

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6689078号
(P6689078)

(45) 発行日 令和2年4月28日 (2020.4.28)

(24) 登録日 令和2年4月9日 (2020.4.9)

(51) Int. Cl.

F 1

| | | | | |
|----------------|---------------|------------------|----------------|---------------|
| A 6 1 K | 31/352 | (2006.01) | A 6 1 K | 31/352 |
| A 6 1 P | 1/16 | (2006.01) | A 6 1 P | 1/16 |
| A 6 1 P | 11/00 | (2006.01) | A 6 1 P | 11/00 |
| A 6 1 P | 13/12 | (2006.01) | A 6 1 P | 13/12 |
| A 6 1 P | 17/00 | (2006.01) | A 6 1 P | 17/00 |

請求項の数 20 (全 48 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2015-557221 (P2015-557221)
 (86) (22) 出願日 平成26年2月12日 (2014.2.12)
 (65) 公表番号 特表2016-510340 (P2016-510340A)
 (43) 公表日 平成28年4月7日 (2016.4.7)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/016050
 (87) 国際公開番号 W02014/127016
 (87) 国際公開日 平成26年8月21日 (2014.8.21)
 審査請求日 平成29年2月10日 (2017.2.10)
 審判番号 不服2018-12673 (P2018-12673/J1)
 審判請求日 平成30年9月22日 (2018.9.22)
 (31) 優先権主張番号 61/837,743
 (32) 優先日 平成25年6月21日 (2013.6.21)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(73) 特許権者 515220214
 コーバス ファーマシューティカルズ インク.
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02062, ノアウッド, リバー リッジ
 ドライブ 500
 (74) 代理人 100104411
 弁理士 矢口 太郎
 (72) 発明者 テッパー、マーク
 アメリカ合衆国、02459 マサチューセッツ州、ニュータウン、508 ダッド
 リー ロード、スイート 100

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 超高純度なテトラヒドロカンナビノール-11-酸

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

線維性疾患または炎症性疾患を有する対象を治療するために使用する医薬組成物であって、前記医薬組成物は 1 またはそれ以上のカンナビノイドを有し、前記 1 またはそれ以上のカンナビノイドは、少なくとも 98% (w/w) の (6aR, 10aR) - 3 - (1', 1' - ジメチルヘプチル) - 8 - テトラヒドロ - カンナビノール - 9 - カルボン酸 (アジュレム酸)、またはその薬学的に許容可能な塩を有し、前記 1 またはそれ以上のカンナビノイドは、CB2 受容体に対するその K_i (K_i CB2) よりも 12.3 倍大きい範囲の K_i を CB1 受容体 (K_i CB1) に対して有する、医薬組成物。

【請求項 2】

請求項 1 記載の医薬組成物において、前記線維性疾患は、強皮症、肝硬変、間質性肺線維症、特発性肺線維症、デュピュイトラン拘縮、ケロイド、嚢胞性線維症、慢性腎臓疾患、慢性移植片拒絶、瘢痕 / 創傷治癒異常、術後癒着、反応性線維症、及び臓器の線維症からなる群から選択される、医薬組成物。

【請求項 3】

請求項 2 記載の医薬組成物において、前記強皮症は、全身性硬化症、強皮症様障害、及び皮膚硬化を伴わない強皮症から選択される、医薬組成物。

【請求項 4】

請求項 2 記載の医薬組成物において、前記臓器の線維症は、皮膚線維症、肺線維症、肝臓線維症、腎臓線維症、及び心臓線維症から選択される、医薬組成物。

10

20

【請求項 5】

請求項 1 記載の医薬組成物において、前記炎症性疾患は、全身性エリテマトーデス、A I D s、多発性硬化症、関節リウマチ、乾癬、糖尿病、癌、喘息、アトピー性皮膚炎、自己免疫性甲状腺障害、潰瘍性大腸炎、クローン病、発作、虚血、及び神経変性疾患からなる群から選択される、医薬組成物。

【請求項 6】

請求項 5 記載の医薬組成物において、前記糖尿病は 1 型糖尿病である、医薬組成物。

【請求項 7】

請求項 5 記載の医薬組成物において、前記神経変性疾患は、アルツハイマー病またはパーキンソン病である、医薬組成物。

10

【請求項 8】

請求項 1 記載の医薬組成物において、前記医薬組成物は、経口投与、静脈内投与、局所的投与、間質投与、吸入投与、インプラントによる投与、パッチによる投与、または眼投与のために製造される、医薬組成物。

【請求項 9】

請求項 1 記載の医薬組成物において、前記対象はヒトである、医薬組成物。

【請求項 10】

請求項 1 記載の医薬組成物において、前記対象はヒトではない動物である、医薬組成物。

【請求項 11】

請求項 10 記載の医薬組成物において、前記ヒトではない動物はイヌまたはネコである、医薬組成物。

20

【請求項 12】

請求項 1 記載の医薬組成物において、前記医薬組成物は、約 0.5 mg ~ 約 120 mg の (6aR, 10aR) - 3 - (1', 1' - ジメチルヘプチル) - 8 - テトラヒドロ - カンナビノール - 9 - カルボン酸、またはその薬学的に許容可能な塩を有する単位投薬製剤である、医薬組成物。

【請求項 13】

請求項 1 記載の医薬組成物において、前記医薬組成物は、約 0.15 mg ~ 約 40 mg の (6aR, 10aR) - 3 - (1', 1' - ジメチルヘプチル) - 8 - テトラヒドロ - カンナビノール - 9 - カルボン酸、またはその薬学的に許容可能な塩を有する単位投薬製剤である、医薬組成物。

30

【請求項 14】

請求項 1 記載の医薬組成物において、前記 1 またはそれ以上のカンナビノイドは、99 % (w/w) の (6aR, 10aR) - 3 - (1', 1' - ジメチルヘプチル) - 8 - テトラヒドロ - カンナビノール - 9 - カルボン酸、またはその薬学的に許容可能な塩を有する、医薬組成物。

【請求項 15】

請求項 1 記載の医薬組成物において、前記線維性疾患は強皮症である、医薬組成物。

【請求項 16】

請求項 1 記載の医薬組成物において、前記線維性疾患は嚢胞性線維症である、医薬組成物。

40

【請求項 17】

請求項 1 記載の医薬組成物において、前記炎症性疾患は皮膚筋炎である、医薬組成物。

【請求項 18】

請求項 1 記載の医薬組成物において、前記炎症性疾患は全身性エリテマトーデスである、医薬組成物。

【請求項 19】

請求項 1 記載の医薬組成物において、前記 1 またはそれ以上のカンナビノイドは、0.5 % (w/w) 未満の 11 - ヒドロキシ - (6aR, 10aR) - 3 - (1', 1' - ジメ

50

チルヘブチル) - 8 - テトラヒドロカンナビノール (H U - 2 1 0) を有する、医薬組成物。

【請求項 2 0】

請求項 1 9 記載の医薬組成物において、前記 1 またはそれ以上のカンナビノイドは、0 . 1 % (w / w) 未満の 1 1 - ヒドロキシ - (6 a R , 1 0 a R) - 3 - (1 ' , 1 ' - ジメチルヘブチル) - 8 - テトラヒドロカンナビノール (H U - 2 1 0) を有する、医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

10

(関連出願の相互参照)

本出願は米国仮特許出願第 6 1 / 7 6 3 , 6 3 0 号 (2 0 1 3 年 2 月 1 2 日出願) および同第 6 1 / 8 3 7 , 7 4 3 号 (2 0 1 3 年 6 月 2 1 日出願) の優先権を主張する (それらのそれぞれの開示は参照によりそれらの全体が本明細書中に組み込まれる) 。

【0 0 0 2】

本発明は、医薬品化学の分野におけるものであり、超高純度なテトラヒドロカンナビノール - 1 1 - 酸化合物、その医薬組成物および合成に関連する。本発明はまた、本発明の化合物および医薬組成物を、様々な状態 (例えば、炎症、痛み、および線維症など) を処置および / または防止するために使用する方法に関連する。

20

【背景技術】

【0 0 0 3】

テトラヒドロカンナビノール (T H C) はマリファナの主要な精神活性成分である。気分を変化させる影響に加えて、T H C は、鎮痛性、抗炎症性および制吐性の性質を含めて、他の様々な活性 (そのいくつかが治療的価値を有する場合がある) を示すことが報告されている。T H C の潜在的な治療的価値は、精神活性影響を最小限に抑え、一方で、潜在的に医療に有益である活性を保持する関連化合物についての探索を引き起こしている。

【0 0 0 4】

例えば、(6 a R , 1 0 a R) - 3 - (1 ' , 1 ' - ジメチルヘブチル) - 8 - テトラヒドロ - カンナビノール - 9 - カルボン酸 (I U P A C 名称) (これはまた、アジュレム酸 (a j u l e m i c a c i d ; A J A) として知られている) が、痛みおよび炎症を、単独で、または他の薬剤との組合せでのどちらでも処置するための候補物である。

30

【0 0 0 5】

痛みおよび炎症におけるカンナビノイド研究の現在の一連の知識からは、カンナビノイド受容体の C B 1 および C B 2 が、侵害受容、感作、痛みシグナル伝達および痛み処理に関連づけられるシナプス後シグナル伝達機構および免疫機構の開始および維持において重要な役割を果たしていることが示唆される。以前には、アジュレム酸の純粋でない調製物が C B 1 受容体および C B 2 受容体の両方に対して親和性を有し、C B 1 受容体に対する親和性の方が大きいことが示されている (1 4) 。本発明は初めて、C B 1 受容体よりも C B 2 受容体に対して大きい親和性を示す高度に精製された形態のアジュレム酸を提供する。

40

【0 0 0 6】

この超高純度なアジュレム酸は、線維性疾患、例えば、強皮症、全身性硬化症、強皮症様障害、皮膚硬化を伴わない強皮症 (s i n e s c l e r o d e r m a) 、肝硬変、間質性肺線維症、特発性肺線維症、デュピュイトラン拘縮、ケロイド、慢性腎臓疾患、慢性移植片拒絶、臓器 (例えば、肝臓、食道、心臓、肺、腸など) の線維症、および他の瘢痕 / 創傷治癒異常、術後癒着、ならびに反応性線維症など、同様にまた、炎症性疾患、例えば、狼瘡、多発性硬化症、関節リウマチ、皮膚筋炎、マルファン症候群、乾癬、1 型糖尿病、糖尿病、ガン、喘息、アトピー性皮膚炎、自己免疫性甲状腺障害、潰瘍性大腸炎、クローン病、パーキンソン病、アルツハイマー病、H I V 感染、発作および虚血 (C B 2 受容体の活性化が疾患の病態生理学において役割を果たす場合) などを処置するために使用

