

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7686581号
(P7686581)

(45)発行日 令和7年6月2日(2025.6.2)

(24)登録日 令和7年5月23日(2025.5.23)

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 K	31/5415(2006.01)	A 6 1 K	31/5415
A 6 1 K	9/20 (2006.01)	A 6 1 K	9/20
A 6 1 K	9/48 (2006.01)	A 6 1 K	9/48
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28
C 0 7 D	279/20 (2006.01)	C 0 7 D	279/20

請求項の数 17 (全29頁)

(21)出願番号	特願2021-577642(P2021-577642)	(73)特許権者	507092676 ウイスタ ラボラトリーズ リミテッド シンガポール共和国 6 5 8 0 6 6 シン ガポール, ジ エリティスト ナンバー 0 6 - 1 3, プキ バトク クレセント 2 5
(86)(22)出願日	令和2年6月29日(2020.6.29)	(74)代理人	100079108 弁理士 稲葉 良幸
(65)公表番号	特表2022-539185(P2022-539185 A)	(74)代理人	100109346 弁理士 大貫 敏史
(43)公表日	令和4年9月7日(2022.9.7)	(74)代理人	100117189 弁理士 江口 昭彦
(86)国際出願番号	PCT/EP2020/068229	(74)代理人	100134120 弁理士 内藤 和彦
(87)国際公開番号	WO2021/001306	(72)発明者	ハリントン, チャールズ ロバート イギリス国 アバディーン アバディーン 最終頁に続く
(87)国際公開日	令和3年1月7日(2021.1.7)		
審査請求日	令和5年6月29日(2023.6.29)		
(31)優先権主張番号	1909454.9		
(32)優先日	令和1年7月1日(2019.7.1)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	英国(GB)		

(54)【発明の名称】 認知機能の向上薬としてのメチルチオニウム

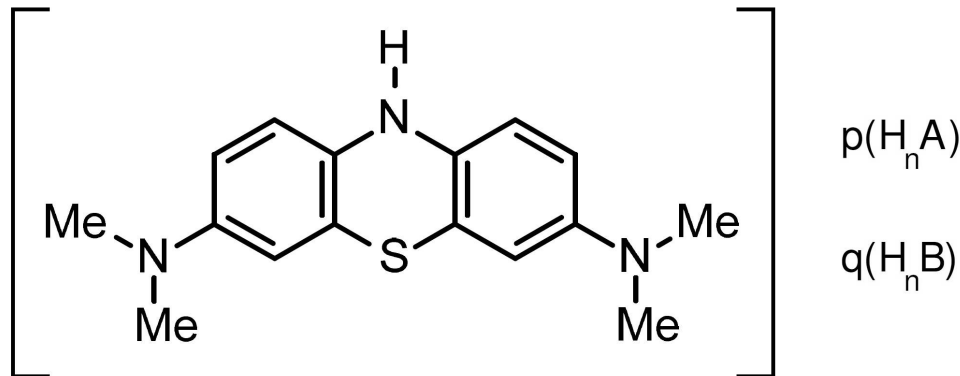
(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

健康な対象における認知機能の非治療的な刺激の方法のためのメチルチオニウム(MT)含有化合物を含む向知性組成物であって、前記方法は、前記対象への1日当たり2~100mgのMTを経口的に投与することを含み、

前記MT含有化合物は、下記の式のLMTX化合物

【化1】



(式中、 H_nA 及び H_nB のそれぞれ(存在する場合)は、同一又は異なってもよいプロトン酸であり、

$p = 1$ 又は 2 であり； $q = 0$ 又は 1 であり； $n = 1$ 又は 2 であり； $(p + q) \times n = 2$ である)

又はその水和物若しくは溶媒和物であり、

前記LMTX化合物が、前記対象におけるベースのコリンレベル及びシナプトフィジンを刺激する、向知性組成物。

【請求項2】

認知機能の刺激が、前記対象における覚醒、注意、論理的思考、集中、学習、又は言語処理を刺激する、請求項1に記載の向知性組成物。

10

【請求項3】

前記対象が、30の簡易精神状態検査スコアを有する、請求項1又は2に記載の向知性組成物。

【請求項4】

前記対象が、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤若しくはN-メチル-D-アスパルテート受容体アンタゴニストによる処置を従前に受けてこなかったか又は前記LMTX化合物の投与の前にこのような処置を中断している、請求項1～3のいずれか一項に記載の向知性組成物。

【請求項5】

MTの総1日用量が、
 (i) 10～60mgであるか、
 (ii) 20～60mgであるか、
 (iii) 10～40mgであるか、
 (iv) 20～40mgであるか、
 (v) 2、2.5、3、3.5、又は4mgのいずれかから5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、50又は60mgのいずれかである、請求項1～4のいずれか一項に記載の向知性組成物。

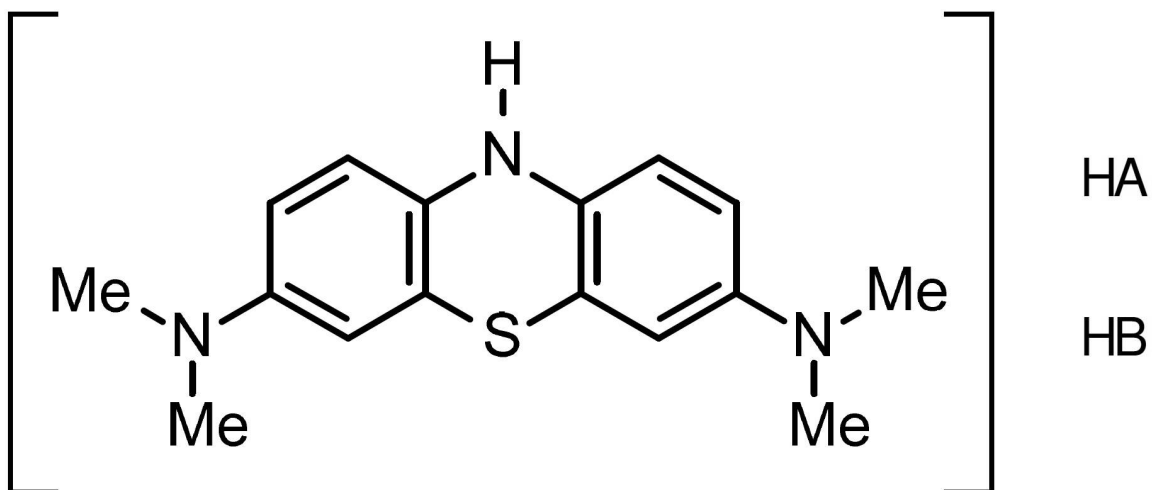
20

【請求項6】

前記LMTX化合物が、下記の式

30

【化2】



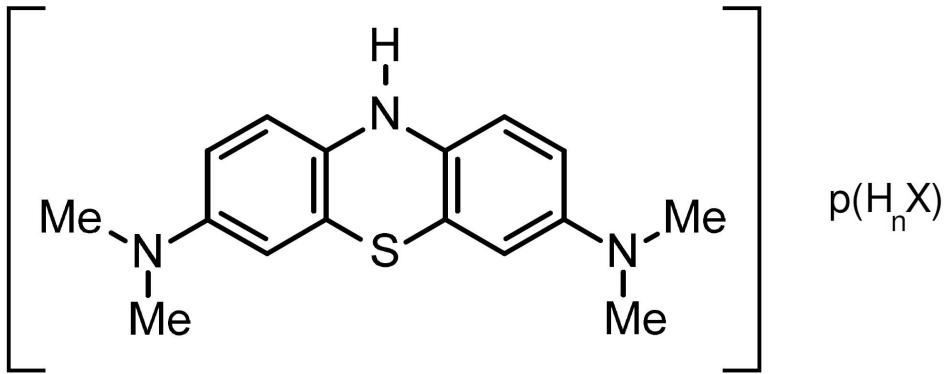
40

を有し、式中、HA及びHBは、異なるモノプロトン酸である、請求項1～5のいずれか一項に記載の向知性組成物。

【請求項7】

50

前記 L M T X 化合物が、下記の式
【化 3】

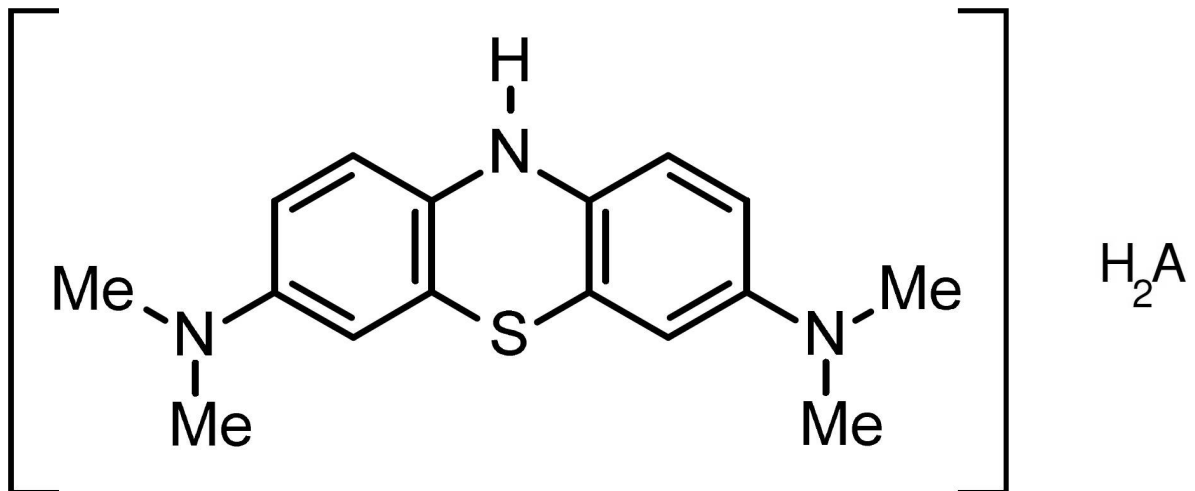


10

を有し、式中、 $H_n X$ のそれぞれは、プロトン酸である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の向知性組成物。

【請求項 8】

前記 L M T X 化合物が、下記の式
【化 4】



20

30

を有し、 $H_2 A$ が、ジプロトン酸である、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の向知性組成物。

