である。600nsというのは、複合体が分離し、ランダムな移動をとる時点である。

【0352】

天然単量体型 β CDとコレステロール、ダウン方向、GROMOS力場：

【0353】

図4Fでは、ダウン位置のコレステロールは、ヘッド基がCD空洞内側にあり、テイルを下底の外に伸ばしている状態で開始する。これは、約125nsまで安定を維持するが、約125nsでコレステロールが回転して空洞の外にでる。しかしコレステロールは、その後の200nsの間、周期的に、ヘッド基を下底からCDの空洞に挿入し続ける。約340nsで、複合体は全面的に分離し、コレステロールはシミュレーションボックス周囲を浮遊するが、約560nsでついに、以前と同じ様式で下底と再会合する。次いで、約30ns後にコレステロールは解離し、上底と平行に再会合する。次いで、軌跡の残りの間、コレステロールは、上底とこの様に会合することとランダムに浮遊することを繰り返す。

【0354】

天然単量体型 β CDと7KC、アップ方向、AMBER力場：

【0355】

図4IのAMBER力場で見られる相互作用は、天然単量体型 β CDによるステロールの強力な可溶化を支持する。軌跡全体の間、両リガンドが両方向で、シクロデキストリン環の内側にあり続け、7KCまたはコレステロールに対する優先性はほとんど見られない。7KC（アップ）は、分子の中心がCD空洞の内側にあり、ヘッド基が下底の外に少し出ている一方で、テイル基は上底の外に少し出ている状態で開始する。7KCは、軌跡全体の間、CD空洞の内側にぴったり一致したままであるが、少し前後に揺動しており、これは図4Gにおいて、全体的に平坦な線のわずかな変動として視認できる。このことは、安定な高次構造が形成されており分離しないことを示す。このことは、実験データとも一致しているが、AMBER力場は、GROMOS力場よりも強くより長い2分子間の相互作用を示す。

【0356】

天然単量体型 β CDとコレステロール、アップ方向、AMBER力場：

【0357】

図4Iでは、コレステロール（アップ）は、分子の中心がCD空洞の内側にあり、ヘッド基が下底の外に少し出ている一方で、テイル基は上底の外に少し出ている状態で開始する。この複合体は、軌跡全体の間、安定を維持している。コレステロールは、決して空洞から出ず、方向を変化させることもなく、ただ空洞の内側で前後に揺動するだけである。位置のこうした小さな変動は、図4Gの、特に角度の部の小さな突起に相当する。

【0358】

天然単量体型 β CD と 7KC、ダウン方向、AMBER 力場：

【0359】

図 4I では、7KC（ダウン）は、分子の中心が CD 空洞の内側にあり、ヘッド基が上底の外に少し出ている一方で、テイル基は下底の外に少し出ている状態で開始する。この複合体は、軌跡全体の間、安定を維持している。7KC は、決して空洞から出ず、方向を変化させることもなく、ただ空洞の内側で前後に揺動するだけである。位置のこうした小さな変動は、図 4G の、特に角度の部の小さな突起に相当する。

【0360】

天然単量体型 β CD と コレステロール、ダウン方向、AMBER 力場：

10

【0361】

図 4I は、コレステロール（ダウン）が、分子の中心を CD 空洞の内側に置き、ヘッド基が上底の外に少し出ている一方で、テイル基は下底の外に少し出ている状態で開始することを示す。この複合体は、軌跡全体の間、安定を維持している。コレステロールは、決して空洞から出ず、方向を変化させることもなく、ただ空洞の内側で前後に揺動するだけである。位置のこうした小さな変動は、図 4G の、特に角度の部の小さな突起に相当する。

【0362】

平行移動した天然単量体型 β CD と 7KC、アップ方向、GROMOS 力場：

【0363】

図 4L では、7KC は、分子の中心を CD 空洞の内側に置き、ヘッド基が下底の外に少し出ている一方で、テイル基は上底の外に少し出ている状態で開始する。複合体は、約 710 ns まで安定しているが、約 710 ns で、7KC は下底から出て、回転し、下底と平行に会合する。次いで、715 ns で、7KC は、完全に回転してヘッド基を挿入し、ヘッド基は上底に向かって伸び、テイルは下底の外に伸びているようになる。次いで、7KC は、数回ヘッド基を CD 空洞と会合及びそこから解離させ、約 850 ns でついに複合体は完全に分離する。複合体は、軌跡の残りの間、解離したままである。

20

【0364】

平行移動した天然単量体型 β CD と コレステロール、アップ方向、GROMOS 力場：

【0365】

図 4L は、コレステロールが、CD と会合しており、ヘッド基を下底の外に伸ばしている一方で、テイル基は上底から伸ばしている状態で開始することを示す。約 120 ns で、複合体は解離し、このとき、コレステロールは CD 上底まで移動し、ヘッド基を挿入して上底において空洞の内外に回転するが、約 160 ns でついに再び完全解離する。約 163 ns で、コレステロールは下底と再会合するが、5 ns 後についに上底へと回転して戻る。次いで、コレステロールは、下底または上底との会合とランダムな移動の間を行き来し、軌跡のまさに最後でついに、最後の 3 ナノ秒間、複合体をいくらか再形成する。コンピュータ上でのこの継続的な形成と変形は、これが、現実的には、形成の強い傾向を有することを示す。

30

【0366】

平行移動した天然単量体型 β CD と 7KC、ダウン方向、GROMOS 力場：

40

【0367】

図 4L は、7KC が、ダウン位置において、ヘッド基を上底の外に伸ばしている状態で開始することを示す。40 ns で、7KC は、後退して空洞を出て、下底と平行に会合し、2 ns 後にヘッド基を再挿入し、次いで再び後退して出る。45 ns で、複合体は完全に分離し、この時点で、7KC は、シミュレーションボックス周囲を浮遊し、47 ns で上底と再び会合し、一時的にヘッド基を挿入し、次いで回転して上底と平行に戻り、51 ns でついに複合体は再び分離する。210 ns で、複合体は再形成され、初期配置のように、ヘッド基が下底から挿入されて、テイルは外に出て伸びている。この複合体は、268 ns まで安定を維持するが、268 ns で、7KC は再び後退して CD から出て、下底と平行に会合する。複合体は再び完全に分離するが、360 ns で一時的に再形成する

50

。この後、7 K Cは、時々、7 1 0 n sでのものと類似の高次構造で2つの面のうち一方と平行に会合するが、C Dの空洞に再度入ることはない。この軌跡は、いくぶん不明瞭である。なぜなら、7 K Cは、1 0 0 n sの間のみ空洞と会合するが、この複合体は依然としてシミュレーションにおいて自由に形成されるからである。このことは、たとえ相互作用力がそれほど一貫していないように見受けられても、現実的には複合体が形成される可能性が高いことを示す。

【0 3 6 8】

平行移動した天然単量体型β C Dとコレステロール、ダウン方向、G R O M O S力場：

【0 3 6 9】

図4 Lでは、コレステロールは、ヘッド基を上底と会合させ、テイルを下底の外に伸ばしている状態で開始する。コレステロールは空洞内で横方向に揺動しているが、約1 5 n sでついに複合体は分離する。1 7 n sで、コレステロールは、ヘッド基を再度挿入し、約6 7 5 n sまで、C Dの下底と平行である状態と下底から（常にヘッド基を）空洞に挿入している状態の間で回転を続け、約6 7 5 n sでついに複合体は完全に解離する。これは、コレステロールが天然β C Dと見かけ上安定な複合体を形成する強い相互作用及び傾向を示すが、複合体は、6 7 5 n sでいったんC Dの下底から完全に解離してしまうと、再度会合することはしない。

【0 3 7 0】

平行移動した天然単量体型β C Dと7 K C、アップ方向、A M B E R力場：

【0 3 7 1】

図4 Oでは、7 K Cは、ヘッド基を下底の外に伸ばし、テイルを上底の外に伸ばしている状態で開始する。この複合体は、軌跡全体の間、安定を維持しているが、7 K Cは、ダウン方向で見られるよりも極端な折れ曲がり呈する。7 K Cは、軌跡のかかなりの部分で、C D環の周囲で折れ曲がったままである。

【0 3 7 2】

平行移動した天然単量体型β C Dとコレステロール、アップ方向、A M B E R力場：

【0 3 7 3】

図4 Oは、コレステロールが、ヘッド基を下底の外に伸ばし、テイルを上底の外に伸ばしている状態で、どのように開始するかを示す。この複合体は、軌跡全体の間、安定を維持している。コレステロールは、空洞中で相当前後に大きく移動するが、空洞内側での角度は、比較的一定したままである。

【0 3 7 4】

平行移動した天然単量体型β C Dと7 K C、ダウン方向、A M B E R力場：

【0 3 7 5】

図4 Oに見られるとおり、7 K Cは、ヘッド基を上底の外に伸ばし、テイルを下底の外に伸ばしている状態で開始する。この複合体は、軌跡全体の間、安定を維持し、7 K Cは、図4 Mの水平で一定したグラフから明らかたとおり、C D空洞の内側で目立つほどの動きがない。

【0 3 7 6】

平行移動した天然単量体型β C Dとコレステロール、ダウン方向、A M B E R力場：

【0 3 7 7】

図4 Oは、コレステロールが、ヘッド基を上底の外に伸ばし、テイルを下底の外に伸ばしている状態で、どのように開始するかを示す。この複合体は、軌跡全体の間、安定を維持し、コレステロールは、図4 Mの水平で一定したグラフから明らかたとおり、C D空洞の内側で目立つほどの動きがない。

【0 3 7 8】

単量体型ヒドロキシプロピルβ C Dと7 K C、アップ方向、G R O M O S力場：

【0 3 7 9】

アップ位置の7 K C（図4 R）は、テイルをH P β C Dの空洞内側に置き、ヘッドを下底の外に伸ばしている状態で開始する。約1 3 n sで、7 K Cは回転して下底から外に出

10

20

30

40

50

て、下底と平行に会合する。28 nsで、7KCのヘッド基は、空洞と再会合するが、次いで回転して外に戻ることを数回繰り返し、約47 nsまで7KCは下底と平行に会合したままであるが、約47 nsでついに複合体は完全に分離する。次いで、7KCは、軌跡の残りの間、面の一方と平行に会合することとシミュレーションボックス周囲をランダムに移動することの間を巡る。安定複合体は形成されない。

【0380】

単量体型ヒドロキシプロピルβCDとコレステロール、アップ方向、GROMOS力場：

【0381】

図4Rでは、コレステロールは、テイルをCD空洞に挿入し、ヘッド基を下底の外に伸ばしている状態で開始する。約3 nsまでこの複合体は安定しているが、約3 nsでついにコレステロールが回転して下底から外に出て、CDと平行になり、次いで7 nsまでに、回って上底に行く。次いで、コレステロールはシミュレーションボックス周囲をランダムに移動し、時々上底または下底いずれかと平行に会合するが、約300 nsでの短時間を除いて、空洞内側で安定することは決してできない。強力な会合のこの欠如は、図4Pの激しい変動により明らかであり、実験証拠により支持される。

【0382】

単量体型ヒドロキシプロピルβCDと7KC、ダウン方向、GROMOS力場：

【0383】

図4Rは、7KCが、いくらか単量体空洞の外側にあって開始し、最初はシミュレーションボックス周囲をランダムに浮遊することを示す。29 nsまでに、7KCは、ヘッド基をHPβCDの空洞内に会合させ、テイルを下底から伸ばす。これは、35 nsまで安定を維持しているが、35 nsで複合体は完全に解離する。複合体は、320 nsまで解離したままであるが、320 nsでついに複合体が再形成され、再びヘッド基が空洞の内側にあり、テイルが下底から外に伸びている。複合体は、約470 nsまで会合を維持するが、約470 nsでついに再び解離すると、軌跡の最後まで解離したままである。

【0384】

単量体型ヒドロキシプロピルβCDとコレステロール、ダウン方向、GROMOS力場：

【0385】

図4Rは、ダウン位置のコレステロールが、テイルを空洞に挿入し、ヘッドを上底の外に伸ばしている状態で開始することを示す。この複合体は、約300 nsまで安定を維持しているが、約300 nsでコレステロールは回転して下底から出て、CDと平行に会合し、次いで、複合体は完全に分離してCDから解離する。次いで、コレステロールはCD周囲を移動し、時々下底と平行に会合し、最終的には約100 nsで上底と会合する。次いで、コレステロールは、CD周囲のランダムな移動を続け、時々、一方の面と会合するか、275 nsでの高次構造と同様にしまで空洞に入るかのように回転するが、コレステロールは、どのくらい長時間をかけても空洞に完全に再進入することは決してない。これらの軌跡は、アップ方向の優先性を示唆する。これらの軌跡では、形成された唯一の安定複合体が7KC-アップであり、この安定複合体はシミュレーションにおいて完全に解離した後に独立して形成され、及びコレステロール-ダウンでは、初期配置から安定したままであった。これは、アップ方向の7KCに対する強い優先性と、ダウン方向のコレステロールに対する何かしらの相互作用を示唆する。

【0386】

単量体型ヒドロキシプロピルβCDと7KC、アップ方向、AMBER力場：

【0387】

7KC（アップ）は、分子の中心がCD空洞の内側にあり、ヘッド基が下底の外に少し出ている一方で、テイル基は上底の外に少し出ている状態で開始する。図4Uは、7KCが、軌跡全体の間、どのようにHPβCDの空洞中にあり続けるかを示し、7KCは、わずかに上下運動するものの、決してどちらか一端から空洞外のはるか遠くまで出ることがない。この複合体は分離しない。

【0388】

10

20

30

40

50

単量体型ヒドロキシプロピル β CDとコレステロール、アップ方向、AMBER力場：
【0389】

AMBER力場は、天然及びHP β CDの両方に関して、GROMOS力場よりもはるかに一貫した相互作用及びはるかに安定した複合体を示す。図4Uでは、コレステロール（アップ）は、分子の中心がCD空洞の内側にあり、ヘッド基が下底の外に少し出ている一方で、テイル基は上底の外に少し出ている状態で開始する。この複合体は、軌跡全体の間、安定を維持している。コレステロールは、決して空洞から出ず、方向を変化させることもなく、ただ空洞の内側で前後に揺動するだけである。最も好適な高次構造は、図4Sで視認されるとおり、500~700nsで生じるが、コレステロールとCDは、全軌跡の間、複合体形成したままである。位置のこうした小さな変動は、図4Sの、特に角度の部の、小さな隆起に相当する。

10

【0390】

単量体型ヒドロキシプロピル β CDと7KC、ダウン方向、AMBER力場：

【0391】

7KC（ダウン）は、分子の中心がCD空洞の内側にあり、ヘッド基が上底の外に少し出ている一方で、テイル基は下底の外に少し出ている状態で開始する。図4Uは、7KCのヘッドが、アップ方向の場合よりもどのくらい大きく空洞から出ているかを示すが、複合体が軌跡全体の間無傷のままであることも示す。このアップ方向に対する優先性は、図4Sにおいて視認され、「アップ」のプロットが「ダウン」のプロットよりはるかに変動の少ないものであるとおりだが、両方とも、依然として、GROMOSでのHP β CDよりも変動が著しく小さい。

20

【0392】

単量体型ヒドロキシプロピル β CDとコレステロール、ダウン方向、AMBER力場：

【0393】

図4Uは、コレステロール（ダウン）が、CD空洞の内側にあり、ヘッド基を上底の外に伸ばしている一方で、テイル基を下底から少し外に伸ばしている状態で開始することを示す。目立つのは、コレステロールのヘッド基が、時折、アップ方向の場合よりも著しく大きく空洞の外に出ることであるが、それでもなおこの複合体は、軌跡全体の間、安定を維持している。コレステロールは、空洞から完全に出ることは決してなく、方向を変えることもない。位置のこうした小さな変動は、図4Sの、特に角度の部の、小さな隆起に相当する。他の複合体に比べて目に見えてCDの空洞を通じたより大きな横方向の移動及びより小さい半径方向の揺動運動が存在する。

30

【0394】

平行移動した単量体型ヒドロキシプロピル β CDと7KC、アップ方向、GROMOS力場：

【0395】

図4Xは、平行移動したアップ方向の7KCが、テイルをCD空洞に挿入し、ヘッド基を下底の外に伸ばしている状態で開始することを示す。約105nsで、7KCは回転して空洞から外に出て、次いで7KCは、ヘッド基をCDに挿入した状態とCDに平行である状態の間を約5~10秒ごとに振り子のように繰り返し、ヘッド基が空洞内にある高次構造で過ごす時間の方が長いように見受けられる。約415nsで、構造は安定し、ヘッド基は挿入されているが、700nsでついに構造は再び分離して完全に解離する。その後、複合体は、726nsでの1回の一時的な再会合を除いて軌跡の残りの間解離したままであり、726nsで7KCのヘッド基は、CDの大面に挿入されている。ここでの相互作用エネルギーは、簡単にいうと、複合体が形成された400nsでのものと匹敵する。複合体は容易に形成及び分離できるように見受けられるため、この相互作用は現実的で、強く、シミュレーションにより捉えられる可能性が高い。

40

【0396】

平行移動した単量体型ヒドロキシプロピル β CDとコレステロール、アップ方向、GROMOS力場：

50

【0397】

コレステロールは、ヘッド基を空洞に挿入し、テイルを上底の外に伸ばしている状態で開始する。この複合体は、60 nsの間安定しているが、その後ついにコレステロールが回転して下底から出て、CDと平行に会合する。次いで、コレステロールはCDから完全に出てシミュレーションボックスの周囲をランダムに移動するが、約215 nsでついにテイルをCDの空洞と再会合させ、ヘッド基を再び下底から伸ばす。これは、約30 nsの間安定しているが、その後ついにコレステロールは再びCDを出て、次いで280 nsでヘッド基をCDの空洞に迅速に再会合させ、このとき、ヘッド基は空洞中にあり、テイルは下底から伸びている。この複合体は、軌跡の残りの間、安定を維持している。このことは、図4Xに見られるとおり、軌跡の終わりに形成されていた複合体が、非常に安定であり形成の可能性が高いことを示す。

10

【0398】

平行移動した単量体型ヒドロキシプロピルβCDと7KC、ダウン方向、GROMOS力場：

【0399】

平行移動したダウン方向の7KCは、ヘッド基をCD空洞に挿入し、テイルを下底の外に伸ばしている状態で開始する。約105 nsで、7KCは回転して空洞から出て、次いで、7KCは、ヘッド基をCDに挿入した状態とCDに平行な状態の間を約5～10 nsごとに振り子のように繰り返し、ヘッド基が空洞内にある高次構造で過ごす時間の方が長いように見受けられる。約415 nsで、構造は安定し、ヘッド基は挿入されているが、700 nsでついに構造は再び分離して完全に解離する。その後、複合体は、図4Xに見られるとおり、軌跡の残りの間解離したままである。

20

【0400】

平行移動した単量体型ヒドロキシプロピルβCDとコレステロール、ダウン方向、GROMOS力場：

【0401】

HPβCDに関して平行移動したダウン方向のコレステロールの場合、コレステロールは、テイルをCD空洞に挿入し、ヘッド基を上底の外に伸ばしている状態で開始する。50 nsで、複合体は分離するが、コレステロールは上底との会合を維持し、テイルが空洞に入ったり出たりを周期的に繰り返し、その後88 nsで完全に解離する。次いで、コレステロール分子はCDの下底と会合し、その後シミュレーションボックス周囲のランダムな移動を再開する。軌跡は、2つの面のうち一方との会合とランダム移動との間を周期的に繰り返すが、215 nsでついに、その時点から次の25 nsの間、コレステロールのテイルが上底から空洞に再度入る。次いで、コレステロールはCD周囲のランダム移動を再開する。275 ナノ秒で、コレステロールのヘッド基は上底から空洞に入り、そこに留まるが、約410 nsでついに複合体は完全に解離する。この時点から約490 nsまで、コレステロールはシミュレーションボックス周囲をランダムに移動するが、約490 nsで、コレステロールは下底に向かって回転し、ヘッド基を空洞に挿入する。約530 nsまで、複合体はこの高次構造を維持するが、約530 nsで、コレステロールは移動して空洞から出て、回転し、そしてそのテイル基を下底から空洞に再び挿入して戻す。540 nsまでに、コレステロールはランダム移動を再開している。コレステロールは、空洞に再度入ることは決してないが、CDのいずれかの面と密接に会合する頻度が高い。図4Xで明らかなおと、どれだけ長時間をかけてもコレステロールは決してHPβCDと安定な複合体を形成しないことから、HPβCDとコレステロールの間の相互作用は、たとえば平行移動した位置であっても、一過性であり、HPβCDと7KCの間の相互作用ほど強くないように見受けられる。

30

40

【0402】

平行移動した単量体型ヒドロキシプロピルβCDと7KC、アップ方向、AMBER力場：

【0403】

50

図4 A Aは、7 K Cが、ヘッド基を上底の外に伸ばし、テイルは下底で外に面しており、7 K Cの中心はC Dの空洞中に位置する状態で開始することを示す。この複合体は、軌跡全体の間、安定を維持し、7 K Cは、図4 Yの水平で一定したグラフから明らかとなり、C D空洞の内側で目立つほどの動きがない。

【0404】

平行移動した単量体型ヒドロキシプロピルβ C Dとコレステロール、アップ方向、A M B E R力場：

【0405】

図4 A Aは、コレステロールが、ヘッド基を上底の外に伸ばし、テイルは下底で外に面しており、コレステロールの中心はC Dの空洞中に位置する状態で開始することを示す。この複合体は、軌跡全体の間、安定を維持し、コレステロールは、図4 Yの水平で一定したグラフから明らかとなり、C D空洞の内側で目立つほどの動きも移動もない。

【0406】

平行移動した単量体型ヒドロキシプロピルβ C Dと7 K C、ダウン方向、A M B E R力場：

【0407】

図4 A Aは、7 K Cが、ヘッド基を上底の外に著しく伸ばし、テイルを下底から外側に向けているが、テイルは完全に空洞にある状態で開始することを示す。この複合体は、軌跡全体の間、安定を維持し、7 K Cは、図4 Yの水平で一定したグラフから明らかとなり、C D空洞の内側で目立つほどの動きがない。7 K Cは、この方向ではアップ方向よりも大きな横移動を示す。

【0408】

平行移動した単量体型ヒドロキシプロピルβ C Dとコレステロール、ダウン方向、A M B E R力場：

【0409】

図4 A Aは、コレステロールが、ヘッド基を上底の外に伸ばし、テイルは下底で外に面しており、コレステロールの中心はC Dの空洞中に位置する状態で開始することを示す。この複合体は、軌跡全体の間、安定を維持しているが、コレステロールは、空洞内側で著しく移動し、テイルのみが会合してヘッド基はC Dの外に出ていることが多い。これは、図4 Yにおいて、特に距離において、ダウン方向での変動がアップ方向よりも大きいことにより、見てとれる。

【0410】

二量体化ヒドロキシプロピルβ C Dと7 K C、アップ方向、G R O M O S力場：

【0411】

図4 D Dにおいて、7 K Cは、二量体の内側にあり、上手く閉じ込められた状態で開始する。約100 nsで、二量体は伸縮し始めるが、7 K Cは、この伸縮にも関わらず、2つのC Dの内側の樽構造中にあり続ける。111 nsで、ヘッド基は、会合していた単量体（この考察において、「単量体」という用語は、それが共有結合で連結した二量体の一部であることに関わらずC Dサブユニットを示す）から解離するが、テイルは、他方の単量体の空洞と会合したままである。5 ns後、7 K Cのヘッド基は、一方の単量体の大面（空洞ではなく）との相互作用に進み、一方テイルは他方に係留されたままである。120 nsで、テイルは会合していた単量体から放出され、ヘッド基は他方の単量体の空洞に進入する。この立体配置は安定を維持しており、ステロール会合単量体は、軌跡の終わりまで、空の単量体周囲を揺動する。

【0412】

二量体化ヒドロキシプロピルβ C Dとコレステロール、アップ方向、G R O M O S力場：

【0413】

コレステロール（アップ）の軌跡は、コレステロールが二量体に包み込まれた状態で開始する。約22 nsで、二量体は動き始めるが、コレステロールもこれとともに移動し、二量体空洞の内側にあり続ける。約200 nsで、コレステロールのヘッド基と会合した

10

20

30

40

50

単量体は分離し、二量体から解離するが、コレステロールは、単量体の一方と会合したままである（ヘッド基は下底と整列し、テイルは上底と整列している）。この配置は、維持されるが、355 ns についてコレステロールは空洞から完全に解離し、下底に向かって回転する。次いで、コレステロールは、時々ヘッド基がゆるく一方の単量体と会合しつつ、2つの単量体の間にあり続けるが、その後ついに完全に離れてシミュレーションボックス周囲を浮遊する。図4DDに見られるとおり、コレステロールは一方のCD単量体と断続的に相互作用し続けるが、二量体-コレステロール複合体が完全に再形成されることは決してない。

【0414】

二量体化ヒドロキシプロピルβCDと7KC、ダウン方向、GROMOS力場：

10

【0415】

ダウン位置の7KCは、図4DDに示すとおり、二量体の内側に閉じ込められた状態で開始する。二量体は、約600 ns まで変形を開始せず、約600 ns で、一方の単量体が伸長して他方から離れるが、7KCは2つの間にあり続ける。約820 ns で、7KCは、テイルを単量体の一方から解離させるが、ヘッド基は、他方の単量体の空洞中にあり続ける。この立体配置は、安定を維持しており、軌跡の終わりまで、ステロール会合単量体は、空の単量体周囲を揺動する。

【0416】

二量体化ヒドロキシプロピルβCDとコレステロール、ダウン方向、GROMOS力場：

【0417】

20

ダウン位置のコレステロール（図4DD）は、二量体のかごの内側にある状態で開始する。約50 ns で、複合体は伸縮及び捻転を開始するが、コレステロールは、軌跡全体の間、二量体の内側に係留されたままである。このことは、図4BBにおいてコレステロール角度のプロットが軌跡全体の間非常に平坦かつ一定していることから明らかである。これは、GROMOS力場において軌跡全体の間インタクトを維持した唯一の複合体である。図4BBは、7KC及びコレステロールと非常に安定な複合体を形成する本発明者らの新規ブチル連結ヒドロキシプロピルβ-シクロデキストリン二量体（DS5）に関する分子動態解析を示す。これらのグラフと単量体型HPβCDのグラフの対比は、二量体化版が、一貫して、その単量体型カウンターパートよりも著しく確実にステロールと結合することの明らかな証拠を提供する。ダウン方向の場合、エネルギー、角度、及び距離は全て、最小限の変動だけで、非常に一貫したままであり、このことは、7KC及びコレステロールの両方について安定した見かけ上可溶化した複合体が存在し、この複合体は時間とともに目立って変化することがないことを示す。同じことは、アップ方向でも見ることができるが、いくらか変動が大きくなり、特にコレステロールについてそうである。このことは、7KCがダウン方向で最も効果的に結合し、アップ方向の場合に約350 ns での角度反転により見られるとおり、ダウン方向に対する強い優先性があることを示唆する。約350 ns での角度反転は、7KCが二量体から出てダウン方向で再会合するものである。コレステロールもまた同様であるが、複合体は、7KCで形成されるものほど安定ではなく、このことは、7KCが安定性の低いアップ複合体からより安定なダウン複合体を形成することができるように見受けられるのに対して、コレステロールには、7KCと同じ能力がないことを示す。

30

40

【0418】

二量体化ヒドロキシプロピルβCDと7KC、アップ方向、AMBER力場：

【0419】

図4GGは、7KCが、軌跡全体にわたり、どのように、2つの単量体により形成された空洞の内側に位置し続けるかを詳細に示す。複合体は、いくらか動きを示し、7KCは空洞内側でわずかに移動するが、7KCは、軌跡全体の間、CD二量体と複合体形成したままである。

【0420】

二量体化ヒドロキシプロピルβCDとコレステロール、アップ方向、AMBER力場：

50

【0421】

図4GGでは、コレステロールは、軌跡全体にわたり、2つの単量体の間に位置し続ける。単量体は、お互い及びコレステロールとの会合を維持し、複合体は、動くが決して分離しない。

【0422】

二量体化ヒドロキシプロピル β CDと7KC、ダウン方向、AMBER力場：

【0423】

図4GGは、7KCが、軌跡全体にわたり、2つの単量体により形成された空洞の内側に位置し続けることを示す。複合体は、いくらか動きを示し、7KCは空洞内側でわずかに移動するが、7KCは、軌跡全体の間、CD二量体と複合体形成したままである。

【0424】

二量体化ヒドロキシプロピル β CDとコレステロール、ダウン方向、AMBER力場：

【0425】

図4GGは、コレステロールが、軌跡全体にわたり、2つの単量体により形成された空洞の内側に位置し続けることを示す。複合体は、いくらか動きを示し、コレステロールは空洞内側でわずかに移動するが、コレステロールは、軌跡全体の間、CD二量体と複合体形成したままである。

【0426】

平行移動した二量体化ヒドロキシプロピル β CDと7KC、アップ方向、GROMOS力場：

【0427】

図4JJは、二量体化複合体が、平行移動したアップ方向の7KCを、両CD単量体の空洞にぴったり収まって位置した状態で開始することを示す。約140nsで、複合体は伸長し、図4GGにおいてこの時点で最初の変動を引き起こすが、迅速に回復する。複合体は、図4GGの変動から見られるとおり、伸縮及び変形を周期的に繰り返し続けるが、7KCは、両空洞の内側にあり続け、約700nsでついにテイルがその単量体から放出される。7KCは、軌跡の残りの間、両方の空洞に同時に再進入することはない。

【0428】

平行移動した二量体化ヒドロキシプロピル β CDとコレステロール、アップ方向、GROMOS力場：

【0429】

図4JJは、平行移動したアップ方向のコレステロールが、二量体と複合体形成した状態で開始することを示し、約100nsで、複合体は変形を開始する（明らかに7KC複合体よりも大きく）。図4GGにおけるコレステロールに関しての約180nsでの角度の大きな変化は、下底を通じてコレステロールのヘッドと会合していた一方の単量体が、第二の単量体の反対底に対して180度完全に回転し、いくぶん変形した下底（コレステロールと会合している）が第二単量体のいくぶん変形した上底と会合し、これによりいくぶん変形したヘッド・テイル二量体が生成されたときに生じる。このヘッド・テイル二量体は、コレステロールとの複合体を完全に形成することは決してないが、しかし、コレステロールのヘッド基は、それが最初から会合していた単量体との会合を維持する。これは、ヘッド・テイル二量体を生み出す唯一の軌跡であり、この立体配置は、コレステロールと有効に複合体形成するようには見受けられない。

【0430】

平行移動した二量体化ヒドロキシプロピル β CDと7KC、ダウン方向、GROMOS力場：

【0431】

平行移動したダウン位置の7KCは、CD二量体の中心で、両単量体と会合した状態で開始する。図4JJは、230nsで、一方の単量体が伸長して7KCのテイルから遠く離れ、次いで、355nsで、7KCが二量体から完全に離れることを示す（なお、ここでは、図4GGにおける一貫性も中断される）。400nsで、7KCは、ヘッド基で一

10

20

30

40

50

方の単量体と再会合する。7 K Cのヘッドは、軌跡の残りの間、この単量体と会合したままであるが、テイルが第二の単量体に再挿入されることは決してない。

【0 4 3 2】

平行移動した二量体化ヒドロキシプロピルβ C Dとコレステロール、ダウン方向、G R O M O S力場：

【0 4 3 3】

平行移動したダウン位置のコレステロールは、約1 6 2 n sの間、C D二量体と複合体形成する。この時点で、二量体化複合体は伸縮及び変形を開始し、次いで、1 9 0 n sで、コレステロールのヘッド基はその単量体と離れる。2 1 0 n sまで、コレステロールは、どちらの単量体の空洞とも会合しないが、2つの分離した単量体の間にあり続ける。コレステロールは、3 2 0 n sまで二量体と密接に会合したままであるが、3 2 0 n sで、完全に解離する。図4 J Jに見られるとおり、コレステロールは、軌跡の残りの間、どちらの空洞にも再進入せず、二量体化複合体が完全に再形成されることもないが、コレステロールは、6 4 0 n sでの立体配置と同様に、時折ヘッド基で一方の単量体の下底と会合する。

【0 4 3 4】

平行移動した二量体化ヒドロキシプロピルβ C Dと7 K C、アップ方向、A M B E R力場：

【0 4 3 5】

図4 M Mは、7 K Cが、軌跡全体にわたり、どのように、2つの単量体により形成された空洞の内側に位置し続けるかを詳細に示す。複合体は、7 K C周囲でいくらか動きを示すが、7 K Cは、軌跡全体の間、ほぼ完全に同じ場所を維持する。

【0 4 3 6】

平行移動した二量体化ヒドロキシプロピルβ C Dとコレステロール、アップ方向、A M B E R力場：

【0 4 3 7】

図4 M Mは、コレステロールが、軌跡全体にわたり、どのように、2つの単量体により形成された空洞の内側に位置し続けるかを詳細に示す。複合体及びコレステロールは、軌跡の間、いくらか移動し、特にコレステロールのヘッドと会合した単量体は移動するが、コレステロールは、いずれの単量体からも完全に解離することが決してない。コレステロールは、軌跡全体にわたり、C D二量体と複合体形成している。

【0 4 3 8】

平行移動した二量体化ヒドロキシプロピルβ C Dと7 K C、ダウン方向、A M B E R力場：

【0 4 3 9】

図4 M Mは、7 K Cが、軌跡全体にわたり、どのように、2つの単量体により形成された空洞の内側に位置し続けるかを詳細に示す。複合体は、7 K C周囲でいくらか動きを示すが、7 K Cは、軌跡全体の間、ほぼ完全に同じ場所を維持する。7 K Cは、軌跡全体にわたり、C D二量体と複合体形成している。

【0 4 4 0】

平行移動した二量体化ヒドロキシプロピルβ C Dとコレステロール、ダウン方向、A M B E R力場：

【0 4 4 1】

図4 M Mは、コレステロールが、軌跡全体にわたり、どのように、2つの単量体により形成された空洞の内側に位置し続けるかを詳細に示す。複合体は、コレステロール周囲でいくらか動きを示すが、コレステロールは、軌跡全体の間、ほぼ完全に同じ場所を維持する。コレステロールは、軌跡全体にわたり、C D二量体と複合体形成している。

【0 4 4 2】

さらに、ブチルリンカー及びトリアゾールリンカーを持つD S Oのβ C D二量体両方（図4 N N～図4 Q Q）ならびにトリアゾールリンカーを持つヒドロキシプロピル二量体（

10

20

30

40

50

図 4 R R～図 4 S S) について簡略解析を行った。D S 0 のシミュレーションは、トリアゾールリンカーが、いくぶん複合体を不安定化させるものの、7 K C に対する何かしらのさらなる特異性をもたらすことを可能にすることを示す。わずかに異なるものの依然として強力かつ好適な相互作用は、両種のリンカーにとって良い前兆である。

【0 4 4 3】

トリアゾール連結 H P β C D 二量体 (図 4 R R) は、ブチル連結ヒドロキシプロピル化二量体よりわずかに弱い相互作用、及びダウン方向で 7 K C に対する強い優先性を示した。コレステロール相互作用は、7 K C とのものより弱く、7 K C に対するいくらかの特異性を示した。ダウン方向の 7 K C は、これまでのところ、最も安定な複合体を形成する。トリアゾール基の付加は、7 K C をダウン方向で安定なものにしたが、その他の複合体は全て、ある時点で分離した。

【0 4 4 4】

さらなる M D 解析

さらなる、短縮 M D 解析を、トリアゾール連結ならびにブチル連結したメチル β C D、スルホブチル β C D、及び第四級アンモニウム β C D についても行った。これらは全て、D S 4 だった (図 5 B～図 5 C、図 6 B～図 6 C、7 A～図 7 B)。メチル二量体は、ブチルリンカーを持つものが最も安定な複合体を形成し、両方のリンカーの場合でアップ方向を優先するように見受けられたが、相互作用は、試験した 2 種のメチル二量体で非常に類似している。メチル置換基に関して、どちらがより特別に有効であるかを区別することは困難であるが、両種のリンカーとも、両方のリガンドと容易に複合体を形成する。軌跡から、7 K C のヘッド基は、二量体の空洞内に完全に入っているのではなく、2 つの姉妹単量体の間に安定して維持されることが明らかとなった。ダウン方向の 7 K C との複合体は、約 5 0 n s の間会合を維持し、その後、7 K C は、移動して空洞から出て、軌跡の残りの間、ヘッド基のみが、一方の単量体と会合を維持していた。

【0 4 4 5】

負に荷電したスルホブチル二量体は、メチル二量体及びヒドロキシプロピル二量体と同様なパターンを示し、この場合、トリアゾールリンカーがわずかに不安定な複合体を作り出すが、7 K C 特異性を可能にする。荷電した嵩高いスルホブチル基は、7 K C 及びコレステロールの両方と非常に好適に相互作用するように見受けられるが、どちらのリンカーの場合も、分離した唯一の複合体は、コレステロールのものである。このことは、スルホブチル二量体がメチル及びヒドロキシプロピルと比べた場合に、7 K C に対して非常に良好な特異性を有する可能性が高いことを示す。

【0 4 4 6】

荷電した置換基の使用をさらに評価するため、D S 4 の正に荷電した第四級アンモニウム β C D の M D 解析を行った。これらの軌跡は、いずれのリンカーについてもあらゆる時点で放出されたステロールがなかったことから、Q A β C D とステロールの間の強力な結合を明らかにした。両方のリガンド及びリンカーに関して、軌跡全体の間、強力な相互作用エネルギー及び少なくとも 1 つの姉妹単量体との会合が存在することは、D S 4 の Q A β C D が、他の種類の置換基と大いに同様に、ステロールと結合しそれらを可溶化するのに十分適していることを暗示する。

【0 4 4 7】

最後の M D 解析では、単一 O - リンカーを持つ H P β C D (図 8 H) を試験した。O 連結二量体 (図 8 H) は、アップ方向の 7 K C だけが全 1 0 0 n s の間、複合体形成を維持したとおり、良好な 7 K C 特異性を示した。相互作用エネルギーは、ブチル連結と比較して、O 連結の場合大きさがわずかに低下するが、全体的な特異性は、リンカー O に関してより良好であるように見受けられる。なぜなら、両方のコレステロール複合体が 1 0 0 n s までに分離するからである。相互作用は、ブチル連結二量体と同様であるが、それらは、わずかに良好な 7 K C 特異性を与えるように見受けられる。これは、明らかに、リンカーの窒素が、7 K C のカルボニルと相互作用することによる。

【0 4 4 8】

さらなるドッキングスクリーニング

【0449】

ドッキングシミュレーションにより、多くの異なる候補分子を、それらの合成を必要とせずに迅速にモデリングすることができる。この理由により、これらのドッキング技法を用いて、多くの異なる置換基種類、リンカー種類、置換数、及び置換位置の「スクリーニング」を行った（図8～図9）。このスクリーニングにより、ある特定の修飾について、それが7KCに対する特異性を改善するか悪化させるか判定することができる。

【0450】

図8Eは、本発明者らのHPβCD二量体が、リンカーの組成及び結合点、ヒドロキシプロピル化部位の変更、リンカー長の変更、ならびにリンカーの化学組成の変更によ10
うに左右されるかの評価を説明する。リンカー結合部位は、シクロデキストリンの化学合成中に制御することが容易ではないことから、コンピューター計算で試験した。ドッキング計算を、様々なヒドロキシプロピル化部位（図8A）、様々な長さの炭素のみリンカー（鎖長は、2～8個の炭素、図8B）及びトリアゾールリンカー（トリアゾール環を取り巻くn1及びn2価を変化させる、図8C）、ならびに二量体化HPβCDのO2及び／またはO3酸素（複数可）との異なる結合点（図8F～図8G）、ならびに異なるリンカー種全部（図9A）について行った。結果は、ヒドロキシプロピル基の位置を変化させた場合、7KC優先性に対する効果はほとんどなくステロール結合全体に対しても最小限の15
効果であることを示す。リンカー長は、3～5個の炭素が、7KCに対して最大の親和性及び特異性を示した（図8B）。20

【0451】

Autodockでモデリングした様々なトリアゾールリンカーを、図8Cに示す。これら連結二量体に関して、n1は、アジド環の右側の炭素数を示し、一方n2は、アジド環の左側の炭素数を示す。これらの結果に基づくと、トリアゾールリンカーの長さが環の両側でそれぞれ4未満のものが、7KCに対して最大の親和性を有すると予測される。

【0452】

図8Eでは、23種の異なる可能な代替リンカーについて、HPβCD二量体と7KCとのドッキング計算を行った（図8Dに示す）。これらの結果に基づくと、試験した連結二量体のほとんどは、7KCに対して良好な親和性を維持すると予測される。

【0453】

本発明者らは、リンカーが、C2炭素またはC3炭素いずれかでシクロデキストリンの下底と結合可能であるという事実も検討した。本発明者らは、このことが、予測される親和性に影響を及ぼすかどうかを、分子ドッキングにより試験した（図8F）。本発明者らは様々な結合部位で非対称リンカーにより連結することにより、ステロールに対する親和性により明白な差異が存在するかどうかとも検討した。これらの計算は、典型的な合成において、全部およそ等量で存在する3つの可能な連結部位全てに関して、7KC及びコレステロールと結合する傾向を示す。これらの計算は、5種の異なる非対称リンカーにより連結した二量体の合成で存在する4種の可能な連結全てに関して、7KC及びコレステロールと結合する傾向を示す。概して、C2結合部位とC3結合部位の間に大きな違いは観察されなかった。30
40

【0454】

本発明者らの分子モデリングは、置換基数が異なる場合の、7KC特異性のレベルにおける差異を明らかにした。特に興味深かったのは、3つ、4つ、または5つのヒドロキシプロピル基を持つ連結HPβCDであり、これらは、モデリングしたブチル二量体のいずれについても最大の7KC特異性を示した（図4B）。本発明者らは、DS約3をはじめとする様々なブチル連結及びトリアゾール連結HPβCD二量体を合成した。本発明者らの予測と一致して、HPβCD-ブチル-DS3及びHPβCD-トリアゾール-DS3は、コレステロールに対してよりも高い7KC特異性を有していた（図16A～図16C）。50