50

することができる。

この出願の発明に関連する先行技術文献情報としては、以下のものがある（国際出願日以降国際段階で引用された文献及び他国に国内移行した際に引用された文献を含む）。

（先行技術文献）

（特許文献）

| | | |
|----------|---------------------------|----|
| （特許文献1） | 米国特許第7,553,863明細書 | |
| （特許文献2） | 米国特許出願公開第2016/0367518号明細書 | |
| （特許文献3） | 米国特許出願公開第2007/0060636号明細書 | |
| （特許文献4） | 米国特許出願公開第2015/0141501号明細書 | |
| （特許文献5） | 米国特許出願公開第2013/0338220号明細書 | 10 |
| （特許文献6） | 米国特許出願公開第2004/0110827号明細書 | |
| （特許文献7） | 米国特許出願公開第2004/0143126号明細書 | |
| （特許文献8） | 米国特許出願公開第2004/0186166号明細書 | |
| （特許文献9） | 米国特許出願公開第2005/0009903号明細書 | |
| （特許文献10） | 米国特許出願公開第2007/0099988号明細書 | |
| （特許文献11） | 米国特許出願公開第2010/0035978号明細書 | |
| （特許文献12） | 米国特許出願公開第2012/0309820号明細書 | |
| （特許文献13） | 米国特許第5,338,753明細書 | |
| （特許文献14） | 米国特許第7,413,748明細書 | |
| （特許文献15） | 米国特許第4,880,830明細書 | 20 |
| （特許文献16） | 米国特許第6,974,835明細書 | |
| （特許文献17） | 米国特許出願公開第2007/0060639号明細書 | |
| （特許文献18） | 米国特許出願公開第2006/0009528号明細書 | |
| （特許文献19） | 米国特許出願公開第2009/0075875号明細書 | |
| （特許文献20） | 米国特許出願公開第2011/0274703号明細書 | |
| （特許文献21） | 国際公開第2012/048045号 | |
| （特許文献22） | 国際公開第2012/170290号 | |

（非特許文献）

| | | |
|----------|---|----|
| （非特許文献1） | Ambrosio et al., "Ajulemic acid, a synthetic nonpsychoactive cannabinoid acid, bound to the ligand binding domain of the human peroxisome proliferator-activated receptor gamma," J Biol Chem. 282 (25): 18625-33 (2007). | 30 |
| （非特許文献2） | Gonzalez et al., "Synthetic cannabinoid ajulemic acid exerts potent antifibrotic effects in experimental models of systemic sclerosis," Ann Rheum Dis. 71 (9): 1545-51 (2012). | |
| （非特許文献3） | Florke et al., "Silica" Encyclopedia of Industrial Chemistry. 32: 421-507 (2008). | 40 |
| （非特許文献4） | International Search Report for International Application No. PCT/US2011/054985, mailed February 8, 2012 (3 pgs). | |
| （非特許文献5） | Batista et al., "Determination of ajulemic acid and its glucuronide in human plasma by gas chromatography-mass spectrometry," J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 820 (1): 77-82 (2005) | 50 |

（非特許文献6） Brownjohn et al., "Cannabinoids and neuropathic pain," *Neuro. Pain.* 79 - 102 (2012).

（非特許文献7） Burstein et al., "Ajulemic acid: A novel cannabinoid produces analgesia without a 'high'," *Life Sci.* 75(12):1513 - 22 (2004).

（非特許文献8） Burstein et al., "Synthetic nonpsychotropic cannabinoids with potent antiinflammatory, analgesic, and leukocyte antiadhesion activities," *J Med Chem.* 35(17):3135 - 41 (1992).

10

（非特許文献9） Buzzi et al., "The antimigraine drug, sumatriptan (GR43175), selectively blocks neurogenic plasma extravasation from blood vessels in dura mater" *British Journal of Pharmacology* 99(1):202 - 6 (1990).

（非特許文献10） Cheng et al., "Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I₅₀) of an enzymatic reaction," *Biochem Pharmacol.* 22(23):3099 - 108 (1973).

20

（非特許文献11） Chung et al., "Segmental spinal nerve ligation model of neuropathic pain," *Methods Mol. Med.* 99:35 - 45 (2004).

（非特許文献12） Compton et al., "Aminoalkylindole analogs: cannabimimetic activity of a class of compounds structurally distinct from delta 9-tetrahydrocannabinol," *J Pharmacol Exp Ther.* 263(3):1118 - 26 (1992).

30

（非特許文献13） Compton et al., "Pharmacological profile of a series of bicyclic cannabinoid analogs: classification as cannabimimetic agents," *J Pharmacol Exp Ther.* 260(1):201 - 9 (1992).

（非特許文献14） Zurier RB, Sun YP, George KL, Stebulis JA, Rossetti RG, Skulas A, Judge E, Serhan CN. Ajulemic acid, a synthetic cannabinoid, increases formation of the endogenous proresolving and anti-inflammatory eicosanoid, lipoxin A₄. *FASEB J.* May 2009, Vol. 23(5), pp 1503 - 9. (page 1504, left column, 'Reagents')

40

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

50

本発明は、超高純度なアジュレム酸を有する組成物であって、前記アジュレム酸はC B 2 受容体に対する親和性がC B 1 受容体に対するその親和性よりも大きい組成物を提供する。いくつかの実施形態において、超高純度なアジュレム酸は、C B 1 受容体に対するその親和性よりも約2倍から約100倍にまで及ぶ大きい親和性、約5倍から50倍にまで及ぶ大きい親和性、約15倍から50倍にまで及ぶ大きい親和性、約10倍から約40倍にまで及ぶ大きい親和性、または約20倍から約40倍にまで及ぶ大きい親和性をC B 2 受容体に対して有する。本発明は、アジュレム酸を有する組成物であって、前記アジュレム酸はC B 1 受容体についての K_i がC B 2 受容体についてのその K_i よりも大きい組成物を提供する。いくつかの実施形態において、アジュレム酸は、C B 2 受容体についてのその K_i よりも約2倍から約100倍にまで及ぶ大きい K_i 、約5倍から50倍にまで及ぶ大きい K_i 、約15倍から50倍にまで及ぶ大きい K_i 、約10倍から約40倍にまで及ぶ大きい K_i 、または約20倍から約40倍にまで及ぶ大きい K_i をC B 1 受容体に対して有する。本発明のこの組成物におけるアジュレム酸は、約97%超の純度、約98%超の純度、または約99%超の純度を有する場合がある。

10

【0008】

本発明はまた、アジュレム酸を有する組成物であって、前記アジュレム酸が、約97%超の純度、約98%超の純度、または約99%超の純度を有する組成物を提供する。

【0009】

本発明は、アジュレム酸を有する組成物であって、前記アジュレム酸が、約1% (w/w) 未満、約0.5% (w/w) 未満、約0.3% (w/w) 未満、約0.2% (w/w) 未満、約0.1% (w/w) 未満、または約0.05% (w/w) 未満の11-ヒドロキシ-(6aR, 10aR)-3-(1', 1'-ジメチルヘプチル)-8-テトラヒドロカンナビノール(HU-210)または他のC B 1 高活性化化合物を有する組成物を提供する。

20

【0010】

本発明のこの組成物におけるアジュレム酸は、C B 2 受容体に対する親和性がC B 1 受容体に対するその親和性よりも大きい場合がある。いくつかの実施形態において、アジュレム酸は、C B 1 受容体に対するその親和性よりも約5倍から50倍にまで及ぶ大きい親和性、約10倍から50倍にまで及ぶ大きい親和性、約20倍から約40倍にまで及ぶ大きい親和性をC B 2 受容体に対して有する。

30

【0011】

本発明はさらに、線維性疾患を有する対象を処置する方法であって、治療効果的な量のアジュレム酸を前記対象に投与する工程を有し、前記アジュレム酸はC B 2 受容体に対する親和性がC B 1 受容体に対するその親和性よりも大きい方法を提供する。いくつかの実施形態において、アジュレム酸は、C B 1 受容体に対するその親和性よりも約2倍から約100倍にまで及ぶ大きい親和性、約5倍から50倍にまで及ぶ大きい親和性、約15倍から50倍にまで及ぶ大きい親和性、約10倍から約40倍にまで及ぶ大きい親和性、または約20倍から約40倍にまで及ぶ大きい親和性をC B 2 受容体に対して有する。線維性疾患は、皮膚線維症、肺線維症、肝線維症、腎臓線維症、心臓線維症、またはいずれかの他の臓器線維症である場合がある。線維性疾患は、強皮症、全身性硬化症、強皮症様障害、皮膚硬化を伴わない強皮症、肝硬変、間質性肺線維症、特発性肺線維症、デュピュイトラン拘縮、ケロイド、嚢胞性線維症、慢性腎臓疾患、慢性移植片拒絶、または他の癒傷/創傷治癒異常、術後癒着、および反応性線維症である場合がある。

40

【0012】

上記アジュレム酸は、経口投与、静脈内投与、局所投与、眼投与、間質投与によって、吸入によって、またはインプラント若しくはパッチにより投与される場合がある。

【0013】

本発明は、痛みを対象において軽減させる方法であって、治療効果的な量の超高純度なアジュレム酸を投与する工程を有する方法を提供する。当該アジュレム酸は、C B 2 受容体に対する親和性がC B 1 受容体に対する親和性よりも大きい場合がある。いくつかの実

50

施形態において、アジュレム酸は、CB1受容体に対するその親和性よりも約2倍から約100倍にまで及ぶ大きい親和性、約5倍から50倍にまで及ぶ大きい親和性、約15倍から50倍にまで及ぶ大きい親和性、約10倍から約40倍にまで及ぶ大きい親和性、または約20倍から約40倍にまで及ぶ大きい親和性をCB2受容体に対して有する。痛みの軽減が、少なくとも1つの疼痛尺度に従って測定される場合がある。例えば、痛みが、11ポイント疼痛尺度で少なくとも約1ポイント、少なくとも約2ポイント、少なくとも約3ポイント、少なくとも約4ポイント、少なくとも約5ポイント、少なくとも約6ポイント、少なくとも約7ポイント、または少なくとも約8ポイント軽減される場合がある。