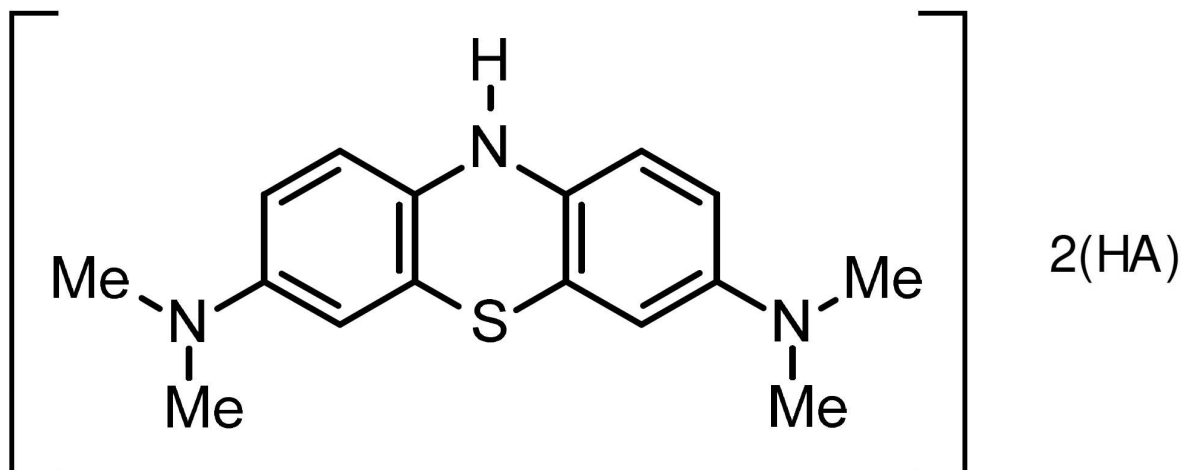
【請求項 9】

前記 L M T X 化合物が、下記の式

40

50

【化5】



10

を有し、ビス - モノプロトン酸塩である、請求項 7 に記載の向知性組成物。

【請求項 10】

前記又は各プロトン酸が、無機酸である、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の向知性組成物。

【請求項 11】

20

前記又は各プロトン酸が、 HCl ; HBr ; HNO_3 ; H_2SO_4 から選択される、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の向知性組成物。

【請求項 12】

前記又は各プロトン酸が、有機酸である、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の向知性組成物。

【請求項 13】

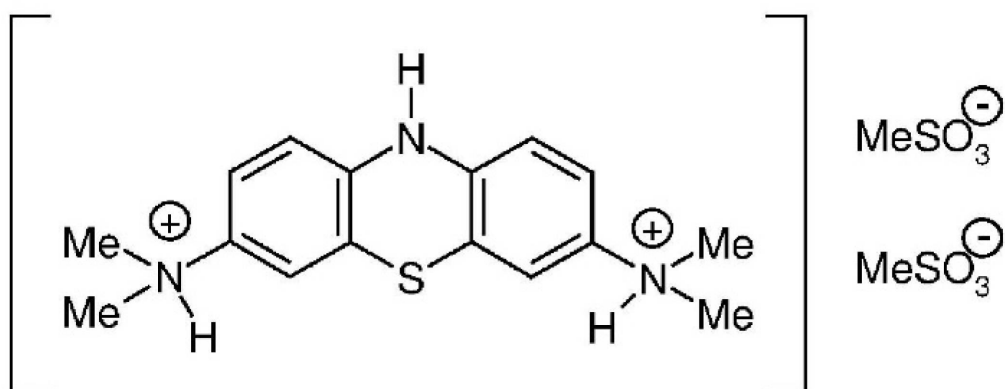
前記又は各プロトン酸が、 H_2CO_3 ; CH_3COOH ; メタンカルボン酸、1,2-エタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ナフタレンジスルホン酸、p-トルエンスルホン酸から選択される、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の向知性組成物。

【請求項 14】

30

前記 LMTX 化合物が、LMTM :

【化6】



40

である、請求項 11 に記載の向知性組成物。

【請求項 15】

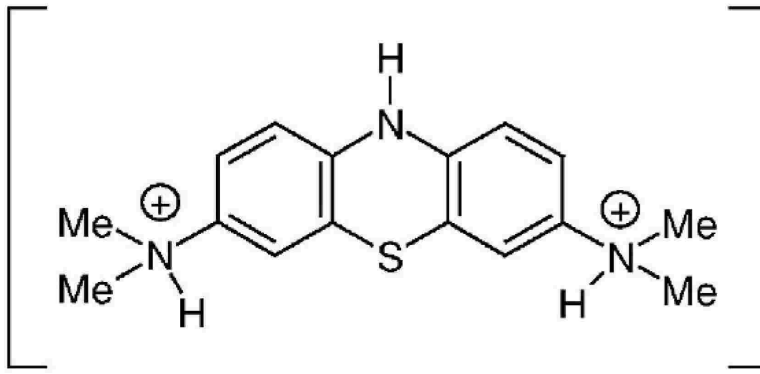
LMTM の総 1 日用量が、3.4 ~ 100 mg / 日である、請求項 14 に記載の向知性組成物。

【請求項 16】

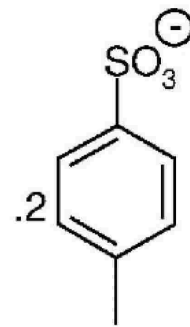
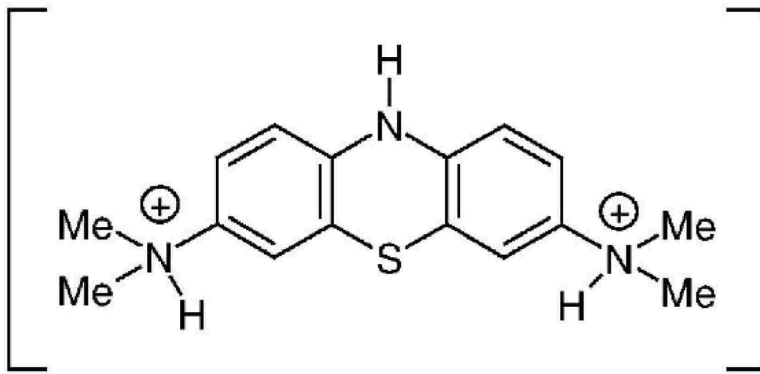
前記 LMTX 化合物が、

50

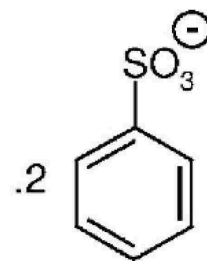
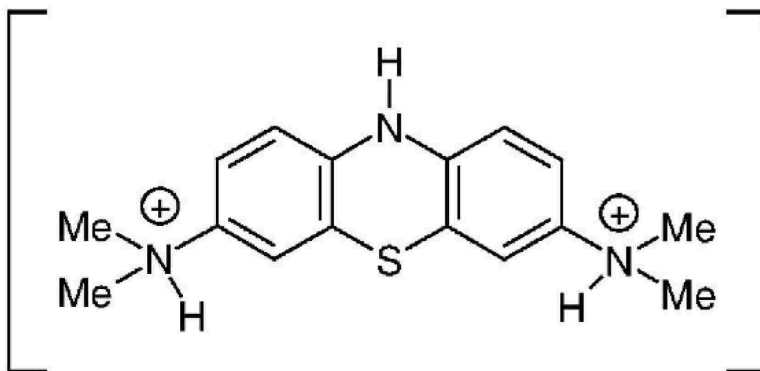
【化7】



10



20

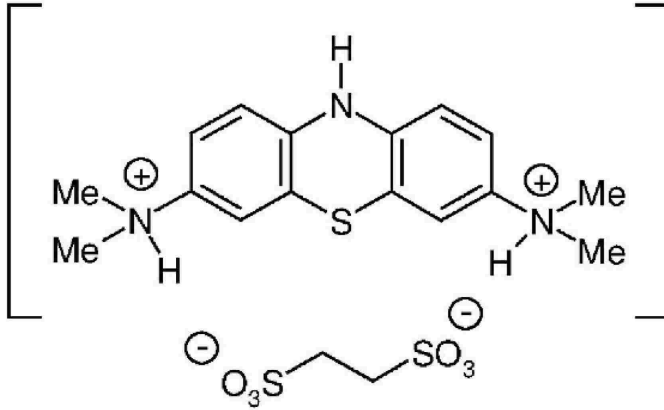


30

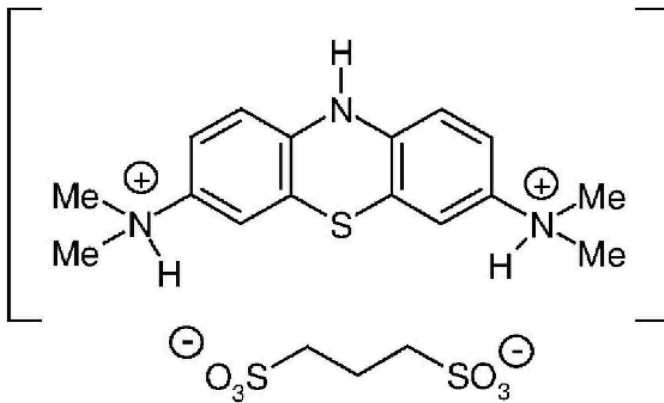
40

50

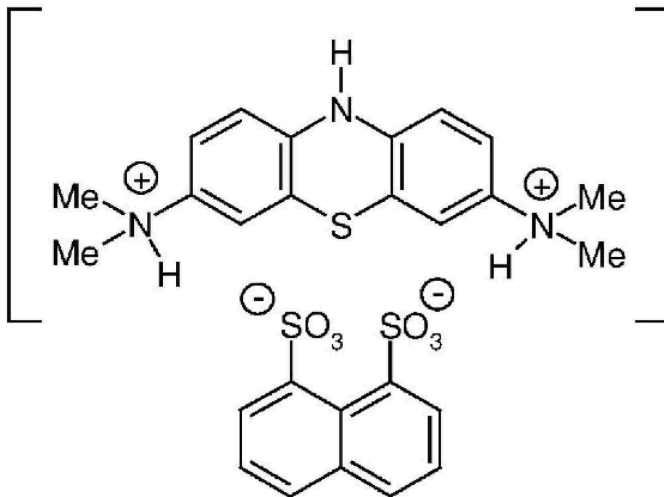
【化 8】



10



20



30

40

からなるリストから選択される、請求項 1_2 に記載の向知性組成物。

【請求項 1 7】

前記向知性組成物が、前記 L M T X 化合物並びに

(i) 薬学的に許容される担体若しくは賦形剤、及び / 又は

(i i) さらなる向知性剤を含む、請求項 1 ~ 1_6 のいずれか一項に記載の向知性組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

技術分野

50

本発明は全般的に、向知性組成物 (nootropic compositions)、及び正常な個人における認知向上のためのその使用に関する。

【背景技術】

【0002】

背景技術

仕事又は学習において、正常で健康な（障害されていない）個人の能力を増加させるための精神活性物質の使用は、近年に至ってますます興味の対象となってきた（Maier et al. 2018）。このような物質は、薬理的認知向上薬（PCE）、向知性薬、又はスマートドラッグと称されることがある。

【0003】

このような物質は、よりよい成績を追い求めている学生、長い任務のために覚醒したままである必要がある軍人、及び認知能力を向上させることに一般に熱心である個人によって使用が求められている場合がある。

【0004】

この目的のために使用される薬物の例は、メチルフェニデート及びモダフィニルを含む。健康な個人における認知向上の目的のために一般に使用される他の薬物は、カフェイン、ニコチン、アンフェタミン、及びアセチルコリン分解又はNMDA受容体活性をモジュレートする薬剤を含む。種々の伝統的なハーブ、ビタミン及びサプリメントがまた示唆されてきた。これらの薬剤は、種々の機序を介して機能し、種々の異なる方法で認知に影響を与える（Husain and Mehta, 2011）。