【0455】

ヒドロキシプロピルCD二量体ドッキング解析を完了する際、様々なリンカーを持ち置換度が様々に異なる多種多様なCD二量体について7KC及びコレステロールに対するドッキングを行って、これらの要因が7KC及びコレステロール結合にどのように影響するかを調べた(図5A、図6A、及び図9)。メチル置換基及びスルホブチル置換基をDS1～DS20としてブチルリンカー及びトリアゾールリンカーを用いて試験し(図5A、図6A)たところ、結果は、さらなる分子動態解析を促進し、最終的に合成するのに十分なほど有望であった。

【0456】

図5A及び図6Aにおいて、7KC特異性は、スルホブチル置換基及びメチル置換基の両方に関して低DS(2～6)で最良であることが観察されている。DS4のMeβCD及びSBβCDは、DS5のHPβCDと最も類似して挙動し、この場合7KCは十分に可溶化されるがコレステロールはそうならない。7KC特異性は、両リンカー及び全ての置換基について、DSが高くなるほど、どんどん明白でなくなっていくように見える。試験した置換基種の全てについて約DS4が最大の7KC特異性を与えたように見受けられたことから、他のリンカー種についてはDS4のみを試験した。

【0457】

ヒドロキシプロピル、メチル、またはスルホブチル以外の置換基は、低DSのみで、ブチルリンカー、トリアゾールリンカー、リンカーO、及びリンカーRのみを用いて試験した(図9A)。一部のリンカーまたは置換基種は、他のものより高いまたは低い特異性を示すものの、大部分は、依然として、7KCに対して少なくともいくらかの特異性を示す。このことは、試験した化合物の中で、7KC特異性が、リンカーまたは置換基の種類に依存するのではなく、βCD環の置換基数に依存することを示唆する。ごく一部の置換基種でごく一部のリンカー種を用いると負の特異性が示されたものの、平均7KC特異性は、これら23種のリンカー及び低DS(4)の7種の置換基種について、依然として十分に0を超えていた。

【0458】

分子ドッキングを用いることで、トリアゾールリンカーまたはアルキルリンカーの長さが、ヒドロキシプロピル、メチル、及びスルホブチル置換基を有するシクロデキストリン二量体の7KC特異性にどのように影響するかを試験することができた(図9B～図9C)。リンカー長が増大するにつれて、特異性が低下することが示された。理論に固執するつもりはないが、リンカー長が長いほど、CDサブユニットはより長い距離で離れることができ、したがって、7KCまたはコレステロールの大きさである分子を有効に包含することができる高次構造で過ごす時間が短くなると考えられる。これらの結果に基づき、本発明者らは、ゲスト(7KCまたはコレステロール)が2つのCDサブユニット中にフィットすることを可能にするリンカー長、例えば、原子が7個以下のリンカー長を有する二量体が、当該分子のより優れた可溶化を示すだろうと結論づける。

【0459】

本発明者らは、スルホブチル、ヒドロキシプロピル、及びメチル置換基、ならびにこれら3種の組み合わせを用いて異なる置換パターンを多数作り出すことにより、CD二量体の7KCに対する特異性が、置換位置に依存するかどうかについても試験した(図9D～図9E)。1つのCD二量体に単一置換基種が存在する場合、または複数種の置換基が存在する場合であっても、DSが約4である場合には、7KC特異性は大きく維持されることがわかった。これら置換基の種類及び位置は、7KC特異性に大きく影響することはない。ドッキングシミュレーションの結果は、リンカー及び置換基両方の組成が、所定のCDについてそれがどのくらい良好にゲストを可溶化できるかに影響するものの、7KCに対する特異性の度合いは、CD環の置換基数に最も依存することを示唆する。図4B及び図5A～図5Bに見られるとおり、ブチル連結二量体は、メチル、スルホブチル、及びヒドロキシプロピル置換基についてDS約2～5で最高の7KC特異性を示した。これは、トリアゾールリンカーにも同様に当てはまり、複数のリンカー及び置換基種が、置換度2～5で、7KCに対して同様な特異性を示す可能性があるという考えを支持する。さ

10

20

30

40

50

らに、23種の異なるリンカー及び14種の異なる置換基からなる広範囲にわたる様々な置換パターン／組み合わせをドッキングして、リンカーまたは置換基パターンが7KC特異性に影響を有するかどうかを判定した(図9A)。これらの解析は両方とも、7KC特異性の度合いの変化を示したが、平均特異性は、依然として十分0を超えていた。

【0460】

行ったドッキング及び分子動態解析スクリーニングは、ある特定のリンカー種または置換基の個数、種類、及び位置が、7KC特異性に影響するかどうかを特定する役割を果たした。結合(親和性)に大きな影響を持つ唯一の修飾は、シクロデキストリンの実際の二量体化であった(ドッキングした単量体と比較して、図2E、二量体はステロールとの非常により良好な結合を示した)。対照的に、二量体に存在する置換基数は、7KC結合特異性に対して最大の影響を及ぼした。ドッキングシミュレーションは、βCDを二量体化し、約4つの適合する官能基で置換すると、多種多様な置換基種類、パターン、及びリンカーに関して、7KCに対する特異性はほとんど維持されることを示す。

【0461】

メチル基、スルホブチル基、及びヒドロキシプロピル基は全て、互いに非常に異なるとともに、試験したリンカーの範囲は顕著な多様性を含んでいたため、本発明者らは、ステロールゲストと同様なリンカー長を持つ他の置換基種が、ヒドロキシプロピル基を持つブチル連結CD二量体と同様に挙動すると考えることは非合理的ではないと考える。置換基及びリンカーの種類は溶解性及び毒性など他の特性に何らかの影響を有する可能性があるものの、7KCに対する特異性は、このクラスの他の分子にも同様に存在することが予測される。

【0462】

実施例3. HPβCD置換シクロデキストリン二量体の合成

【0463】

図3A～図3Dは、以下の図10で合成される分子を図解する。

【0464】

この実施例は、置換シクロデキストリン二量体の合成を、最初にブチルリンカーで連結したもの、次いでトリアゾール含有リンカーで連結したものについて説明する。

【0465】

DS測定については、¹H及び²D NMRスペクトルを、Varian VXR-600で600MHzにて記録し、内部基準として残存溶媒シグナルを用いる。構造を解明するため、試料をDMSO-d₆/D₂Oに溶解させる。少なくとも0ppm～+10ppmを含むスペクトル窓が得られるように、少なくとも16回スキャンして、FIDシグナルを記録する。平均置換度(DS)の計算は、アノマー領域の積分値を14に設定し(14は、ベーターシクロデキストリン二量体のアノマープロトンの個数である)、アルキル領域の積分値を3で除算することにより、達成可能である(図10Jを参照)。

【0466】

合成及び特性決定の一般的説明

【0467】

HP(βCD-ブターβCD)

【0468】

ヒドロキシプロピル化β-シクロデキストリン二量体の調製は、3段階合成を通じて達成した(図10Aを参照)。出発物質は、上底がtert-ブチルジメチルシリル基で保護された単量体型β-シクロデキストリンである(TBDMS-βCD、CycloLab、Budapest、Hungary)。

【0469】

下底二量体化は、TBDMS-βCD、無水条件、及び塩基として水素化ナトリウムを用いることにより達成した。不均一反応混合物にジアルキル化剤を滴下し、室温で完全に反応させた。

【0470】

上底を保護した β CD二量体(TBDMS- β CD-ブター- β CD-TBDMS)を、均一溶媒溶出(溶離液としてクロロホルム:メタノール:水=50:8:0.8(v/v))を用いるクロマトグラフィーにより精製した。化合物のMALDI分析により、生成物の正体を確認した(図10D)。

【0471】

THF中、室温で、テトラブチルアンモニウムフルオリドを用いて脱シリル化を行った。 β CD二量体(β CD-ブター- β CD)を、均一溶媒溶出(溶離液として1,4-ジオキサン:NH₃=10:7(v/v))を用いるクロマトグラフィーにより精製した。化合物のMALDI分析及びTLC分析により、生成物の正体を確認した(図10E~図10F)。

10

【0472】

β CD二量体のヒドロキシプロピル化は、水性条件中、室温で、塩基として水酸化ナトリウムを用いることにより達成した。ヒドロキシプロピル化 β CD二量体(HP(β CD-ブター- β CD))の精製は、イオン交換樹脂処理、活性炭清澄化、及び大規模透析を利用した。化合物のMALDI分析及びTLC分析により、生成物の正体及び構造を確認した(図10G~図10N)。

【0473】

HP(β CD-トリアゾール- β CD)

【0474】

1つのトリアゾール部分で下底を通じて接続されたヒドロキシプロピル化 β -シクロデキストリン二量体の調製は、4段階の手順で行うことができる(図10B)。第一段階は、アジドリンカー(3-アジド-1-ブロモプロパン)の調製であり、これは、この試薬が市販されていないためである。第二段階は、2種の β CD単量体、2-オ-プロパルギル- β -CD及び2-オ-(3-アジドプロピル)- β CDをそれぞれ調製することである。合成の第三段階は、銅触媒アジド-アルキン環化付加による二量体核の構築であり、最終段階は、古典的アルキル化アプローチによる一連の2-ヒドロキシプロピル化トリアゾール連結二量体の調製である。

20

【0475】

詳細には、アジドリンカーの調製は、アジ化ナトリウムの量を厳密に制限し、制限試薬の付加時間を延長することにより達成可能である。次いで、アジドリンカーを、NMR分光測定及びTLCにより特性決定する(図10R)。

30

【0476】

2種の単量体の合成は、下底を脱保護するための選択的塩基として水素化リチウムを使用することにより達成される。詳細には、このアプローチにより、C2に位置するヒドロキシル基のみが活性化される。結果として、この方法により調製された単量体は、O2でのみ置換されている(これらは、単一の異性体である)。2種の単量体を、NMR分光測定、MALDI、及びTLCにより特性決定する(図10S~図10U)。

【0477】

次いで、2種の単量体を反応させることにより、二量体核の調製が達成される。得られる化合物である、単一の異性体、(BCD-(トリアゾール)₁-BCD、DS=0)を、NMR分光測定(図10V)及びMALDI(図10O)により特性決定する。

40

【0478】

β CD-トリアゾール- β CDのヒドロキシプロピル化は、プロピレンオキシド及びアルカリ性水性条件を用いて達成した。一連のヒドロキシプロピル化化合物を、MALDIにより特性決定した(図10P~図10Q)。

【0479】

合成の詳細な説明(HP(β CD-ブター- β CD))

【0480】

工程1:TBDMS- β CDの下底二量体化

【0481】

50

不活性雰囲気下、THF (400 mL) に、乾燥 TBDMS-βCD (10 g、5.17 mmol) を溶解させ、水素化ナトリウム (2.5 g、50 mmol) を注意しながら少しずつ加えた (30 分かけて)。水素化ナトリウムを加えることで、水素の形成が起こり、懸濁液が激しく発泡した。15 分攪拌後、反応混合物はゲル化し、攪拌が困難になった。ゲルを破壊する目的で、反応混合物を、穏やかな還流が起こるまで加熱し、30 分間還流を維持した。黄色がかった不均一懸濁液は、それまでより攪拌しやすくなり、ゲル様構造は消失した。反応混合物を水浴で室温に冷却した。アルキル化剤である 1,4-ジブromobutan (1.25 mL、2.25 g、10.5 mmol) を滴下 (15 分) すると、反応混合物の色は暗橙色になった。

【0482】

褐色がかった懸濁液を、不活性雰囲気下、一晚攪拌した。変換率は、TLC による見積もりで 10~15% (溶離液: クロロホルム: メタノール: 水 = 50:10:1、v/v、図 10C を参照) であったので、後処理ができると判断した。

【0483】

反応混合物をメタノール (30 mL) でクエンチし、減圧濃縮し (約 20 mL)、水 (200 mL) で沈殿させた。粗反応物を、焼結ガラスフィルターで濾過し、水で十分に洗った (3×300 mL)。粗物質を、乾燥ボックス中、KOH 及び P₂O₅ の存在下で一定重量になるまで乾燥させた (12.1 g)。

【0484】

粗反応物を、クロマトグラフィーにより精製して、TLC 分析 (図 10C) に基づいて、生成物を含有する画分を収集し、乾固するまで減圧エバポレートして、白色物質を得た。これを、乾燥ボックス中、KOH 及び P₂O₅ の存在下で一定重量になるまで乾燥させた (TBDMS-βCD-ブターβCD-TBDMS、3.5 g)。

【0485】

工程 2: TBDMS-βCD ブチル連結二量体の脱保護

【0486】

不活性雰囲気下、THF (250 mL) に、乾燥 TBDMS-βCD-ブターβCD-TBDMS (3.5 g、0.89 mmol) を溶解させ、黄色がかった溶液に、テトラブチルアンモニウムフルオリド (8.75 g、33.47 mmol) を一括で加えた。室温で 30 分攪拌後、反応混合物の色は、暗緑色になった。反応混合物を、室温で一晩攪拌した。TLC 分析 (1,4-ジオキサン: NH₃ = 10:7 (v/v)) により、反応が完了していないことが明らかとなったので、容器に、2 回目の分量のテトラブチルアンモニウムフルオリド (4 g、13.3 mmol) を加えた。反応混合物を穏やかに還流するまで加熱し、2 時間還流させた。この段階で、反応の変換は、TLC により検出可能な出発物質がないことから、完了していた。反応混合物を室温に冷却し、減圧濃縮し (約 10 mL へ)、メタノール (200 mL) を加えて、白色沈殿を得た。固体を濾別し、TLC により分析し、乾燥ボックス中、KOH 及び P₂O₅ の存在下で一定重量になるまで乾燥させた (1.2 g)。TLC 分析により、この物質は、無視できる (≤3%) 量のテトラブチルアンモニウムフルオリドを含んでいた。母液を減圧濃縮し (約 10 mL へ)、クロマトグラフィー (溶離液: 1,4-ジオキサン: NH₃ = 10:7 v/v) により精製して、生成物を含有する画分を収集し、乾固するまで減圧エバポレートし、白色物質を得た。これを、乾燥ボックス中、KOH 及び P₂O₅ の存在下で一定重量になるまで乾燥させた (βCD-ブターβCD、0.55 g)。

【0487】

工程 3: βCD-ブターβCD のヒドロキシプロピル化

【0488】

水 (10 mL) に、βCD-ブターβCD (0.5 g、0.21 mmol) を懸濁させ、反応容器に水酸化ナトリウム (0.1 g、2.5 mmol) を加えると、混合物の色は、わずかに黄色い溶液になった。反応混合物を水浴で冷却し (10℃)、プロピレンオキシド (0.5 mL、0.415 g、7.14 mmol) を一括で加えた。反応容器をアル

10

20

30

40

50

ゴンでフラッシュし、密閉し、室温で2日間攪拌した。反応混合物を、粘稠なシロップになるまで減圧濃縮し、これにアセトン(50 mL)を加えて沈殿させた。白色固体を焼結ガラスフィルターで濾過し、アセトンで十分に洗った(3×15 mL)。この物質を水(50 mL)で溶解し、イオン交換樹脂で処理し(塩を除去するため)、活性炭で清澄させ、膜濾過し、1日間精製水に対して透析した。残余分を、乾固するまで減圧エバポレートし、白色固体を得た(0.8 g)。

【0489】

合成の詳細な説明(HP(βCD-トリアゾール-βCD))

【0490】

工程1: アジド-リンカーの調製

【0491】

激しく攪拌しながら、40 mLのDMSOに1, 3-ジブロモプロパン(10 mL、20.18 g、0.1 mol)を溶解させる。アジ化ナトリウム(6.7 g、0.1 mol)のDMSO(240 mL)溶液を調製して、ジハロプロパン溶液に、これを滴下する(2時間かけて加える)。溶液を、室温で一晩攪拌する。次いで粗反応物を、n-ヘキサン(3×100 mL)で抽出し、収集したn-ヘキサン相を水(3×50 mL)で逆抽出し、有機相を、注意しながら減圧エバポレートする(厳密に40℃、400 mbarで、そうしないと、標的化合物が留去されてしまう可能性がある)。油状残渣を、クロマトグラフィーにより精製する(溶離液としてn-ヘキサン-EtAc=98:2、均一溶媒溶出)。適切な画分を収集し、減圧濃縮し、標的化合物を粘稠油状物として得る(これは、遮光冷蔵容器中、不活性雰囲気下で貯蔵可能)。TLCプレートを、トリフェニルホスフィンのジクロロメタン溶液(10%)に約15秒間浸漬し、TLCプレートを60℃未満で乾燥させ、TLCをニンヒドリンエタノール溶液(2%)に約15秒間浸漬し、最後にTLCプレートを60℃未満で乾燥させることにより、化合物を可視化する。標的化合物は、TLCプレート上で紫色スポットとして出現する。

【0492】

工程2.1: 2-O-プロパルギル-βCDの調製

【0493】

β-シクロデキストリン(20 g、17.62 mmol)の乾燥DMSO(300 mL)溶液に、水素化リチウム(212 mg、26.432 mmol)を加える。得られる懸濁液が透明になるまで、これを、N₂下、室温で攪拌する(12~24時間)。次いで、臭化プロパルギル(1.964 mL、17.62 mmol)及び触媒量のヨウ化リチウム(約20 mg)を加え、混合物を、遮光して、55℃で5時間攪拌する。TLC(10:5:2のCH₃CN:H₂O:25% v/vのNH₃水溶液)を用いて生成物の特性分析を行うと、それぞれモノプロパルギル化及び非プロパルギル化β-シクロデキストリンに相当するスポットが見られる。溶液をアセトン(3.2 L)に注ぎ、沈殿物を濾過し、アセトンで十分に洗う。得られる固体を丸底フラスコに移し、最低限の体積の水で溶解させる。シリカゲル(40 g)を加え、粉末状残渣が得られるまで溶媒を減圧除去する。この粗混合物を、シリカカラム(25×6 cm)の頂部に乗せ、クロマトグラフィー(10:5:2のCH₃CN:H₂O:25% v/vのNH₃水溶液)を行い、凍結乾燥後、2-O-プロパルギル-β-CDを固体として得る。2-O-プロパルギル-β-CDは、MALDI及びNMRにより分析した(図10T及び図10U)。

【0494】

工程2.2: 2-O-(3-アジドプロピル)-βCDの合成

【0495】

β-シクロデキストリン(20 g、17.62 mmol)の乾燥DMSO(300 mL)溶液に、水素化リチウム(212 mg、26.432 mmol)を加える。得られる懸濁液が透明になるまで、これを、N₂下、室温で攪拌する(12~24時間)。次いで、3-アジド-1-ブロモ-プロパン(3 mL)及び触媒量のヨウ化リチウム(約20 mg)を加え、混合物を、遮光して、55℃で5時間攪拌する。TLC(10:5:2のCH

$3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}:25\%\text{v}/\text{v}$ の NH_3 水溶液)を用いて生成物の特性分析を行うと、 $2\text{-O-(3-アジドプロピル)-}\beta\text{-CD}$ 及び $\beta\text{-CD}$ に相当するスポットが見られる。溶液をアセトン(3.2L)に注ぎ、沈殿物を濾過し、アセトンで十分に洗う。得られる固体を丸底フラスコに移し、最低限の体積の水で溶解させる。シリカゲル(40g)を加え、粉末状残渣が得られるまで溶媒を減圧除去する。この粗混合物を、シリカカラムの頂部に乗せ、クロマトグラフィー(10:5:2の $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}:25\%\text{v}/\text{v}$ の NH_3 水溶液)を行い、凍結乾燥後、 $2\text{-O-(3-アジドプロピル)-}\beta\text{-CD}$ を固体として得る。

【0496】

工程3： $\beta\text{-CD}$ -トリアゾール- $\beta\text{-CD}$ 二量体の合成

【0497】

激しく攪拌しながら、水(300mL)に、 $2\text{-O-プロパルギル-}\beta\text{-CD}$ 及び $2\text{-O-(3-アジドプロピル)-}\beta\text{-CD}$ を溶解させる(それぞれ、濃度が約8~12mM)。不均一混合物を完全に溶解させる目的で、この懸濁液にジメチルホルムアミド(DMF)(約300mL)を加える(DMFの添加は、わずかに発熱するプロセスである)。溶液に、臭化銅(2g、13.49mmol)を加える。懸濁液を、室温で1時間攪拌する。反応は、TLCでモニタリングし、約1時間に反応したと予想される(溶離液： $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}:\text{NH}_3=10:5:2$)。粗反応物を濾過し、母液を減圧濃縮する(60℃)。ゲル様物質を、水で希釈し、シリカ(15g)を加える。不均一混合物を、乾固するまで減圧濃縮する。この粗混合物を、シリカカラムの頂部に乗せ、クロマトグラフィー(10:5:2の $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}:25\%\text{v}/\text{v}$ の NH_3 水溶液)を行い、乾燥後、 $\text{BCD-(トリアゾール)}_1\text{-BCD}$ 二量体を得る。 $\text{BCD-(トリアゾール)}_1\text{-BCD}$ 二量体の調製は、NMRにより特性分析した(図10V)。

【0498】

工程4：HP($\beta\text{-CD}$ -トリアゾール- $\beta\text{-CD}$)

【0499】

$\beta\text{-CD-(トリアゾール)}_1\text{-}\beta\text{-CD}$ 二量体、これは、上記の工程1~3により得られたものでも他の方法により得られたものでもよいが、これ(1g、0.418mmol)を、水(50mL)に懸濁させ、反応容器に、水酸化ナトリウム($\text{DS3}=0.32\text{g}$ 、8mmol； $\text{DS6}=0.74\text{g}$ 、18.5mmol； $\text{DS7}=0.87\text{g}$ 、21.75mmol)を加えると、混合物はわずかに黄色の溶液になった。反応混合物を水浴(10℃)で冷却し、プロピレンオキシド($\text{DS3}=0.49\text{mL}$ 、0.42g、7.25mmol； $\text{DS6}=1.21\text{mL}$ 、1.04g、17.9mmol； $\text{DS7}=1.46\text{mL}$ 、1.7g、29.3mmol)を一括で加えた。反応容器をアルゴンでフラッシュし、密閉し、室温で2日間攪拌した。溶液を、粘稠シロップが得られるまで減圧濃縮し、粘稠シロップをアセトン(50mL)で沈殿させた。白色固体を、焼結ガラスフィルターで濾過し、アセトンで十分に洗った(3×15mL)。この物質を水(50mL)で溶解し、イオン交換樹脂で処理し(塩を除去する目的で)、活性炭で清澄させ、膜濾過し、1日間精製水に対して透析した。残余分を、乾固するまで減圧エバポレートし、白色固体を得た(0.8g)。HP($\beta\text{-CD}$ -トリアゾール- $\beta\text{-CD}$)生成物をNMRにより分析し(図10W、図10X、及び図10Y)、それらの置換度を、それぞれ図中に示すとおり計算した。

【0500】

実施例4．メチル置換シクロデキストリン二量体の合成

【0501】

図3Eに、合成する分子を図解する。

【0502】

この実施例は、トリアゾール含有リンカーを持つメチル置換シクロデキストリン二量体の合成を記載する。

【0503】

メチル($\beta\text{-CD-(トリアゾール)}_1\text{-}\beta\text{-CD}$)二量体(合成例)

【0504】

メチル化 β -シクロデキストリン二量体の調製は、1段階反応で達成した（図11Aを参照）。 β CD-（トリアゾール）₁- β CD二量体核は、上記実施例3に記載した合成戦略により調製する。

【0505】

合成

【0506】

激しく攪拌しながら、脱イオンH₂O（100mL）に β CD-（トリアゾール）₁- β CD二量体核（1.1g、0.46mmol）を懸濁させ、水酸化ナトリウム（0.35g、8.8mmol）を加えた。得られるわずかに黄色の懸濁液を、完全に溶解するまで30分間攪拌した。黄色がかった透明溶液の温度が約20℃で安定したら、激しく攪拌しながら、ヨウ化メチル（0.5mL、1.14g、8.03mmol）を一括で加えた（注：ヨウ化メチルは反応混合物と混和しないので、そのため、効率よくするために激しく攪拌した）。反応混合物を室温で24時間攪拌し、次いでこれをイオン交換樹脂で処理した（溶液にH+樹脂（6g）及びOH-（6g）樹脂を加え、15分間攪拌し、濾別した（樹脂を脱イオン水3回×15mLで洗った））。得られる濾液（最終pH=7）を、活性炭で清澄させた（激しく攪拌しながら、溶液に活性炭（0.2g）を加え、30分間攪拌し、濾別した（活性炭パッドを脱イオン水3回×15mLで洗った））。無色溶液を減圧エバポレートし（40℃）、表題化合物を白色粉末として得た（約1g）。

【0507】

特性決定

【0508】

反応プロセスは、TLCによりモニタリングし（図11B）、得られる物質は、図11C～図11NのとおりMALDI-TOF及びNMR分析により特性決定した。

【0509】

実施例5．スルホブチル置換シクロデキストリン二量体の合成

【0510】

図12Fに、合成する分子を図解する。

【0511】

この実施例は、トリアゾール含有リンカーを持つスルホブチル置換シクロデキストリン二量体の合成を記載する。

【0512】

SB二量の調製は、1段階反応で達成した（図12A）。

【0513】

合成（SB低DS）

【0514】

激しく攪拌しながら、脱イオンH₂O（60mL）に β CD-（トリアゾール）₁- β CD二量体核（1.2g、0.5mmol）を懸濁させた。混合物に、水酸化ナトリウム（0.39g、9.75mmol）を加え、得られる溶液を、60℃に加熱した。ブタンスルトン（0.88mL、1.17g、8.6mmol）を、60℃で滴下し、溶液を同温度で3時間加熱した。次いで、残存ブタンスルトンを分解するため、反応物をさらに1時間90℃に加熱した。反応混合物を冷却し、イオン交換樹脂で処理した。溶液に、カチオン交換樹脂（H+樹脂、2g）及びアニオン交換樹脂（OH-樹脂、2g）を加え、15分間攪拌し、濾別した（樹脂を脱イオン水3回×15mLで洗った）。得られる濾液（最終pH=7）を、活性炭で清澄させた（激しく攪拌しながら、溶液に活性炭（0.3g）を加え、30分間攪拌し、濾別した（活性炭パッドを脱イオン水3回×15mLで洗った））。

【0515】

無色溶液を減圧エバポレートし（40℃）、白色粉末を得た（約1.47g）。

【0516】

特性決定

【0517】

反応は、TLC分析によりモニタリングし（図12B）、得られる物質は、図12C～図12KのとおりMALDI-TOF及びNMR分析により特性決定した。

【0518】

合成（高DS）

【0519】

激しく攪拌しながら、脱イオンH₂O（60mL）に（βCD-（トリアゾール）1-βCD）二量体核（1.2g、0.5mmol）を懸濁させた。混合物に、水酸化ナトリウム（1.22g、30.5mmol）を加え、得られる溶液を、60℃に加熱した。ブタンスルトン（2.8mL、3.72g、27.35mmol）を、60℃で滴下し、溶液を同温度で3時間加熱した。次いで、残存ブタンスルトンを分解するため、反応物をさらに1時間90℃で加熱した。反応混合物を冷却し、イオン交換樹脂で処理した。溶液に、カチオン交換樹脂（H+樹脂、4g）及びアニオン交換樹脂（OH-樹脂、4g）を加え、15分間攪拌し、濾別した（樹脂を脱イオン水3回×15mLで洗った）。得られる濾液（最終pH=7）を、活性炭で清澄させた（激しく攪拌しながら、溶液に活性炭（0.5g）を加え、30分間攪拌し、濾過した（活性炭パッドを脱イオン水3回×15mLで洗った））。無色溶液を減圧エバポレートし（40℃）、白色粉末を得た（1.51g）。

【0520】

特性決定

得られる物質は、図12M～図12PのとおりMALDI-TOF及びNMR分析により特性決定した。

【0521】

実施例6．第四級アンモニウム置換シクロデキストリン二量体の合成

【0522】

図3I及び図13Gに、合成する分子を図解する。

【0523】

この実施例は、トリアゾール含有リンカーを持つ第四級アンモニウム置換シクロデキストリン二量体の合成を記載する。

【0524】

第四級アンモニウム（βCD-（トリアゾール）₁-βCD）二量体（合成例）

【0525】

QA二量体の調製は、1段階反応で達成した（図13Aを参照）。βCD-（トリアゾール）₁-βCD二量体核は、上記実施例2に記載した合成戦略により調製する。

【0526】

合成

【0527】

激しく攪拌しながら、脱イオンH₂O（100mL）に（BCD-（トリアゾール）1-BCD）二量体核（1.2g、0.5mmol）を懸濁させ、水酸化ナトリウム（0.39g、9.8mmol）を加えた。得られるわずかに黄色の懸濁液を、完全に溶解するまで30分間攪拌した。黄色がかった透明溶液の温度が5～10℃で安定したら、激しく攪拌しながら、グリシジルトリメチルアンモニウム＝クロリド（1.17mL、1.32g、8.7mmol）を一括で加えた。反応混合物を室温で24時間攪拌し、次いで、溶液の温度が5～10℃で安定したら、激しく攪拌しながら、2回目の分量のグリシジルトリメチルアンモニウム＝クロリド（0.4mL、0.45g、3mmol）を加えた。反応混合物を、50℃で3時間加熱し、次いで、冷却し、イオン交換樹脂で処理した（溶液にH+樹脂（6g）及びOH-（6g）樹脂を加え、15分間攪拌し、濾別した（樹脂を脱イオン水3回×15mLで洗った））。得られる濾液（最終pH=7）を、活性炭で清澄させた（激しく攪拌しながら、溶液に活性炭（0.2g）を加え、30分間攪拌し、濾

別した（活性炭パッドを脱イオン水3回×15 mLで洗った）。無色溶液を減圧エバポレートし（40℃）、表題化合物を白色粉末として得た（約800 mg）。

【0528】

特性決定

【0529】

得られる物質は、図13B～図13KのとおりMALDI-TOF及びNMR分析により特性決定した。

【0530】

QA-BCD誘導体の場合、ランダム置換誘導体で観察される規則的パターンを持った典型的なガウス分布が失われ、一方で断片化の不規則パターンが検出される。これらの不規則ピークの同定／帰属は、断片化の単純なパターンを予測することができないため、困難を極める。MALDIスペクトルで観察される不規則パターンは、最も考えられるのは、実験条件下でトリメチルアンモニウム部分が不安定なためである。詳細には、離脱生成物（図2を参照）は、トリメチルアンモニウム部分開裂の結果であり、一方、脱メチル化生成物（図2を参照）は、カチオン側鎖からメチル基が進行的に開裂した結果である。レーザー脱離中に情報価値のないピークが生成することから、MALDI条件はQA-BCD誘導体のDSを特定するのに適切ではないと結論づけるのが合理的である。しかしながら、QA-BCD誘導体のDSは、NMRにより特定可能であり（図13I）、これは約2.1であると見積もられた。

【0531】

実施例7．スクシニル置換シクロデキストリン二量体の合成

【0532】

図3G及び図14Gに、合成する分子を図解する。スクシニル置換二量体（Succ二量体）の調製は、1段階反応で達成した（図14Aを参照）。

【0533】

合成

【0534】

不活性雰囲気下、激しく攪拌しながら、ピリジン（23 mL）に（βCD-（トリアゾール）1-βCD）二量体核（1.2 g、0.5 mmol）を懸濁させた。（βCD-（トリアゾール）1-βCD）二量体の溶解度を高める目的で、懸濁液を1時間40℃で加熱したが、完全に溶解させることはできなかった。懸濁液に2回目のピリジン（23 mL）を加えたが、希釈しても（βCD-（トリアゾール）1-βCD）二量体の溶解度は、それ以上改善されなかった。コハク酸無水物（0.1 g、1 mmol）を室温に加え、反応混合物を24時間攪拌した。粗反応物を、減圧濃縮し、水（50 mL）に溶解させ（透明な溶液は得られなかった）、イオン交換樹脂で処理した（溶液にH⁺樹脂（2 g）及びOH⁻（2 g）樹脂を加え、15分間攪拌し、濾過した（樹脂を脱イオン水3回×15 mLで洗った）。得られる濾液（最終pH=7）を、活性炭で清澄させた（激しく攪拌しながら、溶液に活性炭（0.5 g）を加え、30分間攪拌し、濾過した（活性炭パッドを脱イオン水3回×15 mLで洗った）。無色溶液を減圧エバポレートし（40℃）、表題化合物を白色粉末として得た（約900 mg）。

【0535】

特性決定

【0536】

得られる物質は、図14B～図14KのとおりMALDI-TOF及びNMR分析により特性決定した。

【0537】

QA二量体の場合と同様、MALDI分析は、DS特定に適切ではないことが明らかとなった。DSは、NMRにより特定して（図14I）、約2.1であると見積もられた。

【0538】

実施例8．βCD二量体及び単量体を用いた、血球細胞からの7KC及びコレステロー

ルの抽出

【0539】

方法

【0540】

血液は、有資格採血専門医が、健康な提供者から採血した。試験物質またはPBSのみ（陰性対照）を、様々な濃度で全血に加え、37℃で3時間インキュベートした。次いで、血液を遠沈し、血清を収集した。血清を凍結し、次いで、質量分析用に処理した。

【0541】

血漿を含まない7-ケトコレステロールは、タンパク質沈降及びアセトニトリルでの抽出、さらに新規第四級アミノオキシ（QAO）質量タグ試薬である、Amplifex Keto試薬（AB Sciex、Framingham、MA、USA）を用いて誘導体化した後、LC-MS/MSにより測定した。Amplifex Keto試薬は、テストステロンの分析に使用されることがある（Star-Weinstock [et al.], Analytical Chemistry, 84 (21): 9310-9317. (2012)）。

【0542】

血漿試料50 µLに、内部標準であるd7-7-ケトコレステロール（Toronto Research Chemicals、North York、Ontario、CA）を0.5 ng添加した。d7-7-ケトコレステロールは、0.1 ng/µLのエタノール溶液として調製した。試料を、アセトニトリル250 µLで処理し、ボルテックス混合し、12,000 × gで10分間遠心してタンパク質を除去した。上清を真空乾燥させ、次いで、QAO試薬75 µLで処理した。作業試薬は、Amplifex keto試薬0.7 mLをAmplifex keto希釈剤0.7 mLと混合して、10 mg/mL原液を調製することにより、準備した。次いで、この原液を5%酢酸含有メタノールで1:4に希釈し、最終作業濃度を2.5 mg/mLとした。混合物を室温で2日間反応させてから、LC-MS/MS分析した。

【0543】

7-ケトコレステロールの標準物質（Toronto Research Chemicals、North York、Ontario、CA）を、活性炭除去した血漿、SP1070、（Golden West Biological、Temecula、CA、USA）中及びリン酸緩衝食塩水中、1~100 ng/mLで調製した。活性炭除去した血漿には検出される残存7-ケトコレステロールが存在したため、PBSから調製した標準物質を用いた。

【0544】

QAO-7-ケトコレステロール誘導体を、4000 Q-TRAPハイブリッド/三連四重極線形イオントラップ型質量分析器（SCIEX、Framingham、MA、USA）を用い、ポジティブモードでエレクトロスプレーイオン化（ESI）して分析した。質量分析器は、Shimadzu（Columbia、MD）SIL-20AC XRオートサンブラ、続いて2LC-20AD XR LCポンプと接続されていた。

【0545】

装置は、以下の設定で操作した：電源電圧4500 kV、GS1 50、GS2 50、CUR 20、TEM 550、及びCADガス媒体。化合物は、以下の表1に示すとおり純粋な誘導化合物の注入により最適化された多重反応モニタリング（MRM）及びトランジションを用いて定量した。太字のトランジションを定量化に用いた。

10

20

30

40

50

【表 1】

Q 1質量 (D a)	Q 3質量 (D a)	滞留時間 (m s e c)	化合物	クラスタ 分離電位	入口 電位	衝突 エネルギー	衝突 セル 出口 電位
515.5	58.8	150	QAO-7- ケトコレス テロール	106 V	10 V	99 V	8 V
515.5	456.3	150	QAO-7- ケトコレス テロール	106 V	10 V	43 V	12 V
522.5	463.4	150	QAO-d7- ケトコレス テロール	61 V	10 V	45 V	14 V
522.5	432.8	150	QAO-d7- ケトコレス テロール	61 V	10 V	31 V	14 V

【0546】

Gemini 3 μ C6-フェニル 110 Å、100×2mmカラム (Phenomenex, Torrance, CA, USA) を用い、これを Shimadzu (Columbia, MD) CTO-20ACカラムオープンで35℃に維持して、分離を達成した。勾配移動相は、流速0.5ml/分で送達した。勾配移動相は、2種の溶媒、A：0.1%ギ酸含有水、B：0.1%ギ酸含有アセトニトリルからなるものであった。溶媒Bの初期濃度は20%であり、続いて10分で60%のBへと直線上昇し、続いて0.1分で95%Bになり、3分間それを維持し、0.1分かけて低下して最初の20%Bに戻り、そして4分間それを維持した。7-ケトコレステロールの保持時間は、8.46分であった。

【0547】

データは、Analyst 1.6.2 (SCIEX, Framingham, MA, USA) を用いて獲得し、Multiquant 3.0.1 (SCIEX, Framingham, MA, USA) ソフトウェアで分析した。試料値を、分析物対内部標準のピーク面積比から作成した標準曲線と、1/x重み付けを用い一次方程式に当てはめた分析物濃度との対比から計算した。定量化の下限は1ng/mLであり、このときの正確度は102%及び精度（相対標準偏差）は8.5%であった。信号対雑音 (S/N) は、19:1であった。濃度100ng/mLでの正確度は98%であり精度は0.5%であり、S/Nは24:1であった。

【0548】

結果

【0549】

図15A及び図15Bは、HP β CD二量体 (MALDI及びNMRの両方により特定した場合のDSは約8、図10I及び図10Jを参照) が、HP β CD単量体よりもはるかに効率的に、血球細胞 (全血) から7KCを除去可能であることを実証する。これはヒト対象でのex vivoアッセイであるが、非ヒト動物での実験よりもはるかに正確にヒト患者での効果を予測することができる結果を得ることを可能にする。図15Cは、HP β CD二量体が、血漿コレステロールレベルに目につくほどの影響を及ぼさないことを実証する。このことは、HP β CD二量体が、血球細胞からコレステロールを大量に除去することがないことを暗示する。細胞からあまりに大量のコレステロールを除去すると、潜在的に細胞膜及び小器官膜の破壊を招き細胞死を引き起こす恐れがある。本発明者らは

、このことを直接検討したいと考え、したがって、溶血アッセイを行った。

【0550】

実施例9．シクロデキストリン二量体の濃度が高いことのみにより誘導された溶血

【0551】

方法

【0552】

試験溶液については、試験するシクロデキストリンの濃度に応じてPBS量を変化させた。試料を3つ組みで試験した。各試料に、血液50μLを、PBS及びシクロデキストリン溶液（原液もPBSで作成）とともに加え、最終体積200μLで適切な濃度にした。5% Triton X-100を陽性対照として用い、PBSを陰性対照とした。すべての試料を混合したら、それら試料を、37℃のインキュベータに入れ、攪拌しながら3時間放置した。陽性対照は、Triton X-100界面活性剤により100%溶血した。試料は、インキュベーションから出した後、96ハイドログレードプレート中、同一因子により希釈し、陽性対照吸光度を基準に正規化した。陽性対照吸光度は、1.1前後である。吸光度は、540nmで読む。次いで、陰性試料を差し引くことにより、試料の平均を補正した。実験は3回行った。エラーバーは、平均値の標準偏差である（Melanga [et al.], Journal of Pharmaceutical Sciences, 105 (9): 2921-31. (2016)), (Kiss [et al.], European Journal of Pharmaceutical Sciences, 40 (4): 376-80. (2010))。

【0553】

図15D～図15Eは、ブチル連結及びトリアゾール連結二量体の血球細胞に対する毒性が、非常に低く維持されており、1mM未満の薬理学的範囲において目に付くほどの毒性がないことを実証する。図15Dは、3種の異なるDSを持つブチル連結HP二量体（図10G～図10IではDSはMALDIにより特定し、図10JではDSはNMRにより確認）、DS約3のトリアゾール連結HP二量体（図10P及び図10Wで特性決定；MALDIに基づき標識）、及びDS約3のトリアゾール連結Me二量体（図11I及び図11Lで特性決定）による溶血を示す。濃度が高くなると、3種のブチル連結二量体のみが、測定可能な溶血を示した。図15Eにおいて、本発明者らは、トリアゾール連結βCD二量体の他の様々な置換基で、溶血を試験した。試験したのは、無置換の、第四級アンモニウム（DS約2、図13Iで特性決定）、スクシニル（DS約2、図14Iで特性決定）、及びスルホブチル（DSは、図12E、図12H、図12K、及び図12NにおいてNMR及びMALDIの両方により特性決定；MALDIによるDSには、標識してある）であった。無置換の二量体のみ、最高7.5mMまで試験した。この濃度では、約5%の溶血が検出される可能性がある。他の二量体は、最高5mMまでのみを試験したが、試験した濃度のいずれにおいても、顕著な溶血は検出されなかった。

【0554】

βCDのトリアゾール二量体化型は、高濃度でも、試験したHPβCDブチル二量体より溶血性が低いように見受けられるが、どちらのリンカーでも及び全ての置換基型で非常に低い溶解が示され、このことは低毒性を示唆している。

【0555】

実施例10．シクロデキストリン二量体によるステロール及びステロール様化合物の可溶化

【0556】

実施例2～6に記載した二量体による親油性化合物の可溶化を試験した。試験化合物には、コレステロール前駆体（デスモステロール）、他のオキシステロール、ステロイドホルモン、及びステロールビタミンが含まれていた。

【0557】

in vitro 溶解度アッセイ（混濁度アッセイ）の方法

【0558】

ステロール貯蔵原液（オキシステロール、ホルモン、及びビタミンを含む）を、100%エタノールに懸濁させた。懸濁液の最終濃度：様々な濃度のシクロデキストリンを含むPBS中、3%エタノール、300 μ Mのステロール。試料を、37°Cで30分間インキュベートし、次いで、吸光度を、分光光度計プレートリーダーで350 nmで測定した。試料は、Beckman Biomek 2000リキッドハンドラーを使用して4つ組みで準備し、親水性コーティングされたプレートを用いることで、ウェルの表面に結合するステロールを最小限に抑えた。実験は全て、3回以上行った。エラーバーは、平均値の標準偏差である。