【0014】

本発明はまた、炎症を対象において軽減させる方法であって、治療効果的な量の超高純度なアジュレム酸を投与する工程を有する方法を提供する。当該アジュレム酸は、CB2受容体に対する親和性がCB1受容体に対する親和性よりも大きい場合がある。いくつかの実施形態において、アジュレム酸は、CB1受容体に対するその親和性よりも約2倍から約100倍にまで及ぶ大きい親和性、約5倍から50倍にまで及ぶ大きい親和性、約15倍から50倍にまで及ぶ大きい親和性、約10倍から約40倍にまで及ぶ大きい親和性、または約20倍から約40倍にまで及ぶ大きい親和性をCB2受容体に対して有する。炎症の軽減が、少なくとも1つの炎症アッセイによって測定される場合がある。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】図1は、アジュレム酸((6aR, 10aR)-3-(1', 1'-ジメチルヘブチル)-8-テトラヒドロカンナビノール-9-カルボン酸)および自然界に存在するペンチル側鎖アナログの(6aR, 10aR)-8-テトラヒドロカンナビノール-9-カルボン酸の構造を示すものである。

【図2】図2は、超高純度アジュレム酸の合成のためのいくつかの重要な工程を示すものである。

【図3】図3は、超高純度なアジュレム酸(AJA)の合成のためのスキームを示すものである。

【図4】図4は、米国特許第5,338,753号明細書に記載されるようなAJAの回分処理物、および5-(1', 1'-ジメチルヘブチル)-レゾルシノール(DMHR)を用いて製造される超高純度なAJA(ロット: JBA1001A04)の性質の比較を示すものである。

【図5A-B】図5Aおよび図5Bは、超高純度な5-(1', 1'-ジメチルヘブチル)-レゾルシノール(DMHR)を用いて製造されるAJAのLC-MS分析を示すものである。

【図6】図6は、合成された超高純度なAJAのHPLC分析を示すものである。

【図7】図7は、合成された超高純度なAJAのHPLC分析の拡大画像を示すものである。

【図8】図8は、99.8%の純度を示す超高純度なAJAの分析を示すものである。

【図9】図9は、選択されたカンナビノイドについての親和性定数を示すものである。超高純度なAJAは、大きな違いをCB1受容体についての K_i とCB2受容体についての K_i との間において示す。

【図10】図10は、Burstein, S.H.他(1992)、Synthetic nonpsychotropic cannabinoids with potent antiinflammatory, analgesic, and leukocyte antiadhesion activities、J Med Chem 35(17)、3135~3141から引用されるカタレプシー影響および抗侵害受容影響を示すものである。

【図11】図11は、Dyson他[3]に記載されるようなラットでの全身投与の後におけるカンナビノイドの血漿中レベルおよび脳内レベルを示すものである。

【図12】図12は、CB2およびCB1についての選択されたカンナビノイドの代表的

10

20

30

40

50

な結合曲線を示すものである。

【図13】図13は、HEK-293細胞で発現されるhCB₁受容体およびhCB₂受容体（上段パネルおよび下段パネル、それぞれ）における[₃₅S]GTP Sターナーオーバーに対するCP55940（丸）およびJBT-101（超高純度AJA；四角）の影響を明らかにするものである。それぞれの濃度-影響曲線は4回の反復の平均（±SEM）を表す。使用された条件はWiley他（20）から適合化された。

【図14】図14は、JBT-101が、30mg/kg以上の大きい用量でのみ、リング試験において活性であることを示すものである。すべての薬物がオイルでの経口投与によって与えられた。条件は、Wiley JLおよびMartin BR（21）によって報告される通りであった。この影響は、CB1媒介であると見なされる。

【図15】図15は、JBT-101が、30mg/kg以上の大きい用量でのみ、マウスでのホットプレートアッセイにおいて活性であることを示すものである。比較によって、HU-239（すなわち、米国特許第5,338,753号明細書で報告されるAJA）は、経口投与によって与えられる少ない用量（0.5mg/kg未満）で活性であった。MPE：最大可能影響。実験条件は、Burststein他（22）において報告される通りであった。

【図16】図16は、JBT-101がマウスでの低体温アッセイにおいて不活性であることを示すものである。すべての薬物がオイルでの経口投与によって与えられた。実験条件は、Wiley JLおよびMartin BR（21）によって報告される通りであった。この影響は、CB1媒介であると見なされる。

【図17】図17は、HL-60細胞でのPGJの刺激における超高純度JBT-101のCB2特異性を示すものである。CB2アンタゴニストのSR144528は、HL60免疫系細胞における超高純度AJAにより誘導されるPGJ合成を低い濃度で低下させた（四角）。CB1アンタゴニストのSR141716は、はるかにより小さい影響を有する（三角）。DMSOコントロール（白丸）。細胞の処置を、20,000細胞/500μl RPMI/FCS培地/ウエルにより48ウエルプレートにおいて行った。細胞を37および5%CO₂において20時間インキュベーションした。培地を500μlの血清非含有RPMIに変え、TNF（10nM）を加えた。SR144528[1μM]またはSR141716[10μM]により2時間処置し、100μlをELISAアッセイのために取り出した。N=4。

【図18】図18は、JBT-101が、強皮症のブレオマイシン・マウス・モデルにおける皮膚線維症を阻止することにおいて、すなわち、CB2依存的応答において効果的であることを示すものである。マウスをブレオマイシンの局所注射により毎日処置し、示された用量のJBT-101（超高純度AJA）を経口投与した。1mg/kgの用量（データは示されず）を含めて、すべての用量が、皮膚の肥厚を阻止することにおいて等しく効果的であった。

【図19】図19は、JBT-101（超高純度AJA）が、CB1活性が認められる用量よりも十分に低い用量で、アラキドン酸誘導の足浮腫のモデルにおける足の体積を阻止することにおいて、すなわち、CB2依存的応答において効果的であることを示すものである。マウスには、示された用量のJBT-101（超高純度AJA）を経口投与し、右足におけるアラキドン酸の足底内注射を90分後に続けた。右足の体積をアラキドン酸注射後45分で測定した。

【発明を実施するための形態】

【0016】

THC誘導體

テトラヒドロカンナビノール（THC）はマリファナの主要な精神活性成分である。気分を変化させる影響に加えて、THCは、鎮痛性、抗炎症性および制吐性の性質を含めて、他の様々な活性（そのいくつかが治療的価値を有する場合がある）を示すことが報告されている。THCの潜在的な治療的価値は、精神活性影響を最小限に抑え、一方で、潜在的に医療に有益である活性を保持する関連化合物についての探索を引き起こしている。

10

20

30

40

50

【0017】

例えば、(6aR, 10aR) - 3 - (1', 1' - ジメチルヘプチル) - 8 - テトラヒドロ - カンナビノール - 9 - カルボン酸 (これはまた、アジュレム酸として知られている) が、痛みおよび炎症を、単独で、または他の薬剤との組合せでのどちらでも処置するために使用される場合がある。

【0018】

痛みおよび炎症におけるカンナビノイド研究の現在の一連の知識からは、CB1受容体およびCB2受容体が、侵害受容、感作、痛みシグナル伝達、および痛み処理に関連づけられるシナプス後シグナル伝達機構および免疫機構の開始および維持において重要な役割を果たしていることが示唆される [C. V o s c o p o u l o s および M. L e m a、B r . J . A n a e s t h . (2 0 1 0) 1 0 5 (増刊 1) : i 6 9 ~ i 8 5]。以前には、アジュレム酸のより初期の調製物がCB1受容体およびCB2受容体の両方に対して親和性を有し、CB1受容体に対する親和性の方が大きいことが示されている。本発明は初めて、CB1受容体よりもCB2受容体に対して大きい親和性を示す精製された形態のアジュレム酸を提供する。この精製 (された) 形態のアジュレム酸はまた、超高純度 (な) アジュレム酸として示される。

10

【0019】

様々な実施形態において、上記アジュレム酸の純度の程度は、約95% (w/w) 超、約96% (w/w) 超、約97% (w/w) 超、約98% (w/w) 超、約99% v 超、約99.1% (w/w) 超、約99.2% (w/w) 超、約99.3% (w/w) 超、約99.4% (w/w) 超、約99.5% (w/w) 超、または約99.9% (w/w) 超である。純度の程度は、下記においてさらに記載されるような様々な異なる方法によって評価される場合がある。

20

【0020】

精製された形態のアジュレム酸の、CB2受容体に対する親和性は、CB1受容体に対する親和性よりも約5倍大きいから約10倍大きいにまで及ぶことができ、しかし、約5X ~ 50X、7X ~ 10X、8X ~ 15X、10X ~ 20X、15X ~ 30X、25X ~ 50X、40 ~ 75X、および50X ~ 100Xの親和性範囲もまた、本発明によって包含される (範囲は、CB1受容体に対するCB2受容体についてのアジュレム酸の親和性の比率を表す)。

30

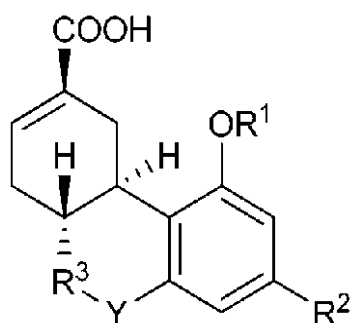
【0021】

1つの実施形態において、本発明の化合物は、式Iに示される構造を有する。本発明の化合物は、約97%超の純度、約98%超の純度、約99%超の純度、約99.1%超の純度、約99.2%超の純度、約99.3%超の純度、約99.4%超の純度、約99.5%超の純度、または約99.9%超の純度を有する場合がある。本発明の化合物は、0.1% (w/w) 未満の11 - ヒドロキシ - (6aR, 10aR) - 3 - (1', 1' - ジメチルヘプチル) - 8 - テトラヒドロカンナビノール (HU - 210) または他のCB1高活性化合物を含有する場合がある。本発明の化合物の精製された形態はまた、超高純度な形態として示される場合がある。本発明によって同様に包含されるものが、下記の式Iにおける化合物の医薬的に許容される塩、エステル、または溶媒和物である。