【0005】

新規な向知性組成物を提供することにおける高いレベルの興味によって、それらに対する広範な特許文献が存在する。例えば、国際公開第2014/037412号は、対象における記憶及び精神機能、例えば、覚醒、注意、論理的思考、集中、学習、又は言語処理を増進するのに有用な、シナカルセット、バクロフェン、アカンプロサート、メキシレチン、スルフィソキサゾール、及びトラセミドから選択される少なくとも2つの薬物を含む組成物に関する。

【0006】

しかしながら、健康な対象における認知を増進させる新規なPCE又は向知性物質を特性決定することは、当技術分野への貢献を実現すると見ることができる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

発明の開示

ロイコメチルチオニウム酸性塩（本明細書において、「LMTX」塩と称される）は、正常な（野生型）動物において治療的に関連性のある用量で神経機能を活性化することができることを本発明者らは予想外に見出した。これは、海馬におけるベースのアセチルコリン（「ACh」）レベルの増加によって、及びさらに様々な脳領域における増加した平均シナプトフィジンレベルの根拠によって証明される。

【課題を解決するための手段】

【0008】

AChは、認知機能のために重要であることは公知である。同様に、シナプトフィジンの増加は、認知機能及び他の精神機能を支援するのに必要とされる神経伝達物質の放出を増進し得る。

【0009】

本知見は、健康な障害されてない対象群において向知性薬として使用するための、治療的に関連性のある用量でのLMTX塩についての新規な有用性を示す。

【0010】

ビス（ヒドロメタンスルホネート）（LMTM；USAN名、ヒドロメチルチオニンメシレート）は、ADにおけるタウタンパク質の病的凝集を標的とする処置として開発され

10

20

30

40

50

ている (Wischnik et al., 2018)。メチルチオニウム (MT) 部分は、酸化型 (MT⁺) 及び還元型 (LMT) 形態で存在することができる。LMTM は、酸化型 MT⁺ 形態より非常により良好な医薬特性を有する LMT の安定化した塩である (Baddeley et al., 2015; Harrington et al., 2015)。MT⁺ よりむしろ LMT が *in vitro* でタウ凝集を遮断する活性種であることを本発明者らは最近報告した (Al-Hilaly et al., 2018)。LMT は、無細胞アッセイ及び細胞ベースアッセイにおいてタウ凝集を *in vitro* で遮断し (Harrington et al., 2015; Al-Hilaly et al., 2018)、タウトランスジェニックマウスモデルにおいて *in vivo* で臨床的に関連性のある用量でタウ凝集病態及び関連する行動障害を低減させる (Melis et al., 2015a)。LMT はまた、AD 脳組織から単離した対らせん状細線維 (PHF) のタウタンパク質を脱凝集させ、タウをプロテアーゼに対して影響されやすい形態へと変換する (Wischnik et al., 1996; Harrington et al., 2015)。

10

【0011】

経口的に与えられた LMTM は、*in vitro* 及び *in vivo* での活性のために十分である脳レベルを生じさせるが (Baddeley et al., 2015)、これは 2 つの大きな第 3 相臨床試験において患者が従前に受けた対症処置のアドオン (add-on) 処置として摂取された場合、最小の明らかな有効性を有した (Gauthier et al., 2016; Wilcock et al., 2018)。しかし、単独療法として LMTM を受けている対象において、処置は、認知低下及び機能的低下の著しい緩徐化、MRI によって測定した脳萎縮の進行の速度の低減、並びに FDG - PET によって測定したグルコース取込みの減少における低減を生じさせた (Gauthier et al., 2016; Wilcock et al., 2018)。試験に参加した対象から入手可能である集団薬物動態学的データと組み合わせてこれらの結果を分析したとき、LMTM は、単独で摂取しようと、又は対症処置例えば、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤と組み合わせて摂取しようと、濃度依存的効果を生じさせたことが見出された。しかし、単独療法対象における処置効果は、AD のために承認された対症療法薬 (アセチルコリンエステラーゼ阻害剤及び/又はメマンチン) による従前の慢性処置の後に、LMTM を摂取しているものにおけるよりも実質的に大きかった。

20

【0012】

LMTM 及び他のロイコメチルチオニウムビス - プロトン酸塩は、いくつかの公開資料、例えば、国際公開第 2007/110627 号、国際公開第 2009/044127 号、国際公開第 2012/107706 号、国際公開第 2018019823 号及び国際公開第 2018041739 号において、様々な疾患及び病理の処置のために示唆されてきた。

30

【0013】

しかし、本発明者らの知見は、タウ病態、又は他の疾患若しくは機能低下を示さない野生型動物において行われてきた。

【0014】

国際公開第 2008/155533 号は、軽度認知障害 (MCI) の処置における様々なジアミノフェノチアジンの使用について教示している。MCI は、有効な疾患標的であるという状況において FDA によって議論されている。これは、僅かな程度の認知障害を有するが、認知症の診断についての臨床的判定基準にまだ合致しないことと定義される。したがって、患者は、正常でも認知症になってもいない。国際公開第 2008/155533 号において取り上げられた 1 つの患者群は、24 ~ 29 の簡易精神状態検査 (MMSE) スコアを有するものである。

40

【0015】

MT⁺ 塩であるメチレンブルー (MB、塩化メチルチオニウム又は MTC) は、補助因子として NADH を使用して複合体 I によって触媒される酸化還元サイクリングを受け、それによって、メチレンブルーは電子を受け入れ、電子はそれに続いて複合体 I V へと移動することが報告される。このように、メチレンブルーはミトコンドリアによって促進される障害を予防又は遅延させると示唆されてきた (Atamna et al., 2012)。

50

【 0 0 1 6 】

いくつかの公開資料は、典型的には機能低下モデルであるそれらの文書において記載されているような様々な状況において、記憶を向上させるためにMBを使用し得ることが示唆されてきた。これらは、Martinez et al (1978) ; Callaway et al. (2002) ; Gonzalez-Lima and Bruchey. (2004) ; Callaway et al. (2004) ; Riha et al. (2005) ; 及びWrubel et al. (2007)を含む。

【 0 0 1 7 】

当技術分野から引き出すことができる意味あいは、国際公開第2008/155533号において広範に考察されている。

【 0 0 1 8 】

しかし、これらの公開資料は、特許請求した文脈における本明細書に記載されている化合物の使用を教示又は示唆しない。

【 0 0 1 9 】

さらなるより最近の公開資料はまた、MBを使用して、学習を増進し得ることを示唆している (Zoellner, et al., 2017)。

【 0 0 2 0 】

その研究において、処置の間及び処置の直後に、明らかに、プラセボを超えるMBの利点は存在しなかったが、能力が処置の数カ月後に改善したことが示唆された。これに関わりなく、その論文において使用されたモデルは、心的外傷後ストレス障害 (PTSD) の1つであった。

【 0 0 2 1 】

したがって、この公開資料はまた、特許請求した文脈における本明細書に記載されている化合物の使用を教示又は示唆していない。

【 0 0 2 2 】

健康な対象において向知性薬として作用する薬物について、それはその有益な作用が、疾病又はその疾病と関連する生化学的若しくは生理学的標的の非存在下で起こることを可能とする機序を有さなくてはならない。

【 0 0 2 3 】

本研究は、上記で考察した従前の対症処置へのアドオンとしてのLMTMの低減した有効性に関与する機序を理解する目的を伴って行った。これらの研究において、良好に特性決定されたタウトランスジェニックマウスモデル (ライン1、「L1」 ; (Melis et al., 2015b)) を、野生型マウスと比較した。

【 0 0 2 4 】

これらの研究からの1つの結論は、恒常性機序が脳機能の異なるレベルにおいて複数の神経系を下方制御し、従前の対症処置によって誘発される慢性の薬理的活性化を補うことである。LMTMがアセチルコリンエステラーゼ阻害剤への従前の慢性曝露のバックグラウンドに対して与えられた場合、単独で与えられたLMTMと比較して、この下方制御の効果は、神経伝達物質放出、シナプスタンパク質のレベル、ミトコンドリア機能及び行動上の利点を低減させることである。LMTMの行動上の利点はまた、メマンチンによる従前の慢性処置によって低減する。

【 0 0 2 5 】

予想外に、しかし、これらの研究はまた、LMTX塩が、障害されていないマウスにおいてさえ神経機能を活性化することができることを明らかにした。下記で説明するように、ベースのアセチルコリンレベル及びシナプトフィジン放出に対するこれらの活性化効果は、増進されたミトコンドリア機能又は低レベルのアセチルコリンエステラーゼ阻害によって媒介されるように思われたい。

【 0 0 2 6 】

これらの知見は、健康な障害されていない対象群における向知性としての非治療上の使用のための治療的に関連性のある用量でのLMTX塩についての新規な有用性を意味する。

【 0 0 2 7 】

10

20

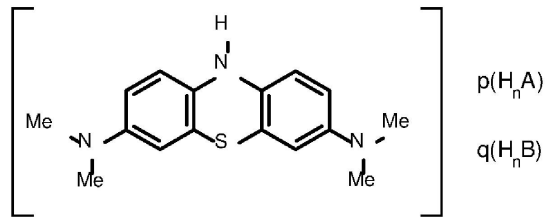
30

40

50

このように一態様では、健康なヒト対象において認知機能を刺激するためのメチルチオニウム (MT) 含有化合物の非治療上の使用を提供し、前記使用は、任意選択で2つ若しくはそれより多い用量へと分割される、対象への1日当たり2 ~ 100 mg のMTを経口的に投与することを含み、MT化合物は、下記の式のLMTX化合物

【化1】



10

(式中、H_nA及びH_nBのそれぞれ(存在する場合)は、同一又は異なってもよいプロトン酸であり、

p = 1又は2であり; q = 0又は1であり; n = 1又は2であり; (p + q) × n = 2である)である。

【0028】

20

さらなる態様において、健康な対象においてベースのアセチルコリンレベルを刺激するか、又は増加したレベルのシナプス小胞タンパク質であるシナプトフィジンを刺激するための、LMTX化合物の非治療上の使用を提供する。後者は、健康な対象においていくつかの神経伝達物質(例えば、アセチルコリン、ノルアドレナリン、ドパミン、グルタメート、セロトニン)の放出のために必要とされるより多くの又はより大きな小胞を示す。これは、本明細書に記載されている向知性の目的のためであり得る。

【0029】

本発明の別の態様は、それらの認知機能を刺激するために健康なヒト対象を処置する非治療的方法に関し、この処置は、対象に向知性として有効量の本明細書に記載のようなメチルチオニウム(MT)含有LTMX化合物を本明細書に記載のような投与量で投与することを含む。

30

【0030】

本発明の別の態様は、上記のようなそれらの認知機能を刺激するために健康なヒト対象を処置する非治療的方法における使用のための、本明細書に記載のようなメチルチオニウム(MT)含有LTMX化合物に関する。