【0559】

混濁度値は、シクロデキストリンなしで測定された混濁度のパーセンテージを基準に正規化した。

【0560】

結果

【0561】

本発明者らは、*in vitro*分光測定アッセイにおいて、7- α -コレステロールに対して本発明者らの新規二量体を試験した。図16Aにおいて、DS3は、平均して約3のヒドロキシプロピル基を持つブチル連結二量体であり（図10GでMALDIにより定量）、DS6は、平均で約6の置換基を持つブチル連結二量体であり（MALDI、図10H）、DS8は、平均で約8のヒドロキシプロピル置換基を持つブチル連結二量体である（MALDI、図10I）。ステロール濃度は、常に300 μ Mで一定であり、様々な濃度のHP β CD二量体に対して試験した。HP（CD-トリアゾール-CD）は、MALDIにより特定されるとおりの表記平均置換数を持つトリアゾール連結シクロデキストリン二量体であり（図10P）、一方でHP（CD-ブター-CD）は、表記されるDSを持つブチル連結二量体を示す。

【0562】

図16A～図16Bは、本発明者らの合成したHP β CD二量体が全て、7KC及びコレステロールの両方を、HP β CD単量体よりはるかに効率的に可溶化することを示す。このことは、2つの連結された単量体がどのようにしてステロールを完全に取り囲み、それを水から保護し、長時間にわたり結合を維持し、及び結合が失われてもそれを回復することができるかを解説する本発明者らのコンピューター計算モデル及び予測と一致する。一部の低濃度の二量体では、その濃度で達成される可溶化と高濃度の単量体で達成される可溶化を比較し、同じ可溶化が約10分の1のモル濃度で達成されると概算することが可能である。このことは、コレステロール／7KCに対する親和性が、単量体のものより約10倍高い可能性があることを暗示するが、親和性定数を厳密に特定するためには他の実験の結果を待たなくてはならない。次いで、本発明者らは、さらに、これら二量体化HP β CDが、好適な親和性で7KCと結合し得るかどうかを判定しようと試みた。

【0563】

本発明者らは、いくつかの異なるHP β CD二量体が、実際に、7KCと優先的に結合し得ることを見出した（図16A～図16B）。図16Bは、DS3と標識したトリアゾール二量体が、DS6またはDS7の二量体よりも高い特異性で7KCと結合することを示す。これらのDS値は、MALDIにより特定したものである。本発明者らは、さらに、これらのHP β CDが、コレステロールよりも7KCに優先的に結合し得ることを発見した。なお、一部の二量体は、7KCを他のものよりも優先的に可溶化するように見えたので、図16E～図16Hにおいてこれを検討した。

【0564】

図15Cで上記したとおり、本発明者らは、ヒト血液において、DS8のHP β CD二量体が、ドナーの細胞から相当量の7KCを除去した一方、血清コレステロールレベルは、安定しているように見えることを見出した。このことは、コレステロールに対する親和性が、試験した濃度で細胞からのコレステロール除去をもたらす可能性はあるものの、血漿コレステロールレベルを正常範囲外に混乱させるには不十分であったことを暗示する。

【0565】

図16C～図16Dは、二量体がどのように他の様々なステロール及びステロイドホルモンと相互作用するかを示し、その親和性は、相対混濁度により定義されるように様々な異なる。

【0566】

図16Cは、HP (β CD-(ブチル)₁- β CD) 二量体がビタミンD₃ (コレカルシフェロール) を効率的に封入することはできるが、ビタミンD₂ではできないことを示す。 β CD単量体がビタミンD₃を封入することができることは、以前に観察されている (Szejtli [et al.], *Drugs of the Future*, 9:675-676, (1984)) が、本発明者らの二量体は、HP β CD単量体より何倍も高く効率的にビタミンD₃を可溶化するように思われる (図2A対図16C。ただし、濃度範囲は、二量体実験のほうが10倍低い)。

10

【0567】

本発明者らは、本発明者らの二量体が7KC以外のオキシステロールを可溶化する能力についても試験したいと考えた。

【0568】

図16Cは、HP β CD-ブチル連結二量体 (DS8) が、様々な度合いで様々なオキシステロールを可溶化することを示す。コレステロールエポキシドを特によく可溶化するように思われる。

【0569】

20

図16Dは、ブチル二量体が様々なホルモンと結合する能力を実証する。単量体型HP β CDの場合と同様、本発明者らの二量体は、3種のエストロゲンと様々によく結合する。なお、プロゲステロン可溶化は、今回劇的であるように見受けられるものの、プロゲステロン溶解性は、元来、試験した他のホルモンよりはるかに高く、したがって、このデータ正規化法は、この一例においてはいくぶん欺瞞的である。

【0570】

本発明者らは、DSの最も低い二量体が、コレステロールよりも7KCに対して最も高い特異性を持つことを観察した。そこで、本発明者らは、各連結二量体の置換が最も少ない分子についてより詳細な解析を行った。図16E及び図16Fは、7KCに対して最良の特異性を示した2種のHP二量体のさらに詳細に踏み込む。本発明者らは、さらに深い詳細において、約3のHP置換基を持つヘッド・ヘッド連結したシクロデキストリン二量体の両方が、コレステロールよりも7KCを優先的に可溶化することを確認した。これらの二量体は、0.5mM未満の濃度で、7KCに対して実質的な親和性及び特異性を示す。

30

【0571】

さらに気づいたことは、溶解性及び低毒性を与える別の基で置換されたCD二量体が、7KCに対するCDの親和性を大幅に上昇させることである (図16G～図16H)。メチル化トリアゾール連結二量体は、図16FのHP β CD二量体と同様な数の置換基 (約3) を有していた。本発明者らは、HP β CD二量体 (DS3) をメチル二量体 (DS3) と合わせて再試験し、それらが、7KCに対して同様な特異性を維持しつつ、7KC及びコレステロールの両方を可溶化する非常によく似た能力を有していることを見出した。

40

【0572】

他の置換基を同様な置換度で持つ二量体化 β CDも、同様な親和性及び特異性で7KC及びコレステロールと結合する可能性があるという予測に基づき、新規置換トリアゾール連結二量体を合成した (上記の実施例5～7)。本発明者らは、シクロデキストリンの置換基として典型的に使用される荷電官能基のセットを用いた (第四級アンモニウム (QA)、スルホブチル (SB)、及びスクシニル (SUC))。これらの低置換化合物は、無置換、ヒドロキシプロピル、またはメチル置換トリアゾール連結二量体 (図16B、図16E～図16G) と比較した場合に、互角のまたは改善された7KCに対する親和性及び特異性 (図16H) をもたらした。逆に、高置換SB二量体は、コレステロールと7KCのどちらともよく結合しなかった。これは、多くの嵩高いSB基が、CD二量体の結合

50

空洞への接近を制限することにより引き起こされた可能性が高い。

【0573】

単量体及び二量体の混濁度データをコンピューター計算データと合わせることで、2つの一般化した結論を出すことができる。1つは、低置換（下底の置換が特に重要である可能性が高い）が、ある種の相互作用に関して、特に7KCとの相互作用について特異性を促進することである。モデリングデータは、下底ヒドロキシル基と7-ケト基の間の水素結合がこの特異性を促進する可能性があることを示す。さらに、概して、モデリングデータは、嵩高い置換基が十分に高いDSレベルで存在する場合、その置換基は、どのようなゲスト分子候補でも無差別にその空洞への接近を遮断する可能性があることを示す。すなわちメチル基などの嵩高くない基がCD二量体に高い置換レベルで付加された場合は、コレステロール及び7KCなどのステロール分子と高い親和性で結合するが、コレステロールと比較した場合に7KCに対して特に高い選択性ではなことが予測され、一方で低置換のメチルベータシクロデキストリン二量体は、コレステロールと比較した場合に高い特異性で7KCと結合することが予測される。逆に、SBなどの嵩高い置換基を有するシクロデキストリン二量体は、低い置換レベルでは、コレステロールよりも7KCに対して特異的に結合することが予測されるが、高い置換レベルでは、結合空洞への接近が遮断されるが故に、コレステロールとも7KCとも結合せず、他のステロールに対してもそうである可能性が高いと予測される。HPなどのそれほど嵩高くない基は、SBと同様に挙動するが、概して、空洞への接近を遮断するためには、SB基より多い数のHP基が必要になると予測される。

10

20

【0574】

上記の結果に基づいて、本発明者らは、ランダムにメチル置換されたbcd二量体が、少なくともDS10の置換レベルまで、コレステロールよりも7KCに優先的に結合すると予測する。このDSレベルを超えると、コレステロールよりも7KCに対する特異性は、メチル置換度が上昇するにつれて、7KCとの水素結合に利用可能な下底のヒドロキシル基の数が減少するため、徐々に低下する可能性がある。しかしながら、7KC及びコレステロール両方との結合は、依然として生じると予想される。

【0575】

対照的に、ランダムにSB置換されたbcd二量体は、少なくともDS4～DS5の置換レベルまで、コレステロールよりも7KCに優先的に結合すると予測され、この場合も、下底のヒドロキシル基が7KCとの水素結合に寄与し、コレステロールに比べて強い結合を促進する。しかしながら、このDSレベルを超えると、7KCに対する特異性は、徐々に低下する可能性があり、さらに、7KC及びコレステロール両方ならびに他の類似ゲスト分子との結合は、ゲストがbcd空洞に接近することに立体障害があるため、減少すると予想される。本発明者らのデータでは、DSが14を超えると、コレステロールまたは7KCいずれとの結合もほとんど消失するように見える。

30

【0576】

同様な理由から、HP置換二量体は、少なくともDS4またはDS5の置換レベルまで、コレステロールよりも7KCに優先的に結合すると予測され、一方、このレベルを超えると、DS約20までは、コレステロールよりも7KCに対する結合特異性が徐々に低下するが両方とも結合し、そしてDS20を超えると、7KC及びコレステロール両方との結合が、ゲストがbcd空洞に接近することに立体障害があるため、減少すると予想される。

40

【0577】

SUCC置換及びQA置換bcd二量体もまた、少なくともDS4またはDS5の置換レベルまで、コレステロールよりも7KCに優先的に結合すると予測され、この場合も、下底のヒドロキシル基が7KCとの水素結合に寄与し、コレステロールに比べて強い結合を促進する。しかしながら、このDSレベルを超えると、7KCに対する特異性は、徐々に低下する可能性があり、さらに、ある一定のDSレベル、おそらくDS15を超えると、7KC及びコレステロール両方との結合は、ゲストがbcd空洞に接近することに立体

50

障害があるため、減少すると予想される。

【 0 5 7 8 】

本発明者らの現物の実験データは、これらのモデルが以下のとおりであることを立証する：本発明者らが、本発明者らの様々に合成した β C D 二量体に少量（D S 約 3 ～ 4）で配置した一般的に使用される置換基は全て、コレステロールよりも 7 K C に対する特異性を実証した。H P 基の D S を 4 を超えて最高 8 まで上昇させると、7 K C に対する親和性が低下するが、コレステロールに対しては低下しない。S B 二量体の D S を約 1 5 まで上昇させると、コレステロール及び 7 K C 両方に対する結合を深刻に減少させる。

10

20

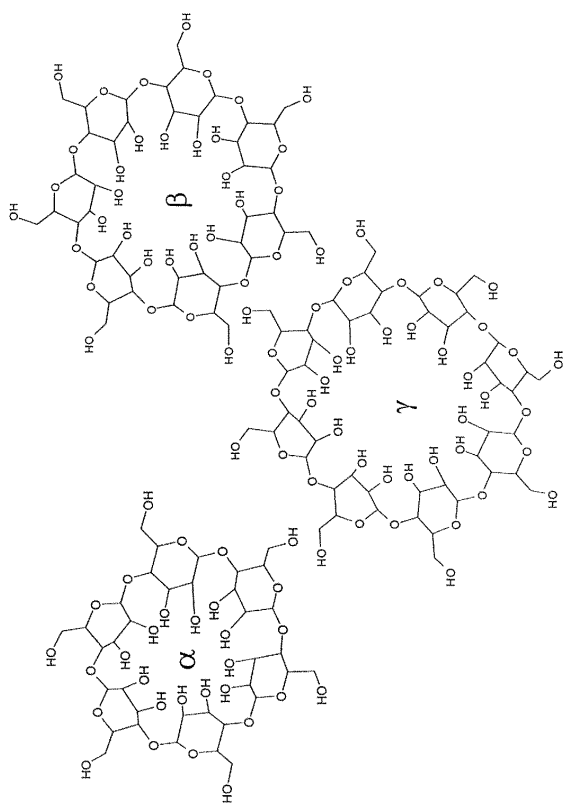
30

40

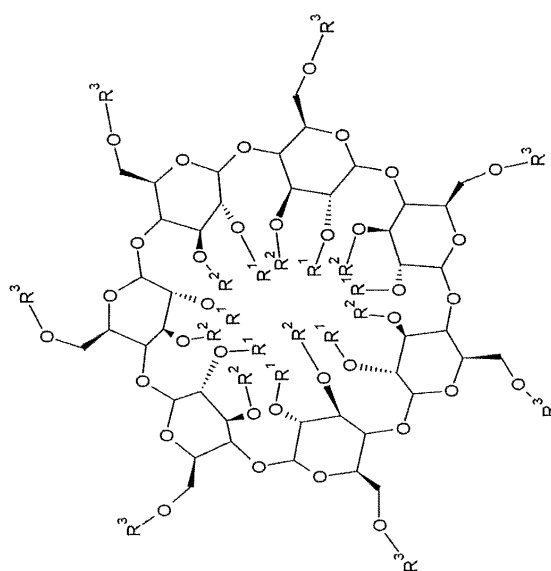
50

【図面】

【図 1 A】



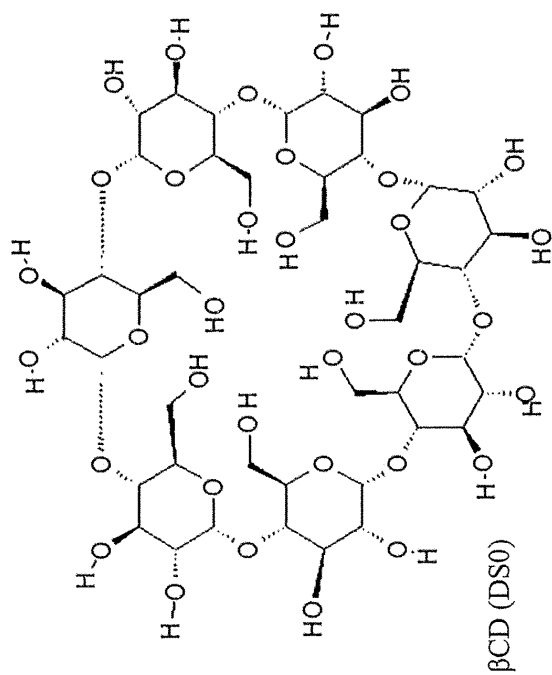
【図 1 B】



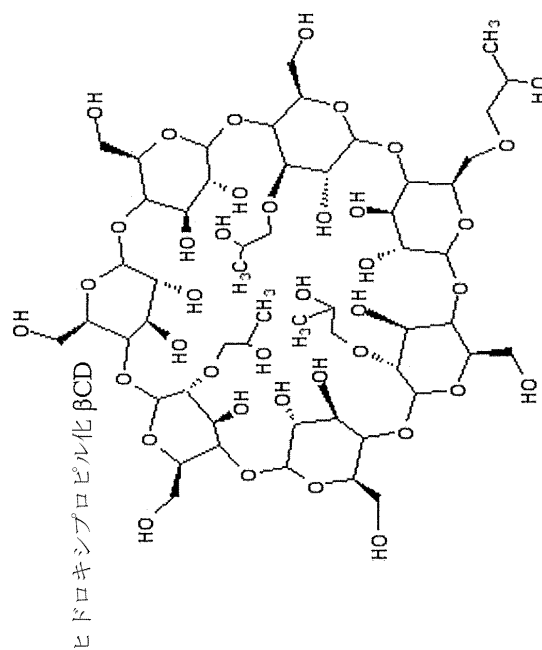
10

20

【図 1 C】



【図 1 D】

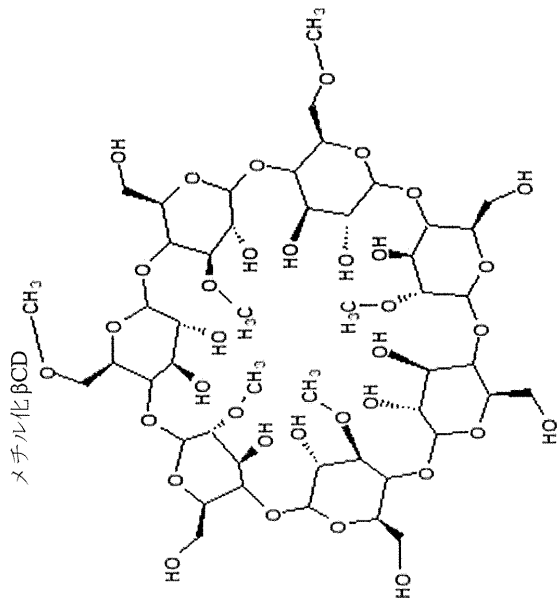


30

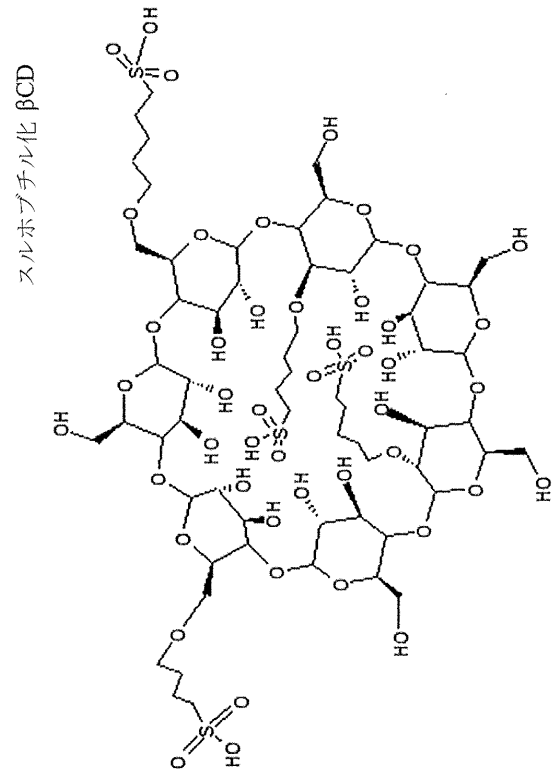
40

50

【図 1 E】



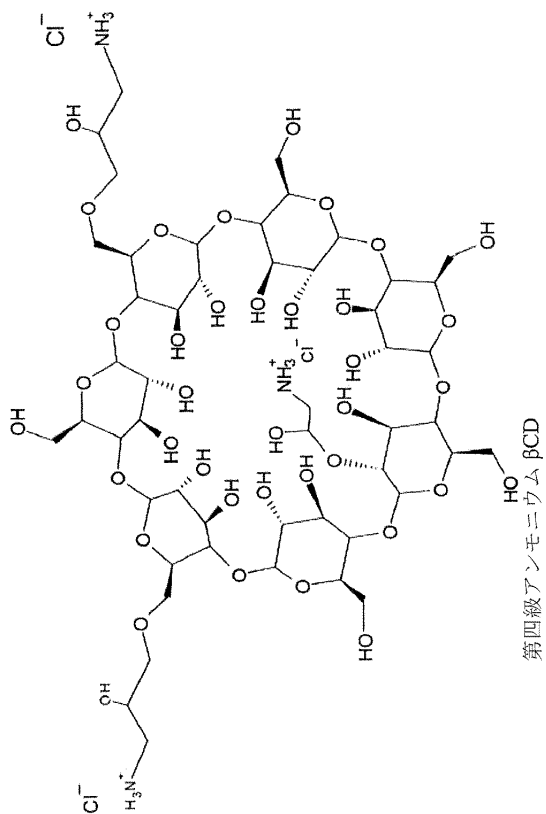
【図 1 F】



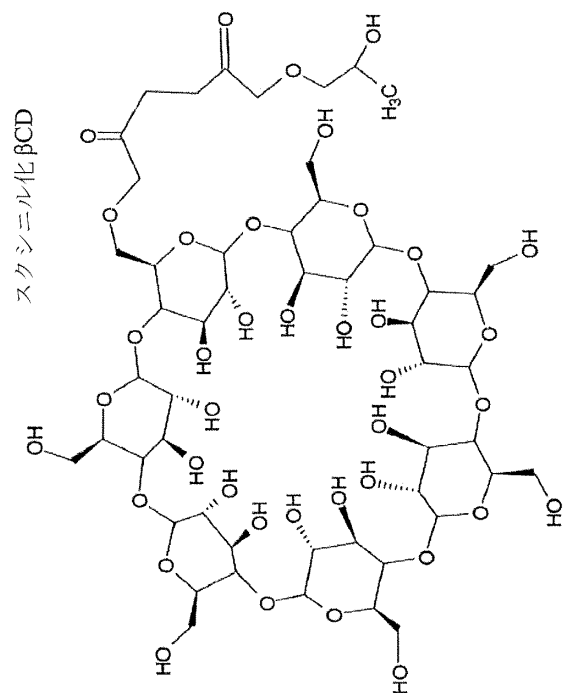
10

20

【図 1 G】



【図 1 H】

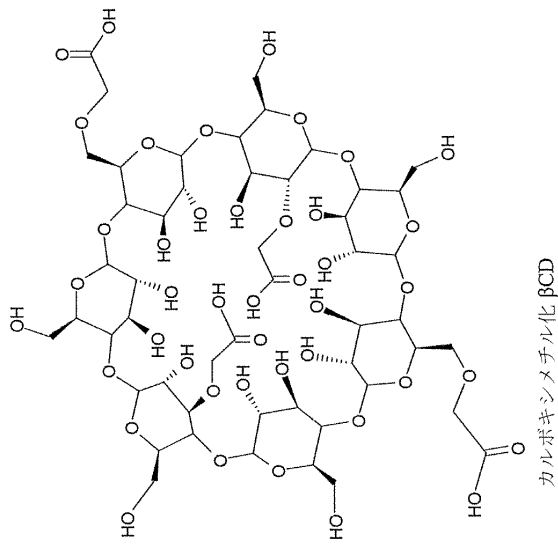


30

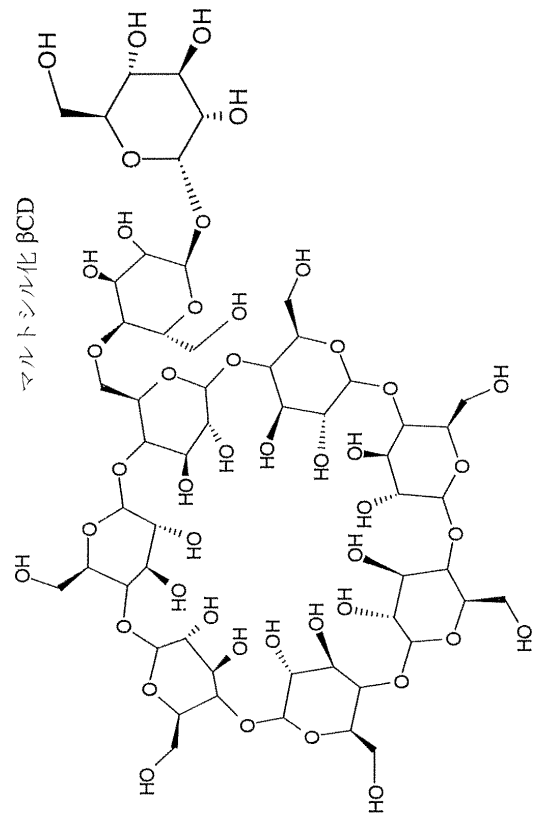
40

50

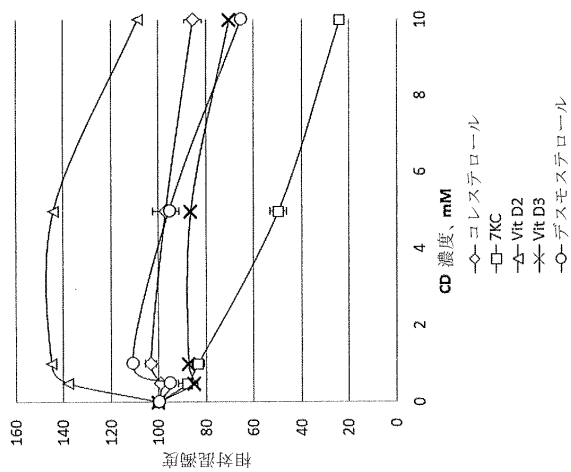
【図 1 I】



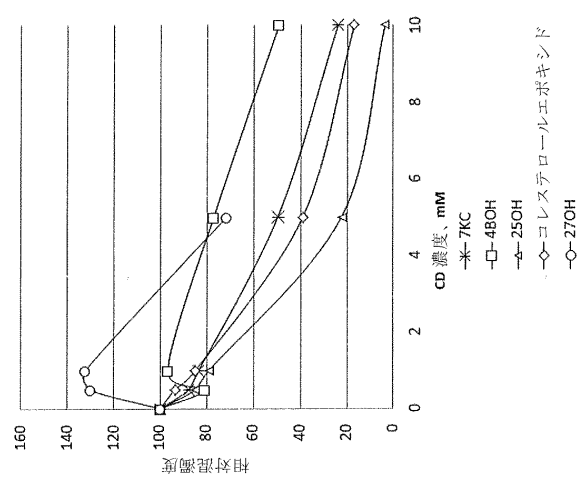
【図 1 J】



【図 2 A】



【図 2 B】



10

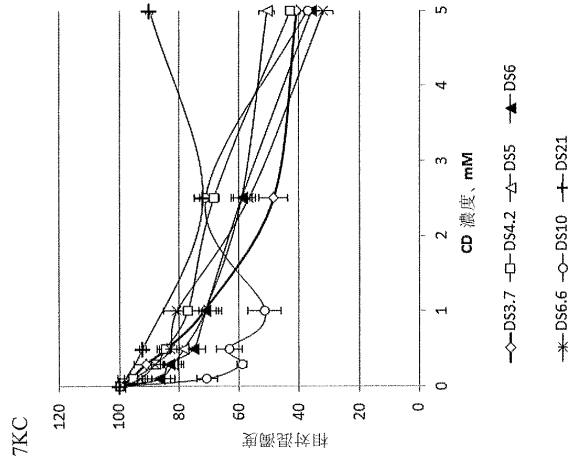
20

30

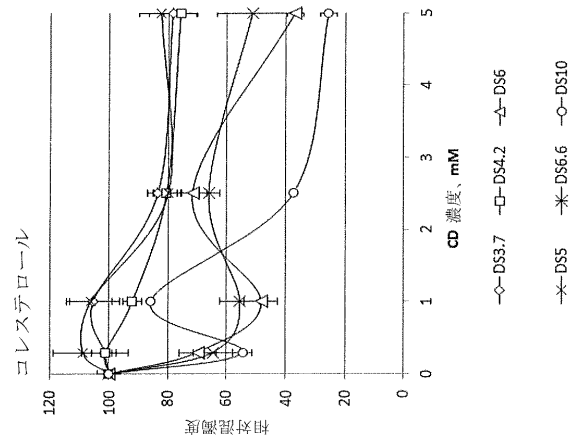
40

50

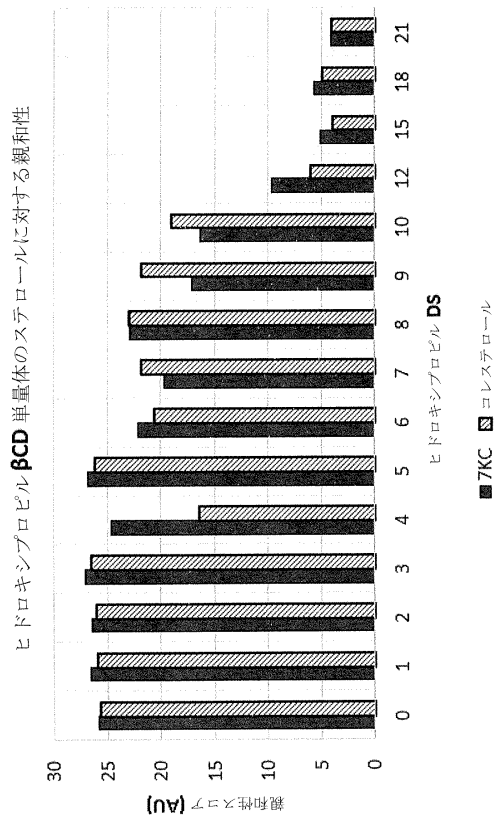
【図 2 C】



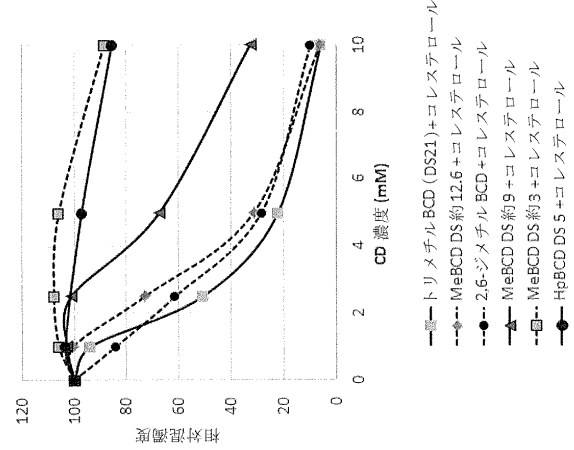
【図 2 D】



【図 2 E】



【図 2 F】



10

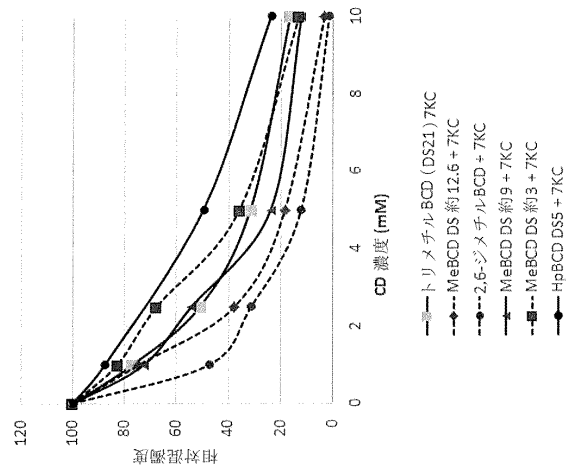
20

30

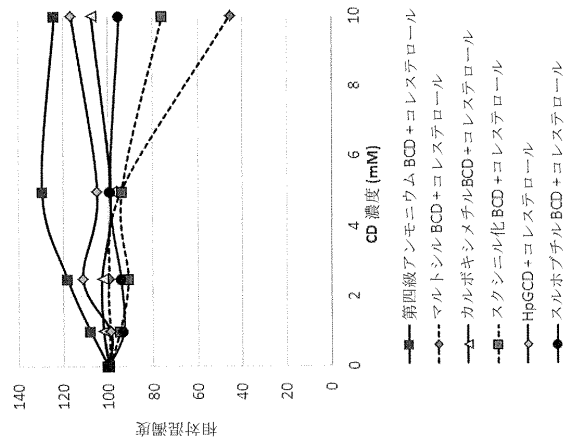
40

50

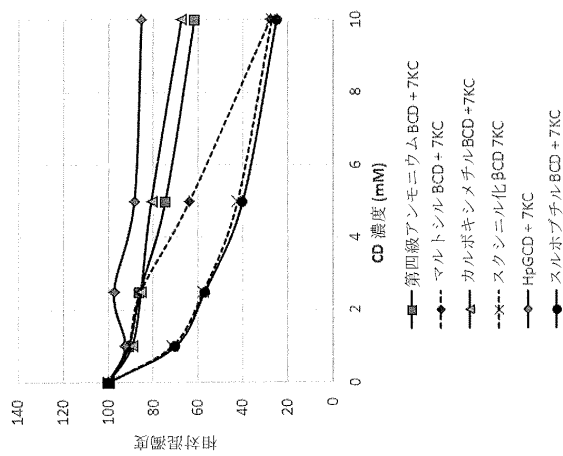
【図 2 G】



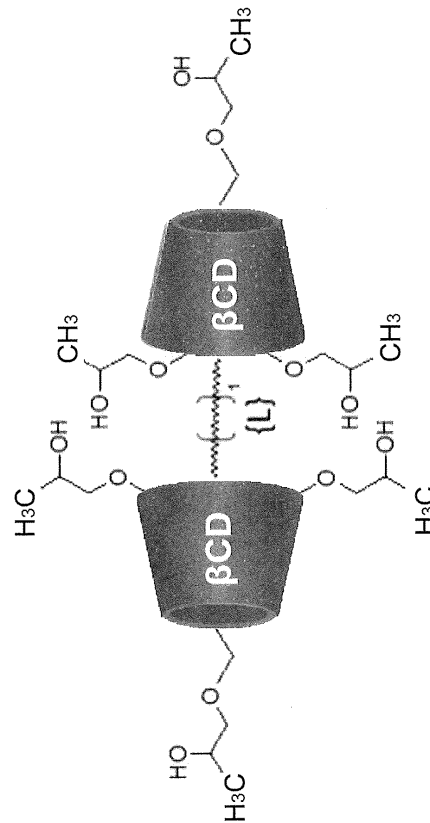
【図 2 H】



【図 2 I】



【図 3 A】



10

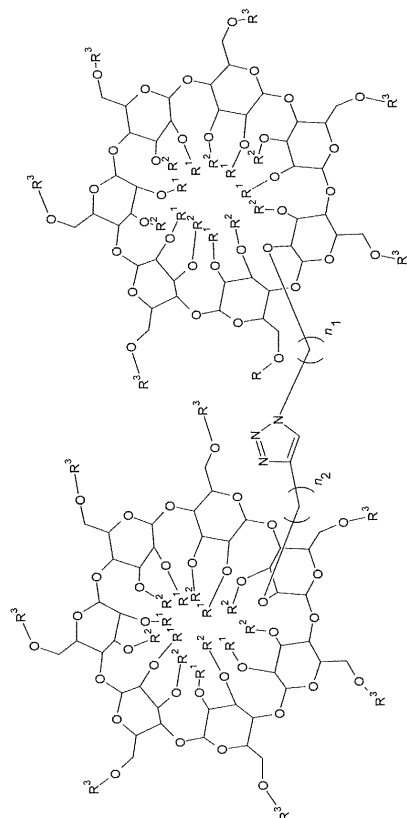
20

30

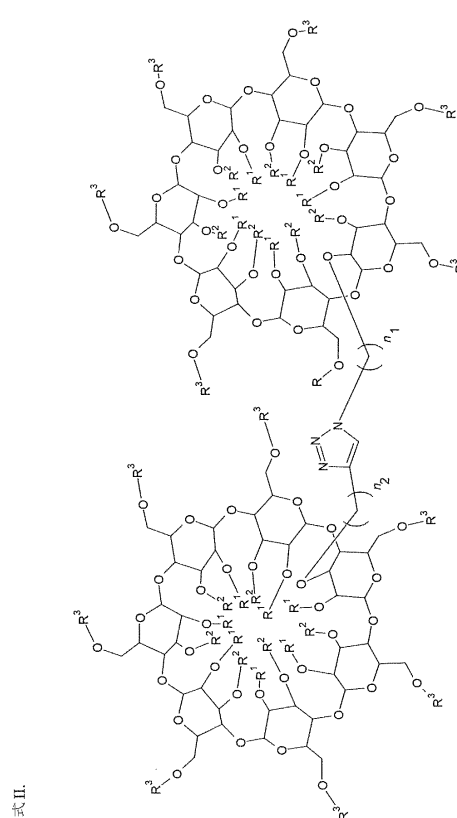
40

50

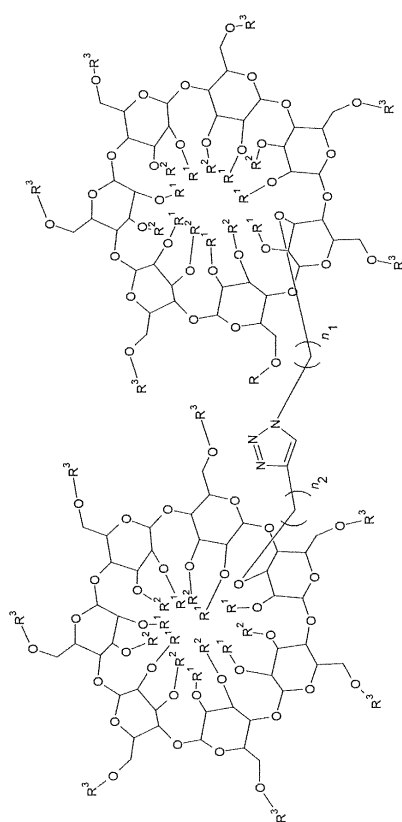
【図 3 B】



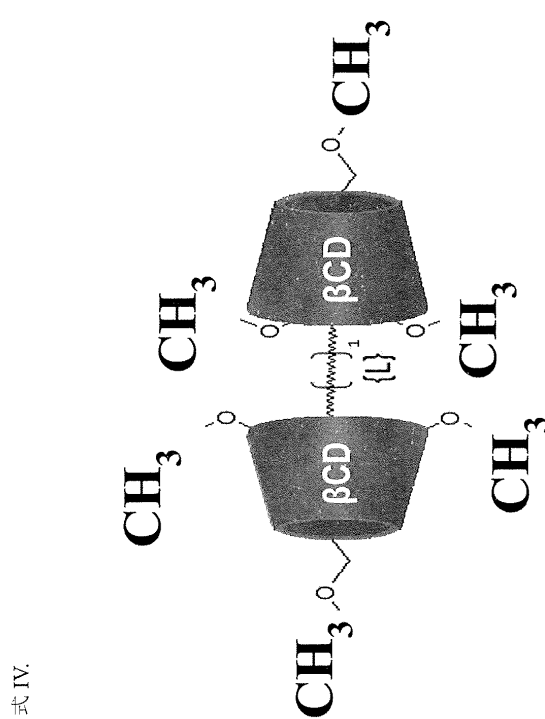
【図 3 C】



【図 3 D】



【図 3 E】



10

20

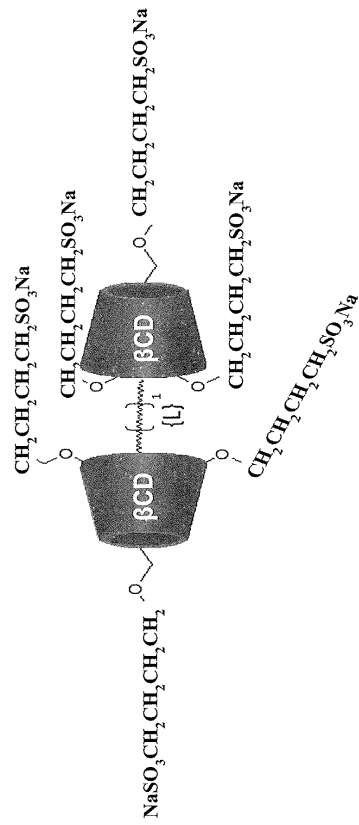
30

40

50

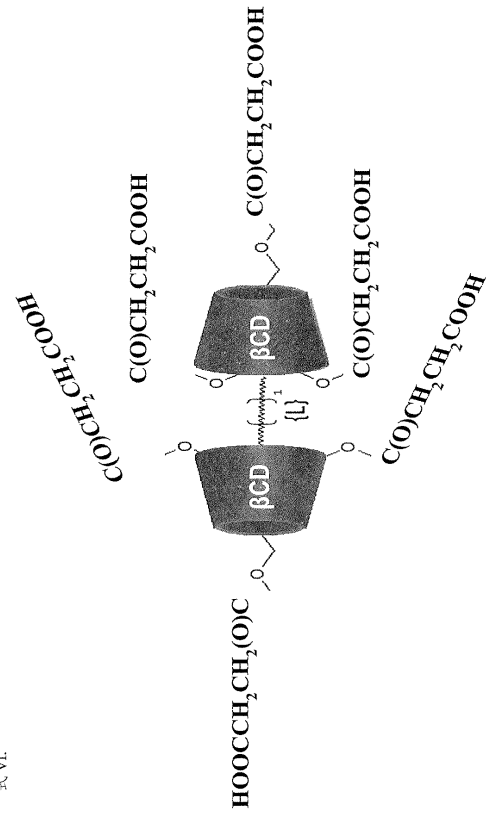
【図 3 F】

式 V.



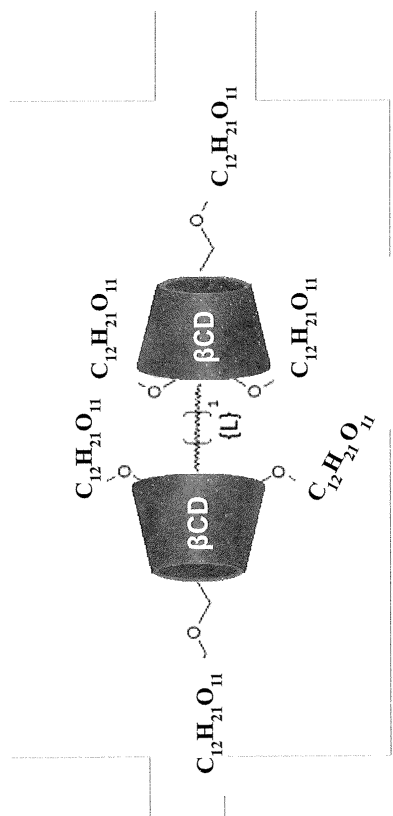
【図 3 G】

式 VI.