40

【0022】

【化 1】



10

式 I

【0023】

式中、 R_1 は、水素、 COCH_3 または COCH_2CH_3 であり、 R_2 は、末端芳香族環を必要な場合には有することがある分岐した $\text{C}5 \sim \text{C}12$ アルキル基、または必要な場合には、末端芳香族環を有することがある分岐した $\text{OCHCH}_3(\text{CH}_2)_m$ アルキル基（式中、 m は $0 \sim 7$ である）であり、 R_3 は、水素、 $\text{C}1 \sim 8$ アルキル基または $\text{C}1 \sim 8$ アルカノール基であり、かつ、 Y はゼロ（すなわち、非存在）であるか、あるいは、 NH または酸素の架橋基であるかのどちらかである（ただし、 Y が酸素であり、かつ、 R_2 が、分岐した $\text{C}5 \sim \text{C}12$ アルキルである場合、 R_3 は CHCH_3 ではない）。

20

【0024】

超高純度なアジュレム酸の調製

本発明は、精製された形態のアジュレム酸を調製するプロセスを提供する。本発明のプロセスは下記の工程を含む場合がある：（a）パラ-メンタ-2,8-ジエン1-オール（PMD）および5-(1,1-ジメチルヘプチル)レゾルシノール（DMHR）を反応させて、（6aR,10aR）-3-(1',1'-ジメチルヘプチル)-8-テトラヒドロカンナビノール（化合物8）を形成する工程；（b）化合物8をアセチル化して、（6aR,10aR）-3-(1',1'-ジメチルヘプチル)-8-テトラヒドロカンナビノールアセタート（化合物9）を形成する工程；（c）化合物9を酸化して、11-オキソ-（6aR,10aR）-3-(1',1'-ジメチルヘプチル)-8-テトラヒドロカンナビノールアセタート（化合物10）を形成する工程；（d）化合物10を、過酸化水素を使用して酸化して、（6aR,10aR）-3-(1',1'-ジメチルヘプチル)-8-テトラヒドロカンナビノール-9-カルボン酸アセタート（化合物11）を形成する工程（ただし、過酸化水素対化合物9のモル比は約2：1から約7：1にまで及ぶ）；（e）化合物11を加水分解して、粗アジュレム酸を形成する工程；（f）粗アジュレム酸をアセチル化して、化合物11を形成する工程；および（g）化合物11を加水分解して、精製された形態のアジュレム酸を形成する工程。

30

【0025】

工程（d）において、過酸化水素対化合物9のモル比はまた、約2：1から約6：1にまで、約2：1から約5：1にまで、約2：1から約4：1にまで、約2：1、約2.5：1、約3：1、約3.5：1、または約4：1である場合がある。工程（a）において、PMD対DMHRのモル比は、約1：1から約3：1にまで、約1：1から約2：1にまで、約1：1から約1.1：1にまで、約1.1：1、または約1.2：1である場合がある。工程（a）が、約50～約120で、約60～約110で、約70～約100で、約75～約90で、約70～約80で、約70で、約75で、または約80で行われる場合がある。精製されたアジュレム酸は、約95%（w/w）超の純度、約96%（w/w）超の純度、約97%（w/w）超の純度、約98%（w/w）超の純度、約99%超の純度、約99.1%（w/w）超の純度、約99.2%（w/w）超の純度、約99.3%（w/w）超の純度、約99.4%（w/w）超の純

40

50

度、約 99.5% (w/w) 超の純度、または約 99.9% (w/w) 超の純度を有する場合がある。

【0026】

ある特定の実施形態において、本発明の化合物は 1 若しくはそれ以上のキラル中心を含む。用語「純度」はまた、キラル純度を包含することができる。アジュレム酸の立体異性体の純度は、当該立体異性体の化学的純度および/またはキラル純度を示す。例えば、アジュレム酸の純度はアジュレム酸の化学的純度およびキラル純度の両方を含むことができる。アジュレム酸の立体異性体のキラル純度は、約 98.5% (w/w) 超、約 95% (w/w) 超、約 96% (w/w) 超、約 97% (w/w) 超、約 98% (w/w) 超、約 99% 超、約 99.1% (w/w) 超、約 99.2% (w/w) 超、約 99.3% (w/w) 超、約 99.4% (w/w) 超、約 99.5% (w/w) 超、または約 99.9% (w/w) 超である場合がある。

10

【0027】

本発明の化合物の純度は、ガスクロマトグラフィー (GC) または高圧液体クロマトグラフィー (HPLC) によってアッセイされる場合がある。アジュレム酸の純度をアッセイするための、また、不純物の存在を求めるための他の技術には、核磁気共鳴 (NMR) 分光法、質量分析法 (MS)、GC-MS、赤外分光法 (IR)、薄層クロマトグラフィー (TLC)、および示差走査熱量測定法が含まれるが、これらに限定されない。キラル純度は、キラル GC、または旋光の測定によって評価することができる。

【0028】

20

精製された形態のアジュレム酸は貯蔵後において安定である場合がある。例えば、約 5 での少なくとも 3 ヶ月間の貯蔵の後では、本発明の組成物は、約 98.5% (w/w) 超、約 99% (w/w) 超、約 99.5% (w/w) 超、または約 99.9% (w/w) 超のアジュレム酸を含有する場合がある。約 25 および 60% の相対湿度での少なくとも 3 ヶ月間の貯蔵の後では、本発明の組成物は、約 98.5% (w/w) 超、約 99% (w/w) 超、約 99.5% (w/w) 超、または約 99.9% (w/w) 超のアジュレム酸を含有することができる。

【0029】

上記プロセスのいくつかの実施形態が下記において記載される。これらの実施形態は例示目的のためだけに示され、本発明を限定していない。

30

【0030】

精製

A. アジュレム酸の合成に適用されるアリル酸化の最適化

メチルを 11 位に含む化合物 9 のアリル酸化を、二酸化セレン、その後、過酸化水素を用いて行うことにより、不完全に酸化された中間体、例えば、CB1 高活性な HU-210 を与える 11 位でのアルコールなどを生じさせることなく完了に至る、アジュレム酸を合成する経路が提供される。化合物 9 に対して 8 当量の過酸化水素を使用する初期の実験室実験では、十分な転換が 4 時間 ~ 6 時間で達成されることが示された⁴。図 2 を参照のこと。

【0031】

40

酸化反応は、とりわけ大規模で行われるときには潜在的に危険であるので、安全性評価が行われる。過酸化水素の当量数を、2 当量、2.5 当量、3 当量、および 4 当量から変化させた⁵。これらの低減された当量の過酸化水素による熱的開始温度が、8 当量を用いて認められる 55 の開始温度から変化しなかった。しかし、これらの低減された当量の過酸化水素が使用されたときの最大自己発熱速度がちょうど 7 / 分であった。これは、8 当量の過酸化水素が使用されたときに測定されるかつて認められた 1000 / 分から著しく低下している。2 当量の過酸化水素が使用された場合には、発熱事象は何ら認められず、しかしながら、反応の完了が達成されず、酸へのアルデヒドの 74.1% の転化率が 45 時間後に達成され、このことは、アルデヒドは 10.0% 以下であるという規格値を満たしていなかった。2.5 当量、3 当量、および 4 当量については、反応の完了が達

50

成され、しかしながら、過酸化水素のこれらの当量数に関しては、暴走反応についての潜在的 가능성이依然として存在していた。

【 0 0 3 2 】

したがって、様々な計算を、反応を熱暴走時において停止させるために要求される冷水の添加速度および体積を求めるために、4当量の過酸化水素の使用を仮定して行った。冷水の十分な添加速度および体積が、熱暴走を7 / 分の速度で抑制するために決定され、そして、様々なプロトコルが、3当量の過酸化水素を使用する400gの非GMP回分処理を実施するために実行され、この場合、予冷された水が熱暴走時には利用可能であった。制御不能な発熱事象が、この工程を製造操作において実行している期間中には何ら認められなかった。改善された収率もまた、これら3工程にわたって認められ、16%から21%への収率の増大が認められた。

10

【 0 0 3 3 】

先行技術を上回る利点がいくつかある。合成で使用される試薬を変化させていないが、先行技術は、8当量の過酸化水素を使用する¹ので、潜在的な破局的事象に対してあまりにも近くで行われていたことが明らかにされた。安全性評価を行い、かつ、低減された当量の過酸化水素を検討することによって、超高純度なアジュレム酸の合成において使用されるアリル酸化反応のための安全に拡大可能なプロセスが明確にされており、一方で、そのようなプロセスはまた、収率を16%から21%に改善させている。

【 0 0 3 4 】

B・DMHRおよびPMDからのアジュレム酸の改善された合成

20

超高純度なDMHR(5-(1,1-ジメチルヘプチル)レゾルシノール)を、Norac Pharma(Azusa、カリフォルニア州)から購入してもよい。

【 0 0 3 5 】

改善された合成手順および安全性

工程1(6aR,10aR)-3-(1',1'-ジメチルヘプチル)-8-テトラヒドロカンナビノールの調製

最初に、反応で使用されるPMD(図3における7a)の量を1.25当量から1.1当量に減らした。これは、0.1当量過剰のPMDが、DMHR(図3における6)のすべてと反応するために十分であったからであった。

【 0 0 3 6 】

30

以前の手順では、回分反応物を3時間にわたって加熱還流すること(約110)が記載される。水を共沸除去すること、および2.0%(AUC)以下のカンナビジオールの規格値を満たすことにおいて効果的であるにもかかわらず、この手順では、化合物1の分解およびDMHRの再生が、長期間の加熱を行ったときに誘導された。副産物の形成を避けるために、反応を75で、すなわち、その後のアセチル化反応と同じ温度で行った。反応は、反応時間に対する影響を何ら伴うことなく24時間にわたって安定であった。水を共沸除去するために、反応液を不完全な真空のもとに置いた。ディーン・スターク・トラップを使用して、水を回収し、終点を、もはや水がトラップに回収されない点として再定義した。

【 0 0 3 7 】

40

最後に、結晶化条件を再検討した。溶解性試験により、収率を改善するための最も効果的なイソプロピルアルコール(IPA):水の比が3:1~5:1のIPA:水の範囲であることが明らかにされた。このことは、以前の手順(5.33:1の比率が用いられた)とは対照的であった。種々の比率による実験の後、8:2のIPA:水を結晶化のための溶媒比として使用した。また、結晶サイズが、攪拌速度を遅くし、これにより、より大きな結晶を無傷に保つことによって改善された。

【 0 0 3 8 】

種結晶が結晶化のためにもはや要求されなかった。これは、アセチル化PMD/DMHRカップリング生成物が、記載される手順の後では一貫して結晶化するからである。

【 0 0 3 9 】

50

工程2 (6aR, 10aR) - 3 - (1', 1' - ジメチルヘプチル) - 8 - テトラヒドロカンナビノール - 9 - カルボン酸アセタートの調製