【0031】

本発明の別の態様は、上記のような健康なヒト対象において認知機能を刺激するための向知性組成物の製造における、本明細書に記載のようなメチルチオニウム(MT)含有LTMX化合物の使用に関する。

【0032】

40

認知機能の非治療的な刺激は、健康な対象における1つ若しくは複数の記憶及び精神機能、例えば、覚醒、注意、論理的思考、集中、学習、又は言語処理を刺激(例えば、改善、増進又は増加)する目的のためであり得る。

【0033】

これは、例えば、前記対象における特定の社会職業上の負担に立ち向かう能力を支援するより特定の目的のためであってもよい。

【0034】

本発明は、正常で認知症になっていない(「健康な」)対象における非治療上の使用に適しており、正常で認知症になっていない(「健康な」)対象とは、健忘又は認知障害又は疾患の知られている臨床的徴候を有さないものを意味する。対象は、健忘又は認知の機

50

能低下又は疾患と完全に無関係の他の（身体的又は精神的）機能低下を有し得る。

【0035】

処置は、臨床的な健忘症状又は他の認知障害の軽減又は寛解のためではない。またうつ病の処置のためでもない。

【0036】

本発明に関する対象は、例えば、血管性認知症、老人性認知症、加齢関連記憶障害、アルツハイマー病、レビー小体型認知症、パーキンソン病又は軽度認知障害を患っておらず、且つこれらであると診断されてこなかったものである。このような対象は、このように、これらの疾患を患っていないと診断し得る。診断は、この状況において、The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th edition (DSM-5、American Psychiatric Association、2013)の一般に認められている判定基準によること

10

【0037】

同様に、このような対象は、PTSD、又はミトコンドリアのエネルギー代謝における欠陥を患っていない。

【0038】

このような対象は、30のMMSEを有し得る。

【0039】

対象は、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤(AChEI)又はN-メチル-D-アスパルテート受容体アンタゴニストであるメマンチンによる処置を受けていないもの、及び従前に受けてこなかったものであってもよい。アセチルコリンエステラーゼ阻害剤の例は、ドネペジル(Aricept(商標))、リバスタグミン(Exelon(商標))又はガランタミン(Reminyl(商標))を含む。NMDA受容体アンタゴニストの一例は、メマンチン(Ebixa(商標)、Namenda(商標))である。

20

【0040】

このような対象は、それにも関わらず、一時的な又はより長い期間の間の改善された又は刺激された認知能力への欲求を有し得る。

【0041】

例えば、対象群は、これらの他の処置に対して完全に未処置であり得、これらの1つ又は両方をこれまで受けてこなかった。

30

【0042】

しかし、対象群は、これらの処置の1つ又は両方をこれまで受けてきてもよいが、本発明によるMT化合物による処置の前に、医薬品を少なくとも1日、2日、3日、4日、5日、6日、7日、又は2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、12週間、若しくは16週間、又はより好ましくは、少なくとも1カ月、2カ月、3カ月、4カ月、5カ月若しくは6カ月など中止している。

【0043】

本発明の任意の態様は、これらの判定基準によって対象群を選択する能動的ステップを含んでもよい。

【0044】

本明細書の下記で実施例において説明したように、肯定的な結果が、野生型NMR1マウスにおいて5mg/kg/日の用量で達成された。

40

【0045】

本明細書における結果、並びに疾患の処置においてLMTMを使用した従前及び同時発生の結果に基づいて、2~80又は100mg/日の範囲のMT投与量は、本明細書に記載されている向知性効果のために有益であり得ると結論付けることができる。

【0046】

さらに具体的には、疾患の処置に関してLMTMについての濃度応答のさらなる分析は、好ましい用量が少なくとも2mg/日であり、20~40mg/日、又は20~60mg/日の範囲の用量は、認知上の利点を最大化することが予想され、一方でそれにも関わ

50

らず、最小の副作用を伴って耐容性良好であることに関して望ましいプロファイルを維持するという主張を支持する。向知性薬は健康な個人に適応されるため、まれな有害事象又は副作用が最小化されることが重要であり、したがって、より低い投与量が好ましくてもよい。

【0047】

このように、一実施形態では、総MT用量は、概ね2、2.5、3、3.5、又は4mgのいずれかから概ね5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59又は60mgのいずれかであり得る。

10

【0048】

例の投与量は、2～60mg、例えば、20、30、40、50又は60mgである。

【0049】

例の投与量は、20～40mgである。

【0050】

さらなる例の投与量は、8又は16又は24mg/日である。

【0051】

本発明の対象は、成人のヒトであってもよく、本明細書に記載されている投与量は、そのベースを前提とする（典型的な体重50～70kg）。必要に応じて、対応する投与量は、対象の重量係数を使用することによって、この範囲外の対象について利用し得、それによって、対象の体重を60kgで割り、その個々の対象についての倍数因子を提供する。

20

【0052】

本明細書において説明したように、一部の実施形態では、処置は、単独療法であり、又は少なくとも、AChEI又はメマンチンの従前の投与を除外する。

【0053】

これらの態様及び実施形態のいくつかを、より詳細にこれから記載する。

【発明を実施するための形態】

【0054】

LMTX化合物

好ましくは、MT化合物は、国際公開第2007/110627号又は国際公開第2012/107706号において記載されているタイプの「LMTX」化合物である。

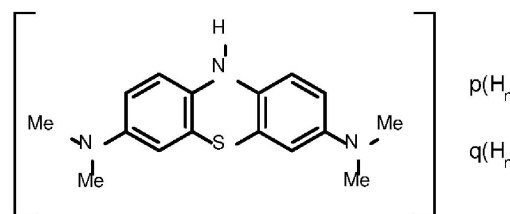
30

【0055】

このように、化合物は、下記の式の化合物、又はその水和物若しくは溶媒和物から選択し得る。

【0056】

【表1】

	<p>オプション:</p> <p>$p(H_nA)$ $p = 1, 2$</p> <p>$q(H_nB)$ $q = 0, 1$</p> <p>n $n = 1, 2$</p> <p>$(p + q) \times n = 2$</p>
---	--

40

【0057】

H_nA 及び H_nB のそれぞれ（存在する場合）は、同一又は異なっていてもよいプロトン酸である。

【0058】

50

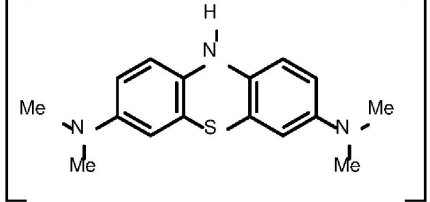
「プロトン酸」とは、水溶液中のプロトン (H^+) 供与体を意味する。プロトン酸内で、 A^- 又は B^- は、したがって、共役塩基である。したがって、プロトン酸は、水中で7未満の pH を有する (すなわち、ヒドロニウムイオンの濃度は、1リットル当たり 10^{-7} モル超である)。

【0059】

一実施形態では、塩は、下記の式

【0060】

【表2】

	HA	$p = 1$
	HB	$q = 1$ $n = 1$ $(1 + 1) \times 1 = 2$ であるとき:

10

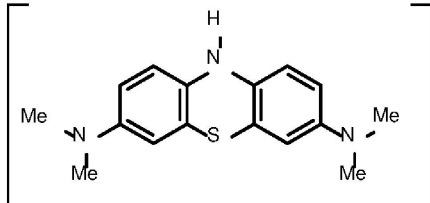
を有する混合塩であり、式中、HA及びHBは、異なるモノプロトン酸である。

【0061】

しかし好ましくは、塩は、混合塩ではなく、下記の式

【0062】

【表3】

	$p(H_nX)$	$p = 1, 2$
		$n = 1, 2$ $p \times n = 2$ であるとき:

20

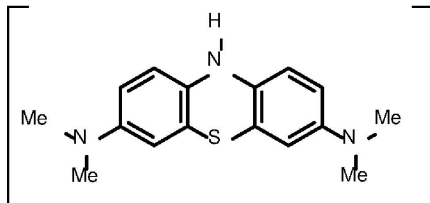
を有し、式中、 H_nX のそれぞれは、プロトン酸、例えば、ジプロトン酸又はモノプロトン酸である。

【0063】

一実施形態では、塩は、下記の式

【0064】

【表4】

	H_2A	$p = 1$
		$q = 0$ $n = 2$ $(1 + 0) \times 2 = 2$ であるとき:

30

40

を有し、式中、 H_2A は、ジプロトン酸である。

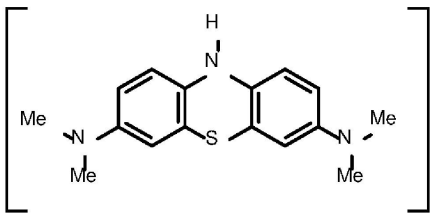
【0065】

好ましくは、塩は、ビスモノプロトン酸である下記の式

【0066】

50

【表 5】

	$p = 2$ $q = 0$ $n = 1$ $(2 + 0) \times 1 = 2$ であるとき:
---	---

10

を有する。

【0067】

本明細書において使用される L M T X 化合物中に存在し得るプロトン酸の例は、

無機酸：ハロゲン化水素酸 (hydrohalide acid) (例えば、HCl、HBr)、硝酸 (HNO₃)、硫酸 (H₂SO₄)、

有機酸：炭酸 (H₂CO₃)、酢酸 (CH₃COOH)、メタンスルホン酸、1,2-エタンジスルホン酸、エタンスルホン酸、ナフタレンジスルホン酸、p-トルエンスルホン酸を含む。

【0068】

好ましい酸は、モノプロトン酸であり、塩は、ビス(モノプロトン酸)塩である。

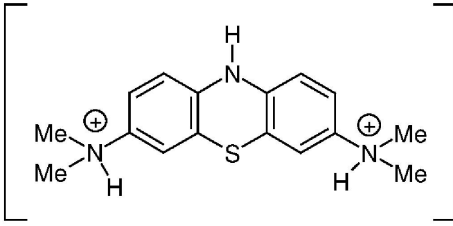
20

【0069】

好ましい M T 化合物は、L M T M である。

【0070】

【表 6】

1		MeSO_3^- MeSO_3^-	LMT.2MsOH (LMTM)	477.6 (1.67)
---	---	--	---------------------	-----------------

30

【0071】

無水塩は、概ね 477.6 の分子量を有する。L M T コアについての 285.1 の分子量に基づいて、本発明におけるこの M T 化合物を使用するための重量係数は、1.67 である。「重量係数」とは、純粋な M T 含有化合物が含有する M T の重量に対する、純粋な M T 含有化合物の相対的重量を意味する。