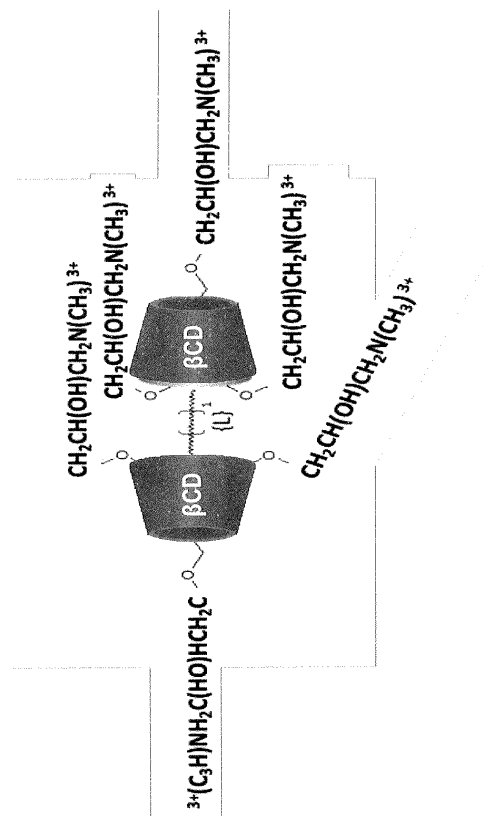
【図 3 H】

式 VII.



【図 3 I】

式 VIII.



10

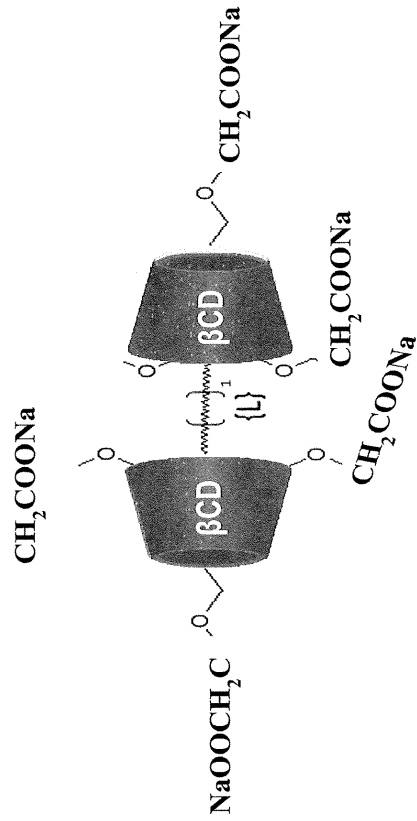
20

30

40

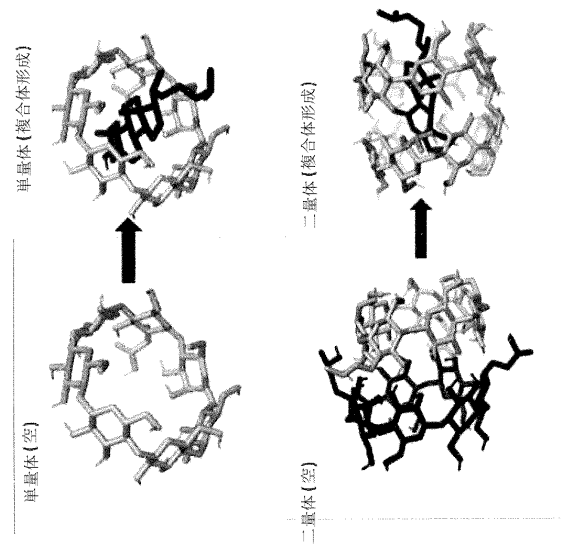
50

【図 3 J】



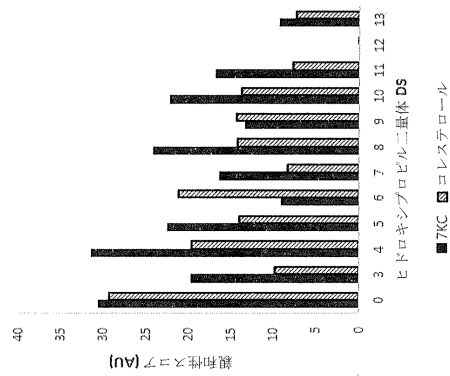
式 IX.