以前の手順では、3当量の過酸化水素が酸化反応のために使用された。このことは、別の以前の手順で使用される8当量よりもはるかに安全であったが、依然として熱暴走の可能性があった。したがって、2当量の過酸化水素を評価した。これは、以前の安全性研究では、2当量の過酸化水素が熱暴走の危険性を劇的に低下させることが示されたからである。48時間後、反応液は、未反応アルデヒドは10% (AUC) 未満であるという規格値を満たしていなかった。それにもかかわらず、反応液は粗アジュレム酸にまで至っていた(6.2%の収率、96.8% (AUC)の純度)。純度が同程度であったとしても、この収率は、3当量の過酸化水素による反応よりも著しく低かった。3当量の過酸化水素を使用したが、このように、製造期間中のこの工程の綿密な技術的管理により、良好な温度制御を保證することができる。また、400gの非GMP回分処理物のために以前に行われたように、冷水が、制御されなかった発熱反応の場合における停止選択肢として存在した。

【0040】

トルエンが以前には、過酸化水素酸化の後において抽出溶媒として使用された。手順はその後、混合物を蒸発乾固し、ヘプタンを加えることが要求された。蒸発乾固は容易に拡大することができず、また、トルエンからヘプタンへの溶媒切り換えは効率的に実行することができないので、他の溶媒を可能な抽出溶媒として評価した。最初に、ヘプタンを評価した。ヘプタンは生成物を有機層に問題なく抽出したにもかかわらず、相分離が遅く、かつ、3つの層が存在した。第2の試みでは、抽出溶媒を何ら使用しなかった。過酸化水素の反応を20wt%のチオ硫酸ナトリウムにより停止させることにより、2つの相がもたらされることが認められた。したがって、水層を、さらなる有機溶媒を用いることなく除くことができた。

【0041】

合成プロセス開発の期間中、加水分解後の相分離が、3つの層の形成、中間層の大きい粘度、および相のすべてが暗い色であることのために問題となった。MTBEを、ヘプタンに代わる可能な抽出溶媒として評価した。MTBE抽出は、2つの層、すなわち、暗褐色の有機層と、透明な赤色水層とへの迅速な相分離を引き起こしたにもかかわらず、HPLC分析により、生成物、および不純物のすべてが有機層に留まっていることが明らかにされた。その後、ヘプタンを抽出溶媒として再び評価した。400gの回分式製造において認められたように、反応混合物が3つの暗い層に分離した；しかしながら、中間の油層は移動性はあるかにより大きかった(これは、THFが存在しているためであると考えられる)。HPLC分析により、上部の有機層が不純物を含有し、生成物を全く含有しておらず、一方、2つの下部層がほとんどの場合、生成物を微量の不純物とともに含有することが示された。相分離は依然として、暗い色のために視認困難であったにもかかわらず、ヘプタン抽出では、生成物を不純物から分離することができた。

【0042】

その後の酸性化工程および抽出工程を45 ~ 55 の代わりに周囲温度で行った。これらの条件は、MTBEを加水分解して、クロロメタンおよびtert-ブタノールを生じさせる危険性を低下させた。

【0043】

次工程が、回分処理物をセライト(登録商標)でろ過して、乳濁液を壊すことであった。ろ過は著しく遅かったので、水層をろ過前に除いた。MTBEからアセトニトリルへの溶媒切り換えは問題がなく、また、粗アジュレム酸は記載される手順の後では一貫して結晶化するので、種結晶が、結晶化のためにもはや要求されなかった。

【0044】

工程3 粗アジュレム酸の調製

トルエンからヘプタンへの困難な溶媒切り換えを避けるために、アセチル化反応を45 ~ 55 でヘプタンにおいて完了させた。この変更は小規模では成功し、しかし、反応

混合物が、約 0.5 当量のピリジンが 14.5 g の規模で反応器に装入された後では固化した。アジュレム酸を回収することを試みるために、MTBE を加えて、沈殿物を可溶化し、HCl を使用して、ピリジンを除いた。この試みは不成功であった。これは、固形物が、溶媒をロータリーエバポレーターで蒸発させている間に析出したからであった。NMR 分析により、沈殿物がアジュレム酸 - ピリジンの部分塩であることが示された。いくつかの実験を、塩形成の原因を明らかにするために完了した。最初に、同じ反応をより小規模（約 2.5 g）で行った。ピリジン（0.5 当量）を混合物にゆっくり加えた。またもや、反応液が固化した。しかしながら、これは、完全な 2.1 当量のピリジンを加えたときに改善された。その後、反応を 25 および 75 で行い、再び、0.5 当量のピリジンを加え、その後、完全な量のピリジンを加えた。両方の場合において、塩が沈殿し、しかし、ピリジンのすべてが添加されると溶解した。より大きな回分処理サイズでは、より遅い添加が要求されることになるので、この手順は、拡大可能でないと判断された。

10

【0045】

したがって、ヘプタン（6 当量）に溶解される粗アジュレム酸を、ヘプタン（2 当量）に溶解される完全な 2.1 当量のピリジンを含む反応器に加えた。これにより、ピリジンが常に過剰であったので、部分塩の形成が回避された。このことはまた、反応体積を 10 当量のヘプタン（追加の 2 当量が、反応器を洗浄するために使用された）に増大させ、これにより、結晶化期間中の移動性が改善された。

【0046】

工程 4 超高純度なアジュレム酸の調製

類似する変更を、同じ反応がその都度、行われるように工程 2 での処理の場合のようにこの工程において行った。反応混合物の酸性化を周囲温度で行って、MTBE の加水分解を回避し、また、水による追加の洗浄を加えて、オープンの腐食を回避した。

20

【0047】

工程 4 に関する主要事項が乾燥時間であった。410 ppm 以下のアセトニトリルの規格値に達するために、以前の 400 g での一連の非 GMP 回分処理物については 9 日を必要とした。したがって、IPA / 水からの結晶化を評価した。溶解性研究では、1 : 1 の IPA / 水混合物におけるアジュレム酸は、3 : 1 のアセトニトリル / 水混合物におけるアジュレム酸と同様な溶解性を有することが示された。アジュレム酸が IPA / 水から首尾よく単離されたにもかかわらず、乾燥時間は改善せず、5000 ppm 以下の IPA の規格値に達するには 2.5 g の規模では 7 日超を必要とした。生成物に残留する IPA の量は LOD と相関しなかった。このことは、水が乾燥時間において重要な役割を果たしたことを示唆している。したがって、純粋なアセトニトリルからの結晶化を 19.5 g の規模で評価した。これは、はるかにより短い乾燥時間を、検出可能な量のアセトニトリルを 81 時間において全く伴うことなくもたらした。

30

【0048】

超高純度な DMHR（99.4%（AUC）の純度）の使用試験は首尾よく、アジュレム酸に至った。このアジュレム酸の純度は 99.9%（AUC）であり、0.04% 以上の単一ピークは何ら認められなかった。

【0049】

C. 超高純度 DMHR および PMD からのアジュレム酸の合成（大規模）

工程 1

200 ガロン（約 757 リットル）の反応器に、超高純度 DMHR（20.0 kg、1 当量）、PTSA（3.40 kg、0.2 当量）、およびトルエン（102.3 kg、5 体積当量）を装入した。これに、PMD（14.18 kg、1.1 当量）を、回分処理物の温度を 15 ~ 30 で維持しながら 38 分かけて加え、その後、トルエン洗浄（17.4 kg、1 体積当量）を行った。回分処理物を不完全な真空のもとで 70 ~ 80 に加熱し、そして、トルエンが満たされるディーン・スターク・トラップを使用して、水を、一定体積のトルエンを維持しながらトルエンとの共沸蒸留によって除いた。反応が、HPLC によって 2 時間後には完了していると決定された。この場合、HPLC により、カ

40

50

ンナビジオールが全く検出されず、106 : 1の 8 : 9比が得られた(規格値は、2.0%(AUC)以下のカンナビジオール、および、8 : 9比が4 : 1以上であることであった)。回分処理物を25 および大気圧において一晩保った。

【0050】

回分処理物を70 ~ 80 に再加熱し、ピリジン(10.70 kg、1.6当量)および無水酢酸(13.80 kg、1.6当量)をそれぞれ、回分処理物の温度を70 ~ 80 で維持しながら約30分かけて加えた。2時間後、回分処理物からサンプルを採取した。この回分処理物は、0.4%(AUC)の化合物1が検出されたことにより、化合物1は2.0%(AUC)以下であるという規格値に合格した。水(160.0 kg、8当量)を加え、回分処理物を50 ~ 60 に調節した。下側の水層を除き、回分処理物をさらに、50 ~ 60 で水(40 kg、2.0当量)により洗浄した。反応混合物を200ガロン(約757リットル)の反応器から250リットルの反応器に移した。

【0051】

トルエン(100 L、5体積当量)を留去し、IPA(78.6 kg、8体積当量)を加えた。これをさらに2回繰り返し、その後、サンプルを試験した。サンプルは、トルエンは2.0%(AUC)以下であるという規格値に合格した。この回分処理物を20 ~ 30で一晩保った。IPA(31.4 kg、2体積当量)を加えた後、回分処理物を45 ~ 55 に再加熱し、水(40.0 kg、2体積当量)を加え、温度をさらに約1時間維持し、その後、約10 / 時間で25 ± 2 に冷却した。回分処理物をこの温度で16時間超にわたって保ち、その後、10 / 時間で0 ~ 5 に冷却し、さらに2時間10分にわたって保った。スラリーは、底部の出口バルブを通して流れないであろう大きい粒子を含有した。したがって、生成物を、反応器を55 に加熱することによって溶解して溶液に戻した。回分処理物を35 に冷却し、この温度で一晩保ち、ろ過して、1番晶を得た。その後、ろ液を反応器に戻し、5 にまで冷却し、さらなる生成物を2番晶として単離した。両方の単離物を20%水/IPA溶液により洗浄した(約36 Lを使用して、1番晶を洗浄し、約24 Lを使用して、2番晶を洗浄した)。その後、これら2つの単離物を、真空下、122 °F(50 ± 5)で乾燥した。生成物を取り出し、この生成物からは、実際の総重量が25.76 kgの化合物2が得られた。すなわち、1番晶からは14.50 kgの実際の重量が得られ(97.0%(AUC)の純度)、2番晶からは11.26 kgの実際の重量が得られた(93.3%(AUC)の純度)。