【0072】

他の重量係数は、本明細書における例の M T 化合物について計算することができ、対応する投与量範囲はそこから計算することができる。

40

【0073】

したがって、本発明は、概ね 0.8 ~ 33 mg / 日の L M T M の総 1 日用量を包含する。

【0074】

より好ましくは、概ね 6 ~ 12 mg / 日の L M T M の総用量を利用し、これは、約 3.5 ~ 7 mg の M T に対応する。

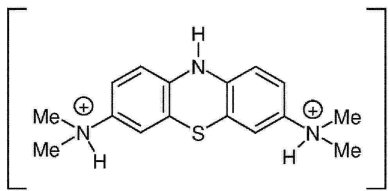
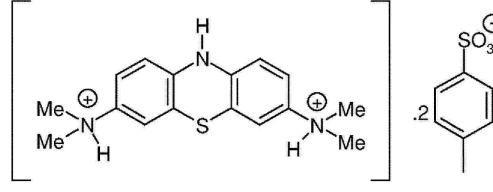
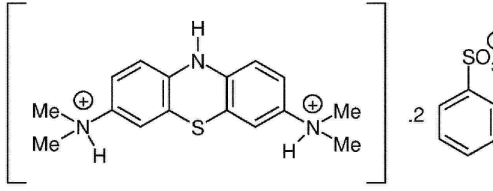
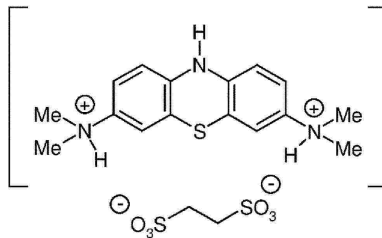
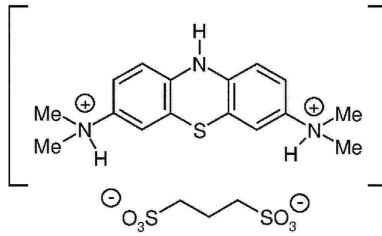
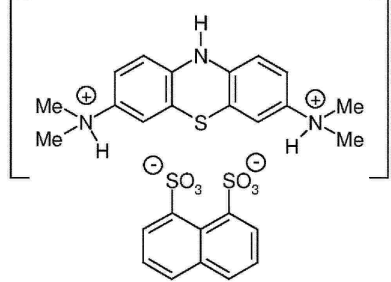
【0075】

他の例の L M T X 化合物は、下記の通りである。それらの分子量(無水)及び重量係数をまた示す。

【0076】

50

【表 7】

2		LMT.2EsOH	505.7 (1.77)
3		LMT.2TsOH	629.9 (2.20)
4		LMT.2BSA	601.8 (2.11)
5		LMT.EDSA	475.6 (1.66)
6		LMT.PDSA	489.6 (1.72)
7		LMT.NDSA	573.7 (2.01)

【 0 0 7 7 】

10

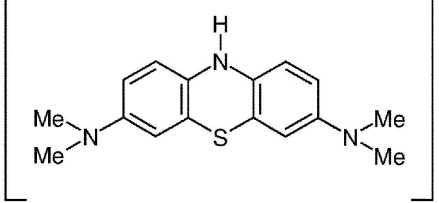
20

30

40

50

【表 8】

8		HCl HCl	LMT.2HCl	358.33 (1.25)
---	---	------------	----------	------------------

【0078】

本明細書に記載されている本発明の様々な態様（これらがMT含有化合物に関連するよ
うに）において、これは任意選択で、上記のそれらの化合物のいずれかであり得る。

10

【0079】

一実施形態では、それは、化合物1である。

【0080】

一実施形態では、それは、化合物2である。

【0081】

一実施形態では、それは、化合物3である。

【0082】

一実施形態では、それは、化合物4である。

20

【0083】

一実施形態では、それは、化合物5である。

【0084】

一実施形態では、それは、化合物6である。

【0085】

一実施形態では、それは、化合物7である。

【0086】

一実施形態では、それは、化合物8である。

【0087】

又は、化合物は、水和物、溶媒和物、又はこれらのいずれかの混合塩であり得る。

30

【0088】

蓄積係数

当業者が認識するように、所与の1日投与量について、より頻繁な投薬は、薬物のより
大きな蓄積をもたらす。

【0089】

本発明者らは、下記の通りMTについての推定上の蓄積係数を導き出した。

【0090】

【表 9】

投薬	MT についての観察される 血漿蓄積	相対的蓄積
1日1回	1.29 ^{外種}	1
1日2回	1.47	1.13
1日3回	1.65	1.28

40

【0091】

例えば、3.5 ~ 7 mg のMTの総1日用量を考慮して：
単一の1日用量として与えられるとき、これは、4.5 ~ 8 の血漿中のMTの蓄積と等し
くてもよく、

50

b . i . d . で分割するとき、これは、5 . 1 ~ 1 0 . 3 の血漿中の M T の蓄積と等しくてもよく、

t . i . d . で分割するとき、これは、5 . 8 ~ 1 1 . 6 の血漿中の M T の蓄積と等しくてもよい。

【0092】

したがって、本発明のある特定の実施形態では、より頻繁に（例えば、1日2回 [b . i . d .] 又は1日3回 [t . i . d .] ）投薬するとき、M T 化合物の総1日投薬量はより低くあり得る。

【0093】

一実施形態では、L M T M は、概ね 9 m g / 1 日 1 回 ; 4 m g 、 b . i . d . ; 2 . 3 m g 、 t . i . d で投与される（L M T M の重量に基づいて）。

10

【0094】

一実施形態では、L M T M は、概ね 3 4 m g / 1 日 1 回 ; 1 5 m g 、 b . i . d . ; 8 . 7 m g 、 t . i . d で投与される（L M T M の重量に基づいて）。

【0095】

併用処置

用語「処置」は、「組合せ」の非治療的処置を含み、ここでは、健康な対象において認知機能を刺激する（及び/又は健康な対象におけるベースのアセチルコリンレベルを刺激し、及び/又はシナプス小胞タンパク質であるシナプトフィジンのレベルを増加させる（健康な対象におけるいくつかの神経伝達物質の放出のために必要とされるより多くの又はより大きな小胞を示す））2つ若しくはそれより多い処置が、例えば、逐次的に又は同時に合わされる。

20

【0096】

併用処置において、薬剤（すなわち、本明細書に記載のような M T 化合物、プラス1種若しくは複数の他の薬剤）は、同時又は逐次的に投与してもよく、個々に変化する用量スケジュールで及び異なる経路によって投与してもよい。例えば、逐次的に投与されるとき、薬剤は、密接した間隔（例えば、5 ~ 1 0 分の期間に亘り）で、或いはより長い間隔で（例えば、状況によっては、1時間、2時間、3時間、4時間若しくはそれを超える時間離して、又はそれどころかより長い期間離して）投与することができ、正確な投与量レジメンは、治療剤の特性と釣り合っている。

30

【0097】

本発明の併用処置の一例は、当技術分野において従前に公知の向知性を有する M T 化合物の使用である。

【0098】

公知の向知性薬は、伝統的なハーブ、ビタミン及びサプリメント、レクリエーションドラッグ、ラセタム、ドパミン作用薬、セロトニン作用薬、抗うつ薬、適応力向上剤（adaptogenic）（抗ストレス剤）及び気分安定化剤、血管拡張剤、抗酸化剤、神経保護薬、ホルモン、及び他の刺激物質、並びに集中及び記憶向上薬を含めた多くの異なるカテゴリーに属する。

【0099】

これら又は他の向知性薬のいずれかと組み合わせた、本明細書に記載されている方法又は使用における M T 化合物の使用は、本発明の一態様を形成する。

40

【0100】

他の実施形態では、処置は、「単独療法」であり、すなわち、M T 含有化合物は、向知性剤であれ、又は他のものであれ、別の活性剤と（上記で考察した意味内で）組み合わせて使用されない。

【0101】

上で述べたように、M T 化合物の投与は、A C h E I 又はメマンチンを従前に受けてこなかった（及び現在受けていない）対象において開始し得ることが特に予想される。

【0102】

50

しかし、このような A C h E I 又はメマンチン処置は、M T 化合物による処置の開始の後で、例えば、M T 化合物による少なくとも 3 カ月又は約 3 カ月の処置の後で任意選択で開始又は再開し得る。

【 0 1 0 3 】

経口剤形

本発明の M T 化合物、又はそれを含む組成物は、対象に経口的に投与される。

【 0 1 0 4 】

一部の実施形態では、M T 化合物は、本明細書に記載のような L M T X 化合物、及び薬学的に許容される担体、賦形剤、又は添加剤を含む向知性組成物として投与される。

【 0 1 0 5 】

用語「薬学的に許容される」は、本明細書において使用する場合、合理的な利益/リスク比と釣り合った、過剰な毒性、刺激作用、アレルギー応答、又は他の問題若しくは合併症を伴わない、当該の対象の組織と接触する使用に適した化合物、成分、材料、組成物、剤形などに関する。それぞれの担体、賦形剤、添加剤などはまた、製剤の他の成分と適合性であるという意味で「許容され」なくてはならない。

【 0 1 0 6 】

L M T X 塩を含む組成物は、いくつかの公開資料、例えば、国際公開第 2 0 0 7 / 1 1 0 6 2 7 号、国際公開第 2 0 0 9 / 0 4 4 1 2 7 号、国際公開第 2 0 1 2 / 1 0 7 7 0 6 号、国際公開第 2 0 1 8 0 1 9 8 2 3 号及び国際公開第 2 0 1 8 0 4 1 7 3 9 号に記載されている。

【 0 1 0 7 】

一部の実施形態では、組成物は、これらに限定されないが、薬学的に許容される担体、賦形剤、添加剤、アジュバント、充填剤、緩衝液、保存剤、抗酸化剤、滑沢剤、安定剤、可溶化剤、界面活性剤（例えば、湿潤剤）、マスキング剤、着色剤、香味剤、及び甘味剤を含めた当業者には周知の 1 種若しくは複数種の他の薬学的に許容される成分と一緒に、本明細書に記載のような少なくとも 1 種の L M T X 化合物を含む向知性組成物である。

【 0 1 0 8 】

一部の実施形態では、組成物は、他の向知性活性剤をさらに含む。

【 0 1 0 9 】

適切な担体、賦形剤、添加剤などは、標準的な医薬のテキストにおいて見出すことができる。例えば、Handbook of Pharmaceutical Additives, 2nd Edition (eds. M. Ash and I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA), Remington 's Pharmaceutical Sciences, 20th edition, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000 ; 及び Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd edition, 1994 を参照されたい。

【 0 1 1 0 】

一部の実施形態では、組成物は、錠剤である、投与量単位 (dosage unit) である。

【 0 1 1 1 】

一部の実施形態では、組成物は、カプセル剤である、投与量単位である。

【 0 1 1 2 】

一部の実施形態では、前記カプセル剤は、ゼラチンカプセル剤である。

【 0 1 1 3 】

一部の実施形態では、前記カプセル剤は、H P M C (ヒドロキシプロピルメチルセルロース) カプセル剤である。

【 0 1 1 4 】

一部の実施形態では、単位中の M T の量は、2 ~ 6 0 m g である。

【 0 1 1 5 】

一部の実施形態では、単位中の M T の量は、1 0 ~ 4 0、又は 1 0 ~ 6 0 m g である。

【 0 1 1 6 】

一部の実施形態では、単位中の M T の量は、2 0 ~ 4 0、又は 2 0 ~ 6 0 m g である。

10

20

30

40

50

【0117】

例の投与量単位は、2 ~ 10 mg のMTを含有し得る。

【0118】

さらなる例の投与量単位は、2 ~ 9 mg のMTを含有し得る。

【0119】

さらなる例の投与量単位は、3 ~ 8 mg のMTを含有し得る。

【0120】

さらなる好ましい投与量単位は、3.5 ~ 7 mg のMTを含有し得る。

【0121】

さらなる好ましい投与量単位は、4 ~ 6 mg のMTを含有し得る。

10

【0122】

一部の実施形態では、量は、約2、2.5、3、3.5、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19又は20 mg のMTである。