【図 4 A】

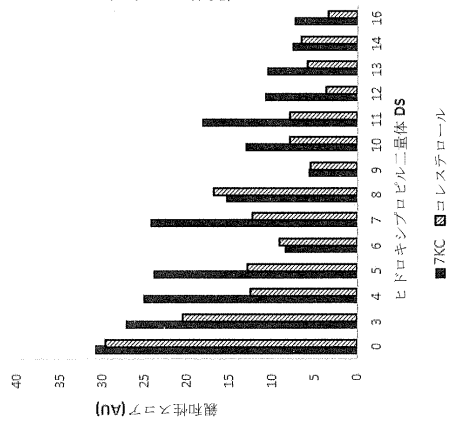


【図 4 B】

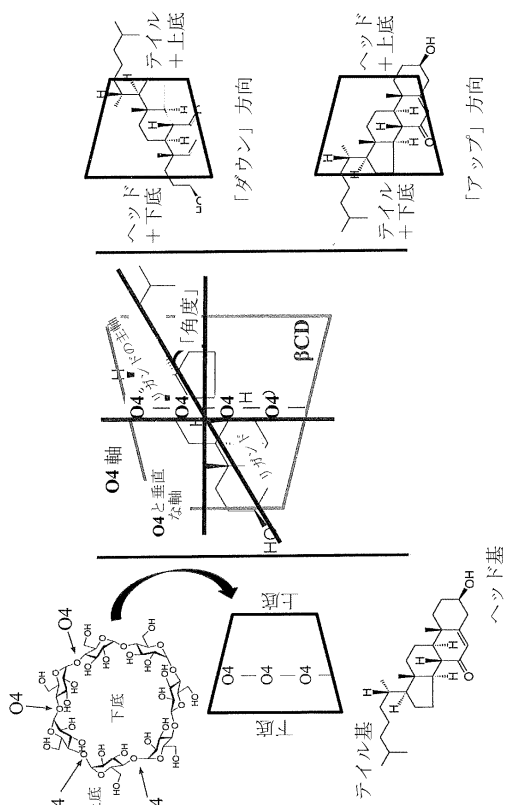
トリアゾール連結二量体のステロール親和性



ブチル連結二量体のステロール親和性



【図 4 C】



10

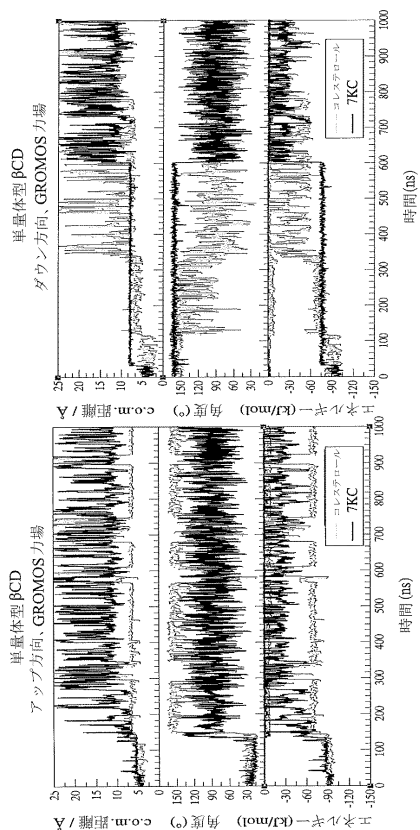
20

30

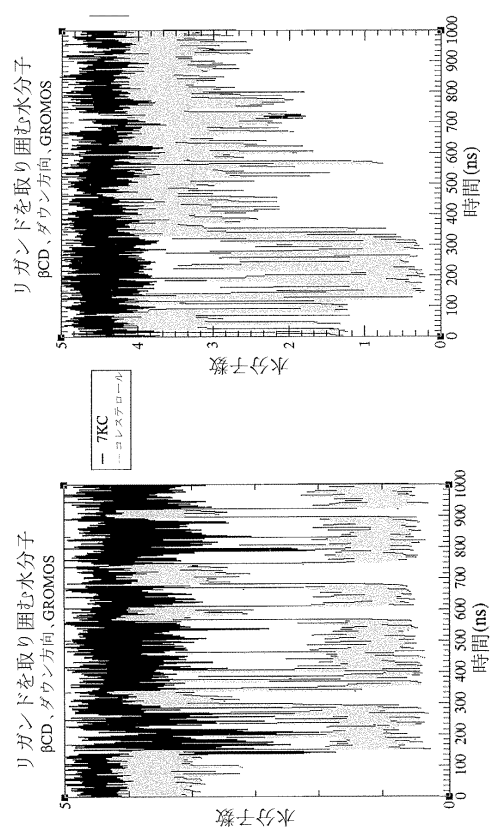
40

50

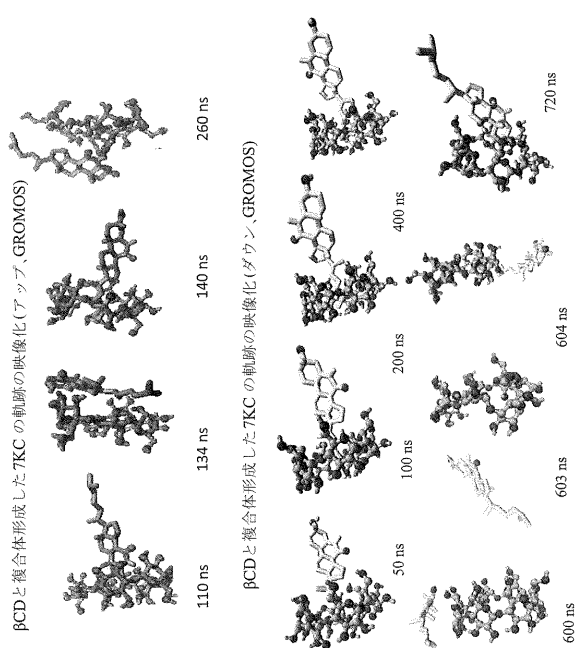
【図 4 D】



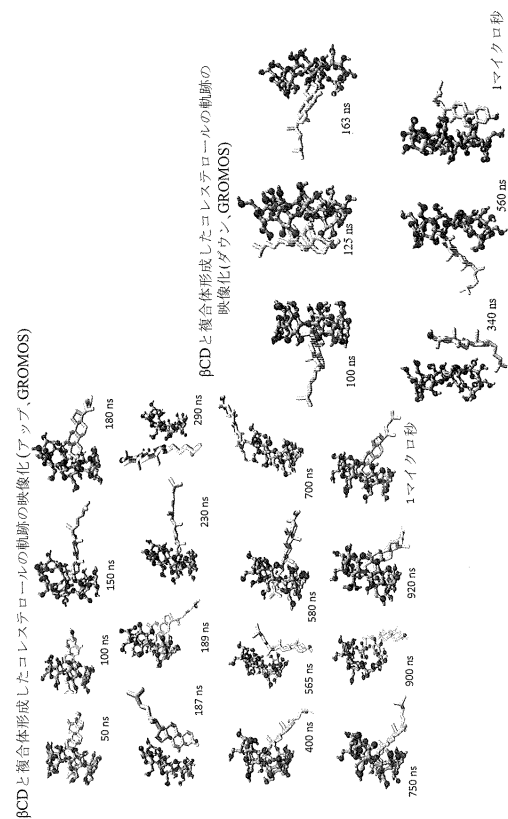
【図 4 E】



【図 4 F - 1】



【図 4 F - 2】



10

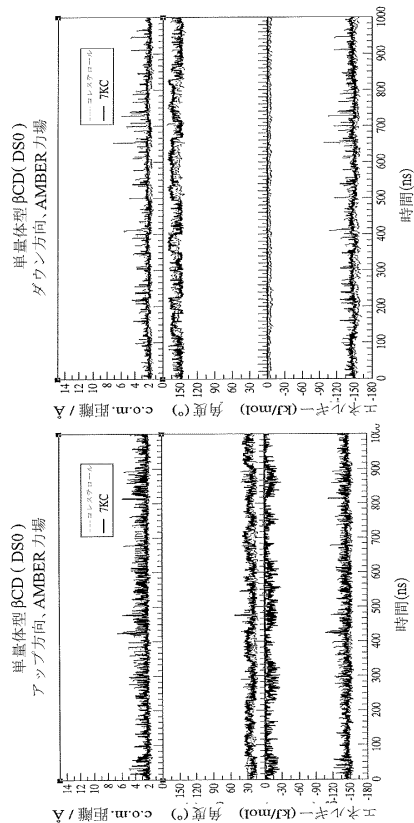
20

30

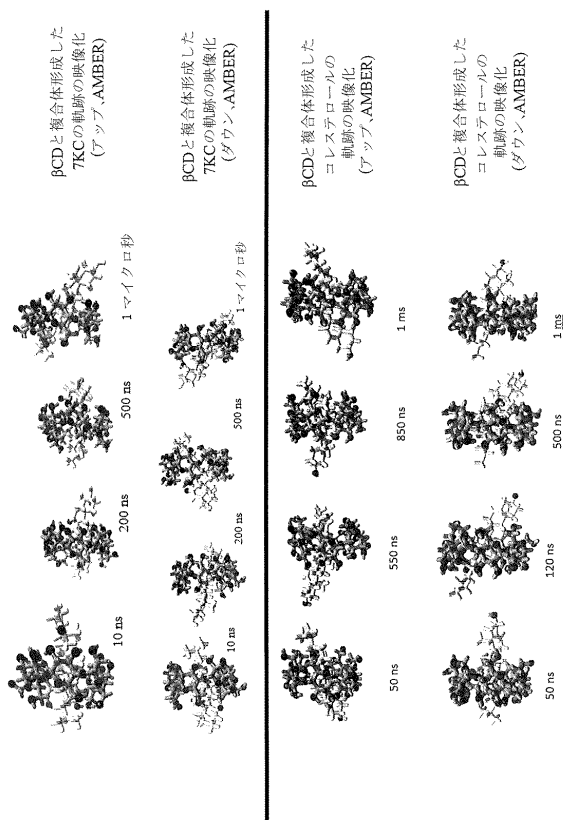
40

50

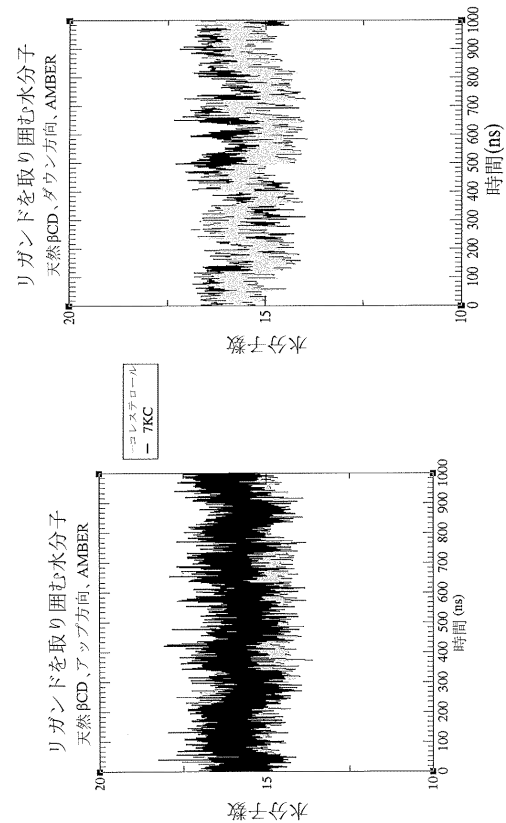
【図 4 G】



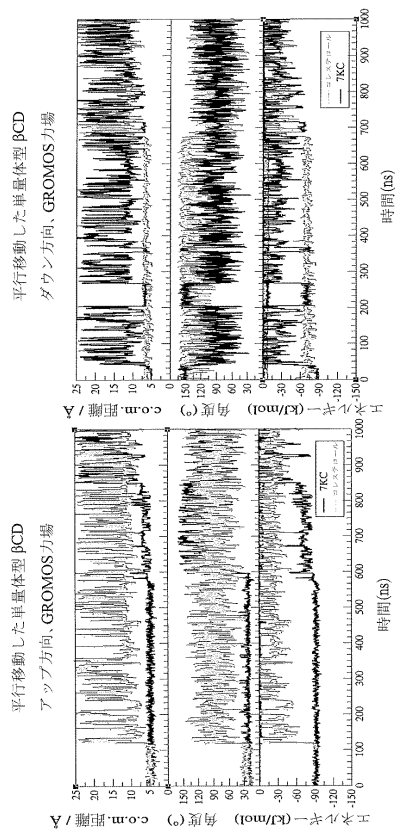
【図 4 I】



【図 4 H】



【図 4 J】



10

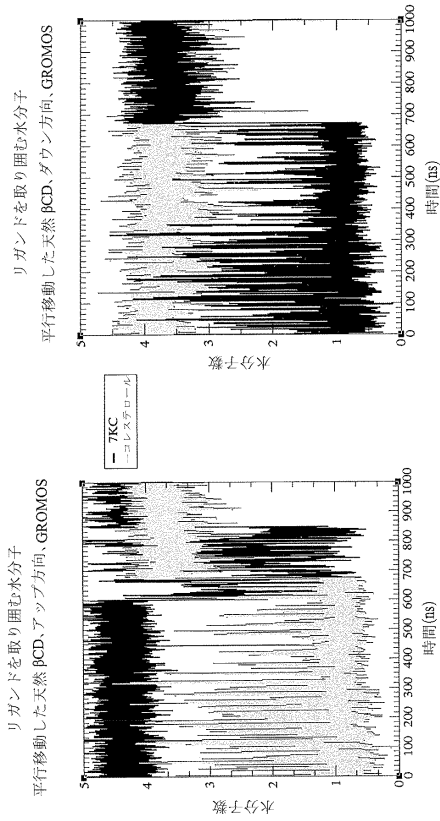
20

30

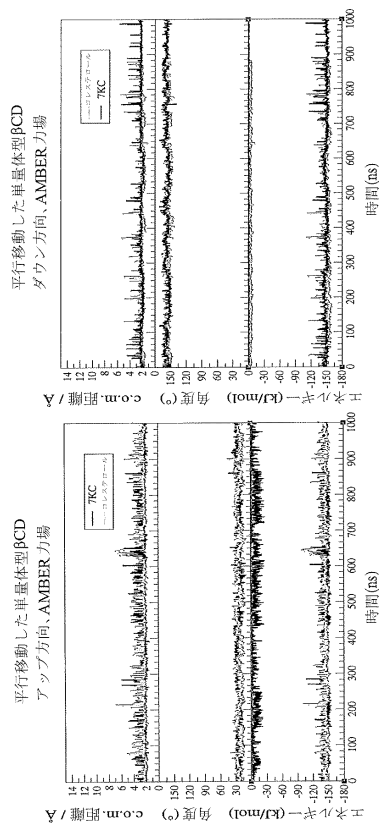
40

50

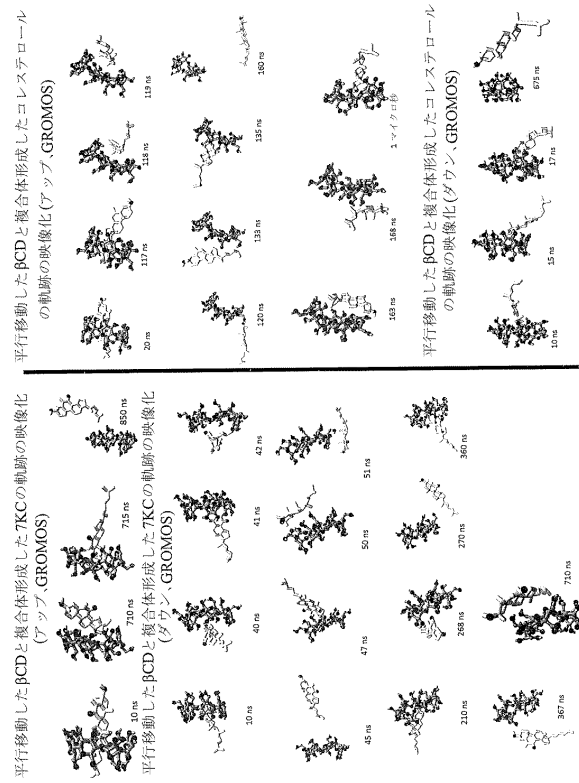
【図 4 K】



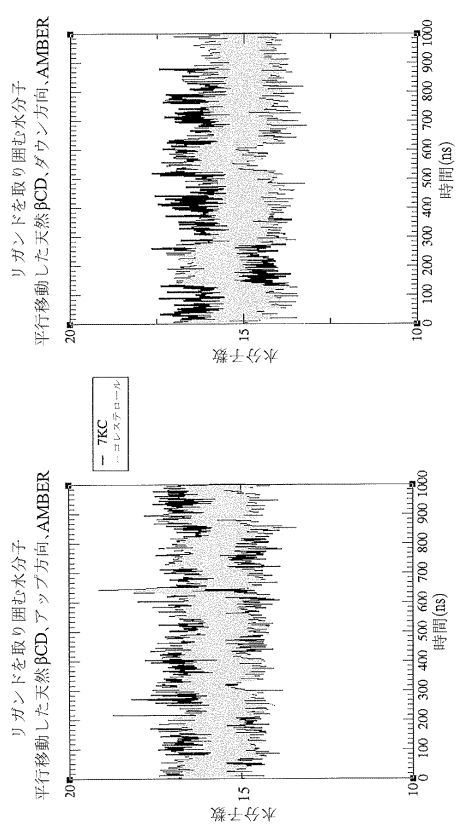
【図 4 M】



【図 4 L】



【図 4 N】



10

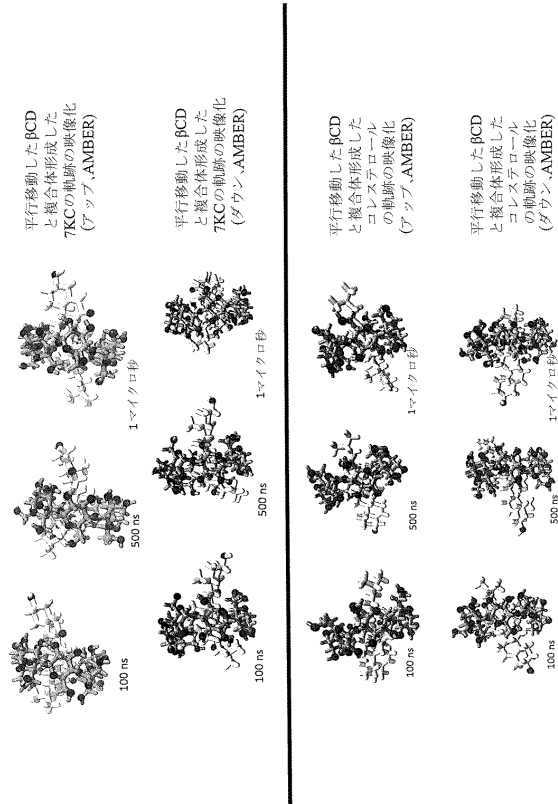
20

30

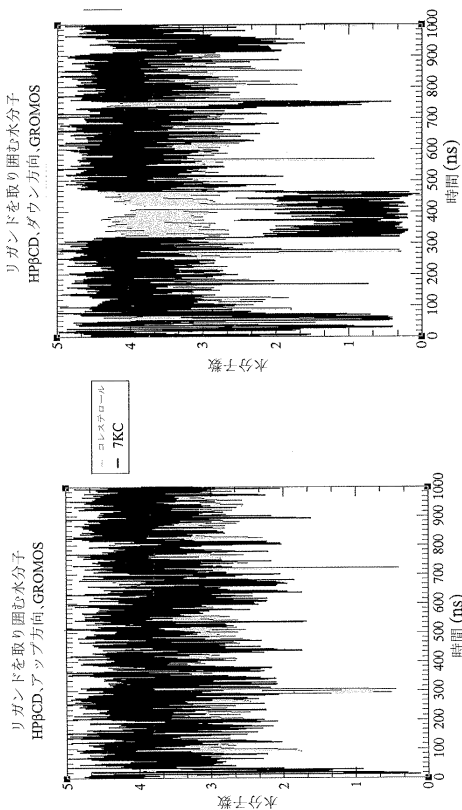
40

50

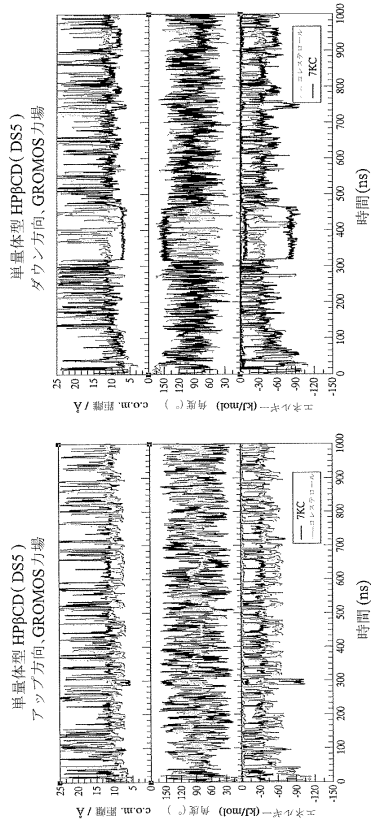
【図 4 O】



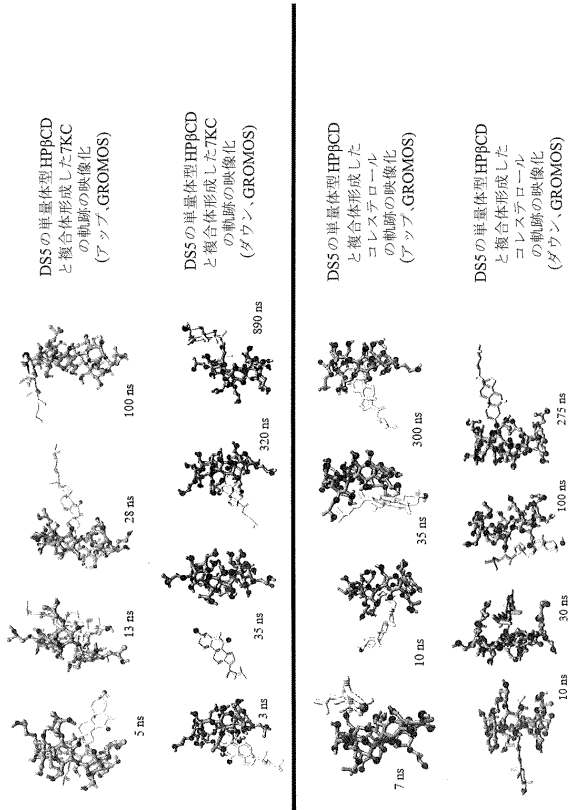
【図 4 Q】



【図 4 P】



【図 4 R】



10

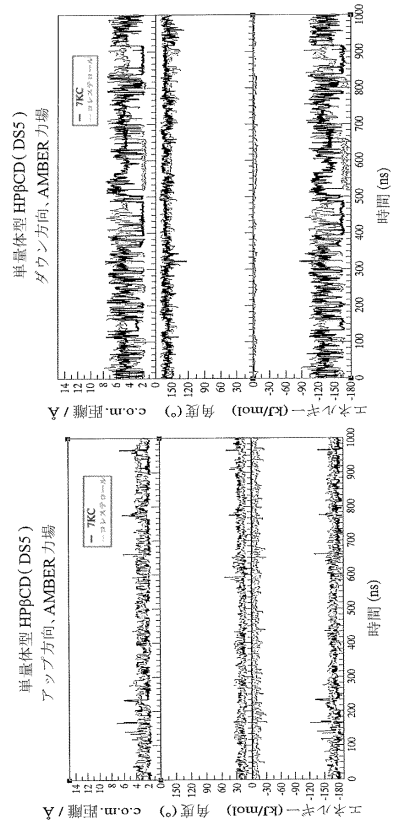
20

30

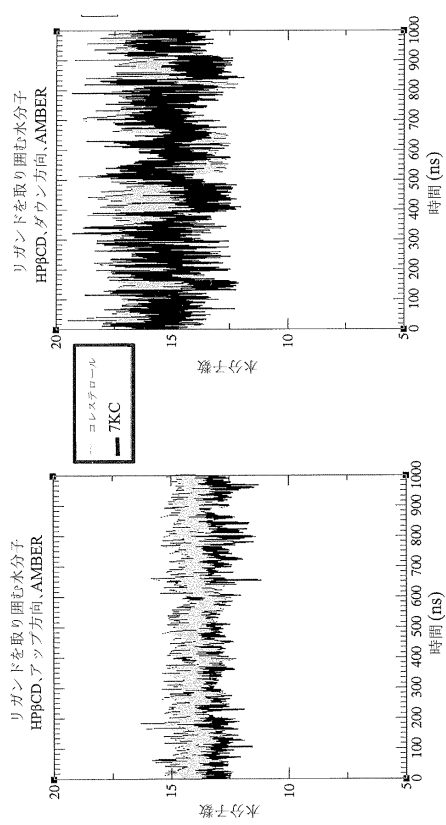
40

50

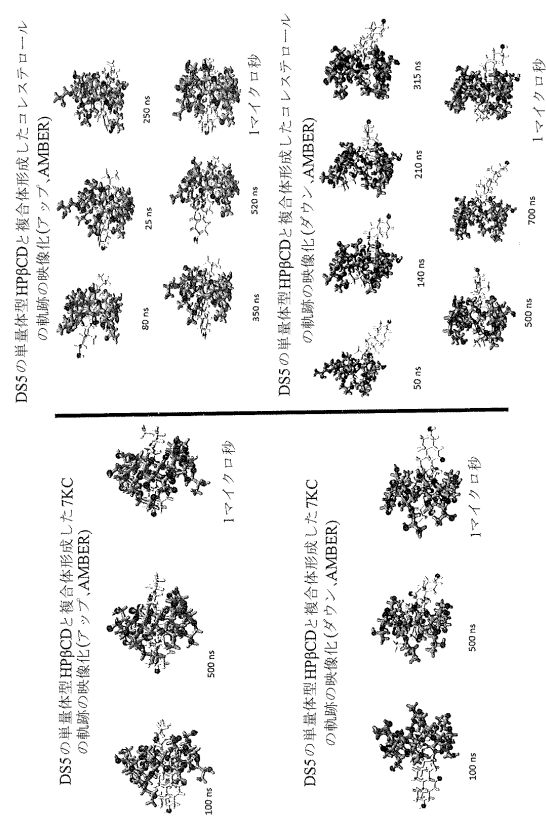
【図 4 S】



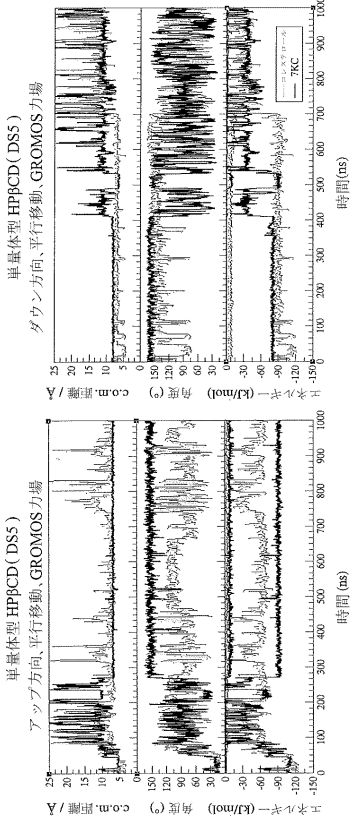
【図 4 T】



【図 4 U】



【図 4 V】



10

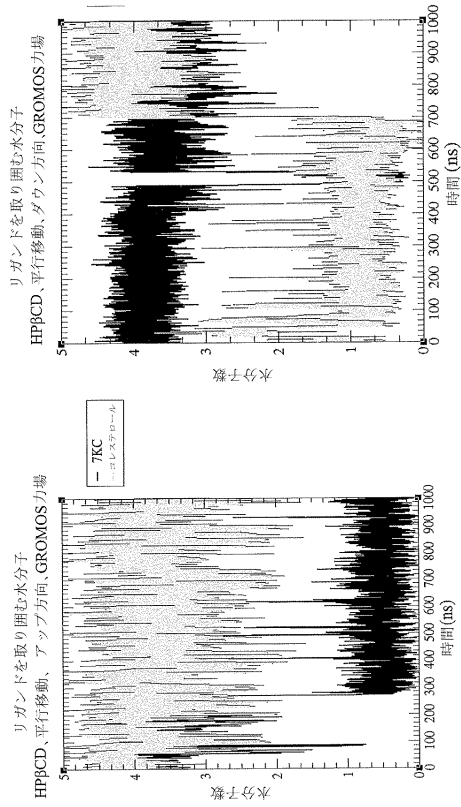
20

30

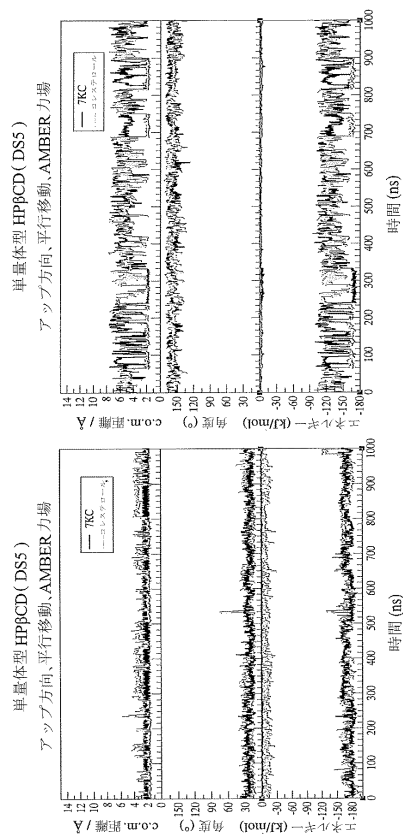
40

50

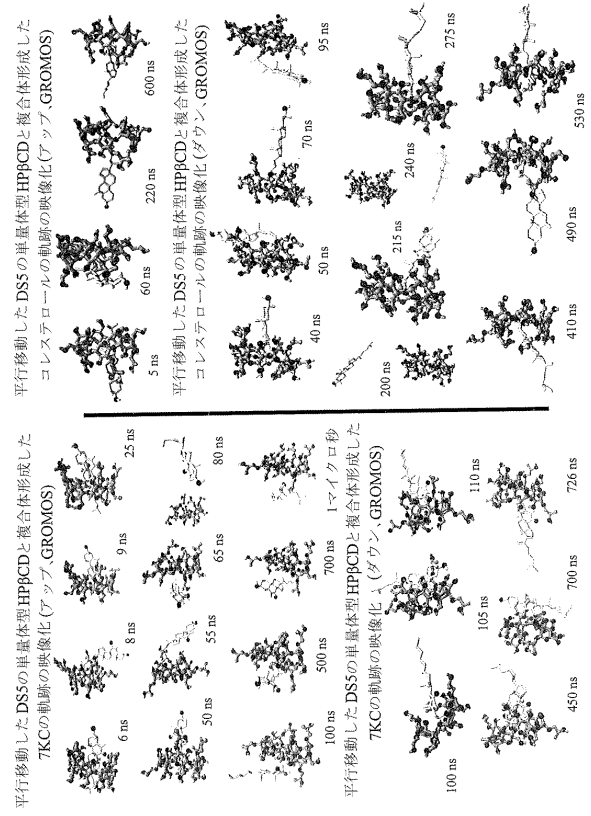
【図 4 W】



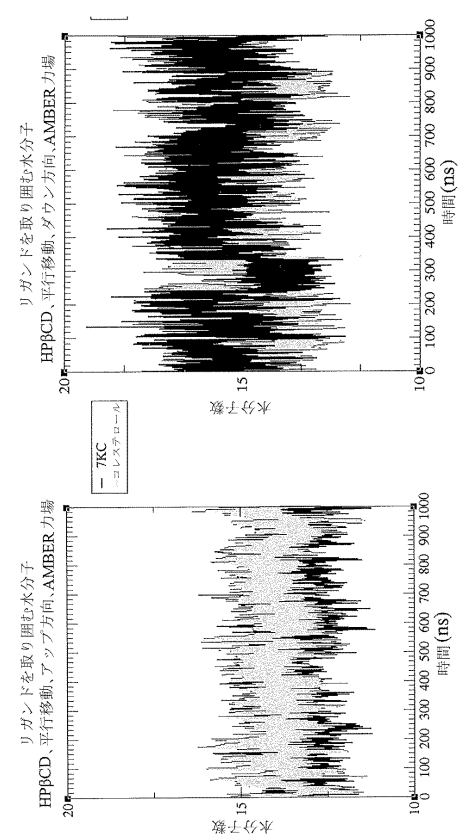
【図 4 Y】



【図 4 X】



【図 4 Z】



10

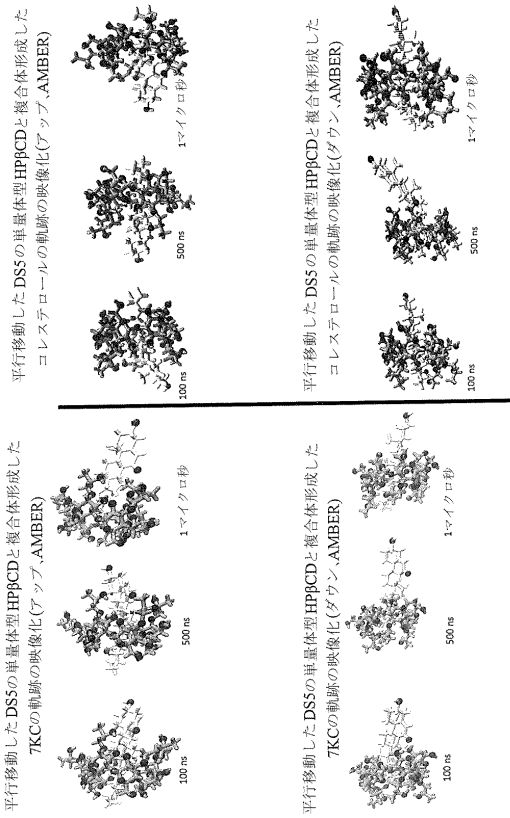
20

30

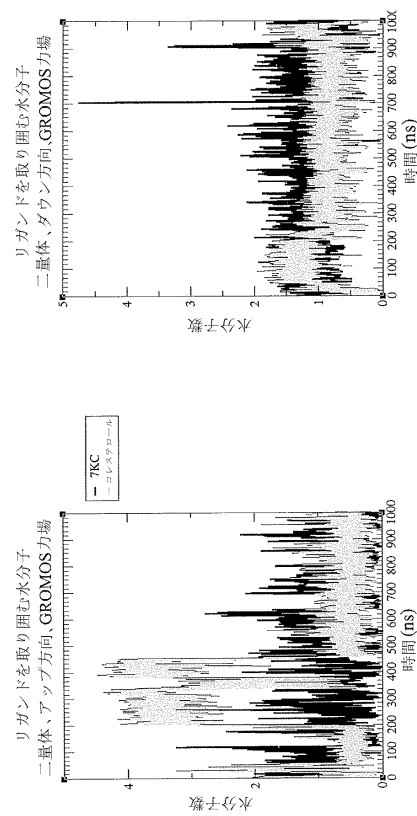
40

50

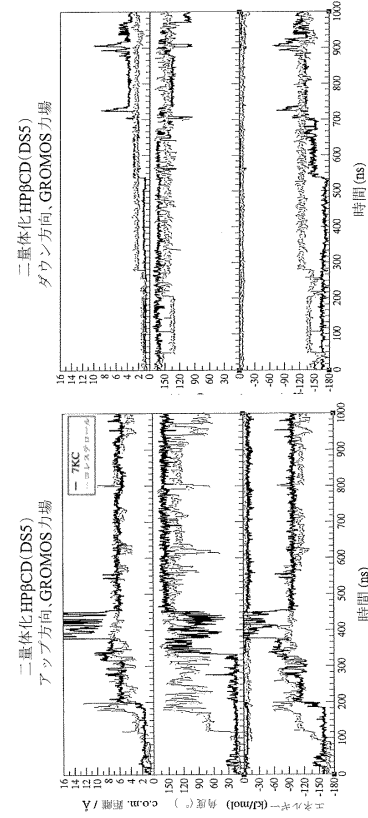
【図 4 A A】



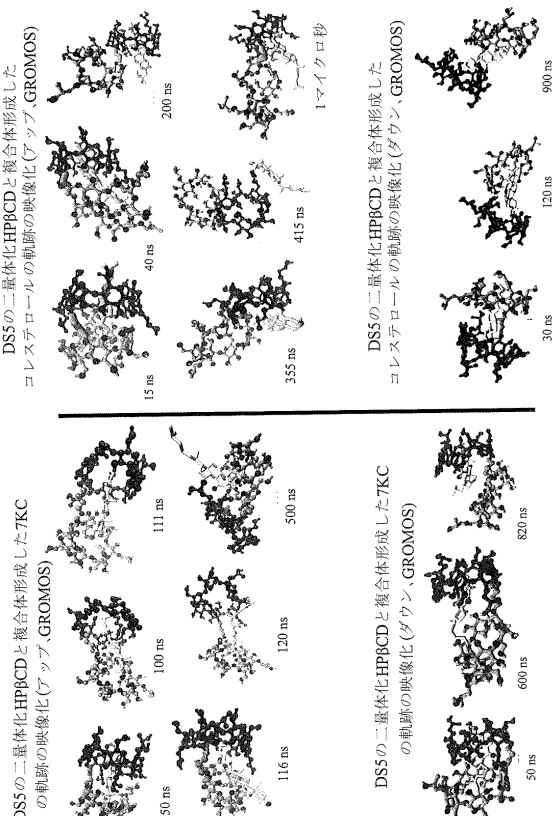
【図 4 C C】



【図 4 B B】



【図 4 D D】



10

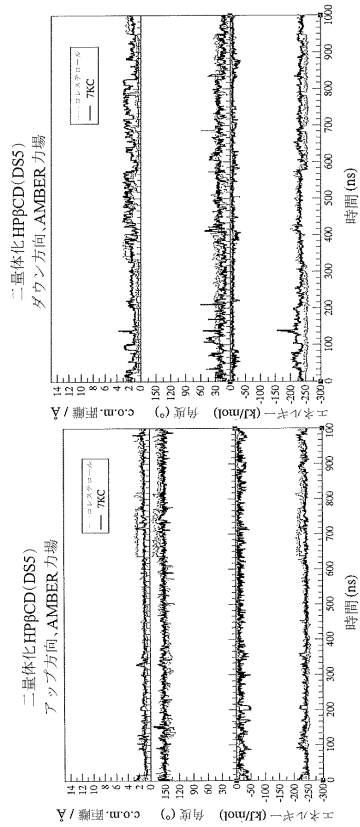
20

30

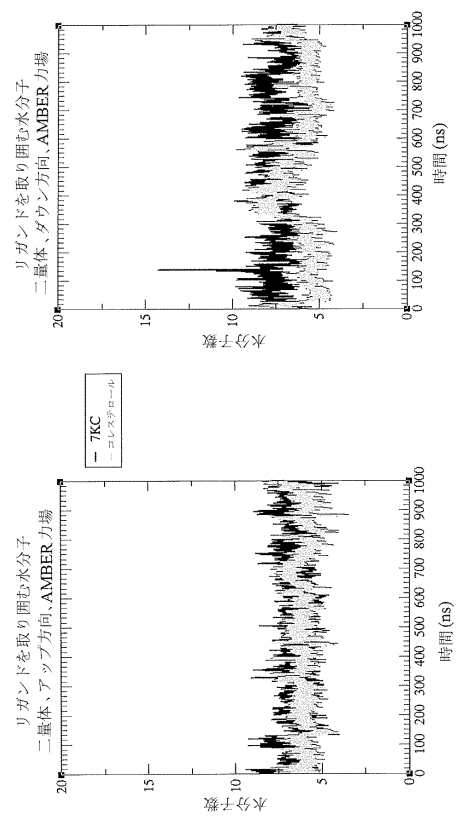
40

50

【図 4 E E】



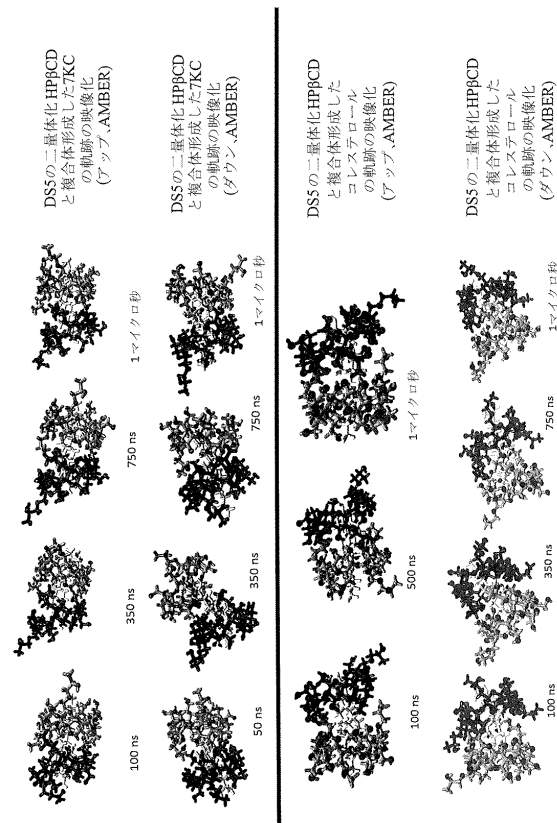
【図 4 F F】



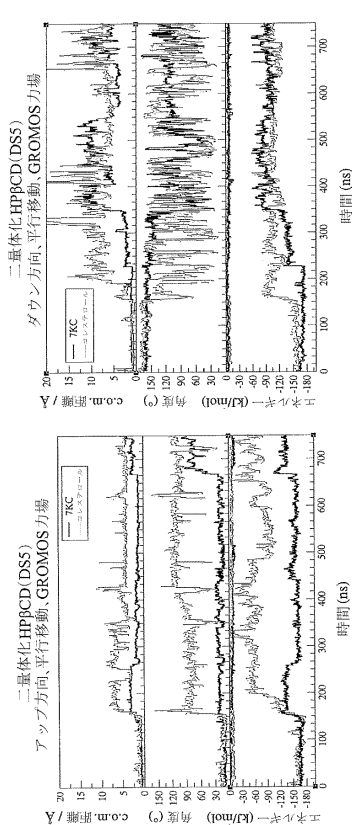
10

20

【図 4 G G】



【図 4 H H】

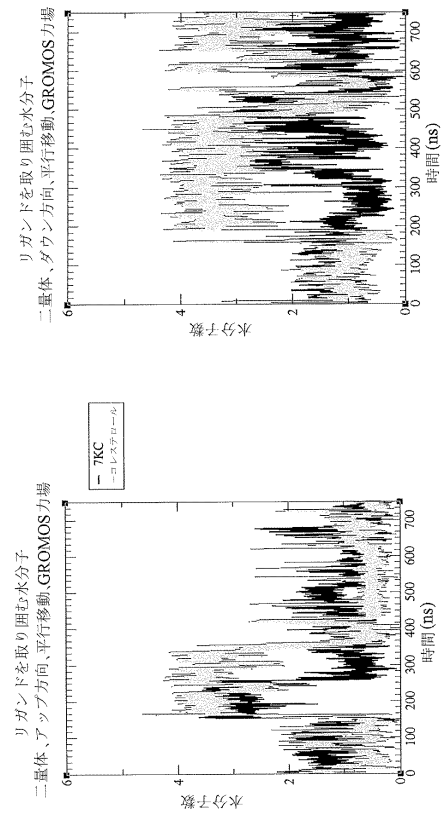


30

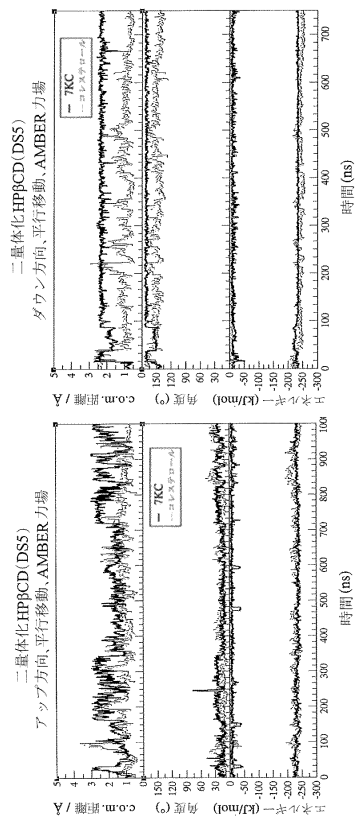
40

50

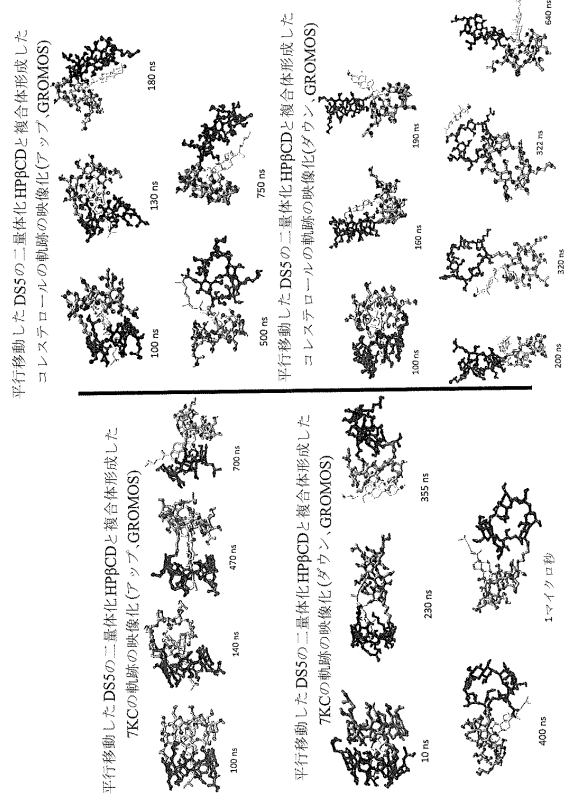
【図 4 I I】



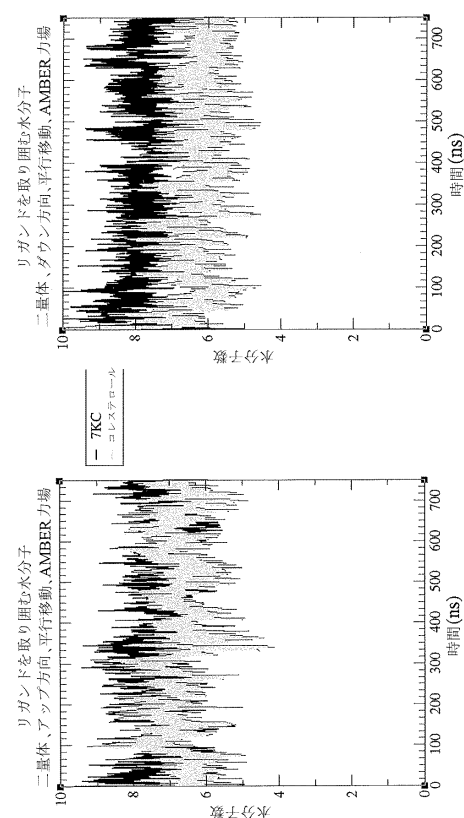
【図 4 K K】



【図 4 J J】



【図 4 L L】



10

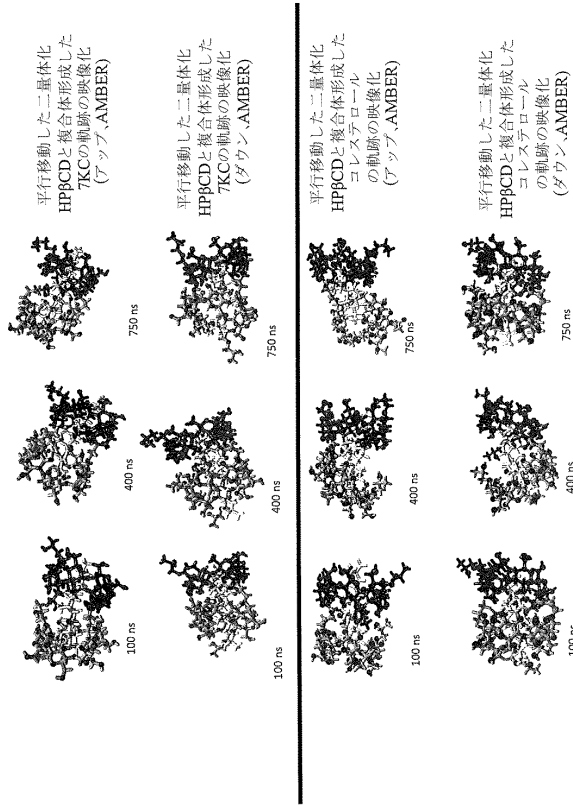
20

30

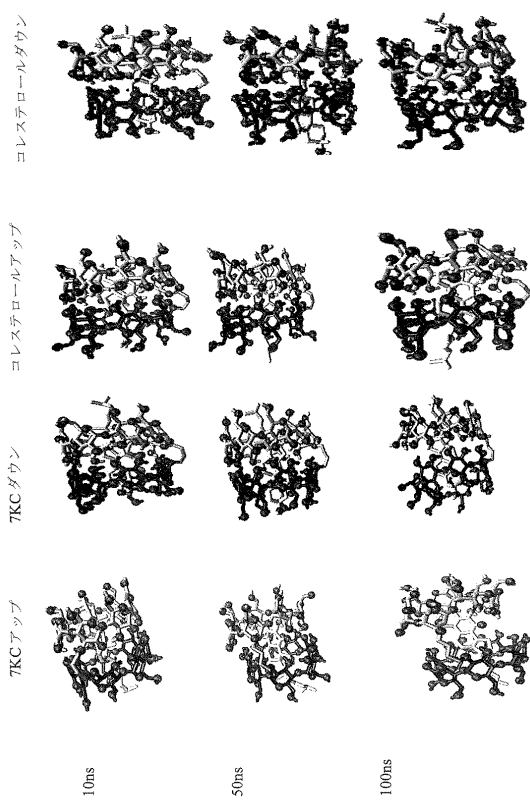
40

50

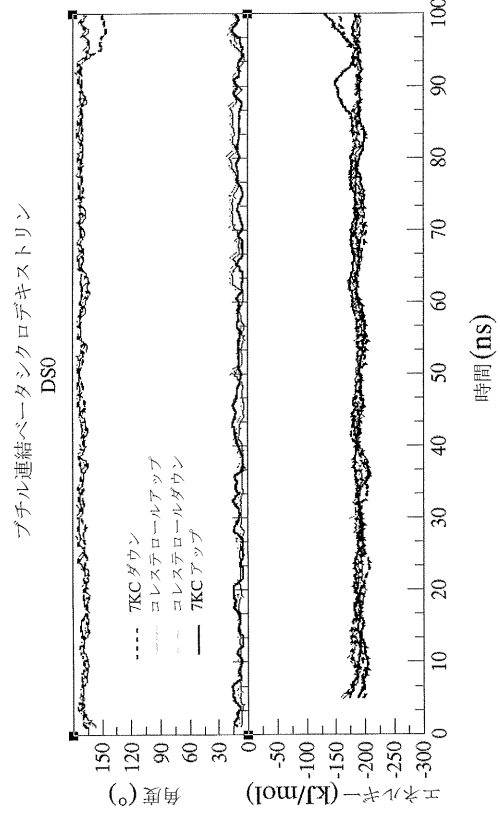
【図 4 M M】



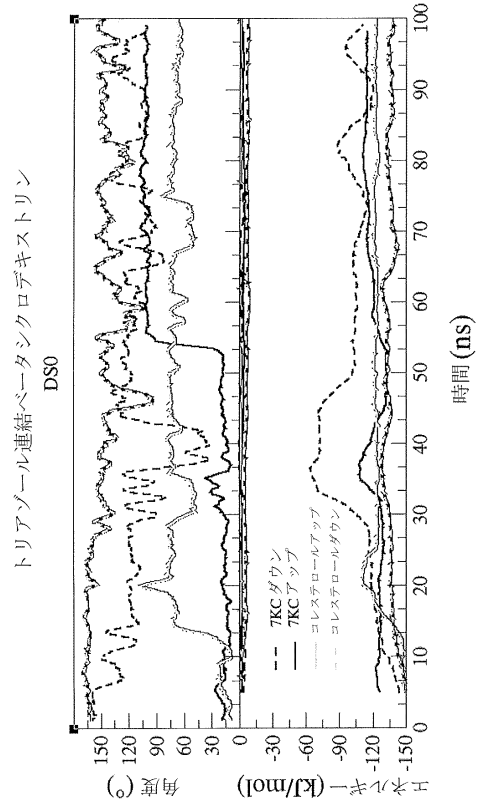
【図 4 O O】



【図 4 N N】



【図 4 P P】



10

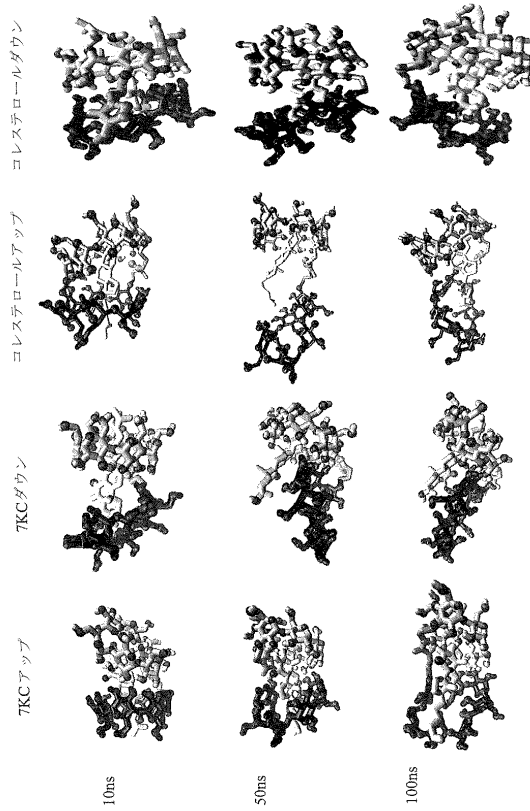
20

30

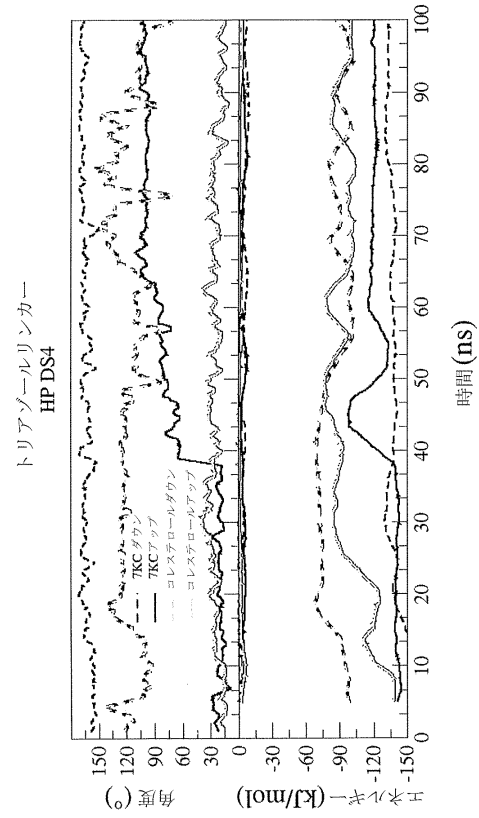
40

50

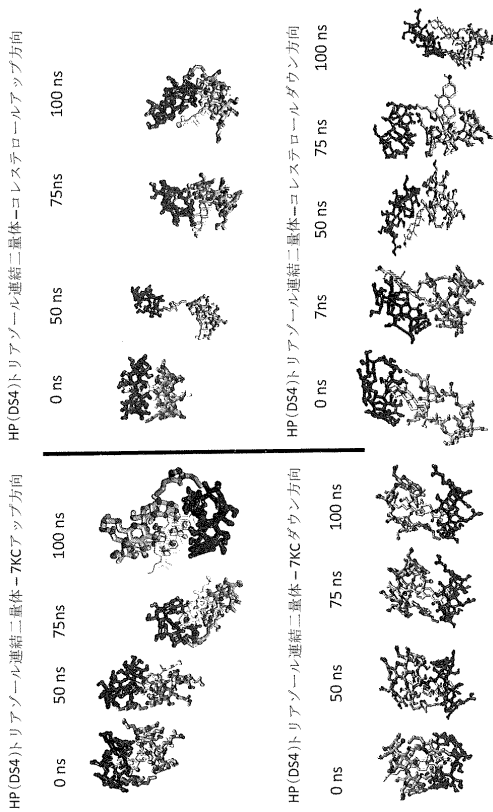
【図 4 Q Q】



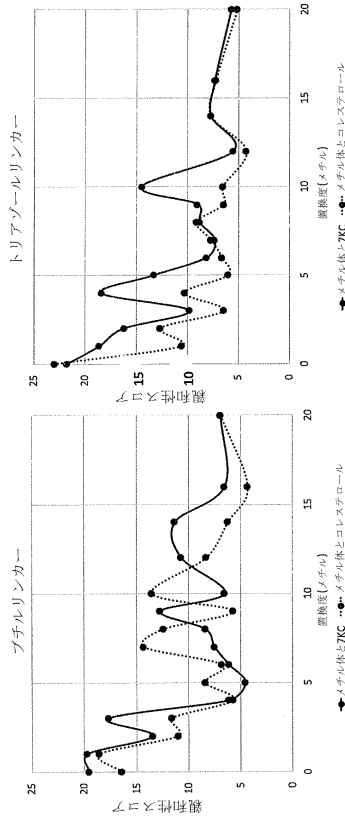
【図 4 R R】



【図 4 S S】



【図 5 A】



10

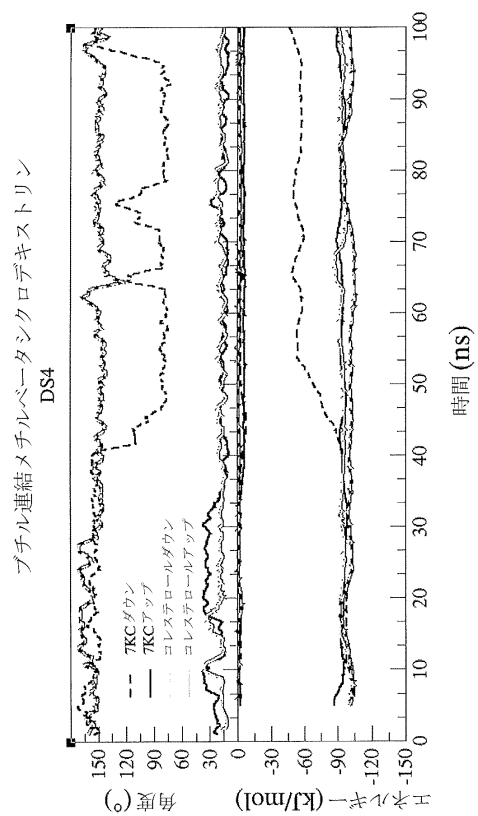
20

30

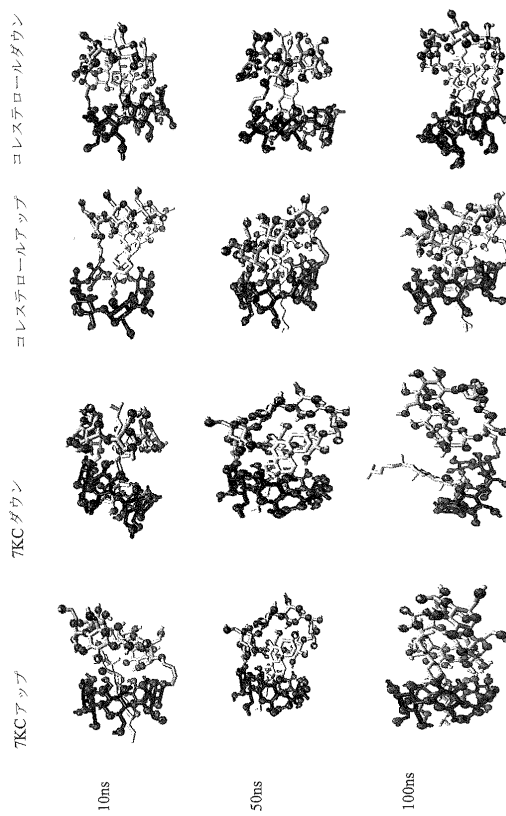
40

50

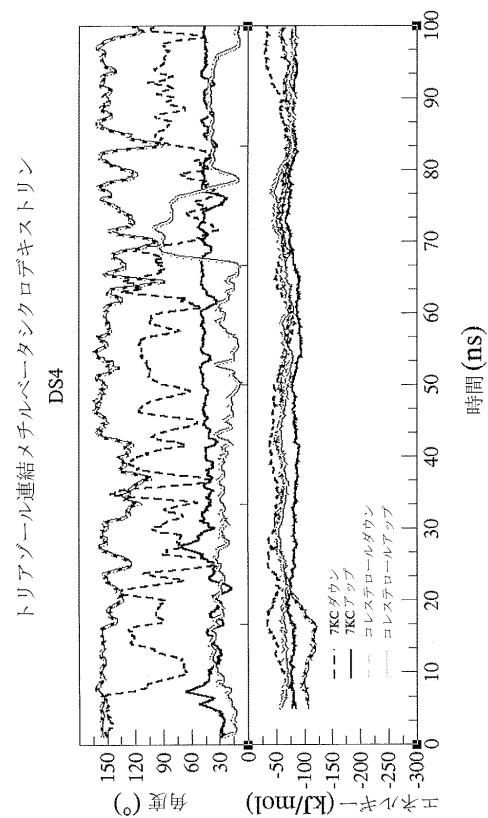
【図 5 B】



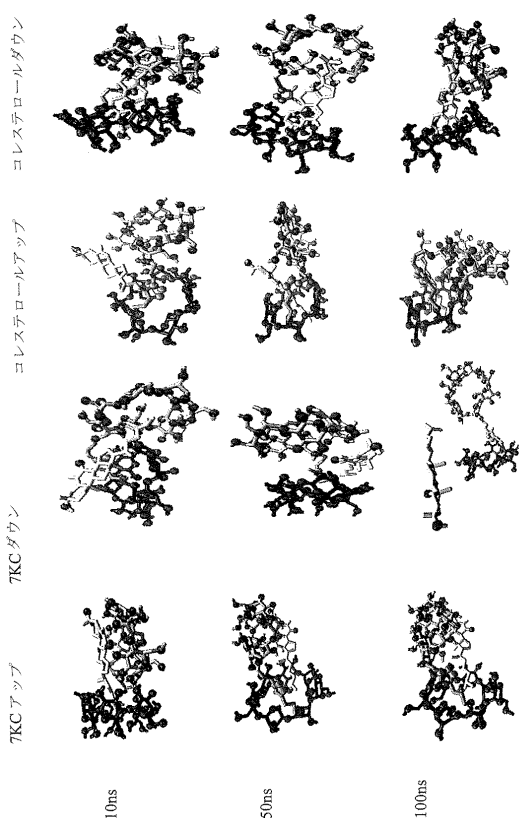