【0052】

工程2

200ガロン(約757リットル)の反応器に、化合物2(25.76 kg、1当量)、二酸化セレン(8.66 kg、1.25当量)、テトラヒドロフラン(98.5 kg、4.3体積当量)、および水(5.2 kg、0.2当量)を装入した。反応器を加熱し、55 ~ 65 で維持した。20.5時間後、反応は、HPLCによって完了していると判断され、1.8%(AUC)の残留化合物2により、2.0%(AUC)以下の化合物2の規格値に合格した。この回分処理物を約3時間にわたって0 ~ 10 に冷却した。回分処理物の温度を25未満で維持しながら、35 wt %過酸化水素(18.21 kg、3当量)を加えた。その後、回分処理物の温度を10 ~ 25 に調節し、この温度で保った。これを、反応液が、化合物10はHPLCによって10.0%(AUC)以下であるという規格値を満たすまで行った。約16時間後、反応は完了していると判断され(1.7%(AUC)の残留化合物10)、反応を、回分処理物の温度を35未満で維持しながら20 wt %チオ硫酸ナトリウム溶液(98.8 kg、2当量)によりゆっくり停止させた。2時間13分後、過酸化物の痕跡が全く認められなかった。回分処理物をセライト(登録商標)のパッドでろ過し、セライト(登録商標)ケーキを22.9 kgのTHF(1体積当量)により洗浄した。相を分離させ、水層を捨てた。その後、反応混合物を10 wt %塩化ナトリウム(51.6 kg、2当量)により洗浄し、清浄化された200ガロン(約757リットル)の反応器に水(128.8 kg、5当量)と一緒に戻した。これに、50 wt %水酸化ナトリウム溶液(18.8 kg、3.8当量)を、回分処理物

の温度を55℃未満で維持しながら加えた。回分処理物を45℃～55℃で約1時間保ち、その後、サンプルを採取した。この回分処理物は、0.1%(AUC)の残留化合物11が検出されて、化合物11はHPLCによって2.0%(AUC)以下であるという規格値を満たしていた。

【0053】

反応液を25±2℃に冷却し、ヘプタン(44.1kg、2.5体積当量)を加えた。反応混合物を30分間攪拌し、48時間にわたって静置した。3つの相が認められた：底部の赤色/褐色の水層、中間の粘性黒色層、および上部の透明な赤橙色層。上部の有機層を除き、中間および底部の生成物含有層と一緒にし、さらに44.1kg(2.5体積当量)のヘプタンにより洗浄した。またもや、3つの層が認められ、上部の有機層を除いた。

10

【0054】

温度を30℃以下で維持しながら、一緒にされた中間層および底部層のpHを、37wt%塩酸(24.38kg)を使用してpH<1.5に調節した。MTBE(66.8kg、3.5体積当量)を加え、混合物を30分間攪拌し、その後、20分間にわたって静置させた。下側の水層を排出しようとしたとき、相が完全に分離されていないことが認められた。少量の反応混合物(pH試験のためにより早い時期に採取されたもの)を用いた実験により、より多くのMTBE(66.7kg、3.5体積当量)を反応器に加えた。30分間攪拌し、反応混合物をさらに2時間にわたって静置させた後、下側の水相を排出し、これにより、透明相の分離を得た。反応混合物を水(51.5kg、2当量)により洗浄し、15時間10分にわたって一晩保ち、その後、下側の水層を排出した。反応混合物をセライト(登録商標)のパッドでろ過し、セライト(登録商標)ケーキをMTBE(9.53kg、0.5体積当量)により洗浄した。回分処理物を250リットルの反応器に移し、160L(約6.2体積当量)の溶媒を蒸留によって除いた[注：蒸留体積は、添加された追加のMTBEとなるように調節した]。アセトニトリル(30.4kg、1.5体積当量)を加え、38L～42L(約1.5体積当量)の溶媒を除いた。これを3回繰り返した。回分処理物を約10L/hで0℃～5℃に冷却し、その温度で2時間保ち、ろ過した。その後、ケーキを30.4kgの予冷アセトニトリル(1.5体積当量)により洗浄した。ケーキを脱液し、122°F(50±5℃)で乾燥した後、生成物を取り出して、粗アジュレム酸(5.29kgの実際の重量、21.1%の収率、純度：方法Aを使用するHPLCによって99.0%(AUC)、表1を参照のこと)を灰白色の固体として得た。

20

30

【0055】

【表 1】

表 1

アッセイおよび関連物質

クロマトグラフィー条件

HPLCシステムはグラジエントモードで操作される。

| | | | |
|-------------|--|-----------|-----------|
| カラム | Agilent Zorbax SB-CN, 5 μ m, 4.6 x 250mm, P/N:880975-905 | | |
| 流速 | 1.5mL/分 | | |
| 注入体積 | 10 μ L | | |
| オートサンプラー温度 | 周囲温度 | | |
| カラム温度 | 周囲温度 | | |
| 検出波長 | 220nm | | |
| 実行時間 | 37 分 | | |
| ポンプ A | 水、HPLC 等級 | | |
| ポンプ B | 0.1%リン酸/アセトニトリル：メタノール(90:10) | | |
| ニードル洗浄 | メタノール | | |
| グラジエントプログラム | 時間 (分) | ポンプ A (%) | ポンプ B (%) |
| | 0 | 55 | 45 |
| | 20 | 45 | 55 |
| | 30 | 0 | 100 |
| | 30.1 | 55 | 45 |
| | 37 | 55 | 45 |

【 0 0 5 6 】

工程 3

40 リットルの反応器に、粗アジュレム酸 (5.28 kg、1 当量) およびヘプタン (21.8 kg、6 体積当量) を装入した。250 リットルの反応器に、ピリジン (2.18 kg、2.1 当量) およびヘプタン (7.2 kg、2 体積当量) を装入した。その後、両方の反応器を 50 ~ 60 に加熱した。40 L 反応器の内容物が溶解した後、溶液を 250 L 反応器に移し、さらなるヘプタン (7.2 kg、2 体積当量) を使用して、40 L 反応器を洗浄し、これを 250 L 反応器に移した。回分処理物の温度を 50 ~ 60 で維持しながら、無水酢酸 (2.50 kg、1.8 当量) を加え、反応混合物を 2 時間撹拌した。反応混合物からサンプルを採取した。この反応混合物は 0.8 % (AUC) の粗アジュレム酸を示し、これは、0.5 % (AUC) 以下の規格値を満たしていなかった。第 2 のサンプルを 3 時間後に得た。このサンプルは、0.2 % (AUC) の粗アジュレム酸が検出されたことにより規格値に合格した。

【 0 0 5 7 】

その後、反応器に、脱イオン (DI) 水 (7.40 kg、1.4 当量) を、温度を 50 \pm 5 で維持しながらゆっくり装入した。反応混合物を 2 時間撹拌し、HPLC によって分析して、0.3 % (AUC) のアセチル化アジュレム酸が検出されたことにより、反応混合物は、HPLC による 0.5 % 以下のアセチル化アジュレム酸無水物 (AUC) の規格値を満たした。下側の水層を排出し、有機相を 1 N の HCl (14.80 kg、2.8 当量) により洗浄した。水層の pH が 3 であり、この pH は、pH 5 の規格値を満たしていた。有機層をもう一度、水 (7.40 kg、1.4 当量) により洗浄して、pH 4 を得た。この pH は、pH 3 の規格値を満たしていた。回分処理物を約 10 / h で一晩 0 ~ 5 に冷却し、その後、0 ~ 5 で 3 時間保った。回分処理物をろ過し、事前に冷却されたヘプタン (11.2 kg、3 当量) により洗浄し、真空下、122 °F (50 \pm 5) で乾燥した。生成物を取り出し、この生成物からは、アセチル化アジュレム酸 (5.03 kg の実際の重量、86.1 % の収率) が、純度が HPLC (方法 A) によって 99.2 % (AUC) である白色固体として得られた。

【 0 0 5 8 】

工程 4

40リットルの反応器に、アセチル化アジュレム酸（5.02kg、1当量）、MTBE（15.37kg、4.13体積当量）、および2NのNaOH（14.54kg、2.400当量）を、回分処理物の温度を50以下で維持しながら装入した。回分処理物を45～55で4時間2分にわたって維持した。その後では、回分処理物は未反応アセチル化アジュレム酸を全く有しておらず、HPLCによる0.5%（AUC）以下のアセチル化アジュレム酸の規格値を満たしていた。反応混合物を25に冷却した。回分処理物の温度を25±5で維持しながら、回分処理物を37wt%のHCl（3.62kg、0.60体積当量）により酸性化した。30分間攪拌した後、下側の水層を分離し、有機層を水（5.53kg、1.1当量）により洗浄した。pHが2であった。さらに2回の水洗浄を行い、反応混合物はpH3に達した。これはpH>3の規格値を満たしていなかったにもかかわらず、反応を続けた。

【0059】

有機層を、セライト（登録商標）、10ミクロンのフィルター、および2.4ミクロンのフィルターでろ過して、250リットルの反応器に入れた。その後、40リットルの反応器をMTBE（1.86kg、0.5体積当量）により洗浄し、回分処理物を洗浄液と一緒に10ミクロンのフィルターおよび2.4ミクロンのフィルターに通して、清浄化された40リットルの反応器に戻した。MTBE（10L、2体積当量）を留去し、アセトニトリル（17.4kg、4.4体積当量）を加えた。その後、22.25L（約4.4体積当量）の溶媒を留去し、蒸留物をNMRによって分析して、46%のMTBEが明らかにされた。最後に、さらなるアセトニトリル（17.4kg、4.4体積当量）を加え、14.6L（2.9体積当量）の溶媒を留去した。蒸留物をNMRによって分析して、0.6%のMTBEが明らかにされた。温度を9時間25分にわたって20～30に調節した。結晶が存在し、反応混合物を2時間にわたって0～5に冷却した。反応混合物を3時間保ち、その後、内容物をろ過した。母液を数回、反応器を介して再循環して、スラリー移送を容易にした。結晶を9.8kg（2.5体積当量）の事前に冷却されたアセトニトリルにより洗浄した。生成物を、真空オープンにおいて、わずかな窒素抽気を伴って122°F～130°Fで乾燥した。258時間後、生成物をGCによってアッセイした。この生成物は200ppm以下の規格値を満たしていた。生成物を取り出し、この生成物からは、アジュレム酸（4.12kgの実際の重量、90.7%の収率）が、HPLC（方法A）による99.8%（AUC）の純度により得られた。