【0123】

本明細書において記載又は説明した重量係数を使用して、当業者は、経口製剤中で使用するMT含有化合物の適当な量を選択することができる。

【0124】

上記で説明したように、LMTMについてのMT重量係数は、1.67である。活性成分の統一された又は単純な端数を使用することは好都合であるため、非限定的例であるLMTM投与量単位は、約3、3.5、4、5、6、7、8、9、10、15、16、17、34、50、63 mg などを含み得る。

20

【0125】

本明細書に記載されている向知性組成物（例えば、低用量MT含有化合物プラス任意選択で、他の成分）は、それらの向知性薬使用のための説明書と共にラベルされたパッケージ中で提供し得る。

【0126】

一実施形態では、パックは、製薬技術において周知のようなボトルである。典型的なボトルは、子どもが開けることのできないHDPEプッシュロッククロージャを有する薬局方グレードのHDPE（高密度ポリエチレン）から作製し得、サシェ又はキャニスター中に存在するシリカゲル乾燥剤を含有し得る。ボトル自体は、ラベルを含み、使用のための説明書、及び任意選択で、ラベルのさらなるコピーと共に段ボール容器中にパッケージ化し得る。

30

【0127】

一実施形態では、パック又はパッケージは、このように実質的に水分不浸透性（substantially moisture-impervious）であるプリスターパック（好ましくは、アルミニウムキャピティ及びアルミ箔を有するもの）である。この場合、パックは、使用のための説明書及び容器上のラベルと共に段ボール容器中にパッケージ化し得る。

【0128】

前記ラベル又は説明書は、例えば、1日1回、b.i.d.、又はt.i.dに基づいて、本明細書に記載のような組成物の最大の許される1日投与量に関する情報を提供し得る。

40

【0129】

前記ラベル又は説明書は、処置の推奨される期間に関する情報を提供し得る。

【0130】

塩及び溶媒和物

本明細書に記載されているLMTX含有化合物は、塩であるが、これらはまた、混合塩の形態（すなわち、別の塩と組み合わせた本発明の化合物）で提供し得る。このような混合塩は、用語「及び薬学的に許容されるその塩」によって包含されることを意図する。他に特定しない限り、特定の化合物への言及はまた、その塩を含む。

【0131】

50

本発明の化合物はまた、溶媒和物又は水和物の形態で提供し得る。用語「溶媒和物」は、本明細書において通常の意味で使用されて、溶質（例えば、化合物、化合物の塩）及び溶媒の複合体を指す。溶媒が水である場合、溶媒和物は、水和物、例えば、一水和物、二水和物、三水和物、五水和物などと好都合に言及し得る。他に特定しない限り、化合物への言及はまた、溶媒和物及びその任意の水和物形態を含む。

【0132】

当然、化合物の塩の溶媒和物又は水和物はまた、本発明に包含される。

【0133】

本明細書において使用するように、用語「改善」は、従前の尺度又は参照データと比較したとき、記憶、選択的注意及び/又は関連する精神機能における能力の増加を意味する。記憶及び/又は記憶が関連する精神機能におけるこのような能力は、当技術分野で周知のいくつかの記憶及び認知試験を使用して測定することができる。

10

【0134】

いくつかの特許及び公開資料は、本発明、及び本発明が関連する現況技術をより完全に説明及び開示するために本明細書において引用される。これらの参照文献のそれぞれは、それぞれの個々の参照文献があたかも参照により組み込まれていることが特に及び個々に示されているのと同じ程度まで、参照によりその全体が本開示に組み込まれている。

【0135】

下記の請求項を含めた本明細書を通して、文脈上他の意味に解すべき場合を除き、単語「含む (comprise)」及びバリエーション、例えば、「含む (comprises)」及び「含むこと (comprising)」は、記述した整数若しくはステップ、又は整数若しくはステップの群を含むことを意味するが、任意の他の整数若しくはステップ、又は整数若しくはステップの群の除外を意味しないと理解される。

20

【0136】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用するように、単数形「1つの (a)」、
「1つの (an)」及び「その (the)」は、文脈によって明らかにそれ以外のことの指示がない限り、複数の参照対象を含むことに留意しなければならない。このように、例えば、「医薬担体」への言及は、2種若しくはそれより多いこのような担体などの混合物を含む。

【0137】

範囲は、本明細書において、「約」の1つの特定の値から、及び/又は「約」の別の特定の値までと表されることが多い。このような範囲が表されるとき、別の実施形態は、1つの特定の値から、及び/又は他の特定の値までを含む。同様に、値が先行詞「約」の使用によって近似値として表されるとき、特定の値は別の実施形態を形成することが理解される。

30

【0138】

本明細書において任意の副題は、便宜のためにのみ含まれ、本開示を決して限定するものと解釈されない。

【0139】

本発明を下記の非限定的な図面及び実施例を参照してこれからさらに説明する。本発明の他の実施形態は、これらを考慮して、当業者には思い当たる。

40

【0140】

本明細書において引用したすべての参照の開示は、それが当業者によって本発明を行うために使用し得る限り、本明細書において相互参照によってここに特に組み込まれる。

【図面の簡単な説明】

【0141】

【図1】野生型マウスにおける、アセチルコリンの海馬レベル (A) 又は海馬、大脳皮質視覚野、対角帯及び中隔野の平均として免疫組織化学的に測定したシナプトフィジンレベル (B) に対する、LMTM単独又はリバスチグミンによる慢性事前処置に続くLMTMの処置効果。 (* *, $p < 0.01$; * * *, $p < 0.001$)。

50

【実施例】

【0142】

実施例

実施例1 - MT含有化合物の提供

本明細書に記載されているMT含有化合物の化学合成のための方法は、当技術分野において公知である。例えば：

化合物1～7の合成は、国際公開第2012/107706号に記載されている方法、又はそれらに類似した方法によって行うことができる。

化合物8の合成は、国際公開第2007/110627号に記載されている方法、又はそれらに類似した方法によって行うことができる。

10

【0143】

実施例2 - 干渉研究のために使用されるタウトランスジェニックマウスモデルの特徴

本研究のいくつかにおいて使用されたL1マウスモデルにおいて、NMR1マウス系統におけるThy1プロモーターの制御下で、2N4Rタウアイソフォームの残基296～390を包含する3リピートタウフラグメントの過剰発現が存在する（国際公開第2002/059150号）。このフラグメントは、PHFのタンパク分解に安定なコア内で最初に同定されたタウのセグメントに対応し（Wischik et al., 1988a; Wischik et al., 1988b）、ピック病におけるAD及びタウフィラメントにおけるPHFの低温電子顕微鏡観察によって最近確認された（Fitzpatrick et al., 2017; Falcon et al., 2018）。

【0144】

20

L1マウスモデルのさらなる特徴は、前脳基底部におけるコリンアセチルトランスフェラーゼについてのニューロン免疫反応性の顕著な喪失、並びに新皮質及び海馬におけるアセチルコリンエステラーゼの対応する低減を含み、アセチルコリンの低減を示す。野生型マウスからのものと比較して、L1マウスからの脳シナプトソーム調製物についてのグルタメート放出の概ね50%の低減がまた存在する。上記の点に関して、したがって、L1マウスはまた、ADの特徴を示しているコリン作用性（Mesulam, 2013; Pepeu and Grazia Giovannini, 2017）及びグルタミン酸作動性（Revett et al., 2013）機能における神経化学的障害を模倣する。

【0145】

神経伝達物質機能におけるこれらの障害が基底をなし、L1マウスモデルは、シナプスタンパク質の統合において障害を示す。前脳基底（垂直対角帯）における複数のシナプスタンパク質についての定量的免疫組織化学は、野生型マウスにおけるSNARE複合体（例えば、SNAP-25、シンタキシン、VAMP2; Li and Kavalali, 2017において概説されている）を含むタンパク質、並びに小胞糖タンパク質であるシナプトフィジン及び - シヌクレインのレベルにおいて通常は高度の相関性が存在することを示す。これらの相関性は、L1マウスにおいて大きく失われている（表1）。残る唯一の相関性は、シナプトフィジン、シンタキシン及びVAMP2の間である。したがって、シナプス小胞タンパク質レベルは、SNARE複合体又は - シヌクレインのタンパク質にもはや定量的にリンクしていない。これは、L1マウスのタウオリゴマー病態がシナプスにおける小胞及び膜ドッキングタンパク質の間の機能的統合と干渉することを示唆する。

30

40

【0146】

【表 10】

表 1. (A)野生型マウス又は(B)タウトランスジェニック L1 マウスにおいて免疫化学的に測定した前脳基底(垂直対角帯)における一連の前シナプスタンパク質のレベルの間の相関性。線形回帰分析による相関の有意性は、* $p<0.05$; ** $p<0.01$ として示す; - $p=0.05$ で有意性なし。

A 野生型マウス					
	α -シヌクレイン	SNAP25	シクタキシン	VAMP2	シナプトフィジン
α -シヌクレイン					
SNAP25	*				
シクタキシン	-	**			
VAMP2	-	*	*		
シナプトフィジン	-	**	*	-	
シナプシン	-	-	-	-	-

B L1 マウス					
	α -シヌクレイン	SNAP25	シクタキシン	VAMP2	シナプトフィジン
α -シヌクレイン					
SNAP25	-				
シクタキシン	-	-			
VAMP2	-	-	-		
シナプトフィジン	-	-	-	*	
シナプシン	-	-	*	-	-

【0147】

実施例 3 - 実験のパラダイム、結果及び考察

実験のパラダイム

対症処置及び L M T M の間のマイナスの相互作用を研究するのに使用した処置スケジュールは、臨床的症状を模倣するように設計し、ここでは、対象を最初に慢性的にコリンエステラーゼ阻害剤又はメマンチンで処置し、その後、L M T M を与える。下記において、本発明者らは、A C h E I、リバスチグミンについて得られた重要な結果のいくつかについて要約する。

【0148】

野生型及び L 1 マウス (各群について $n = 7 \sim 16$) を、リバスチグミン (0.1 又は 0.5 mg / kg / 日) 又はメマンチン (2 又は 20 mg / kg / 日) 又はピヒクルで 5 週間強制飼養によって事前処置した。それに続く 6 週間について、L M T M (5 及び 15 mg / kg) 又はピヒクルを、また胃管栄養法によってこの毎日の処置レジメンに加えた。動物を第 10 週及び第 11 週の間にオープンフィールド水迷路における問題解決タスクを使用して行動を試験し、次いで、免疫組織化学及び他の組織分析のために 殺した。