【図 5 C】



【図 5 D】



【図 5 E】



10

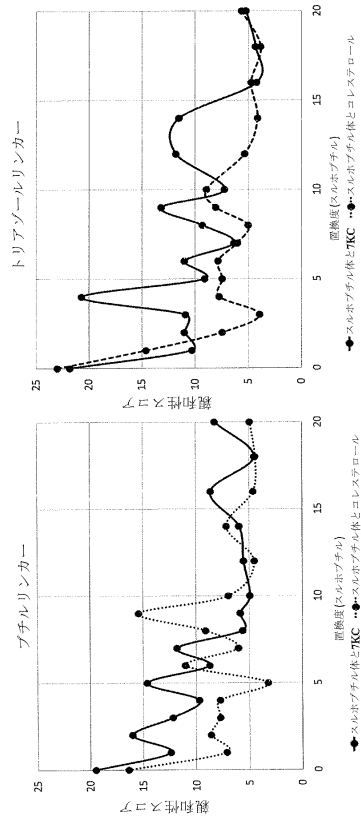
20

30

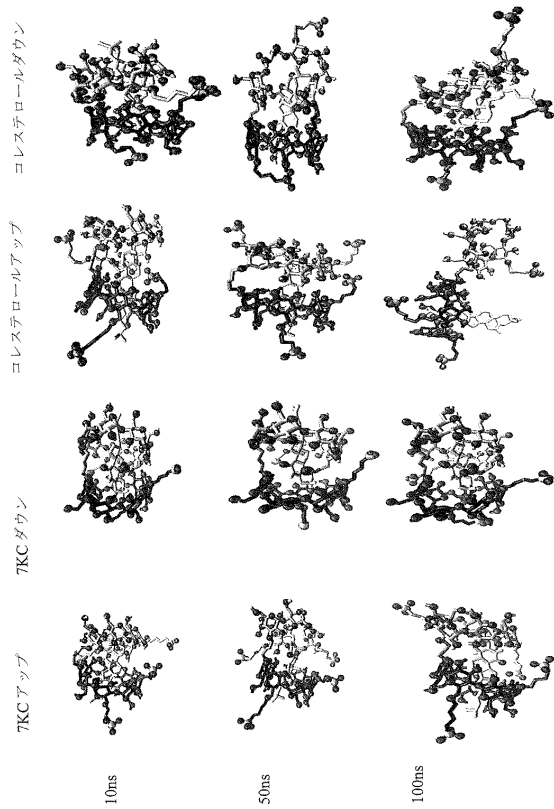
40

50

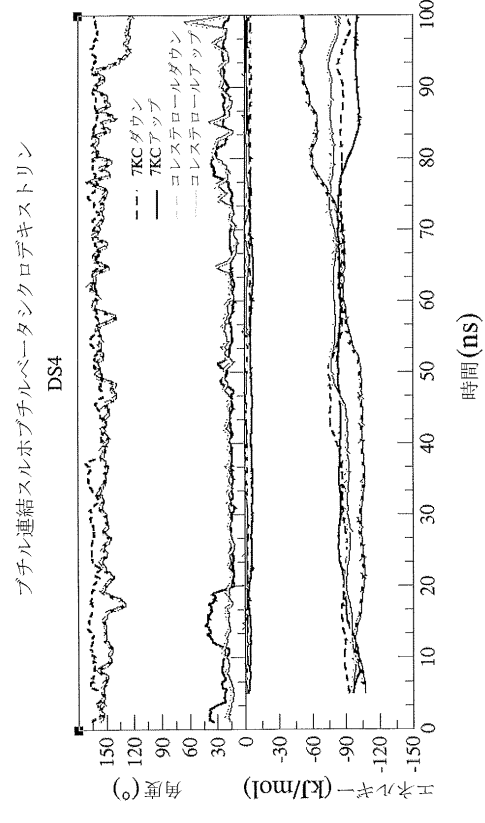
【図 6 A】



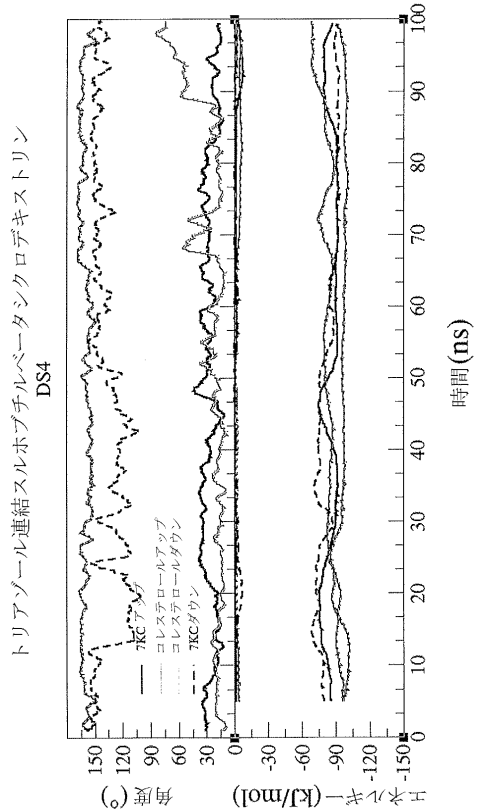
【図 6 C】



【図 6 B】



【図 6 D】



10

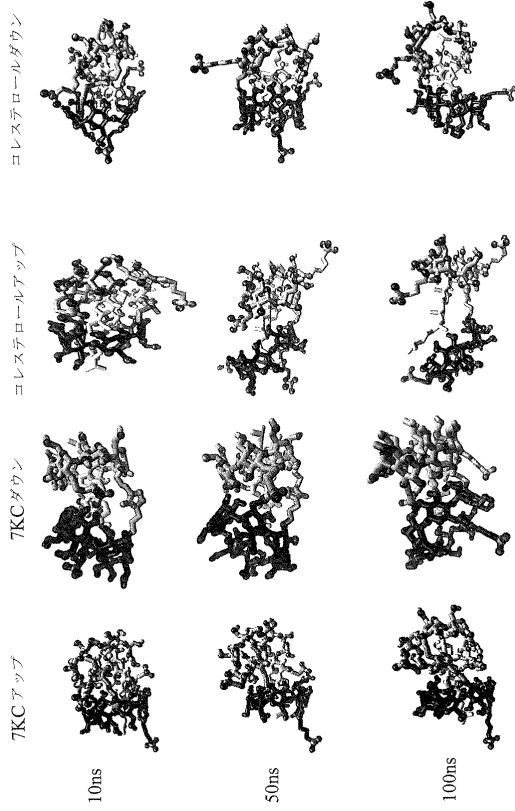
20

30

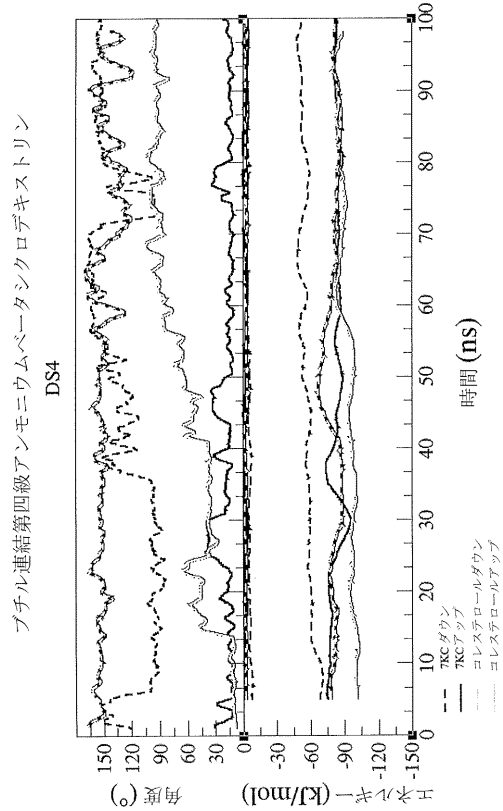
40

50

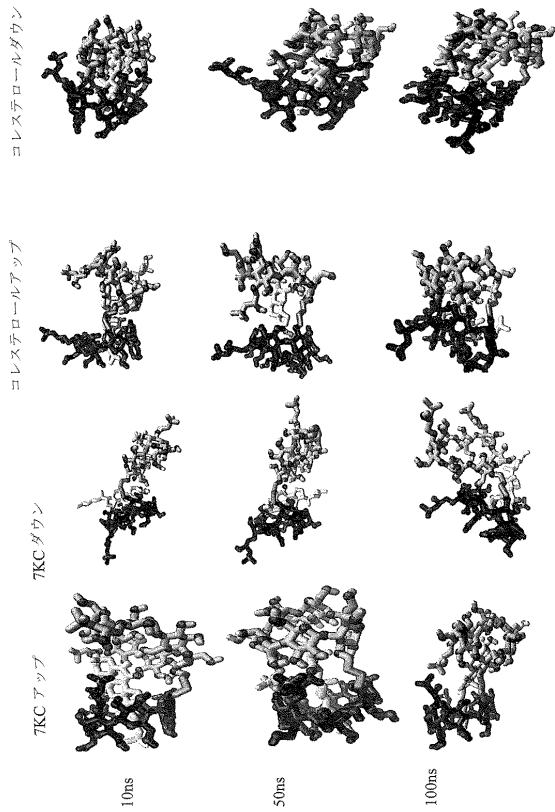
【図 6 E】



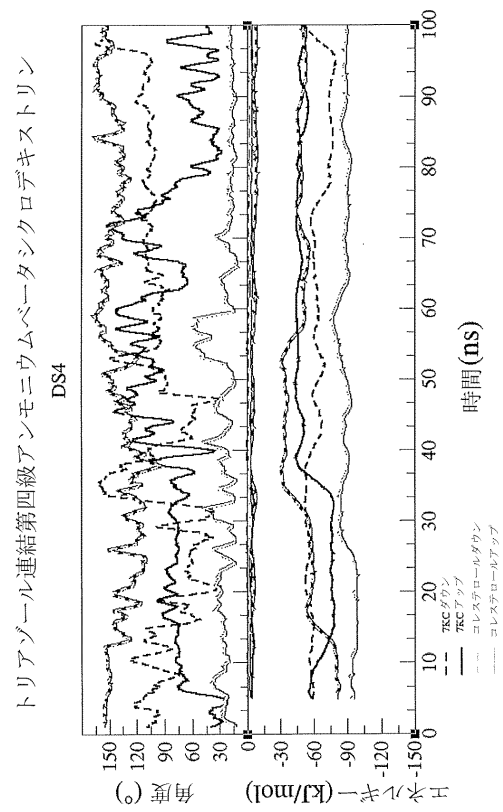
【図 7 A】



【図 7 B】



【図 7 C】



10

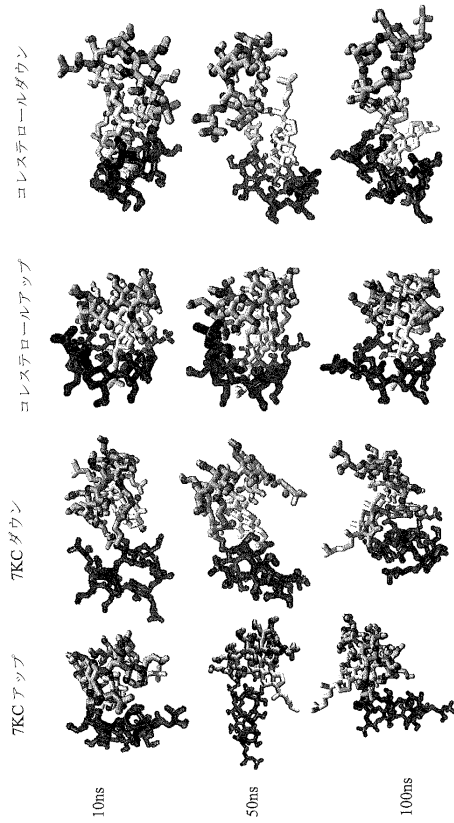
20

30

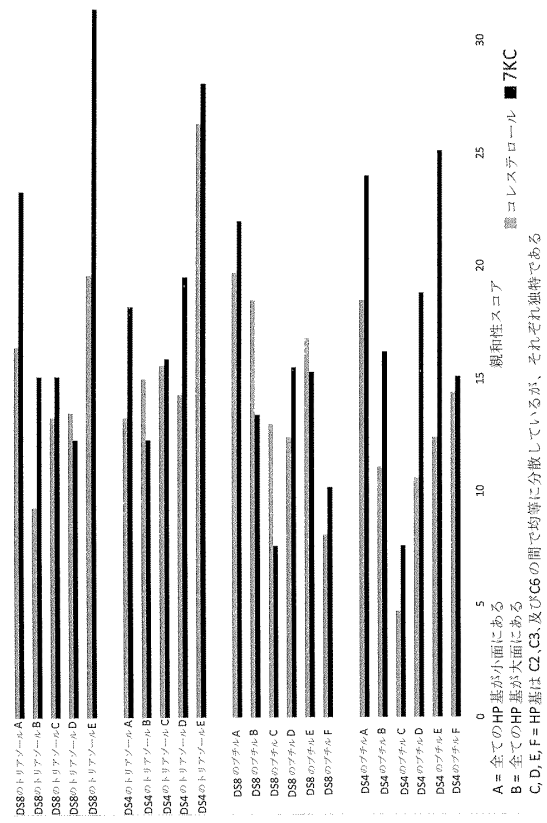
40

50

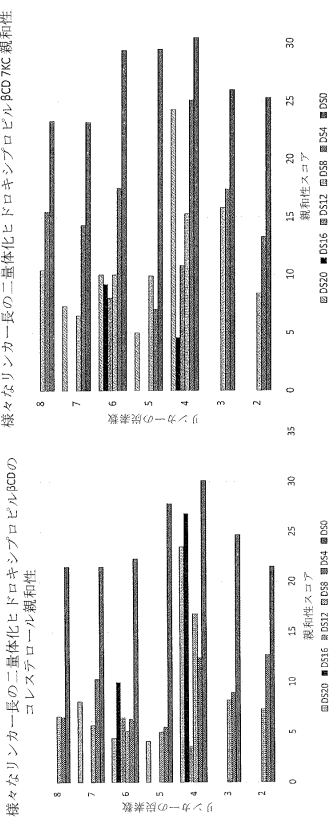
【図 7 D】



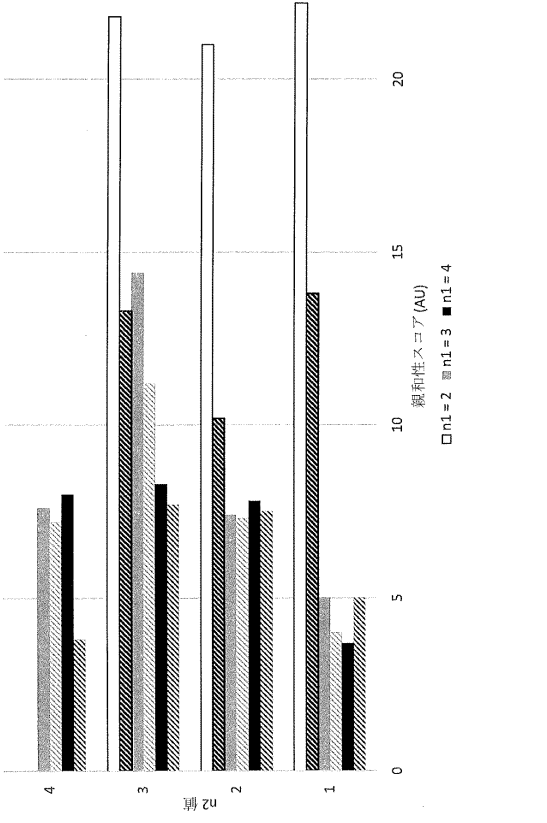
【図 8 A】



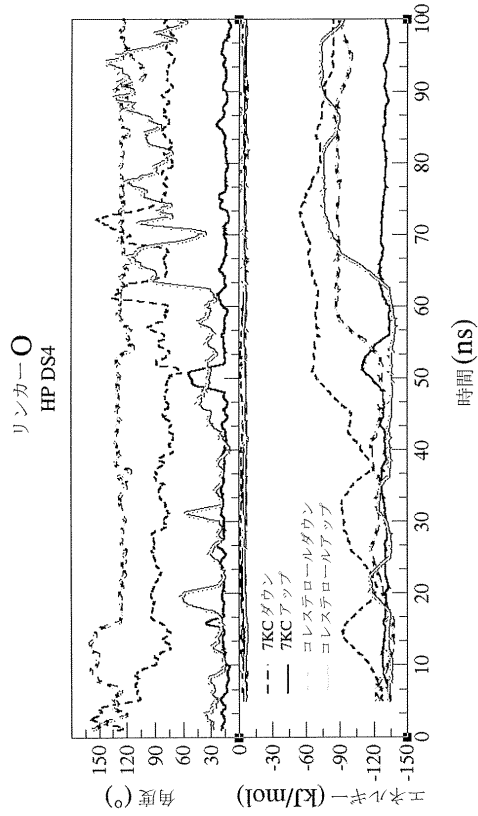
【図 8 B】



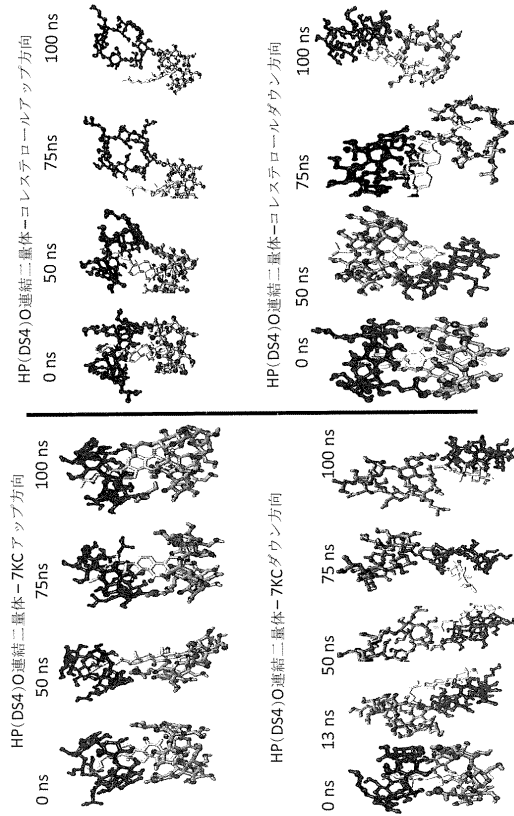
【図 8 C】



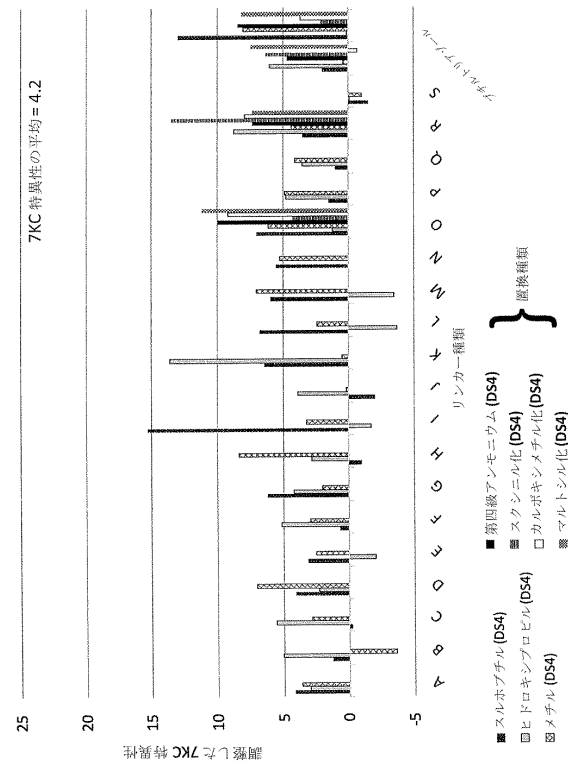
【図 8 H】



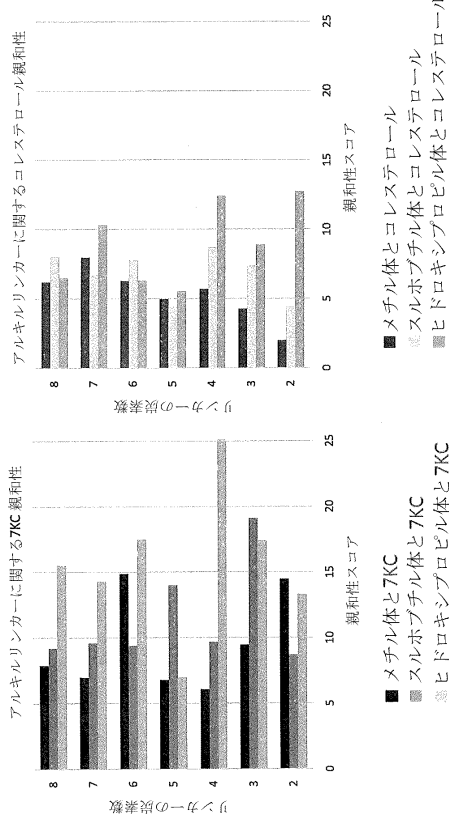
【図 8 I】



【図 9 A】



【図 9 B】



10

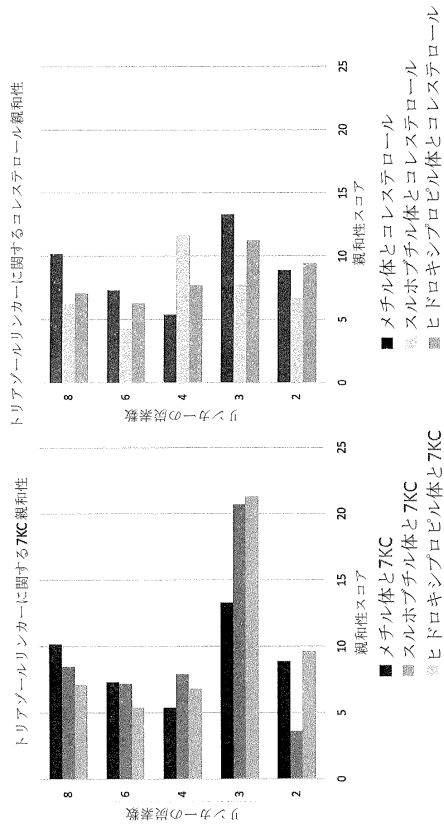
20

30

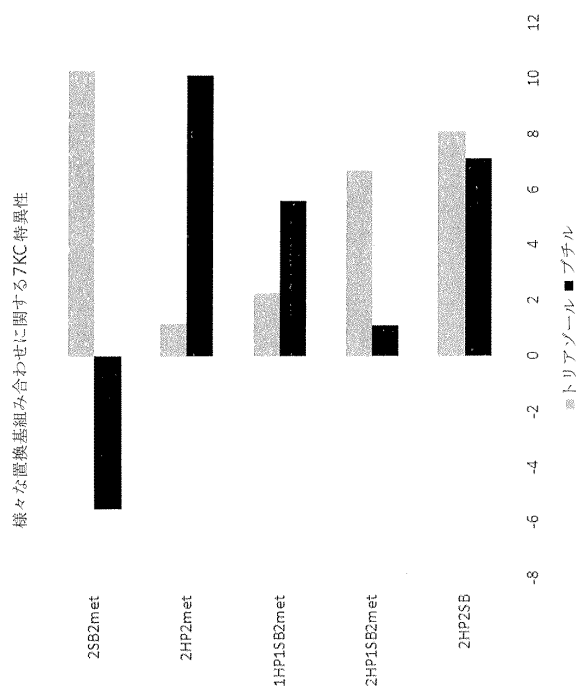
40

50

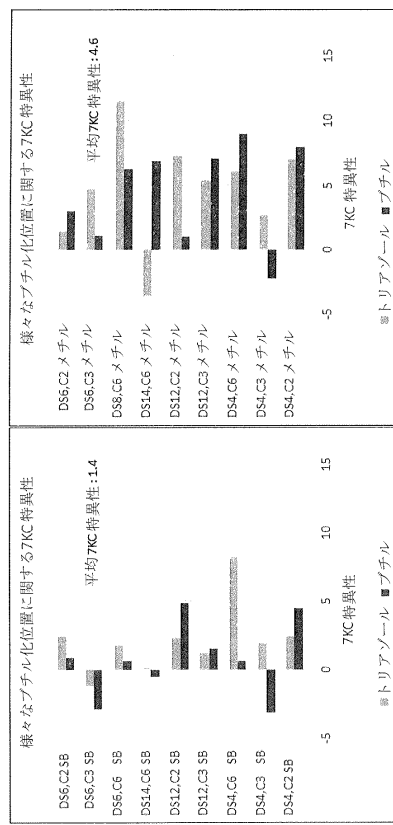
【図 9 C】



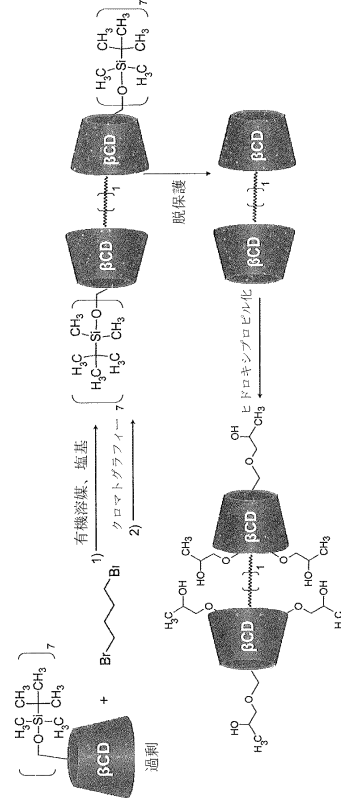
【図 9 E】



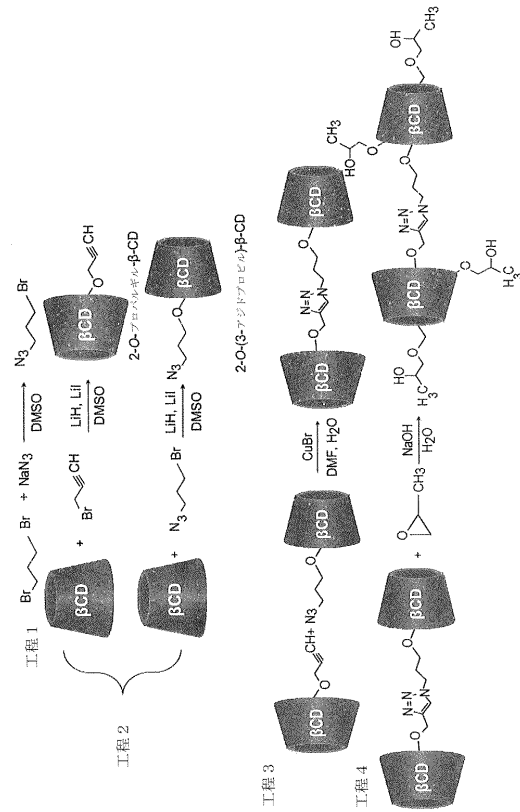
【図 9 D】



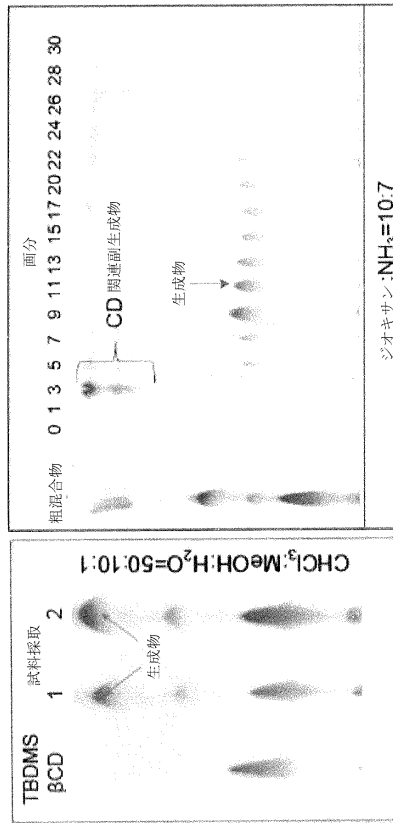
【図 10 A】



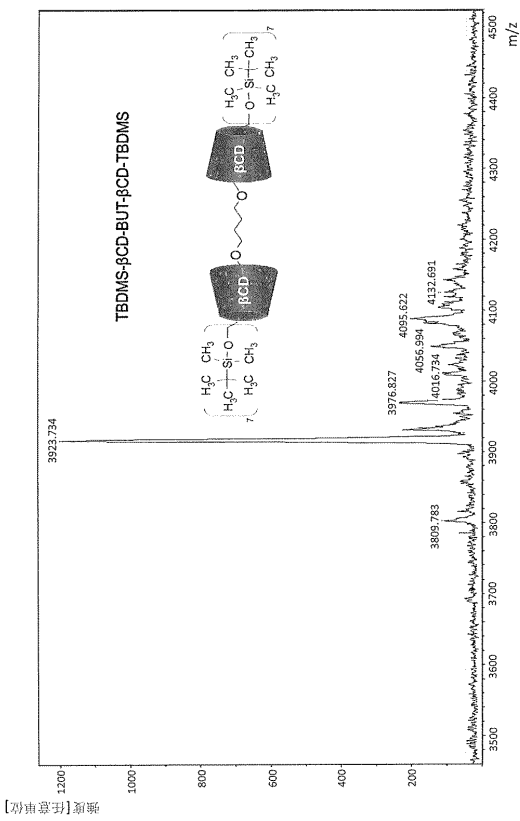
【図10B】



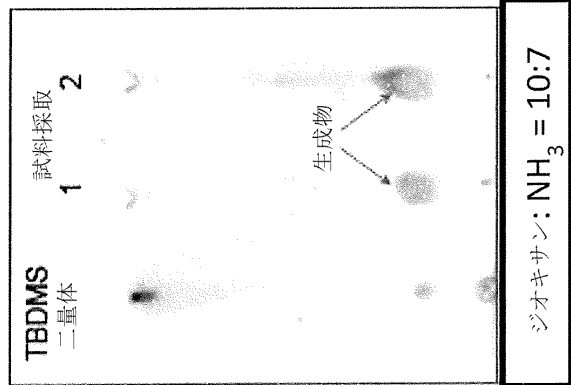
【図10C】



【図10D】



【図10E】



10

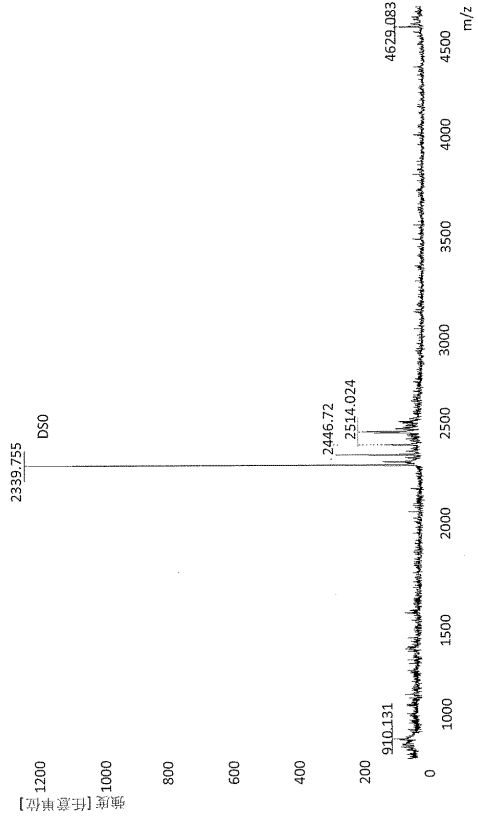
20

30

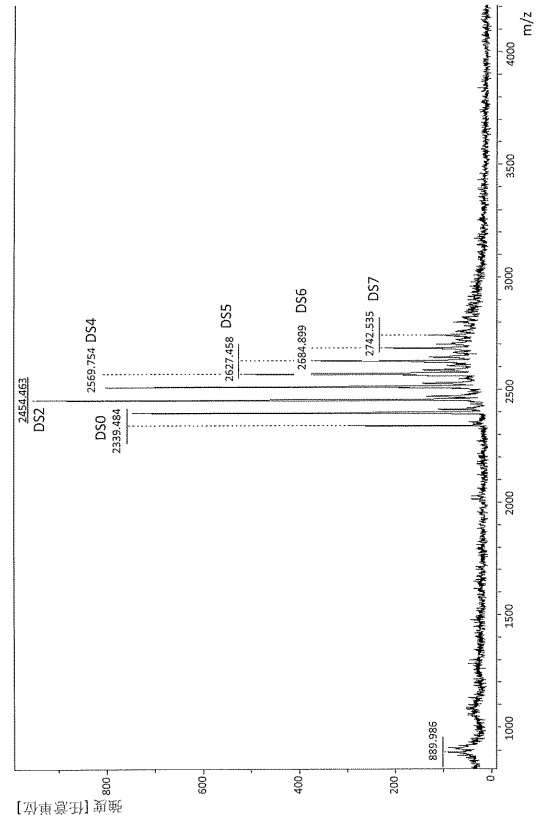
40

50

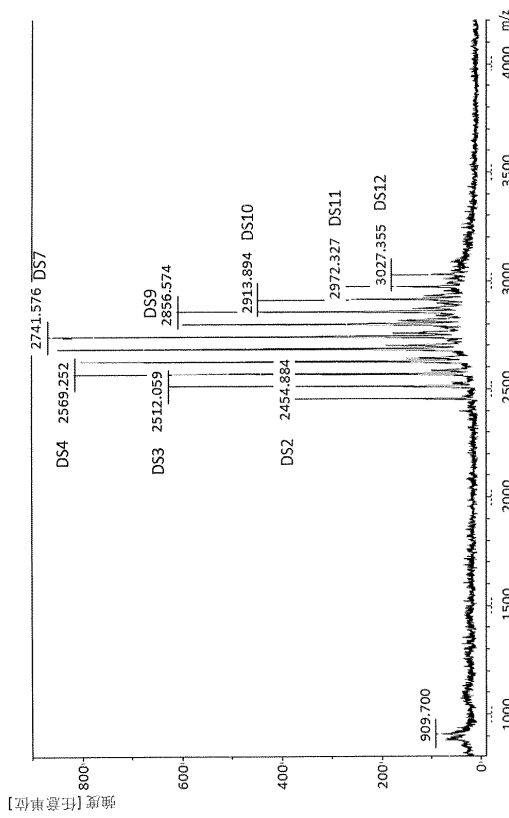
【図 10 F】



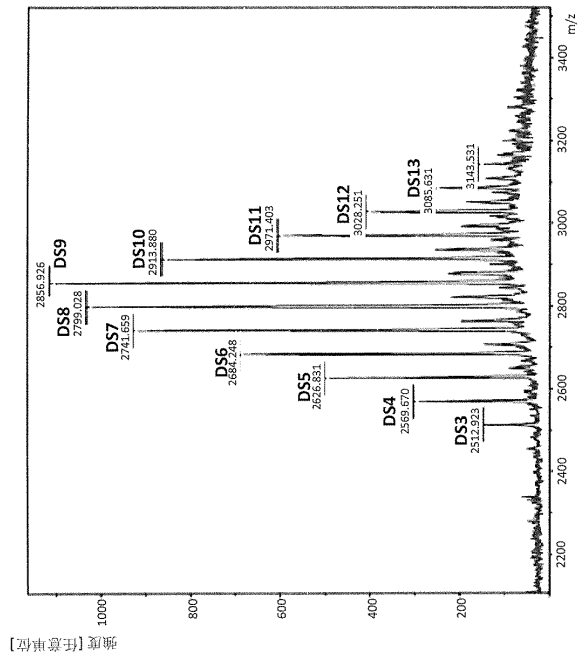
【図 10 G】



【図 10 H】



【図 10 I】



10

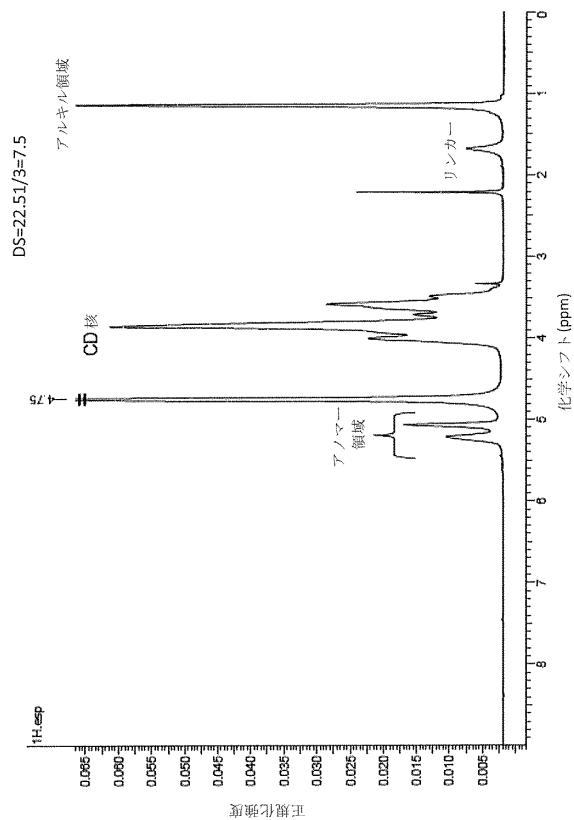
20

30

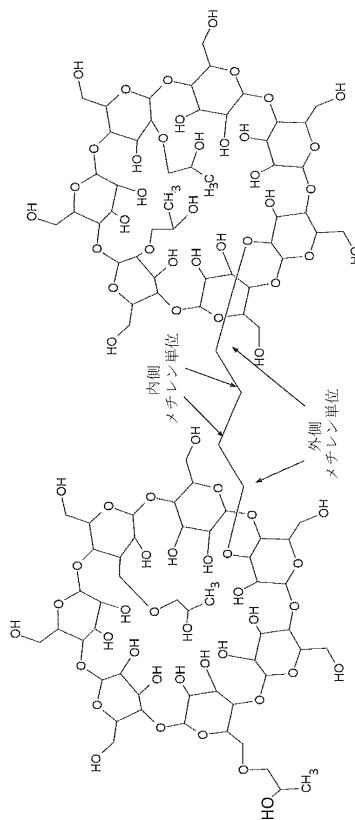
40

50

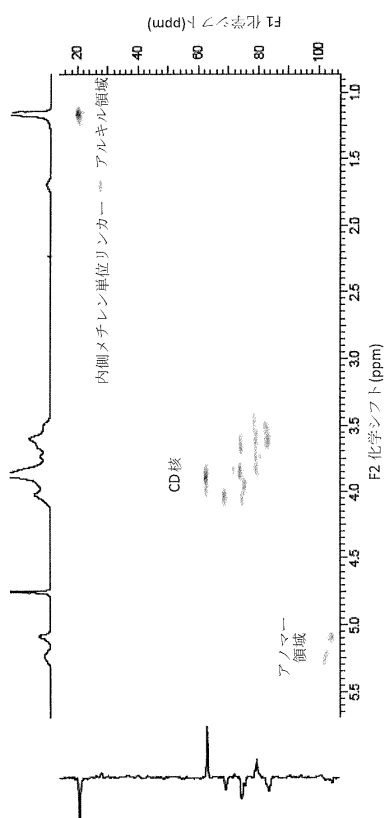
【図 10 J】



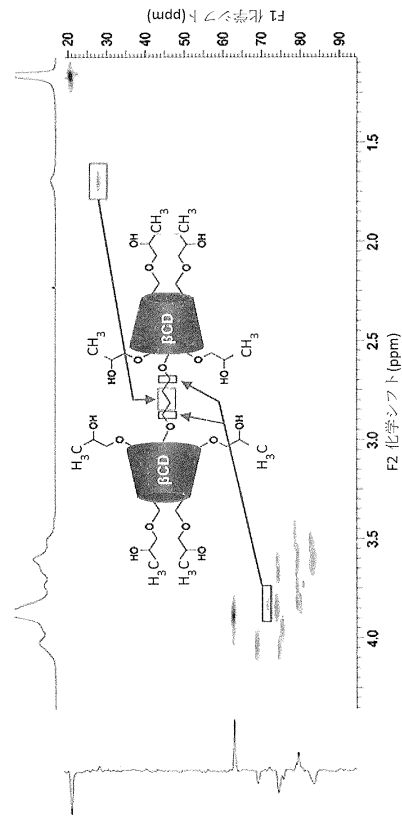
【図 10 K】



【図 10 L】



【図 10 M】



10

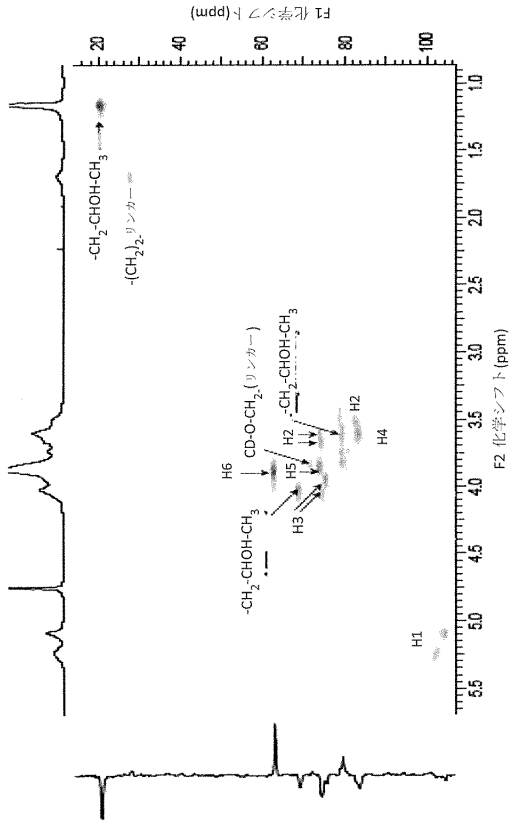
20

30

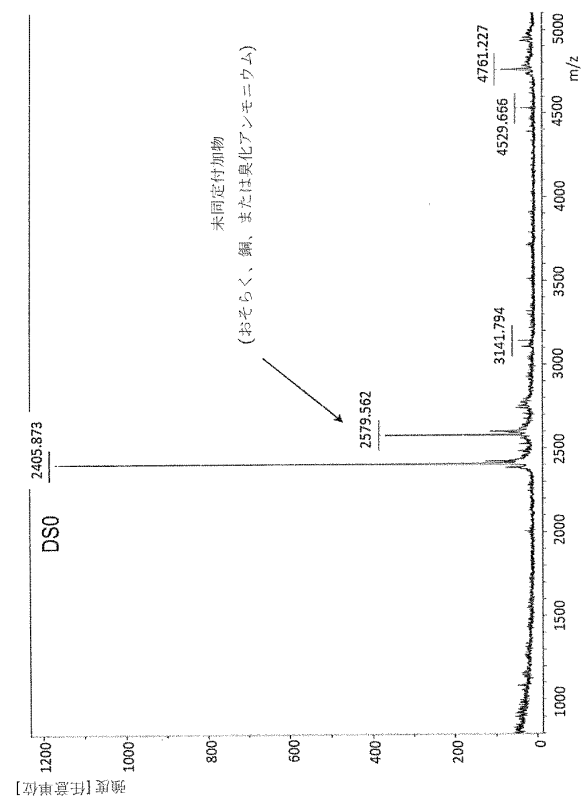
40

50

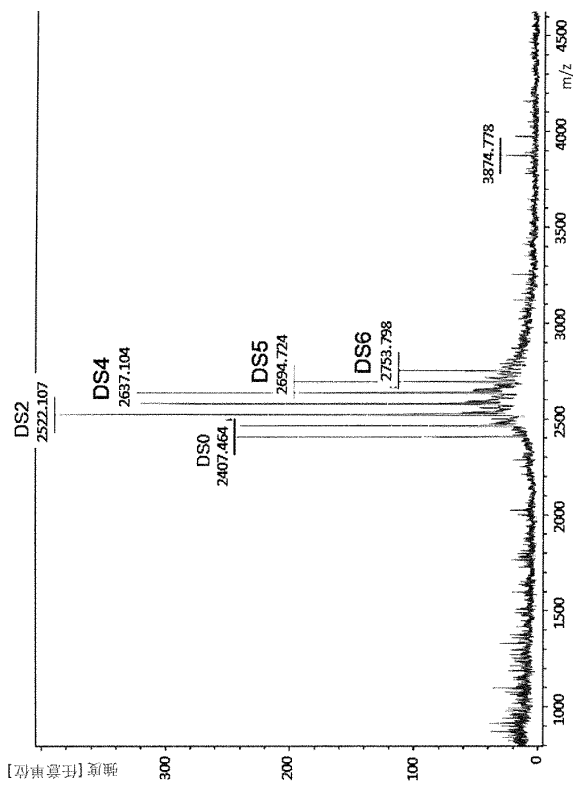
【図 10 N】



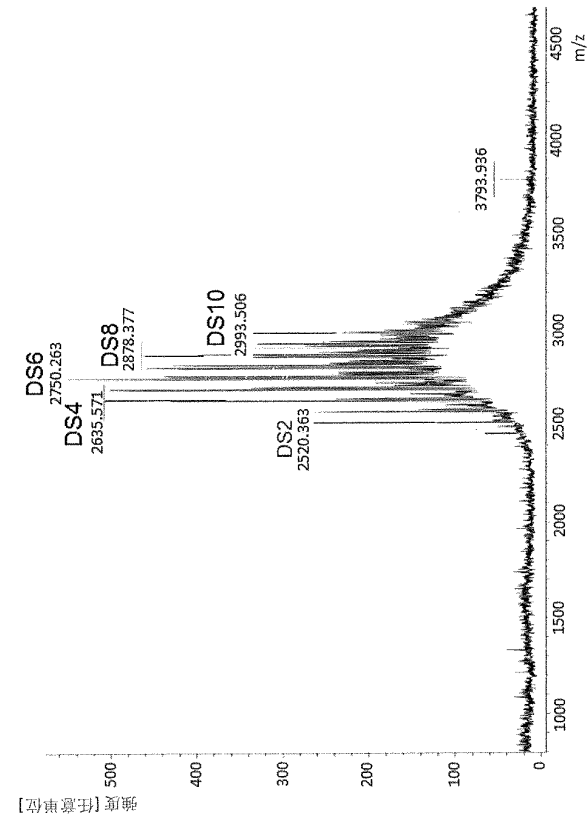
【図 10 O】



【図 10 P】



【図 10 Q】



10

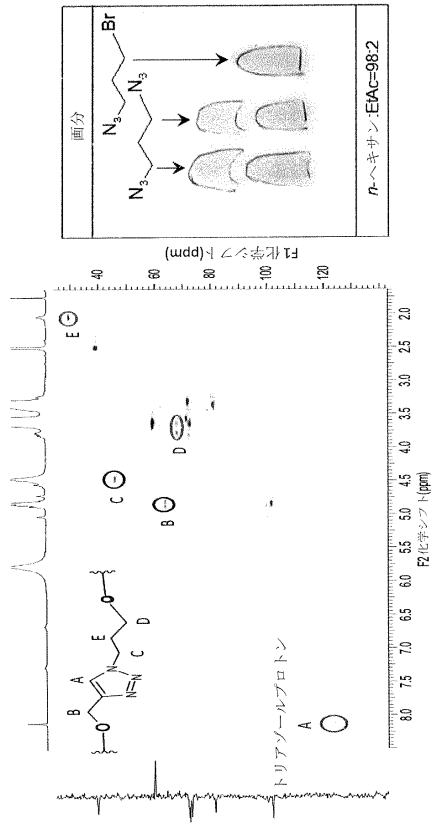
20

30

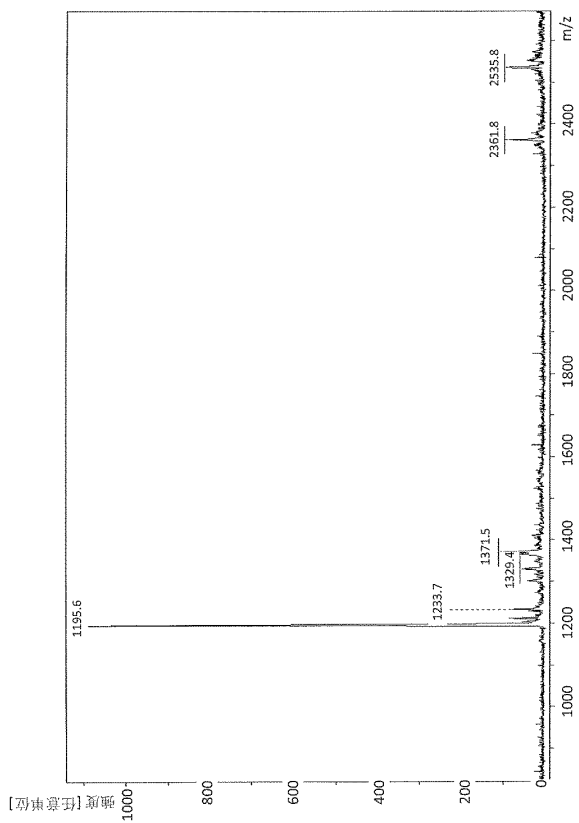
40

50

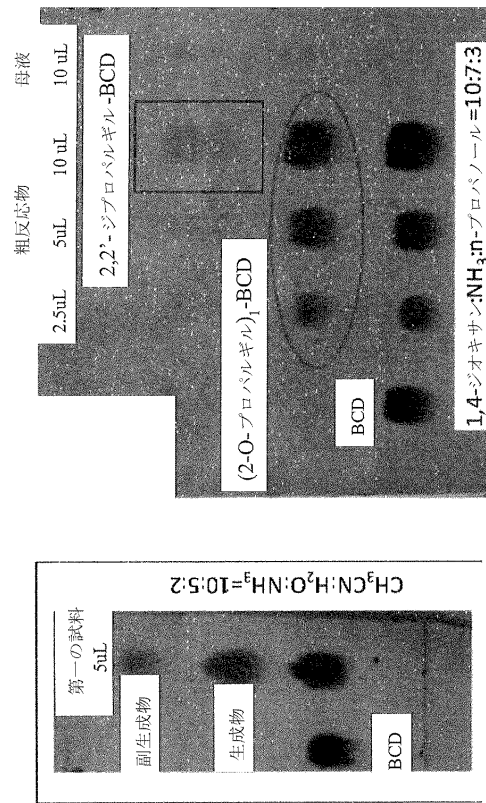
【図10R】



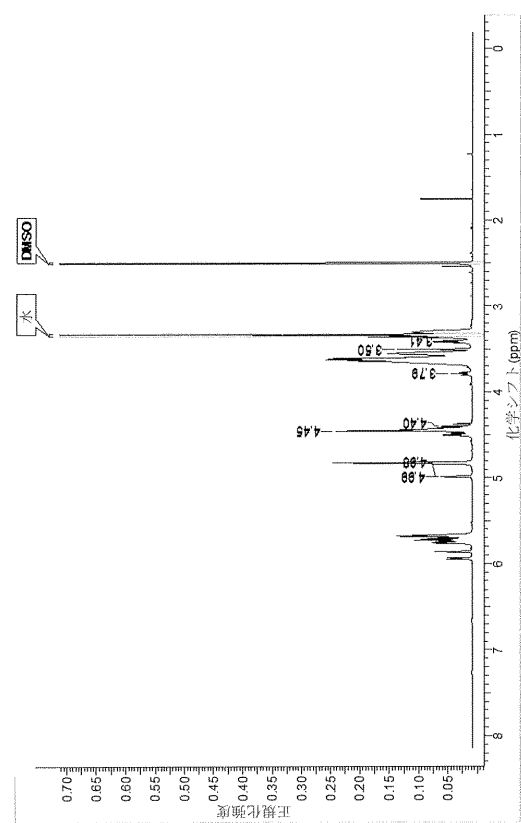
【図10T】



【図10S】



【図10U】



10

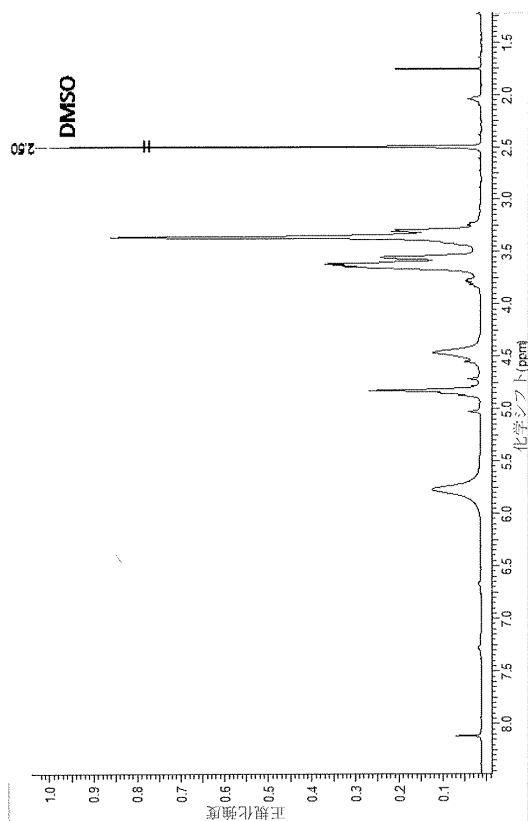
20

30

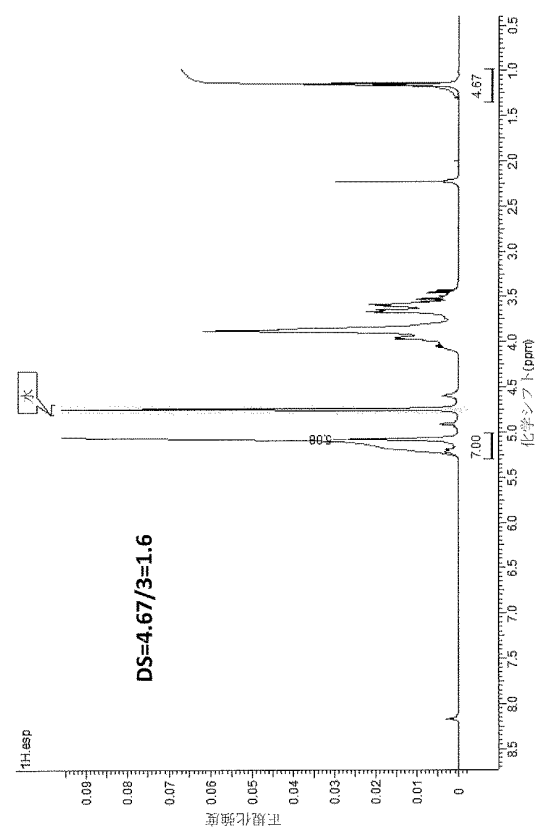
40

50

【図10V】



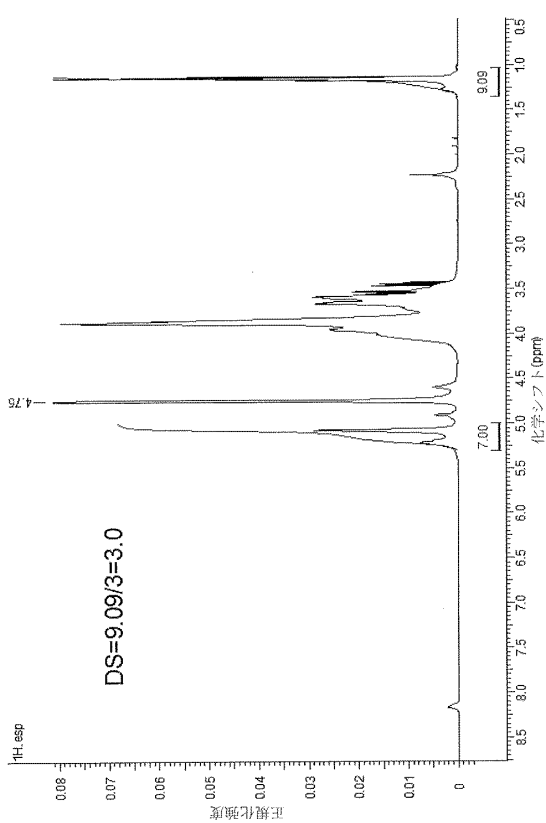
【図10W】



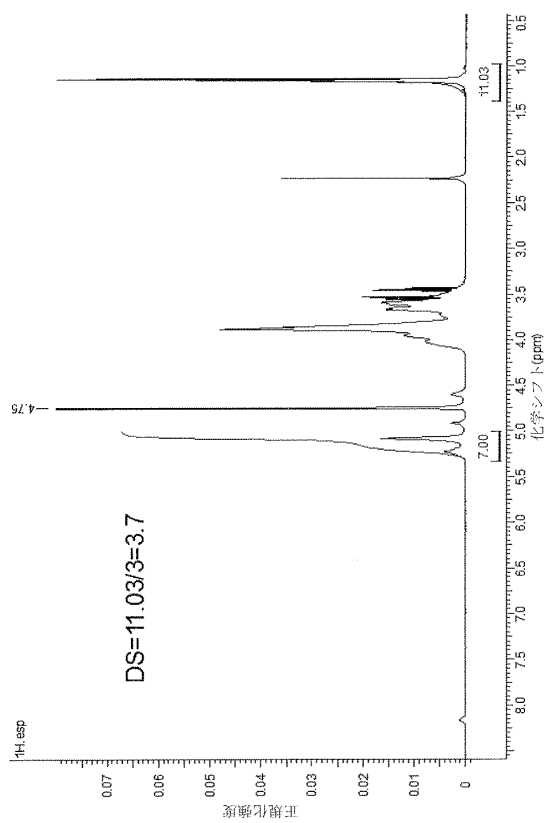
10

20

【図10X】



【図10Y】

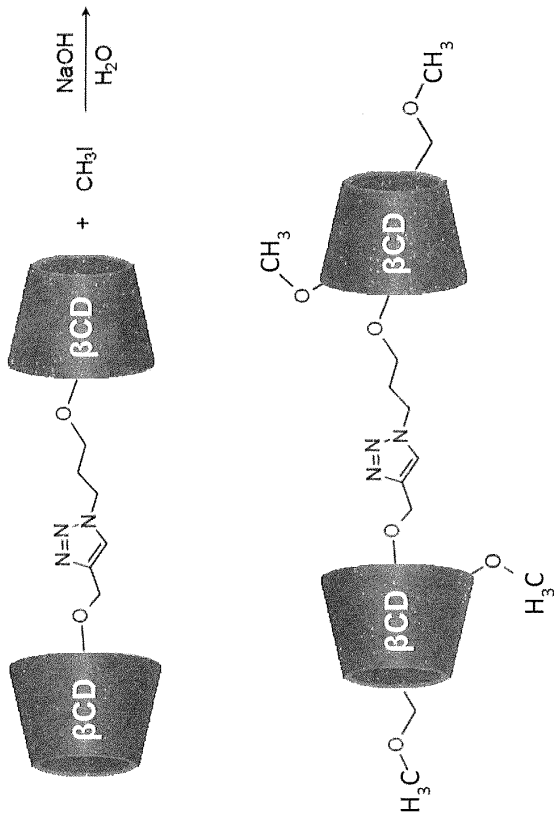


30

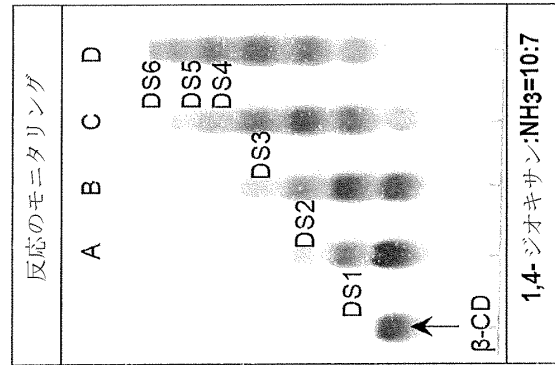
40

50

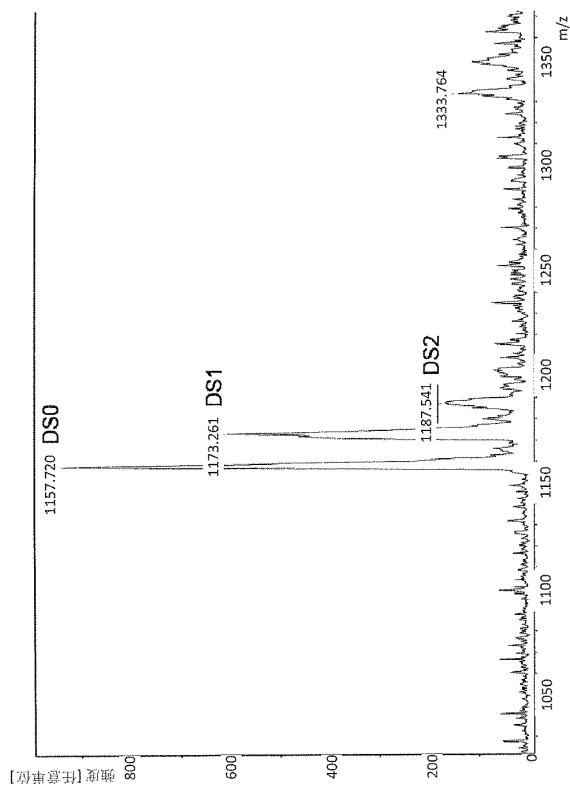
【図 1 1 A】



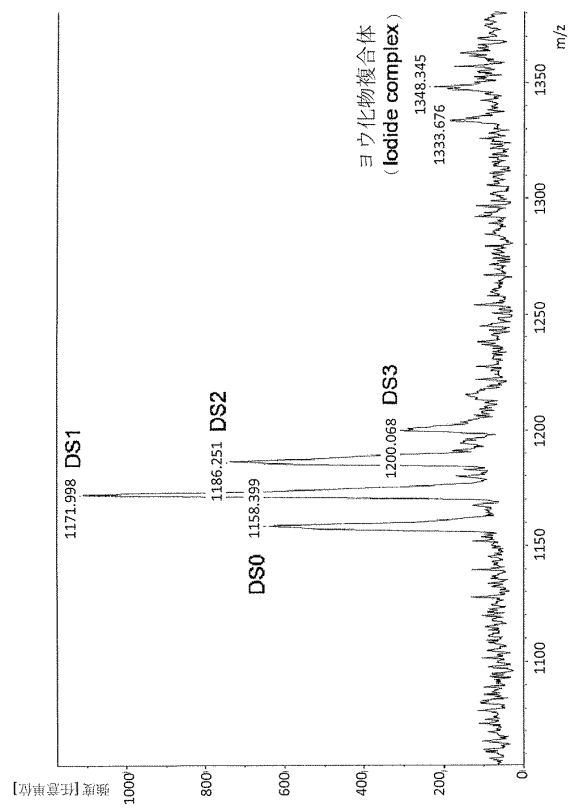
【図 1 1 B】



【図 1 1 C】



【図 1 1 D】



10

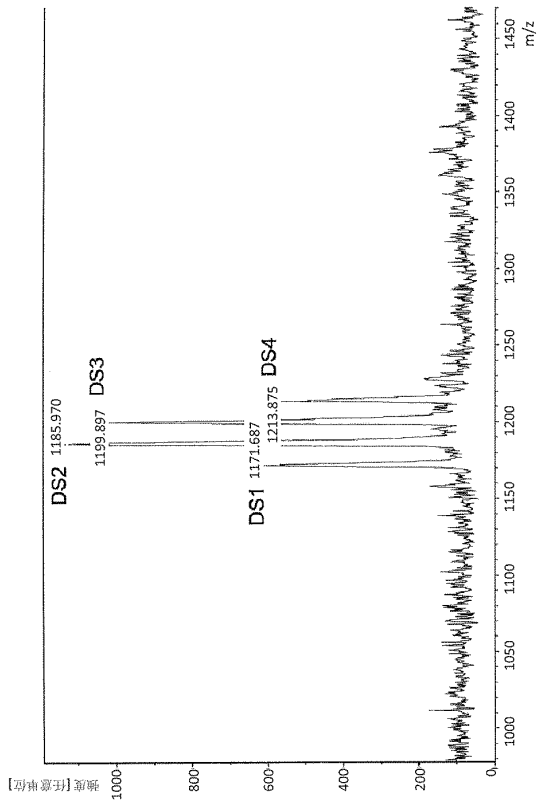
20

30

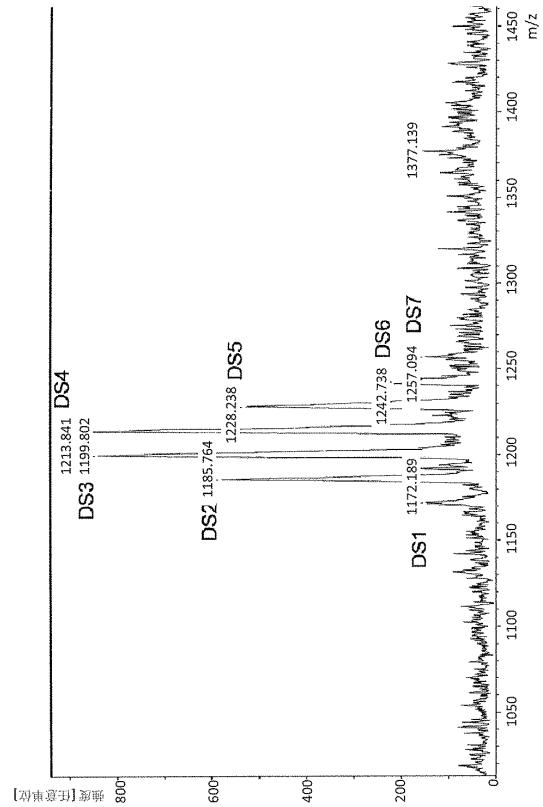
40

50

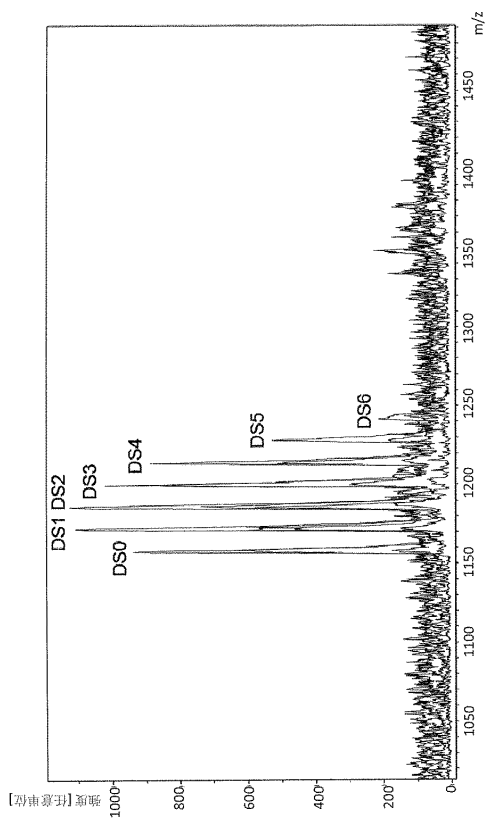