【0060】

受容体結合

親和性、すなわち、結合親和性は、平衡結合定数または速度論的結合速度パラメーターによって定義することができる2つ以上の別個の分子実体の間（例えば、化合物と受容体間）における結合相互作用の強さの尺度である。好適な定数またはパラメーターおよびそれらの測定単位の様々な例がこの技術分野では広く知られており、これらには、会合定数（ K_A ）；解離定数（ K_D ）または阻害定数（ K_i ）；会合速度定数（ K_{on} ）および解離速度定数（ K_{off} ）が含まれるが、これらに限定されない。1つの実施形態において、 K_i は、 $[受容体] \cdot [阻害剤] / [阻害剤が結合する受容体]$ に等しく、したがって、 K_i は、受容体に結合する阻害剤についての平衡定数である。 K_A の場合には、より大きい値により、より強い、またはより大きい結合親和性が意味される。 K_i （または K_D ）の場合には、より小さい値により、より強い、またはより大きい結合親和性が意味される。

【0061】

本発明の化合物（例えば、超高純度なAJA）は、CB2受容体に対する親和性が、CB1受容体に対する場合よりも大きい。このことは、本発明の化合物（例えば、超高純度なAJA）が、CB2に対してCB1よりも強固に、すなわち、その K_i （CB1）（すなわち、CB1受容体についての K_i ）よりも小さい K_i （CB2）（すなわち、CB2受容体についての K_i ）で結合することを意味する。同様に、本発明の化合物（例えば、

超高純度なA J A)は、C B 1受容体に対する親和性が、C B 2受容体に対する場合よりも小さい。言い換えれば、本発明の化合物(例えば、超高純度なA J A)は、C B 1に対してC B 2ほどには強く結合せず、すなわち、その K_i (C B 2)よりも大きい K_i (C B 1)で結合する。

【0062】

精製された形態の、C B 2受容体に対するアジュレム酸の親和性は、C B 1受容体に対する親和性よりも約5倍大きいから約10倍大きいにまで及ぶことができる。約5X~約50X、約7X~約10X、約8X~約15X、約10X~約20X、約15X~約30X、約25X~約50X、約40~約75X、約50X~約100X、約2X~約1000X、約2X~約800X、約5X~約600X、約10X~約500X、約15X~約300X、約5X~約200X、約10X~約100X、約20X~約80X、または約10X~約50Xの範囲もまた、本発明によって包含される(範囲は、C B 2受容体についてのアジュレム酸の親和性の、C B 1受容体についての親和性に対する比率、例えば、 K_i (C B 1)/ K_i (C B 2)を表す)。

【0063】

いくつかの実施形態において、本発明の化合物(例えば、超高純度なA J A)の K_i (C B 1)(すなわち、C B 1受容体についての K_i)は、 K_i (C B 2)(すなわち、C B 2受容体についての K_i)の少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約8倍、少なくとも約10倍、少なくとも約50倍、少なくとも約100倍、少なくとも約200倍、少なくとも約400倍、少なくとも約500倍、少なくとも約1000倍、少なくとも約10,000倍、約2倍~約10,000倍、約2倍~約1,000倍、約5倍~約500倍、約5倍~約100倍、約7倍~約10倍、約8倍~約15倍、約10倍~約20倍、約15倍~約30倍、約25倍~約50倍、約40倍~約75倍、または約50倍~約100倍である場合がある。

【0064】

本発明の化合物(例えば、超高純度なA J A)の K_i (C B 1)/ K_i (C B 2)の比率は、少なくとも約2、少なくとも約3、少なくとも約4、少なくとも約5、少なくとも約8、少なくとも約10、少なくとも約50、少なくとも約100、少なくとも約200、少なくとも約400、少なくとも約500、少なくとも約1000、少なくとも約10,000、約2~約10,000、約2~約1,000、約5~約500、約5~約100、約7~約10、約8~約15、約10~約20、約15~約30、約25~約50、約40~約75、または約50~約100である場合がある。

【0065】

ある特定の実施形態において、精製された形態のA J Aは、C B 2受容体についての K_i が、約150nM以下、約125nM以下、約110nM以下、約100nM以下、約90nM以下、約80nM以下、約70nM以下、約60nM以下、約50nM以下、約40nM以下、または約30nM以下である。

【0066】

受容体結合親和性を測定するための従来の方法はどれも、C B 1受容体またはC B 2受容体に対するリガンドの結合をアッセイするために使用することができる(Pertwee RG、Pharmacological action of cannabinoids、Handbook Exp. Pharmacol、168:1-51(2005); McPartland他、Meta-analysis of cannabinoid ligand binding affinity and receptor distribution: interspecies differences、British J. Pharmacology、152:583-593(2007)を参照のこと)。

【0067】

2つの成分の間における結合親和性が、直接的または間接的に測定される場合がある。親和性の間接的測定が、親和性を示す、および/または、親和性に比例する代理特性を使

10

20

30

40

50

用して行われる場合がある。そのような代理特性には、第1の成分が第2の成分に結合する量またはレベル、あるいは、第1の成分または第2の成分の生物物理学的特徴で、第2の成分についての第1の成分の見かけの結合親和性を予測するか、または第2の成分についての第1の成分の見かけの結合親和性に相関させられる生物物理学的特徴が含まれる。具体的な例には、第1の成分が第2の成分に結合する量またはレベルを第1の成分または第2の成分のどちらかの垂飽和濃度において測定することが含まれる。測定することができる他の生物物理学的特徴には、第1の成分および第2の成分の一方または両方の正味の分子電荷、回転活性、拡散速度、融解温度、静電的ステアリング (steering)、または立体配座が含まれるが、これらに限定されない。測定することができるさらに他の生物物理学的特徴には、温度、pH、またはイオン強度を変えることの影響に対する結合相互作用の安定性を求めることが含まれる。

10

【0068】

結合親和性は、化合物/受容体複合体の形成および解離の速度を測定することによって定量化することができる。したがって、「オン速度定数」(K_{on})および「オフ速度定数」(K_{off})の両方を、濃度、ならびに会合および解離の実際の速度を計算することによって求めることができる (Nature、361:186-87 (1993)を参照のこと)。 K_{off}/K_{on} の比率は解離定数 K_D に等しい (一般には、Davies他 (1990)、Annual Rev. Biochem.、59:439-473を参照のこと)。 K_i が、様々なアッセイによって、例えば、放射性リガンド結合アッセイ (例えば、実施例4において記載されるような手順)、または当業者に知られている類似するアッセイなどによって測定される場合がある。

20

【0069】

それぞれの受容体についての相対的親和性が、標識された化合物と、増大する濃度の標識されていない化合物との間における競合結合アッセイによって求められる場合がある。結合親和性を、標識された化合物を使用する競合FACS、または他の競合的結合アッセイによって求めることができる。

【0070】

受容体に対する化合物の結合親和性はまた、表面プラズモン共鳴 (SPR) によって求めることができる。 K_D または K_i が、BIAcore技術 (GE)、またはKinExA (登録商標) (Sapidyne Instruments) 親和性分析によって求められる場合がある。

30

【0071】

処置される状態

本発明はまた、本明細書中に記載される状態を、本発明の化合物または組成物を対象に投与することによって処置または防止する方法を提供する。

【0072】

本発明の化合物または組成物によって処置または防止することができる状態には、線維性疾患、炎症性疾患、および痛みが含まれるが、これらに限定されない。線維性疾患には、例えば、強皮症、全身性硬化症、強皮症様障害、皮膚硬化を伴わない強皮症、肝硬変、間質性肺線維症、特発性肺線維症、デュピュイトラン拘縮、ケロイド、嚢胞性線維症、慢性腎臓疾患、慢性移植片拒絶、臓器 (例えば、肝臓、食道、心臓、肺、腸など) の線維症、および他の癒痕/創傷治癒異常、術後癒着、ならびに反応性線維症が含まれる。炎症性疾患には、例えば、全身性エリテマトーデス、AIDs、多発性硬化症、関節リウマチ、乾癬、1型糖尿病、糖尿病、ガン、喘息、アトピー性皮膚炎、自己免疫性甲状腺障害、潰瘍性大腸炎、クローン病、神経変性疾患 (例えば、アルツハイマー病など)、パーキンソン病、発作、および虚血などが含まれる。

40

【0073】

線維症の限定されない例には、肝線維症、肺線維症 (例えば、硅肺症、石綿肺、特発性肺線維症)、口腔線維症、心内膜心筋線維症、後腹膜線維症、三角筋線維症、腎臓線維症 (糖尿病性腎症を含む)、嚢胞性線維症、および糸球体硬化症が含まれる。例えば、肝線

50

維症が、慢性肝傷害に対する創傷治癒応答の一部として生じる。線維症が、ヘモクロマトーシス、ウィルソン病、アルコール依存症、住血吸虫症、ウイルス性肝炎、胆管閉塞症、毒素への暴露、および代謝障害の合併症として生じる可能性がある。心内膜心筋線維症は、拘束型心筋症の発達によって特徴づけられる特発性障害である。心内膜心筋線維症では、その根底にあるプロセスにより、心臓の心内膜表面の斑状線維症が生じ、この結果、低下した伸展性と、究極的には、心内膜心筋表面がより全般的に関与するような拘束性生理学とが引き起こされる。口腔粘膜下線維症は、粘膜下組織（粘膜固有層およびより深部の結合組織）の炎症および進行性線維症によって特徴づけられる口腔の慢性的消耗性疾患である。頬粘膜が、最も一般的な関与部位であり、しかし、口腔のどのような部分も関与する可能性があり、咽頭でさえ関与する。後腹膜線維症は、後腹膜全体にわたる、典型的には第4腰椎および第5腰椎の腹側表面を中心とする広範囲の線維症によって特徴づけられる。

10

【0074】

強皮症は、皮膚および内臓器官の線維症によって特徴づけられる結合組織の疾患である。強皮症は多様な徴候および様々な治療的関連を有する。強皮症は、限局性強皮症、全身性硬化症、強皮症様障害、および、皮膚硬化を伴わない強皮症を有する。全身性硬化症は散在性または限定的である可能性がある。限定的全身性硬化症はまた、CREST（石灰沈着症、レイノー食道機能不全、強指症、毛細血管拡張症）と呼ばれる。全身性硬化症は、強皮症肺疾患、強皮症腎クリーゼ、心臓の徴候、筋力低下（疲労または限定的CRESTを含む）、胃腸の運動障害および痙攣、ならびに、中枢神経系、末梢神経性および自律神経系における異常を有する。