【0149】

マウスからヒトへの用量を変換することは、いくつかの要因を考慮することが必要である。マウスにおける 5 mg / kg / 日 は、血漿中の親 M T の C_{max} レベルに関してヒトに

おける概ね 8 mg / 日に対応するが、この用量は、病態及び行動に対する効果についての閾値にある。15 mg / kg / 日のより高い用量は一般に、LMTMがL1マウスモデルにおいて十分に有効であるために必要である (Melis et al., 2015a)。これは、ヒト (高齢のヒトにおいて37時間) と比較した、マウスにおけるMTの非常により短い半減期 (4時間) と関連し得る。免疫組織化学のために切開した組織を抗体で標識し、Image Jを使用して加工し、タンパク質発現を濃度測定によって決定した。データは、単位の無いZ-スコア変換として提示する。

【0150】

海馬におけるアセチルコリン (ACh) レベルの測定のために、動物 (野生型又はL1) を、リバスチグミン (0.5 mg / kg / 日) を伴う若しくは伴わない2週間の従前の処置の後で、LMTM (5 mg / kg / 日、2週間) で処置した。リバスチグミンをAlzetミニポンプで皮下に投与し、一方、LMTMを経口胃管栄養法によって投与した。埋め込んだ微小透析プローブ及び細胞外液のHPLC分析を使用して、AChのレベルを海馬において測定した。

10

【0151】

データは群平均及び平均の標準誤差として提示し、アルファを0.05に設定してパラメトリック統計学を使用して分析した。

【0152】

動物に対する実験は、地方の倫理的承認、UK Scientific Procedures Act (1986) によるプロジェクトライセンスを伴うEuropean Communities Council Directive (63/2010/EU) に従って、並びにGerman Law for Animal Protection (Tierschutzgesetz) 及びPolish Law on the Protection of Animalsに従って行った。

20

【0153】

結果

野生型マウスにおけるLMTM及びリバスチグミンによる処置の効果

単独での、又は慢性リバスチグミンのバックグラウンド上のLMTMによる処置の効果を、表2において要約する。

【0154】

野生型マウスにおいて、LMTM処置に続いて海馬におけるベースのAChレベルにおいて有意な2倍の増加、及びマウスがリバスチグミンによる従前の処置の後でLMTMを受けたとき30%の低減が存在した (図1A)。

30

【0155】

LMTM処置単独に続いて海馬、大脳皮質視覚野、対角帯及び中隔野において測定した平均シナプトフィジンレベルにおける3倍の増加、並びにLMTMがリバスチグミンによる従前の処置のバックグラウンドに対して与えられたとき、同じ規模の統計的に有意な低減がまた存在した (図1B)。

【0156】

40

50

【表 1 1】

表 2. 変化のスケール及び方向を示すために端数を切り捨てた概ねの百分率として示す、野生型マウスにおける、単独で(5 若しくは 15mg/kg/日)又はリバスチグミン(0.1 若しくは 0.5mg/kg/日)による慢性事前処置に続いて与えた LMTM の処置効果の要約。黒色の数字は統計的有意性に達した処置効果を示し、灰色の数字は方向性であり、「-」は効果なしを示す。

野生型マウスにおける効果	LMTM 単独	リバスチグミン +LMTM
ACh 放出	↑ x 200%	↓ x 30%
SNARE 複合体	-	-
シナプトフィジン	↑ x 300%	↓ x 300%
α-シヌクレイン	-	-
ミトコンドリア複合体 IV	-	-
行動	-	-

10

20

【0157】

タウトランスジェニック L1 マウスにおける LMTM 及びリバスチグミンによる処置の効果
LMTM 単独の活性化効果及びリバスチグミンとの組合せの阻害効果は、野生型マウスにおけるよりもタウトランスジェニック L1 マウスにおいてより大きく、より全般的である(結果は図示せず)。

【0158】

実施例 3 の考察

ここで提示する結果は、LMTM の有効性における低減が、ヒトにおける対症処置へのアドオンとして与えられるとき、野生型マウス及びタウトランスジェニックマウスモデルの両方において再現することができることを示す。

【0159】

本発明者らがこれから報告する結果は、野生型マウス及びタウトランスジェニックマウスにおいて LMTM 処置によって生じた 2 つのクラスの効果が存在することを示す: コリンエステラーゼ阻害剤への従前の曝露による動的モジュレーションに供されるもの、及び供されないもの。タウトランスジェニックマウスにおいて、モジュレートすることができる処置効果は、海馬における ACh 放出の増加、シナプスタンパク質における変化、ミトコンドリア複合体 I V 活性における増加、及び行動機能低下の反転を含む。薬理的モジュレーションに供されない唯一の処置効果は、例えば、前脳基底におけるコリンアセチルトランスフェラーゼ発現の回復によって測定されるような、タウ凝集病態に対する一次効果、及び神経機能に対するその即時の効果である。

30

40

【0160】

薬理的モジュレーションに供される効果は、それら自体が 2 つのタイプのものである: タウ凝集病態に対する効果によって増大するもの、及び野生型マウスにおいてまた見られるもの。本発明者らが測定した結果のうち、野生型マウスにおいて単独で与えられた LMTM のプラスの処置効果は、海馬における ACh レベルの増加、及び複数の脳領域におけるシナプトフィジンレベルの増加を含んだ。したがって、LMTM 処置は、タウ凝集病態を欠いている野生型マウスにおいて治療的に関連性のある用量で神経機能を活性化する

50

ことができる。

【0161】

実験モデルにおいて、コリン作用性機能は選択的注意と主に関連しており (Botly and De Rosa, 2007; 2008 ; Sarter et al., 2016)、A Dにおけるコリンエステラーゼ阻害剤からもたらされる認知機能における改善は、シナプス間隙におけるアセチルコリンの上昇したレベルの結果であると考えられる。しかし、これらの薬物は、(例えば、プレシナプスにおけるシナプス小胞のレベルを低減させることによる)アセチルコリンエステラーゼ阻害剤の阻害を緩和する効率的な恒常性適応のために、野生型マウスにおいてアセチルコリンレベルを増加させないと考えられる。

【0162】

対照的に、L M T Mは、認知機能のために重要であることが知られている海馬におけるアセチルコリンレベルのかなりの増加を生じさせる。

【0163】

同様に、シナプトフィジンの増加は、活動電位を介した活性化に続くプレシナプスからの神経伝達物質の放出のために必要とされるシナプス小胞の数又はサイズの増加を示す。したがって、シナプトフィジンレベルの増加は、認知機能及び他の精神機能を支援するのに必要とされるいくつかの神経伝達物質の増加と関連するように思われる。

【0164】

M T部分は弱いコリンエステラーゼ阻害剤であることが報告されてきた (Pfaffendorf et al., 1997 ; Deiana et al., 2009) が、これがA C hレベルの増加に關与する機序であることはありそうにない。

【0165】

具体的には、(M 2 / M 4 負のフィードバック受容体を遮断することによって) A C hレベルを増加させるスコポラミンを使用したさらなる実験は、L M T Mによって生じた増加が、リバスチグミン単独で見られるものより少なく、組合せが再び野生型マウスにおいて阻害性であったことを示した。これらの実験において使用されるコリンエステラーゼ阻害の条件 (灌流液に加えられた非常に少量のコリンエステラーゼ阻害剤、100ナノモルのリバスチグミン) 下で、海馬におけるA C hレベルは上昇し、それらが十分に強く上昇したとき、それらはM 2 / M 4 サブタイプのプレシナプスのムスカリン受容体 (いわゆる、負のフィードバック受容体) を活性化することによってさらなるA C h放出を制限する。

【0166】

この状況において、灌流液へとスコポラミン (1 μ M) を加えることは、これらのプレシナプス受容体を遮断し、結果として、A C hレベルが3 ~ 5倍に上昇する。これらの実験においてL M T Mがリバスチグミンと相加的ではないという事実は、L M T Mがリバスチグミンと異なる作用機序を有するという結論を指示する。言い換えると、L M T Mは高濃度でコリンエステラーゼの弱い阻害剤であると記載されてきたが、少量のリバスチグミンとの相加効果は存在しないため、本効果はコリンエステラーゼ阻害と無関係であるように思われる。

【0167】

M T部分はミトコンドリア複合体I V活性を増進することが知られており (Atamna et al., 2012)、ミトコンドリアは、プレシナプス機能の恒常性調節において重要な役割を有する (Devine and Kittler, 2018) ため、A C h及びシナプトフィジンレベルにおける増加は、プレシナプスミトコンドリア活性における増加によって理論的に説明し得る。特に、M T部分は、複合体I及び複合体I Vの間の電子シャトルとして作用することによって、酸化リン酸化を増進すると考えられる (Atamna et al., 2012)。M T部分は、複合体I (- 0 . 4 m V) 及び複合体I V (+ 0 . 4 m V) の酸化還元電位の間の中間である概ね0 m Vの酸化還元電位を有する。

【0168】

しかし、野生型マウスにおける複合体I V活性の直接の測定は、L M T M処置に続いて増加を示さなかった。L M T Mの活性化効果はまた、野生型マウスにおける空間認識記憶

10

20

30

40

50

における改善と関連しなかった。

【 0 1 6 9 】

リバスチグミンによる慢性事前処置は、野生型マウスの脳において、海馬におけるコリン作用性活性化を抑制し、シナプトフィジンレベルをより一般に低減させた。野生型マウスにおいて病態は存在しないため、この効果は、タウ凝集病態に対する L M T M の効果に明らかに依存しない。むしろ、これらは、それぞれが神経機能に対して活性化効果を有する 2 つの薬物を合わせることを相殺する全般的な恒常性下方制御を指し示す。恐らく、シナプス間隙における過剰なレベルの A C h から通常は保護する一次的機序は、A C h E 活性の増加である。リバスチグミンはこの制御系の慢性機能低下を生じさせるため、L M T M によって別に活性化される経路は、コリン作用性及び他の神経系における恒常性を保存するために抑制される。このように、脳がコリンエステラーゼ阻害剤による慢性刺激に既に供されている場合、L M T M によって誘発される効果は動的な下方制御に供される。

10

【 0 1 7 0 】

さらなる考慮は、本発明者らが示した恒常性下方制御が、L M T M 処置が一次であり、対症処置が後日加えられた場合、同様に作動するかどうかである。本発明者らが今日までに行ってきた実験は、臨床的症状を模倣するように本来設計したが、ここでは、L M T M を、対症処置を既に受けている患者に加える。恒常性下方制御が最初に来る処置によって決定される場合、アドオン対症処置に対する応答がある程度低減し得るにも関わらず、L M T M の処置効果が優勢であることは必然的である。

20

【 0 1 7 1 】

参照文献

Al-Hilaly, Y.K., Pollack, S.J., Rickard, J.E., Simpson, M., Raulin, A.-C., Baddeley, T., et al. (2018). Cysteine-independent inhibition of Alzheimer's disease-like paired helical filament assembly by leuco-methylthioninium (LMT). *J. Mol. Biol.* 430, 4119-4131. doi: 10.1016/j.jmb.2018.08.010.