【図 1 1 E】



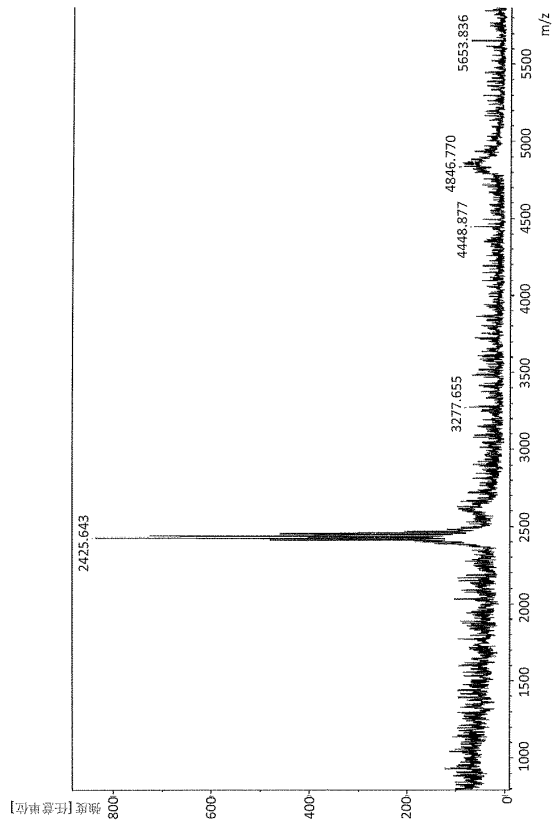
【図 1 1 F】



【図 1 1 G】



【図 1 1 H】



10

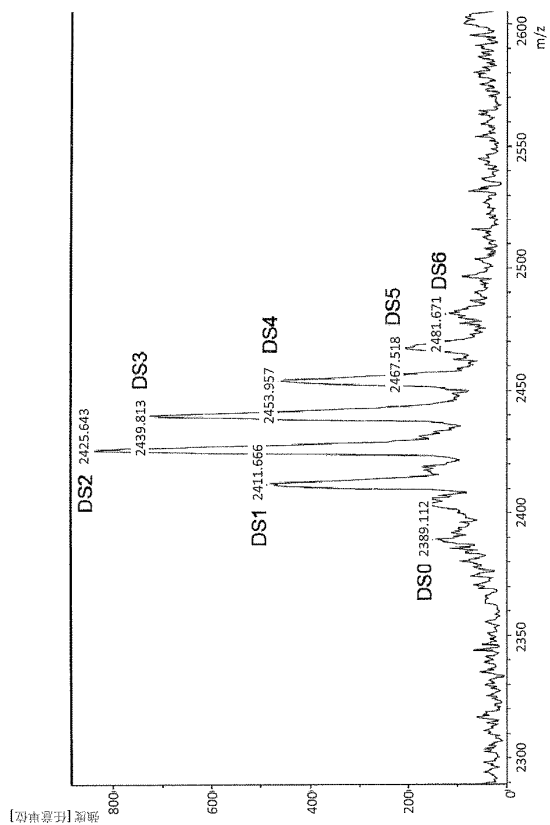
20

30

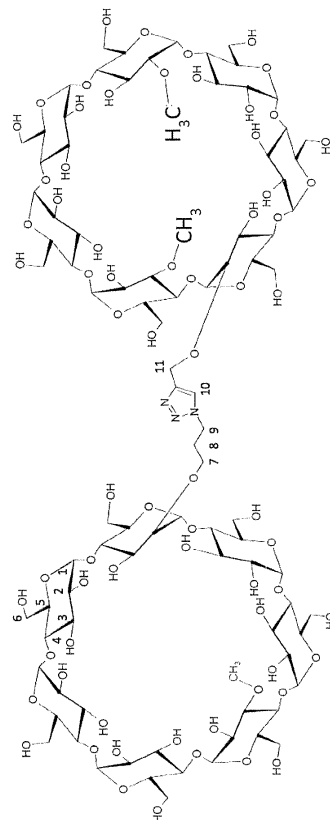
40

50

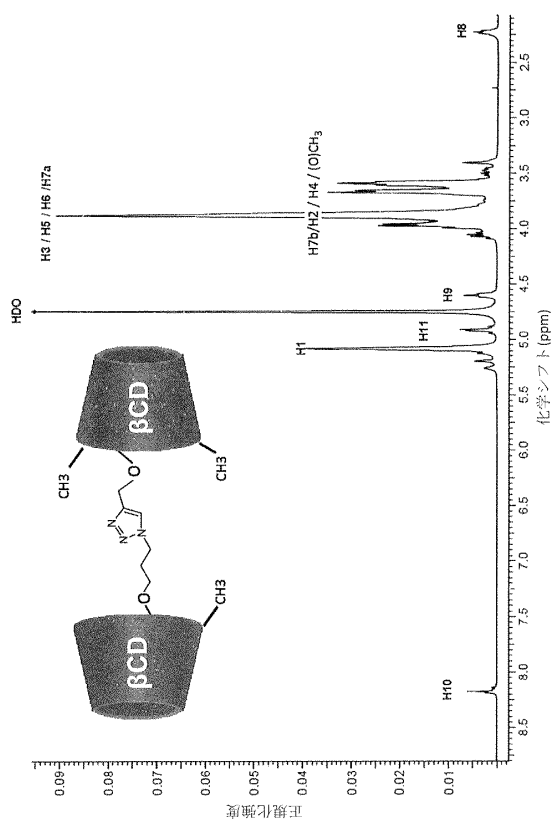
【図 1 1 I】



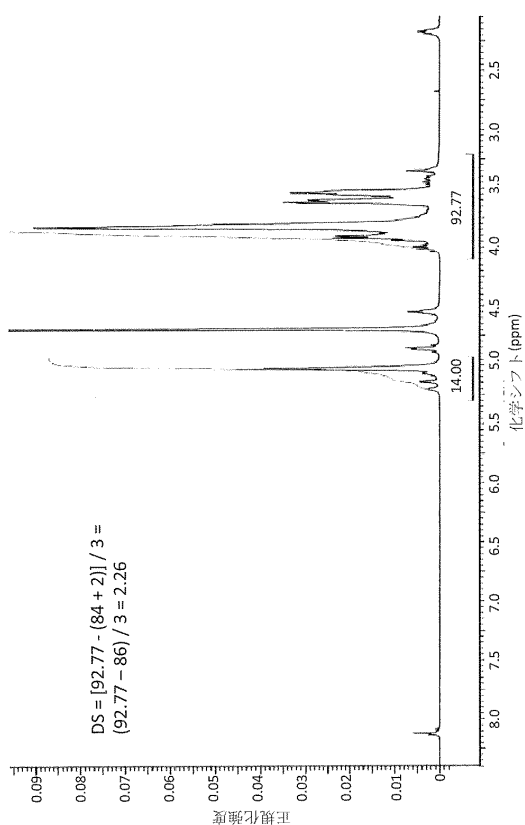
【図 1 1 J】



【図 1 1 K】



【図 1 1 L】



10

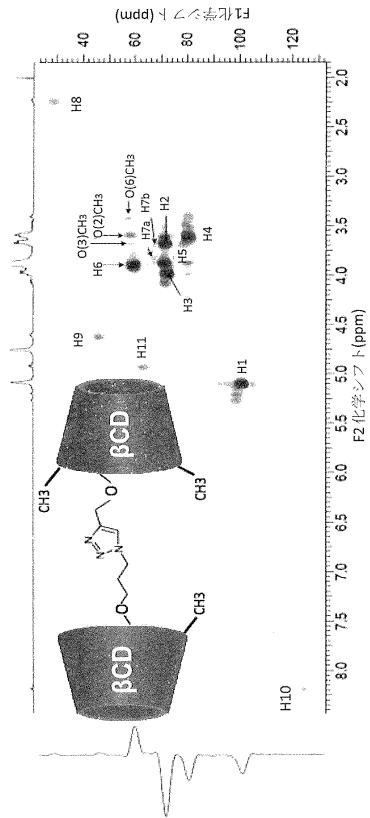
20

30

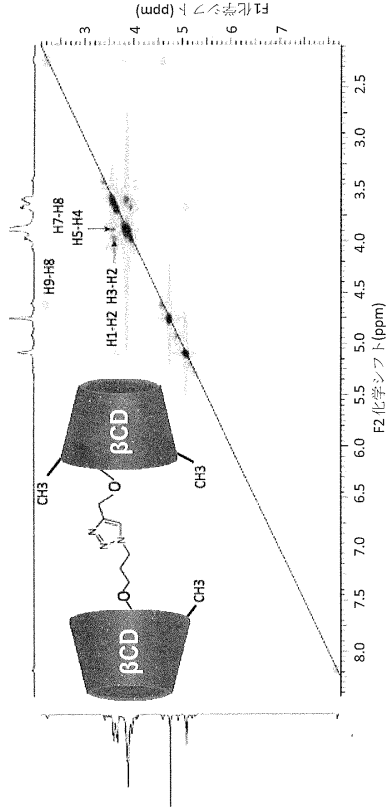
40

50

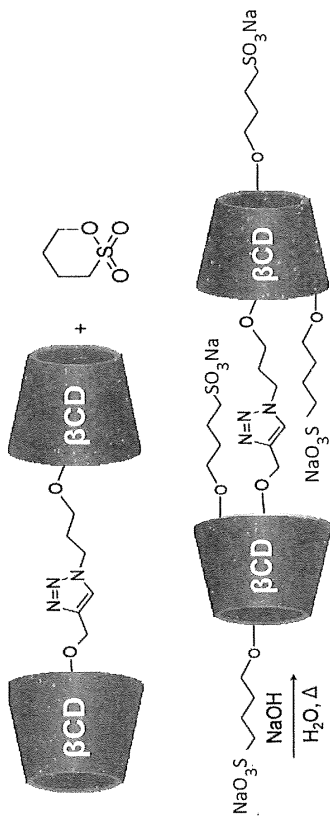
【図 1 1 M】



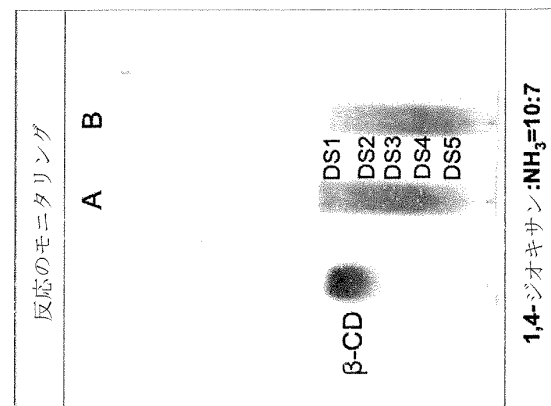
【図 1 1 N】



【図 1 2 A】



【図 1 2 B】



10

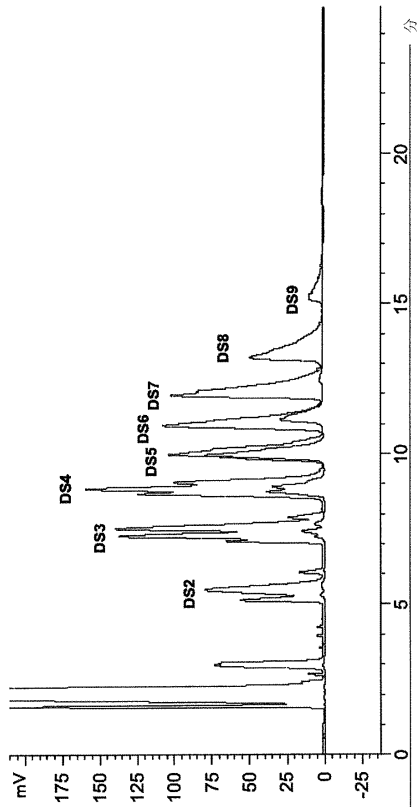
20

30

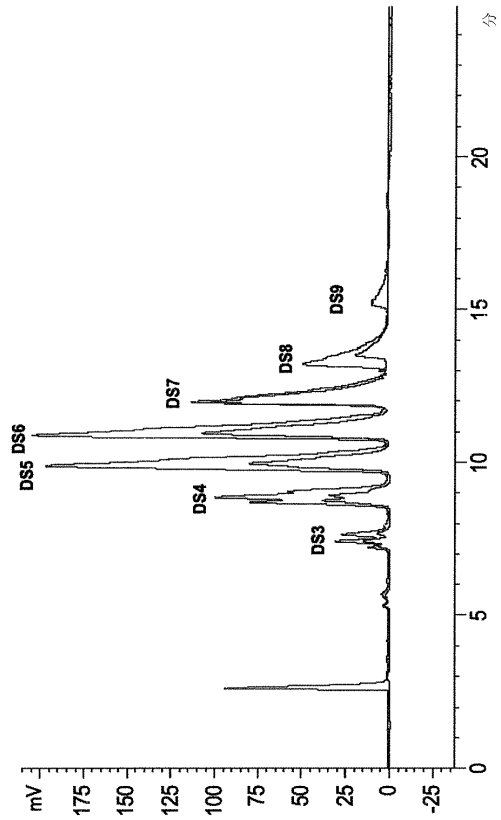
40

50

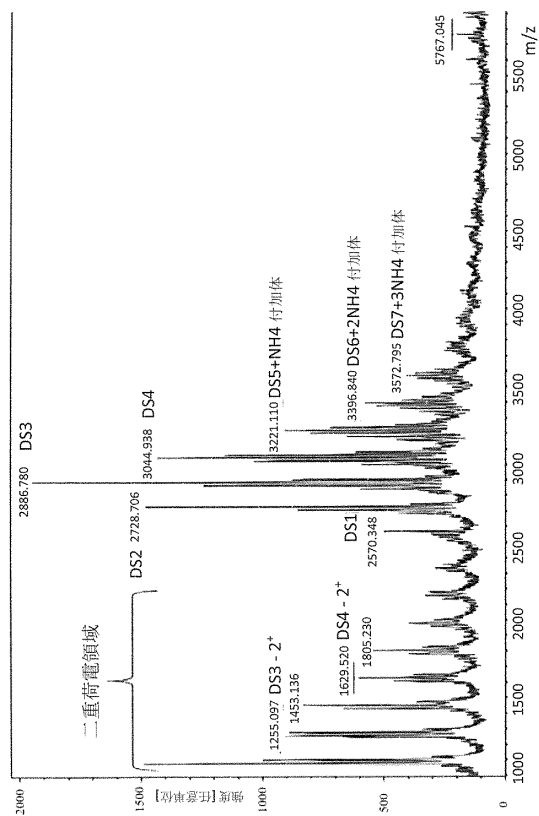
【図 1 2 C】



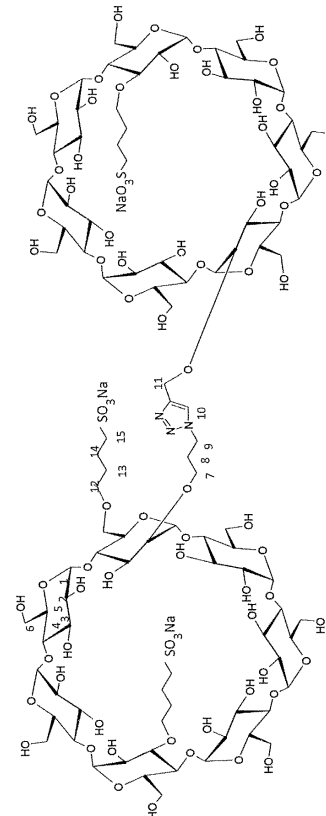
【図 1 2 D】



【図 1 2 E】



【図 1 2 F】



10

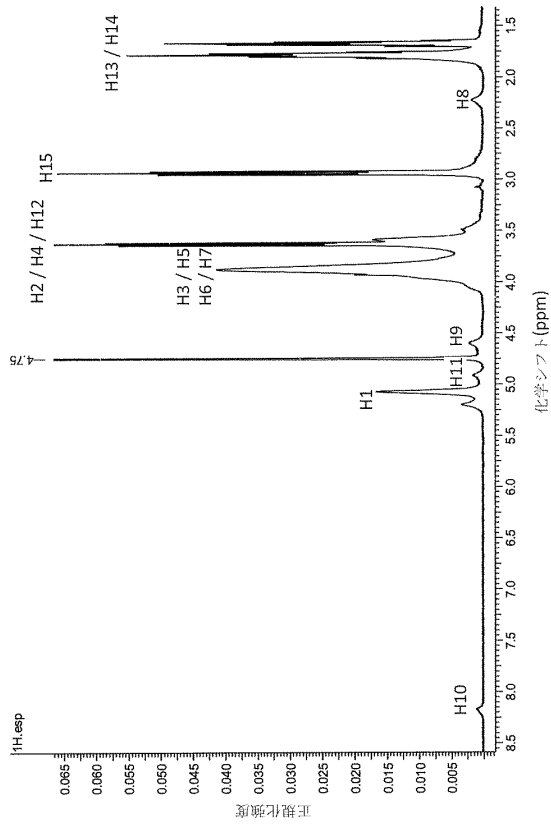
20

30

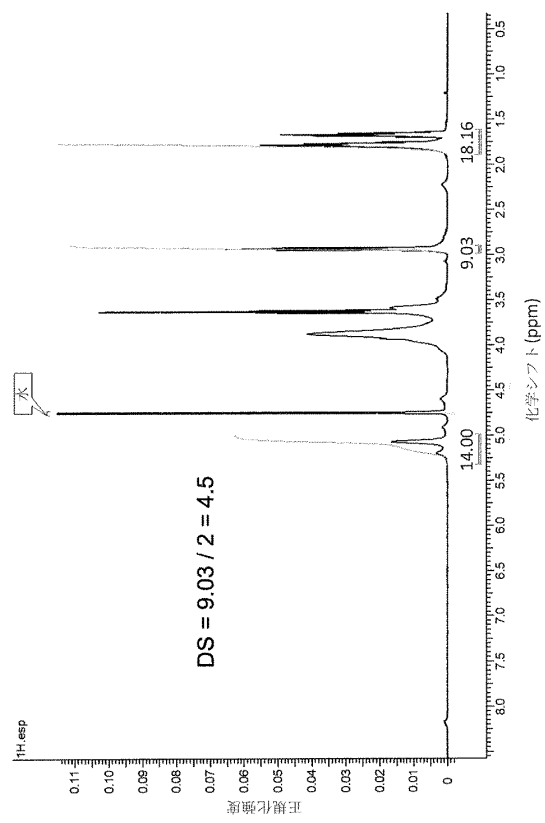
40

50

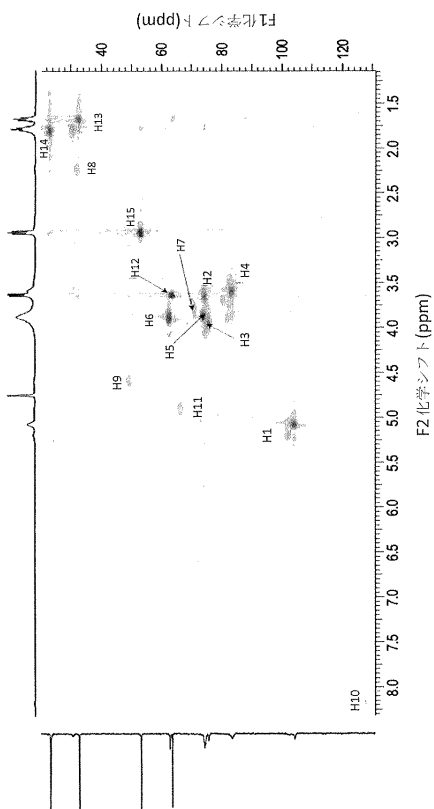
【図 1 2 G】



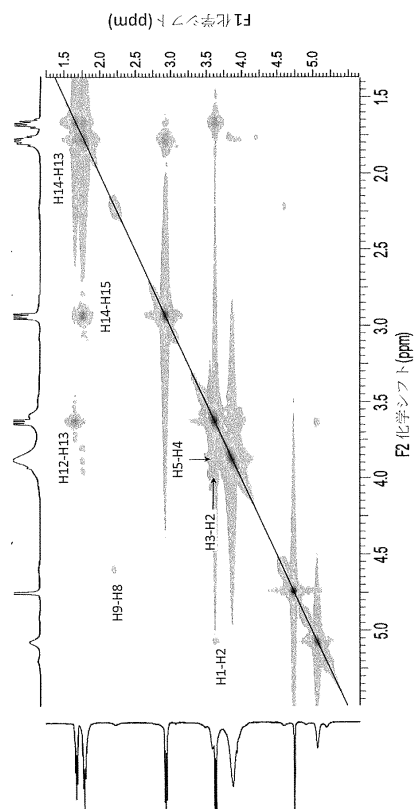
【図 1 2 H】



【図 1 2 I】



【図 1 2 J】



10

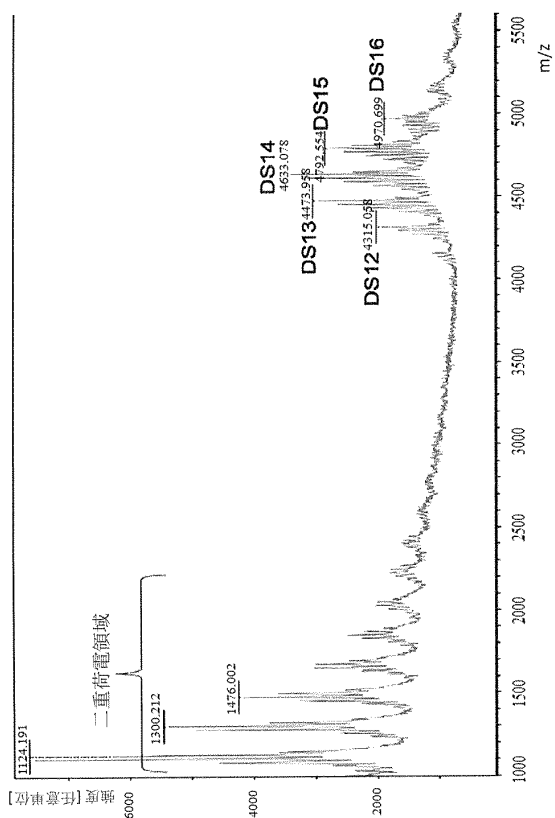
20

30

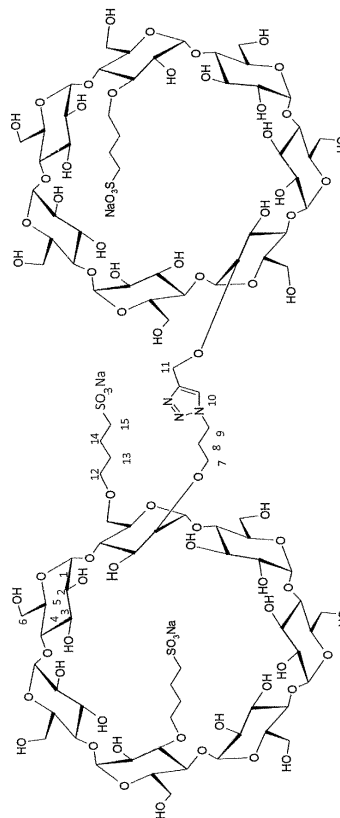
40

50

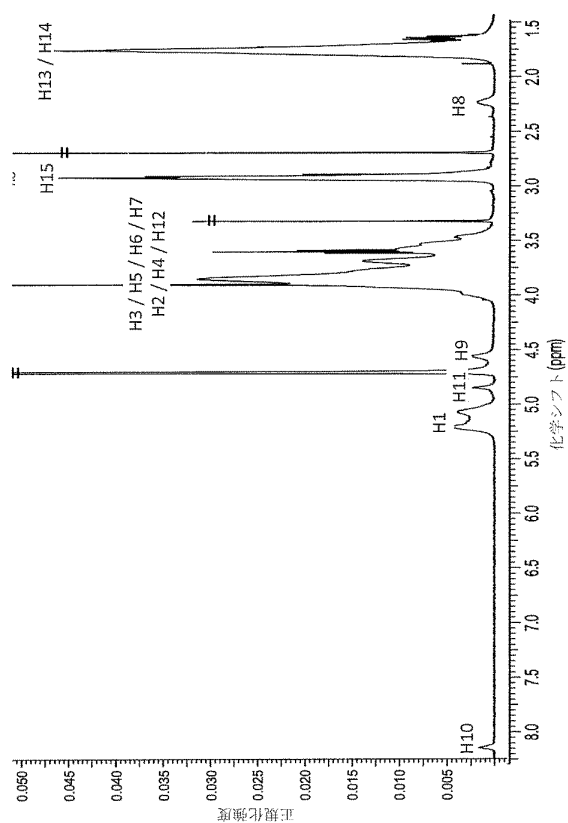
【図 12 K】



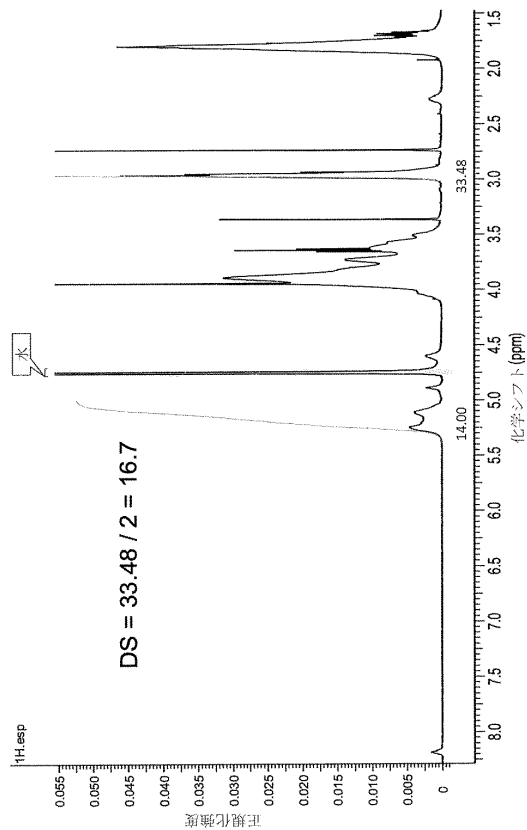
【図 12 L】



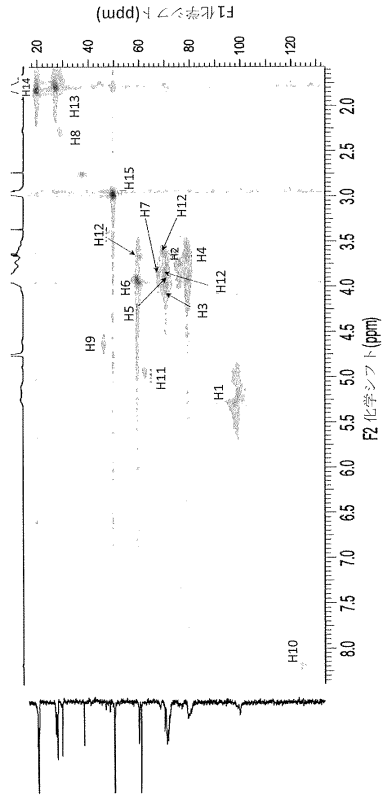
【図 1 2 M】



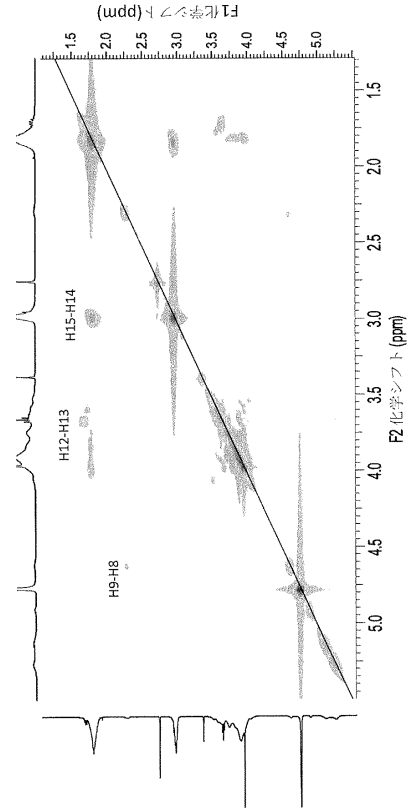
【図 1 2 N】



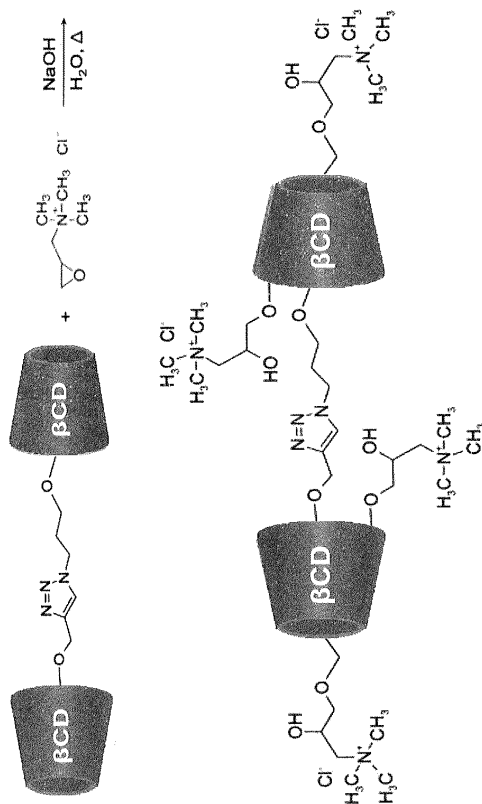
【図 1 2 O】



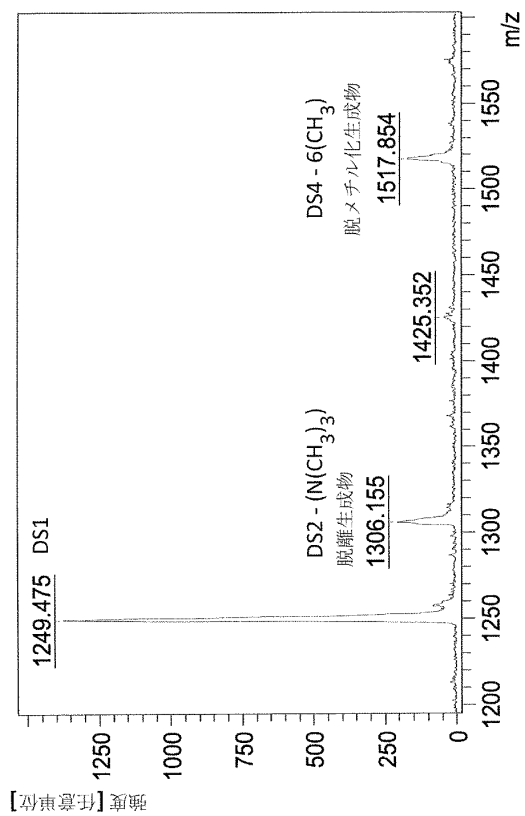
【図 1 2 P】



【図 1 3 A】



【図 1 3 B】



10

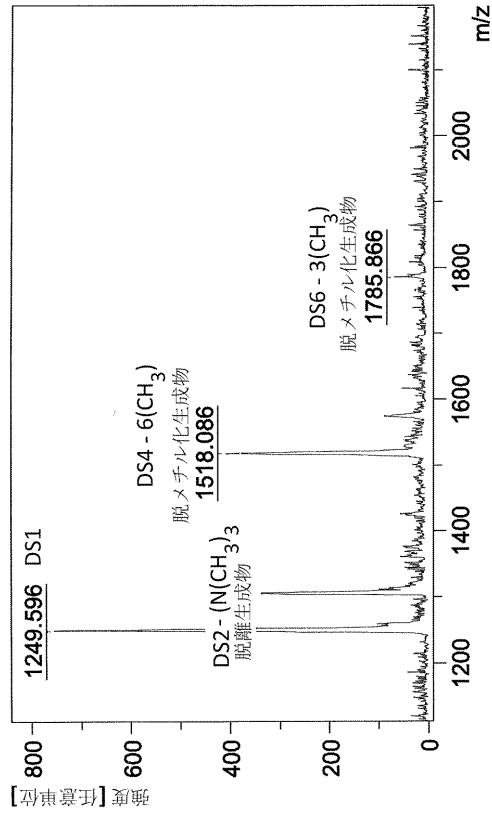
20

30

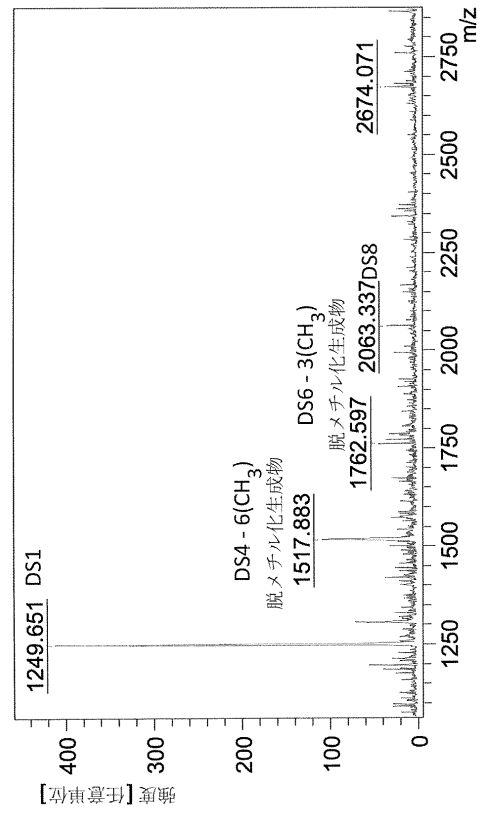
40

50

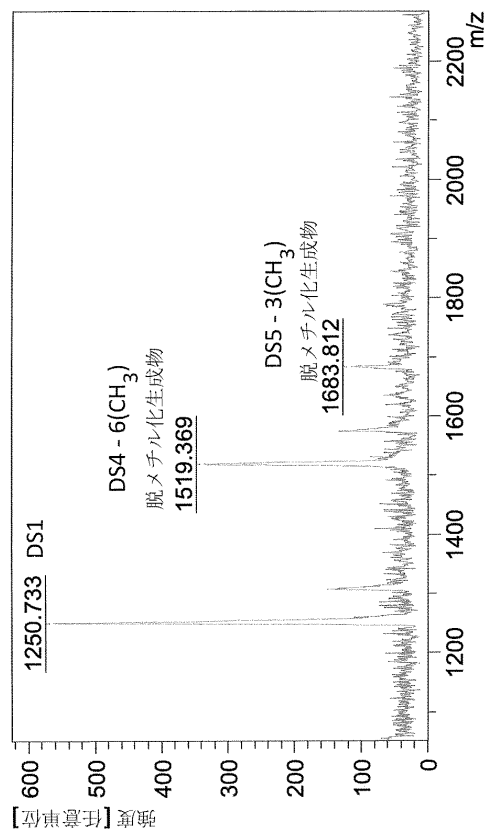
【図 1 3 C】



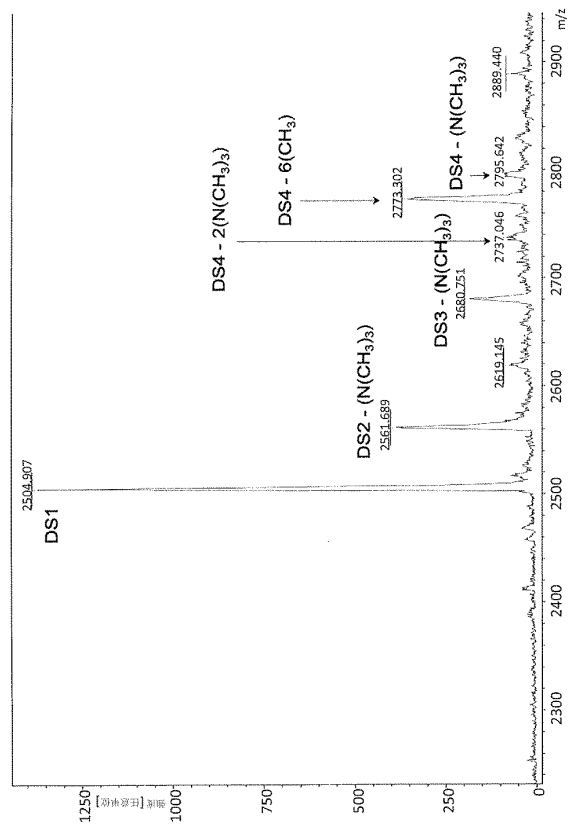
【図 1 3 D】



【図 1 3 E】



【図 1 3 F】



10

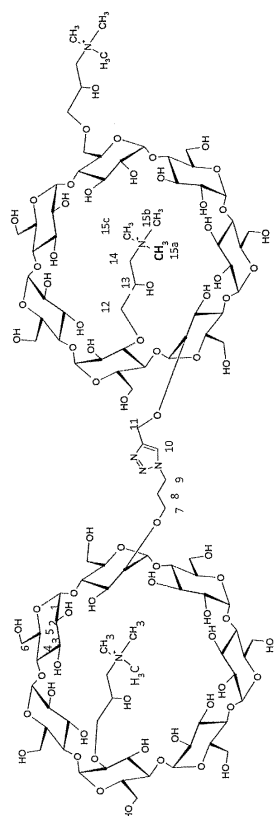
20

30

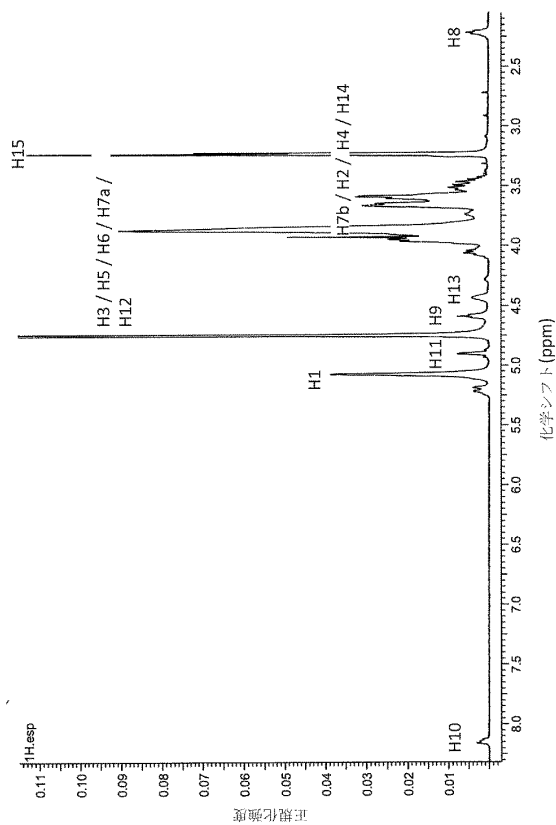
40

50

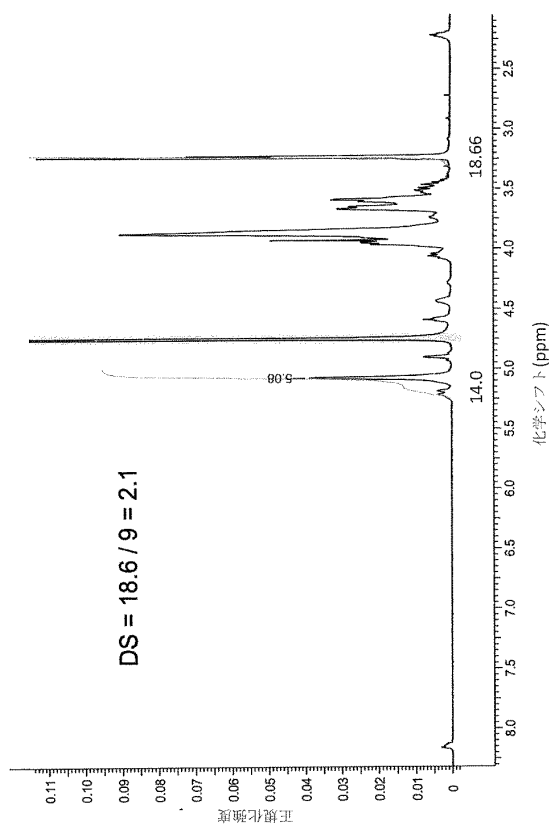
【図 1 3 G】



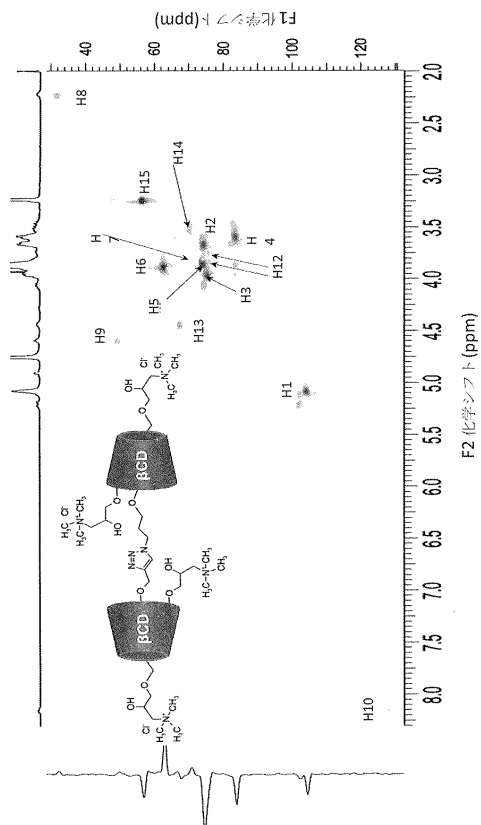
【図 1 3 H】



【図 1 3 I】



【図 1 3 J】



10

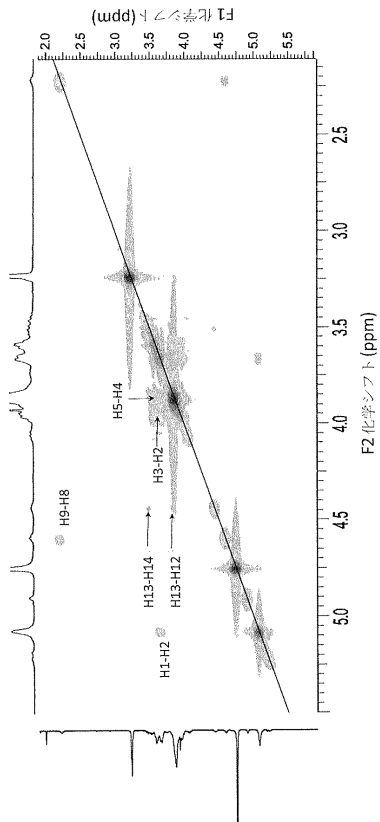
20

30

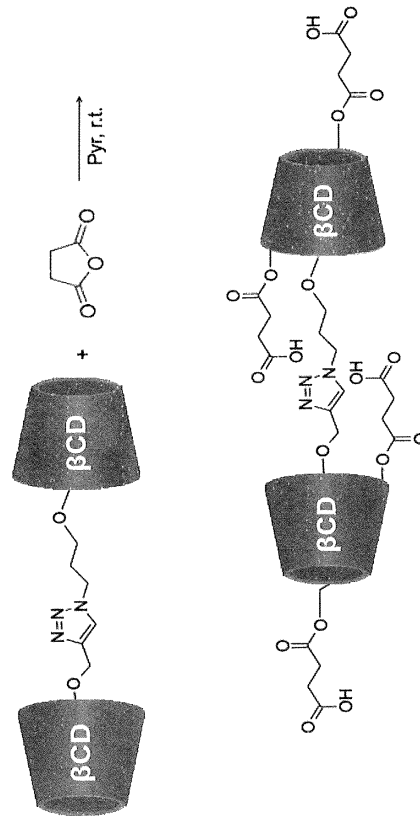
40

50

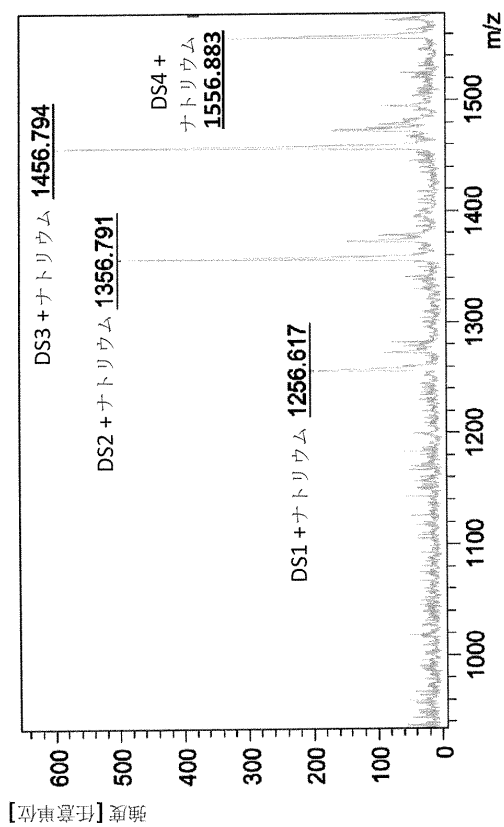
【図 1 3 K】



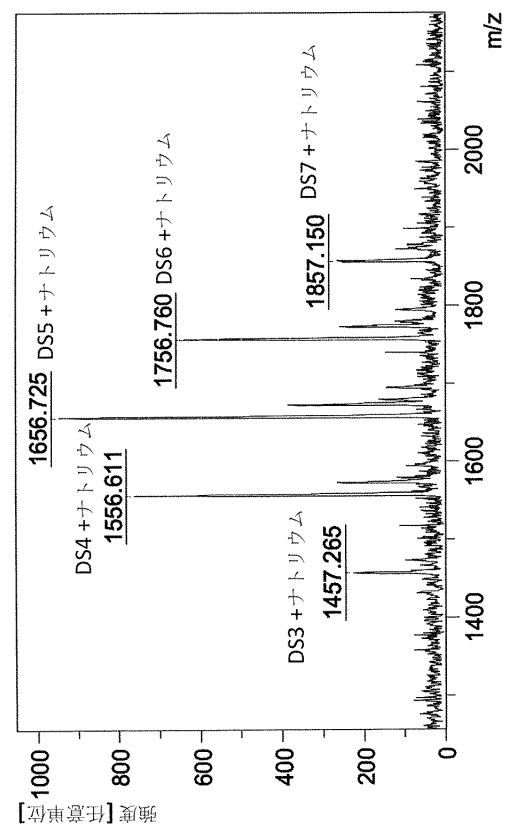
【図 1 4 A】



【図 1 4 B】



【図 1 4 C】



10

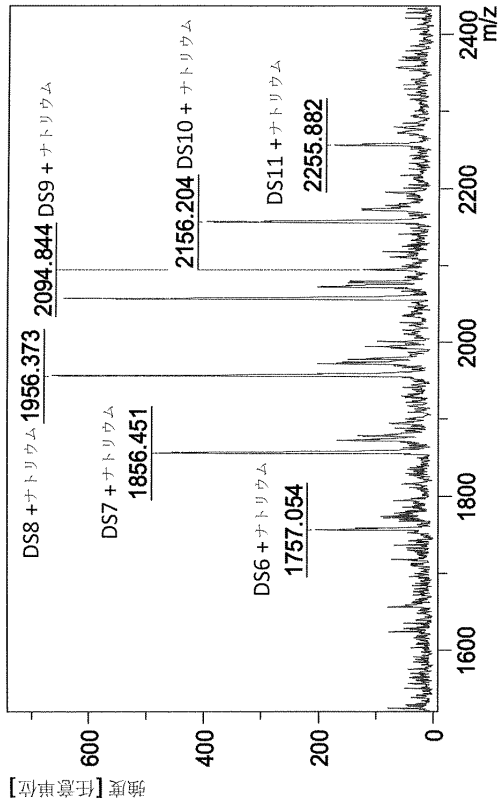
20

30

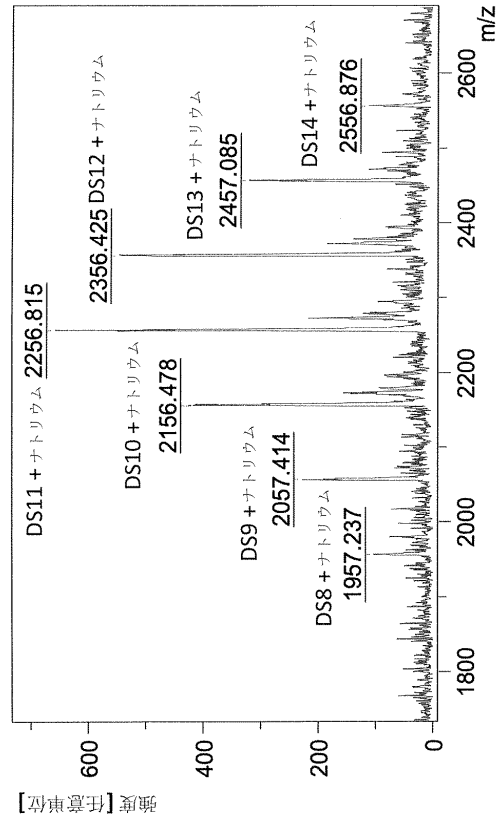
40

50

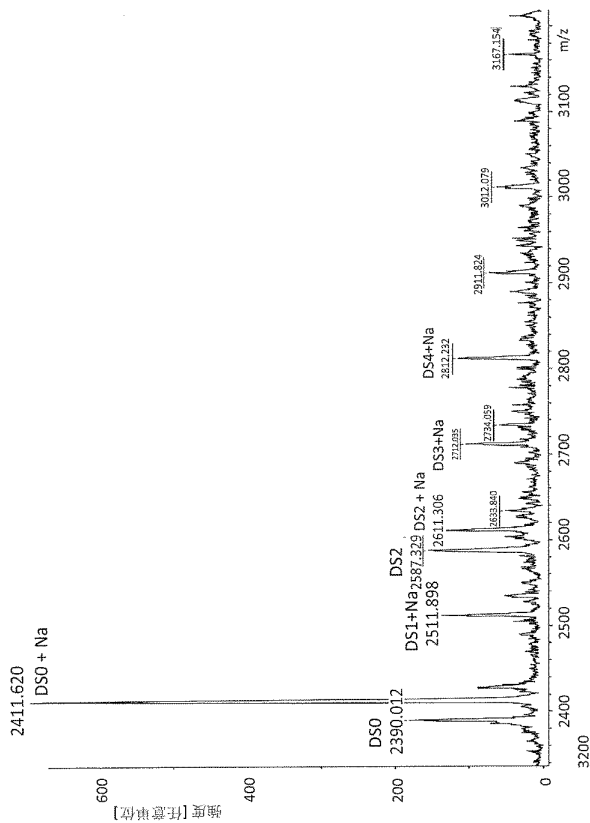
【図 1 4 D】



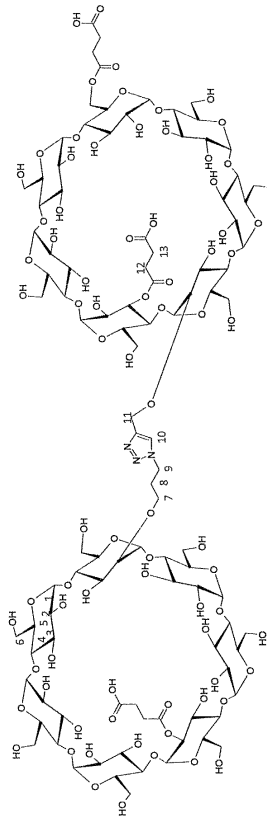
【図 1 4 E】



【図 1 4 F】



【図 1 4 G】



10

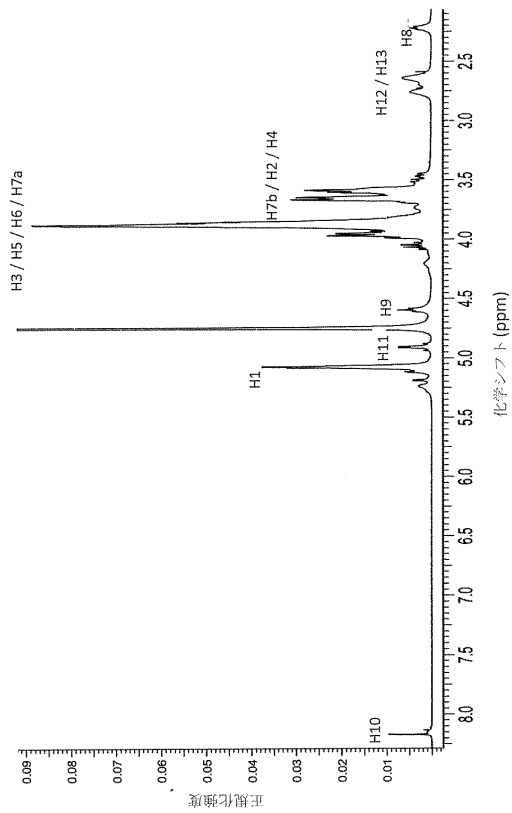
20

30

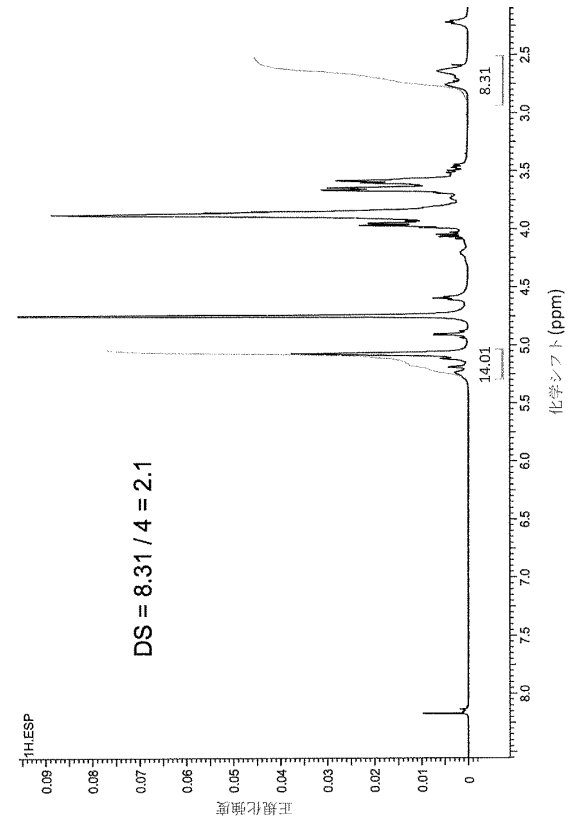
40

50

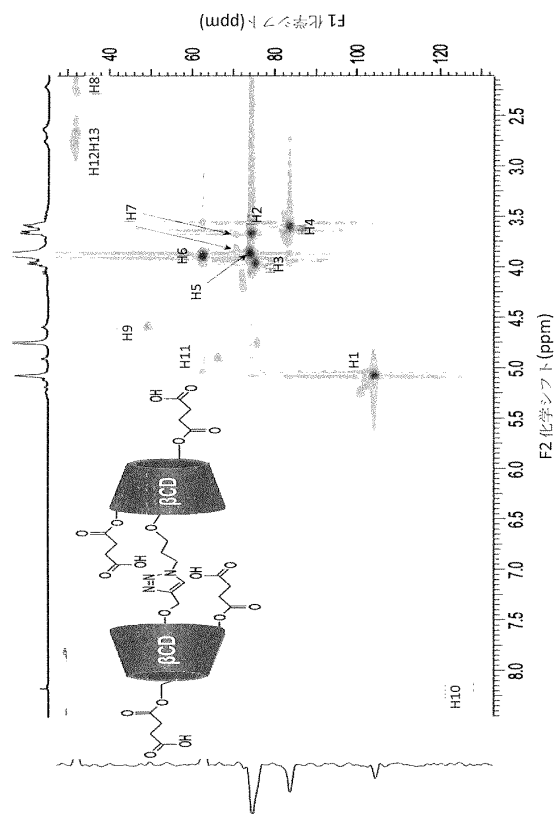
【図 1 4 H】



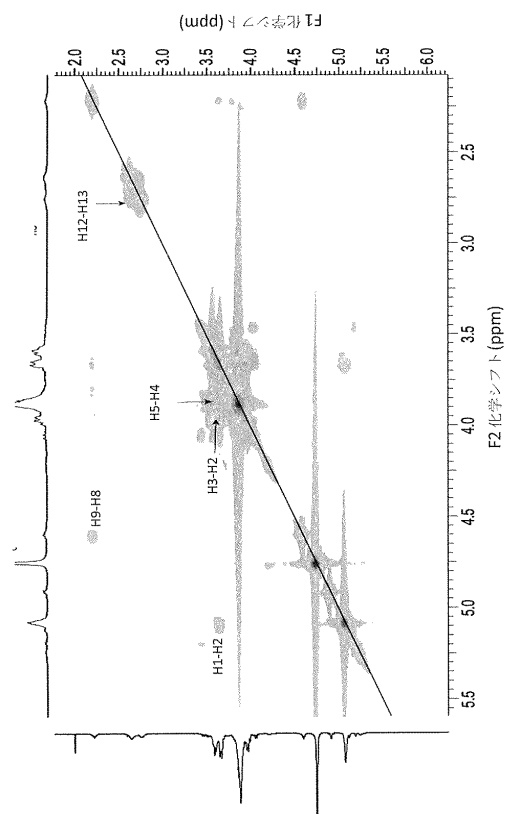
【図 1 4 I】



【図 1 4 J】



【図 1 4 K】



10

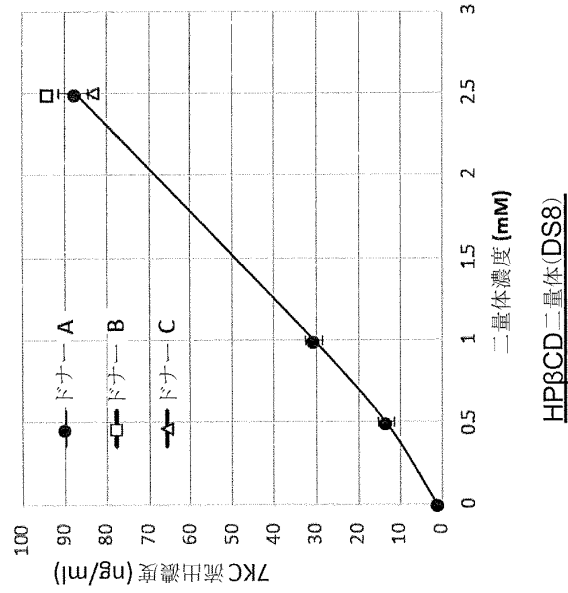
20

30

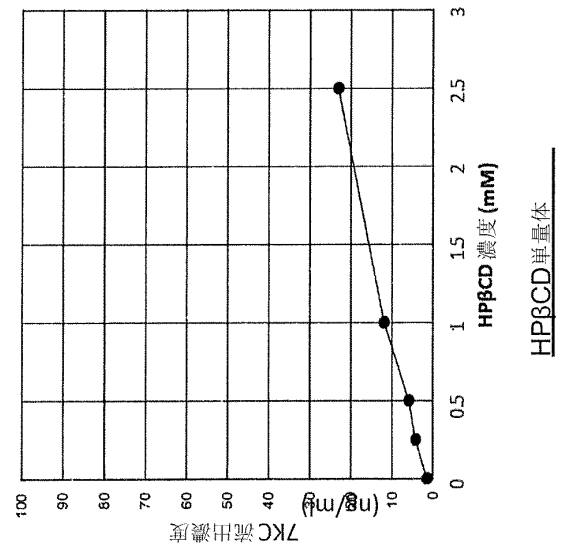
40

50

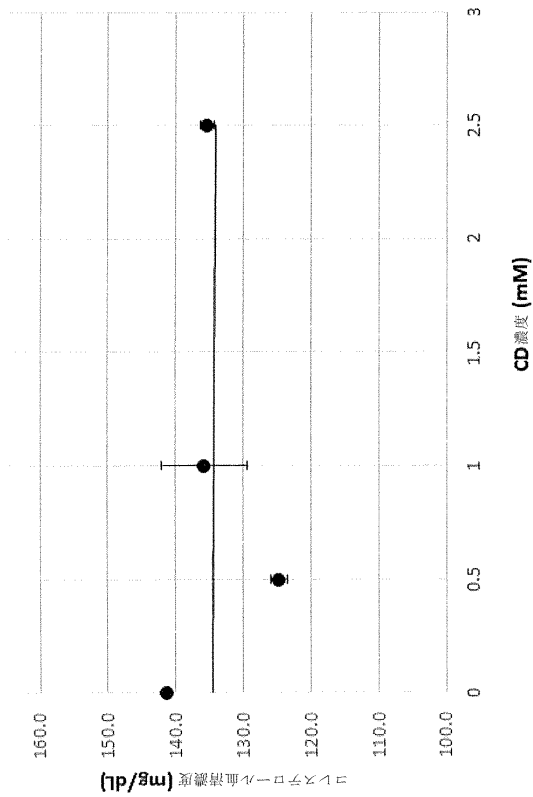
【図 1 5 A】



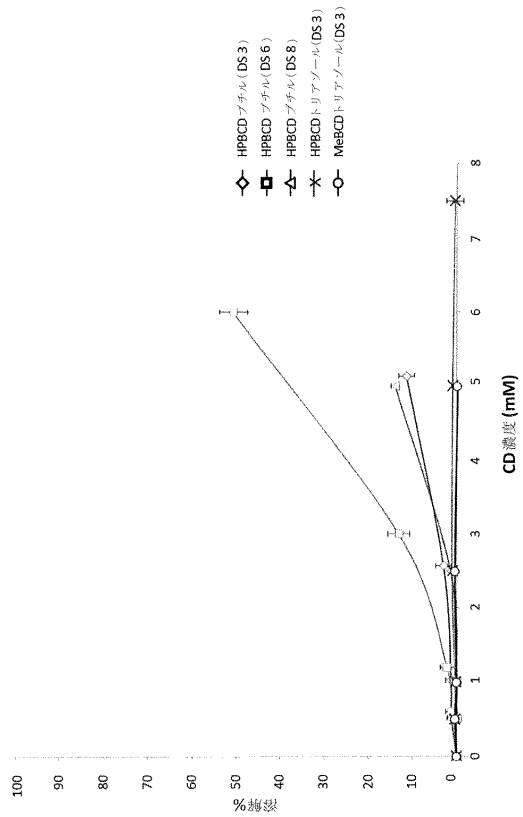
【図 1 5 B】



【図 1 5 C】



【図 1 5 D】



10

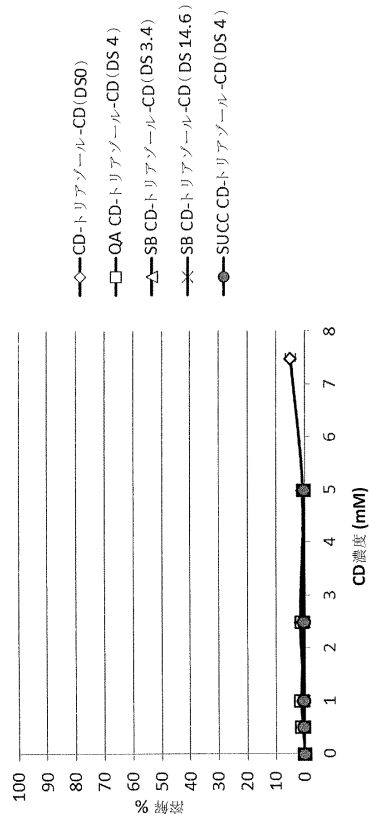
20

30

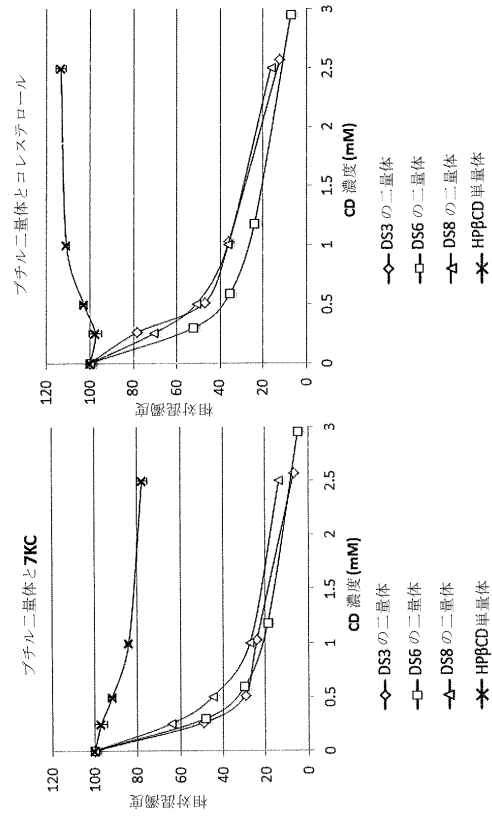
40

50

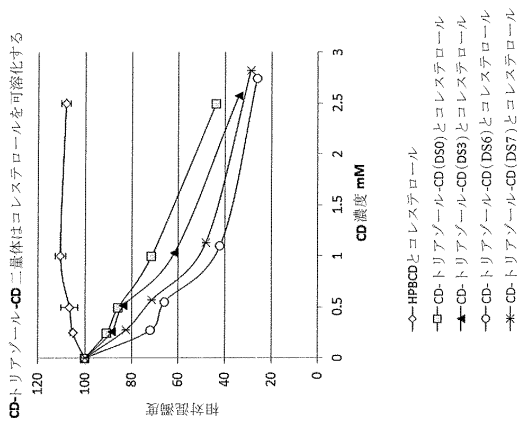
【図 1 5 E】



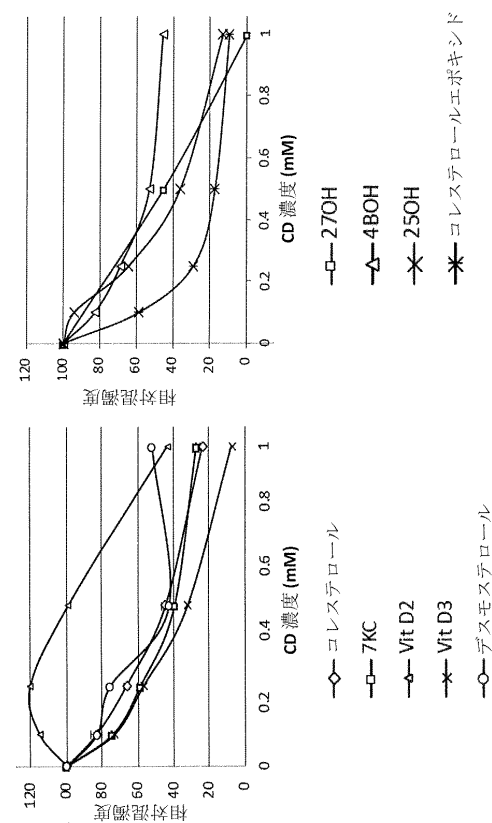
【図 1 6 A】



【図 1 6 B】



【図 1 6 C】



10

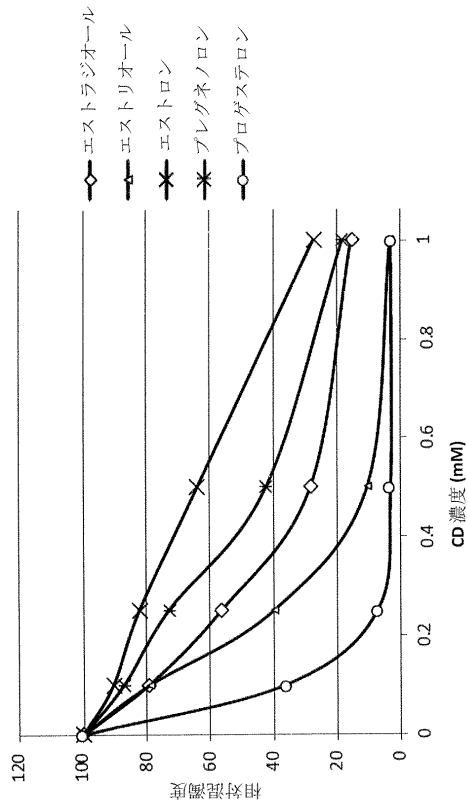
20

30

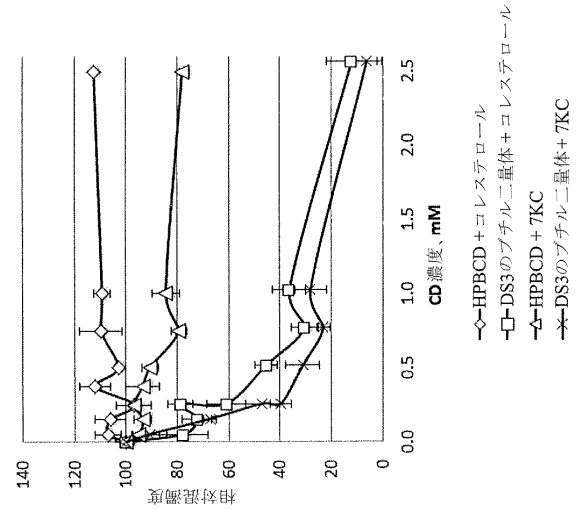
40

50

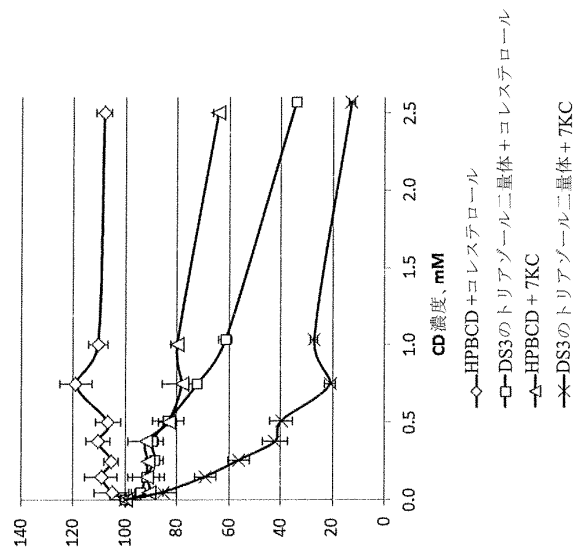
【図 1 6 D】



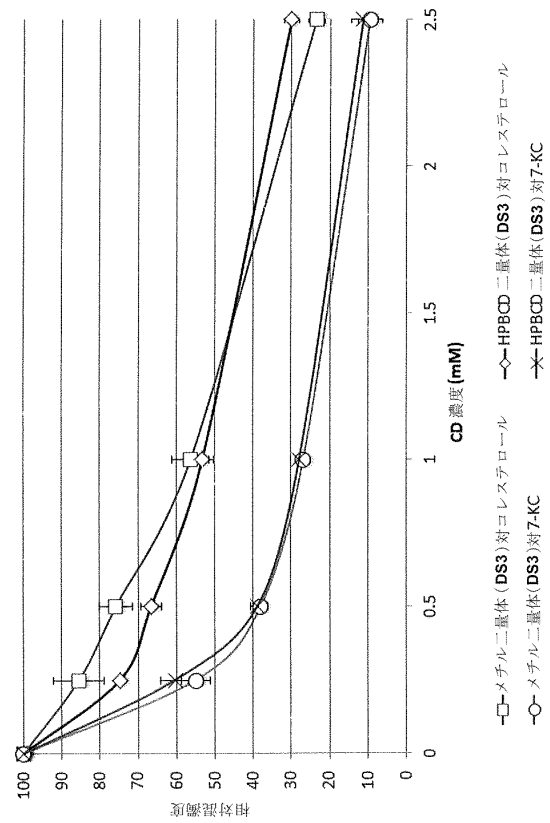
【図 1 6 E】



【図 1 6 F】



【図 1 6 G】



10

20

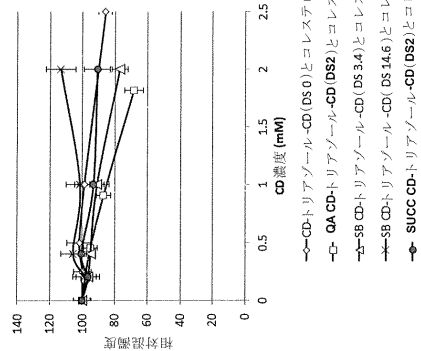
30

40

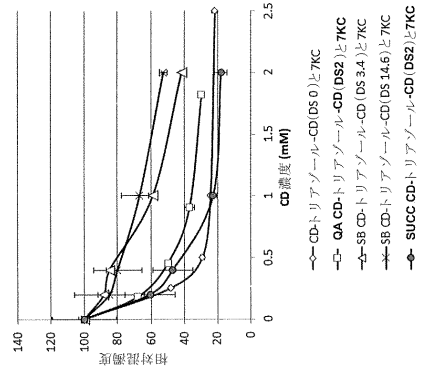
50

【図 16 H】

CD-トリアゾール-CD 二量体はコレステロールを可溶化する



CD-トリアゾール-CD 二量体は7KCを可溶化する



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 P	25/16 (2006.01)	A 6 1 P	25/16
A 6 1 P	25/14 (2006.01)	A 6 1 P	25/14
A 6 1 P	21/02 (2006.01)	A 6 1 P	21/02
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/00
A 6 1 P	7/04 (2006.01)	A 6 1 P	7/04
A 6 1 P	13/12 (2006.01)	A 6 1 P	13/12
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/00
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P	1/04
A 6 1 P	1/16 (2006.01)	A 6 1 P	1/16
A 6 1 P	3/06 (2006.01)	A 6 1 P	3/06
A 6 1 P	3/00 (2006.01)	A 6 1 P	3/00
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00
A 6 1 K	31/351 (2006.01)	A 6 1 K	31/351
A 6 1 K	31/4045 (2006.01)	A 6 1 K	31/4045
A 6 1 K	31/4422 (2006.01)	A 6 1 K	31/4422
A 6 1 K	31/40 (2006.01)	A 6 1 K	31/40
C 0 7 J	9/00 (2006.01)	C 0 7 J	9/00
A 2 3 L	33/125 (2016.01)	A 2 3 L	33/125

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

アメリカ合衆国 9 4 0 4 1 カリフォルニア州マウンテン・ビュー、パイオニア・ウェイ 1 1 0、スウィート・ジェイ

(72)発明者 マランガ, ミロ

アメリカ合衆国 9 4 0 4 1 カリフォルニア州マウンテン・ビュー、パイオニア・ウェイ 1 1 0、スウィート・ジェイ

(72)発明者 コープ, マイケル

アメリカ合衆国 9 4 0 4 1 カリフォルニア州マウンテン・ビュー、パイオニア・ウェイ 1 1 0、スウィート・ジェイ

(72)発明者 トム, クリスティーナ エイ ティ エム ビー

アメリカ合衆国 9 4 0 4 1 カリフォルニア州マウンテン・ビュー、パイオニア・ウェイ 1 1 0、スウィート・ジェイ

(72)発明者 アンダーソン, アメリア エム

アメリカ合衆国 9 4 0 4 1 カリフォルニア州マウンテン・ビュー、パイオニア・ウェイ 1 1 0、スウィート・ジェイ

審査官 増永 淳司

(56)参考文献 特開 2 0 1 3 - 2 3 1 1 1 1 (J P, A)

特開 2 0 0 6 - 0 0 2 0 7 7 (J P, A)

Q. Mao et al., Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 93, 2019年, pp.67-76, doi:10.1007/s10847-018-0839-4

J. Potier et al., European Journal of Organic Chemistry, 2014年, pp.1547-1556, doi:10.1002/ejoc.201301681

A. Aime et al., Organic & Biomolecular Chemistry, 2009年, 7, pp.307-379, doi:10.1039/b812172a

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

C 0 8 B 3 7 / 1 6

A 6 1 K 3 1 / 7 2 4

A 6 1 P 9 / 1 0

A 6 1 P 9 / 0 4

A 6 1 P 2 5 / 2 8

A 6 1 P 2 5 / 1 6

A 6 1 P 2 5 / 1 4

A 6 1 P 2 1 / 0 2
A 6 1 P 2 5 / 0 0
A 6 1 P 7 / 0 4
A 6 1 P 1 3 / 1 2
A 6 1 P 1 1 / 0 0
A 6 1 P 1 / 0 4
A 6 1 P 1 / 1 6
A 6 1 P 3 / 0 6
A 6 1 P 3 / 0 0
A 6 1 K 4 5 / 0 0
A 6 1 K 3 1 / 3 5 1
A 6 1 K 3 1 / 4 0 4 5
A 6 1 K 3 1 / 4 4 2 2
A 6 1 K 3 1 / 4 0
C 0 7 J 9 / 0 0
A 2 3 L 3 3 / 1 2 5
C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)