Atamna, H., Mackey, J., and Dhahbi, J.M. (2012). Mitochondrial pharmacology: electron transport chain bypass as strategies to treat mitochondrial dysfunction. *Biofactors* 38, 158-166. doi: 10.1002/biof.197.

Baddeley, T.C., Mccaffrey, J., Storey, J.M.D., Cheung, J.K.S., Melis, V., Horsley, D., et al. (2015). Complex disposition of methylthioninium redox forms determines efficacy in tau aggregation inhibitor therapy for Alzheimer's disease. *J. Pharmacol. Exptl. Therapeutics* 352, 110-118. doi: 10.1124/jpet.114.219352.

30

Botly, L.C., and De Rosa, E. (2007). Cholinergic influences on feature binding. *Behav. Neurosci.* 121, 264-276. doi: 10.1037/0735-7044.121.2.264.

Botly, L.C., and De Rosa, E. (2008). A cross-species investigation of acetylcholine, attention, and feature binding. *Psychol. Sci.* 19, 1185-1193. doi: 10.1111/j.1467-9280.2008.02221.x.

Callaway, N.L., Riha, P.D., Bruchey, A.K., Munshi, Z., and Gonzalez-Lima, F. (2004). Methylene blue improves brain oxidative metabolism and memory retention in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 77, 175-181.

40

Callaway, N.L., Riha, P.D., Wrubel, K.M., Mccollum, D., and Gonzalez-Lima, F. (2002). Methylene blue restores spatial memory retention impaired by an inhibitor of cytochrome oxidase in rats. *Neurosci. Lett.* 332, 83-86.

Deiana, S., Harrington, C.R., Wischik, C.M., and Riedel, G. (2009). Methylthioninium chloride reverses cognitive deficits induced by scopolamine: comparison with rivastigmine. *Psychopharmacology* 202, 53-65. doi: 10.1007/s00213-008-1394-2.

Devine, M.J., and Kittler, J.T. (2018). Mitochondria at the neuronal presynapse in health and disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 19, 63-80. doi: 10.1038/nrn.20

50

17.170.

Fitzpatrick, A.W.P., Falcon, B., He, S., Murzin, A.G., Murshudov, G., Garringer, H.J., et al. (2017). Cryo-EM structures of tau filaments from Alzheimer ' s disease. *Nature* 547, 185-190. doi: 10.1038/nature23002.

Gauthier, S., Feldman, H.H., Schneider, L.S., Wilcock, G.K., Frisoni, G.B., Hardlund, J.H., et al. (2016). Efficacy and safety of tau-aggregation inhibitor therapy in patients with mild or moderate Alzheimer ' s disease: a randomised, controlled, double-blind, parallel-arm, phase 3 trial. *Lancet* 388, 2873-2884. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31275-2.

Gonzalez-Lima, F., and Bruchey, A.K. (2004). Extinction memory by the metabolic enhancer improvement methylene blue. *Learning & Memory* 11, 633-640.

Harrington, C.R., Storey, J.M.D., Clunas, S., Harrington, K.A., Horsley, D., Ishaq, A., et al. (2015). Cellular models of aggregation-dependent template-directed proteolysis to characterize tau aggregation inhibitors for treatment of Alzheimer ' s disease. *J. Biol. Chem.* 290, 10862-10875. doi: 10.1074/jbc.M114.616029.

Husain, M., and Mehta, M.A. (2011) Cognitive enhancement by drugs in health and disease. *Trends Cognitive Sci.* 15, 28-36.

Li, Y. and Kavalali, E.T. (2017). Synaptic vesicle-recycling machinery components as potential therapeutic targets. *Pharmacol. Rev.* 69, 141-160.

Maier, L.J., Ferris, J.A., and Winstock, A.R. (2018). Pharmacological cognitive enhancement among non-ADHD individuals-A cross-sectional study in 15 countries. " *Int. J. Drug Policy* 58, 104-112.

Martinez, J.L., Jr., Jensen, R.A., Vasquez, B.J., McGuiness, T., and Mcgaugh, J. L. (1978). Methylene blue alters retention of inhibitory avoidance responses. *Physiological Psychology* 6, 387-390.

Melis, V., Magbagbeolu, M., Rickard, J.E., Horsley, D., Davidson, K., Harrington, K.A., et al. (2015a). Effects of oxidized and reduced forms of methylthionium in two transgenic mouse tauopathy models. *Behav. Pharmacol.* 26, 353-368. doi: 10.1097/fbp.0000000000000133.

Melis, V., Zabke, C., Stamer, K., Magbagbeolu, M., Schwab, K., Marschall, P., et al. (2015b). Different pathways of molecular pathophysiology underlie cognitive and motor tauopathy phenotypes in transgenic models for Alzheimer ' s disease and frontotemporal lobar degeneration. *Cell. Mol. Life Sci.* 72, 2199-2222. doi: 10.1007/s00018-014-1804-z.

Mesulam, M.M. (2013). Cholinergic circuitry of the human nucleus basalis and its fate in Alzheimer ' s disease. *J. Comp. Neurol.* 521, 4124-4144. doi: 10.1002/cne.23415.

Pepeu, G., and Grazia Giovannini, M. (2017). The fate of the brain cholinergic neurons in neurodegenerative diseases. *Brain Res.* 1670, 173-184. doi: 10.1016/j.brainres.2017.06.023.

Pfaffendorf, M., Bruning, T.A., Batink, H.D., and Van Zwieten, P.A. (1997). The interaction between methylene blue and the cholinergic system. *Br. J. Pharmacol.* 122, 95-98. doi: 10.1038/sj.bjp.0701355.

Revett, T.J., Baker, G.B., Jhamandas, J., and Kar, S. (2013). Glutamate system, amyloid beta peptides and tau protein: functional interrelationships and relevance to Alzheimer disease pathology. *J. Psychiat. Neurosci.* 38, 6-23. doi: 10.1503/jpn.110190.

Riha, P.D., Bruchey, A.K., Echevarria, D.J., and Gonzalez-Lima, F. (2005). Memory facilitation by methylene blue: Dose-dependent effect on behavior and br

10

20

30

40

50

ain oxygen consumption. *Eur. J. Pharmacol.* 511, 151-158.

Sarter, M., Lustig, C., Blakely, R.D., and Koshy Cherian, A. (2016). Cholinergic genetics of visual attention: Human and mouse choline transporter capacity variants influence distractibility. *J. Physiol. (Paris)* 110, 10-18. doi: 10.1016/j.jphysparis.2016.07.001.

Wilcock, G.K., Gauthier, S., Frisoni, G.B., Jia, J., Hardlund, J.H., Moebius, H.J., et al. (2018). Potential of low dose leuco-methylthionium bis(hydromethanesulphonate) (LMTM) monotherapy for treatment of mild Alzheimer's disease: cohort analysis as modified primary outcome in a phase 3 clinical trial. *J. Alzheimer's Dis.* 61, 635-657. doi: 10.3233/JAD-170560. 10

Wischik, C.M., Edwards, P.C., Lai, R.Y.K., Roth, M., and Harrington, C.R. (1996). Selective inhibition of Alzheimer disease-like tau aggregation by phenothiazines. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93, 11213-11218. doi: 10.1073/pnas.93.20.11213.

Wischik, C.M., Novak, M., Edwards, P.C., Klug, A., Tichelaar, W., and Crowther, R.A. (1988a). Structural characterization of the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85, 4884-4888. doi: 10.1073/pnas.85.13.4884.

Wischik, C.M., Novak, M., Thogersen, H.C., Edwards, P.C., Runswick, M.J., Jakes, R., et al. (1988b). Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85, 4506-4510. doi: 10.1073/pnas.85.12.4506. 20

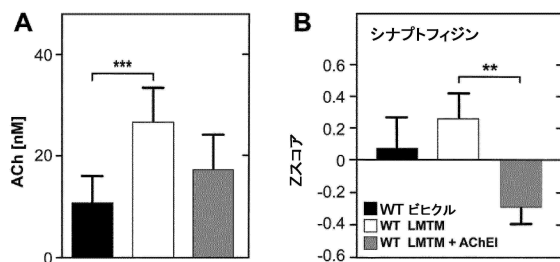
Wischik, C.M., Schelter, B.O., Wischik, D.J., Storey, J.M.D., and Harrington, C.R. (2018). Modeling prion-like processing of tau protein in Alzheimer's disease for pharmaceutical development. *J. Alzheimer's Dis.* 62, 1287-1303. doi: 10.3233/JAD-170727.

Wrubel, K.M., Barrett, D., Shumake, J., Johnson, S.E., and Gonzalez-Lima, F. (2007). Methylene blue facilitates the extinction of fear in an animal model of susceptibility to learned helplessness. *Neurobiol. Learning Memory* 87, 209-217.

Zoellner, L.A., Telch, M., Foa, E.B., Farach, F.J., Mclean, C.P., Gallop, R., et al. (2017). Enhancing extinction learning in posttraumatic stress disorder with brief daily imaginal exposure and methylene blue: a randomized controlled trial. *J. Clin. Psychiat.* 78, e782-e789. doi: 10.4088/JCP.16m10936. 30

【図面】

【図 1】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

- シャー エービー 25 2ゼットディー フォレスターヒル ユニバーシティ オブ アバディーン
 (72)発明者 リーデル, ゲルノット
 イギリス国 アバディーン アバディーンシャー エービー 25 2ゼットディー フォレスターヒル
 ユニバーシティ オブ アバディーン
- (72)発明者 クライン, ヨヘン
 ドイツ国 60438 フランクフルト マックス - フォン - ラウ シュトラーセ 9 ゲーテ ユニバ
 ーシティ
- (72)発明者 シュワブ, カリマ
 ドイツ国 10115 ベルリン ヘシッシェ シュトラーセ 3 - 4 ユニヴェルスタッツメディツ
 イン ベルリン シャリテ インスティテュート オブ ファーマコロジー
- (72)発明者 ウィスチク, クロード ミシェル
 イギリス国, アバディーン アバディーンシャー エービー 24 5アールピー, キング ストリート
 395, タウレックス セラピューティクス リミテッド
- 審査官 今村 明子
- (56)参考文献 国際公開第2018/041739 (WO, A1)
 特表2010-530403 (JP, A)
 国際公開第2018/019823 (WO, A1)
 BADDELEY T C; ET AL, JOURNAL OF PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEU
 TICS, 2014年10月15日, VOL:352, NO:1, PAGE(S):110 - 118(1 - 9), [http://dx.doi.org/10
 .1124/jpet.114.219352](http://dx.doi.org/10.1124/jpet.114.219352)
 Biomed Research International, 2016年, Vol.2016, Article ID3245935
 Journal of Alzheimer's Disease, 2018年, Vol.61, p.435-457
 Progress in Neurobiology, 2012年, Vol.96, p.32-45
 Brain Imaging and Behavior, 2017年, Vol.11, p.640-648
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
 A 6 1 K
 A 6 1 P
 C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T
 N)