20

【0075】

強皮症、特に全身性硬化症の主要な症状および徴候が、不適切な過度なコラーゲン合成およびコラーゲン沈着、内皮機能不全、血管痙攣、線維症による血管の虚脱および閉塞である。

【0076】

例えば、式Iに示されるような構造を有する化合物はアジュレム酸であることが可能である。特に、本出願人は、超高純度なアジュレム酸の投与が、CB1媒介の行動的副作用を何ら伴うことなく、強皮症の広く確立された動物モデルを使用して明らかにされるように、肺および皮膚の組織線維症を処置することにおいて効果的であることを認めている。

30

【0077】

治療効果的な量の本発明の化合物（例えば、超高純度なアジュレム酸）は、対象が経験する痛みのレベルを低下させる場合がある。1つの実施形態において、患者が経験する痛みのレベルを、視覚的アナログ尺度（VAS）またはリッカート型尺度の使用によって評価することができる。VASは、直線の一方の端が痛みの非存在を表し、直線の反対側の端が最も悪い考えられ得る痛みを表す直線である。患者には、その痛みがそれぞれの時点において位置すると見なされるところを直線上にマークするように依頼され、痛みの非存在から当該マークまでの長さをフルスケールの長さに関連づけることができる。リッカート型尺度は、様々な記載事項に対する同意または不同意の程度に基づく評価尺度（通常の場合には1から5までの範囲での評価尺度）である。類似するタイプの尺度が11ポイントの尺度（0から10にまで及ぶ）に基づいているが、これもまた使用することができる。そのような疼痛尺度を適用して、患者が処置期間中に経験する痛みのレベルの変化を、例えば、患者または患者集団が痛み治療の開始前および開始後に経験する痛みのレベルの低下を可視化することができる。米国特許第7,413,748号明細書。例えば、痛みが、11ポイント疼痛尺度で少なくとも約1ポイント、少なくとも約2ポイント、少なくとも約3ポイント、少なくとも約4ポイント、少なくとも約5ポイント、少なくとも約6ポイント、少なくとも約7ポイント、または少なくとも約8ポイント軽減される場合がある。痛みのレベルはまた、他の好適な方法によって評価される場合がある。

40

【0078】

50

治療効果的な量の本発明の化合物（例えば、超高純度なアジュレム酸）は、線維症を処置または防止するために使用される場合がある。線維症が、インビトロモデルまたはインビボモデルを使用して評価される場合がある。1つの実施形態において、インビトロでの線維症を、TGF- β 、PDGF、CTGF、または他の前線維症性因子に対する応答における細胞外マトリックスタンパク質産生の量を測定することによって、あるいは線維芽細胞活性化のマーカーの存在を介してアッセイすることができる。一般的な終点には、コラーゲン、フィブロネクチン、およびアクチンの測定が含まれる。別の実施形態において、インビボでの線維症が、特定の組織における細胞外マトリックス産生の程度によって測定される。線維症のインビボモデルには、外部の線維症媒介因子（例えば、プレオマイシン、HOC1、CC1₄、またはアルコールなど）を使用して、肝臓、腎臓、皮膚または肺の線維症を誘導する化学的誘導モデルが含まれる。線維症の遺伝的モデルもまた一般に使用されており、これらには、TGF- β 、PDGF、オステオポンチン、およびインターロイキン過剰発現する動物、ならびに、タイトスキン（tight skin）（tsk）マウスモデルが含まれる。線維症はまた、他の好適な方法によって評価される場合がある。

10

【0079】

治療効果的な量の本発明の化合物（例えば、超高純度なアジュレム酸）は、炎症を処置または防止するために使用される場合がある。炎症が、インビトロモデルまたはインビボモデルを使用して評価される場合がある。1つの実施形態において、インビトロでの炎症を、炎症性細胞の走化性および活性化状態を測定することによってアッセイすることができる。別の実施形態において、炎症を、特異的な炎症性媒介因子（例えば、インターロイキン、サイトカイン、およびエイコサノイド系媒介因子など）の産生を調べることによって測定することができる。さらに別の実施形態において、インビボでの炎症が、局所組織の腫脹および浮腫、または白血球の遊走によって測定される。炎症の動物モデルでは、ホルボールエステル、アラキドン酸、血小板活性化因子、ザイモサン、LPS、チオグリコラート、または他の薬剤などの刺激剤が、炎症を様々な組織（例えば、耳、足、皮膚、腹膜など）において誘発するために使用される場合がある。炎症はまた、器官機能によって、例えば、肺または腎臓などにおける器官機能によって、また、前炎症性因子の産生によって測定される場合がある。炎症はまた、他の好適な方法によって評価される場合がある。

20

30

【0080】

処置方法

本明細書中に記載される化合物および組成物は、上記で議論されるような、また、下記においてさらに記載されるような様々な状態/疾患の処置、防止、および/または診断を行うために、培養中の細胞に、例えば、インビトロまたはエクスビボにおいて、あるいは、対象に、例えば、インビボにおいて投与することができる。

【0081】

用語「処置する」または「処置」には、化合物を、例えば、どのような経路によってでも、例えば、経口投与によって対象に投与することが含まれる。化合物は、単独で、または第2の化合物との組合せで投与することができる。処置は逐次的である場合があり、この場合、本発明の化合物が他の薬剤の投与の前または後において投与される。代替では、様々な薬剤が同時に投与される場合がある。対象、例えば、患者は、障害（例えば、本明細書中に記載されるような障害）、障害の症状、または障害に対する素因を有するものであることが可能である。処置は、治療または完全な治癒に限定されるのではなく、障害を緩和すること、障害を軽減すること、障害を変化させること、障害を部分的に治療すること、障害を寛解させること、障害を改善すること、または障害に影響を与えること、障害の1若しくはそれ以上の症状、または障害に対する素因を軽減することのうちの1若しくはそれ以上をもたらしすることができる。実施形態において、処置により、線維症が（少なくとも部分的に）緩和または軽減される。1つの実施形態において、処置により、障害の少なくとも1つの症状が軽減され、または障害の少なくとも1つの症状の発症が遅らされる

40

50

。効果は、処置の非存在下で見られる効果を越えている。

【0082】

障害を処置するために効果的である化合物は、対象への単回用量または多回用量での投与のとき、処置を達成するために効果的である量の当該化合物を示す。治療効果的な量による処置の程度は、標準的な臨床的に関連する基準によって測定されるような疾患のどのような改善または治療も包含する。

【0083】

障害を防止するために効果的である化合物の量、すなわち、該化合物の「予防効果的な量」は、対象への単回用量または多回用量での投与のとき、障害または該障害の症状の発症または再発の発生を妨げるか、または遅らせることにおいて効果的である量を示す。

10

【0084】

本発明の化合物および方法により処置することができる対象には、ヒトおよび非ヒト動物の両方が含まれる。例示的なヒト対象には、障害（例えば、本明細書中に記載される障害）を有するヒト患者、または正常な対象が含まれる。本発明の用語「非ヒト動物」には、すべての脊椎動物、例えば、非哺乳動物（例えば、ニワトリ、両生類、爬虫類など）および哺乳動物（例えば、ヒト以外の霊長類、飼育動物および／または農業有用動物など、例えば、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウシ、ブタなど）が含まれる。実施形態において、動物は齧歯類（例えば、ラットまたはマウス）以外であるか、またはヒト以外の霊長類である。

【0085】

対象の状態決定

20

対象の処置は、当該対象の状態を求めることによって最適化することができ、その結果、例えば、処置がそれぞれの化合物の次善の用量または無効の用量により開始され、そして増大されて、当該対象における線維性疾患または炎症性疾患の処置および／または防止のための超高純度アジュレム酸の最適な用量を決定することができるようにすることができる。

【0086】

対象を超高純度なアジュレム酸により処置することにより、様々な副作用が、例えば、めまい、口内乾燥、頭痛、悪心、蒼白、傾眠、および嘔吐などが引き起こされる可能性がある。

【0087】

30

これらの副作用は、低用量で開始し、用量を、例えば、処置の経過期間中に、例えば、数週間、数ヶ月、または数年の経過にわたって上方にゆっくり決定することによってある程度は調節することができる。

【0088】

1つの実施形態において、対象は、有害事象を最小限に抑え、かつ、超高純度なアジュレム酸の適切な投薬形態物の治療レベルを達成するために状態が求められる。

【0089】

医薬組成物

本発明の超高純度な化合物（例えば、超高純度なアジュレム酸）の様々な投薬形態物を、様々な状態を先行技術のアジュレム酸よりも良好な安全性および許容性のプロファイルにより処置および／または防止するために本発明の方法において使用することができる。ある特定の実施形態において、投薬形態物は経口用投薬形態物であり、例えば、錠剤、またはカプセル、または腸溶性被覆錠剤、または浸透圧放出カプセル、または賦形剤の独特の組合せなどである。他の実施形態において、投薬形態物は、液体剤、局所用パッチ、ゲル、軟膏、クリーム、エアロゾル、または吸入配合物である。

40

【0090】

本発明の組成物は、約0.5mg～約240mg、約5mg～約180mg、または約10mg～約120mgの本発明の超高純度な化合物（例えば、超高純度なアジュレム酸）を24時間の期間にわたって送達するために配合される場合がある。

【0091】

50

さらなる実施形態において、投薬形態物はさらなる薬剤を含むか、または、このさらなる薬剤を含む第2の投薬形態物と一緒に提供される。例示的なさらなる薬剤には、鎮痛剤、例えば、NSAIDまたはオピエートなど、抗炎症剤、あるいは天然薬剤、例えば、トリグリセリド含有不飽和脂肪酸または単離された純粋な脂肪酸、例えば、エイコサペンタエン酸(EPA)、ジホモガンマリノレン酸(DGLA)、ドコサヘキサエン酸(DHA)などが含まれる。さらなる実施形態において、投薬形態物はカプセルを有し、この場合、カプセルは、所望される持続放出配合物を提供するための材料の混合物を含有する。

【0092】

投薬形態物は、半透過性被膜により被覆される錠剤を含むことができる。ある特定の実施形態において、錠剤は、超高純度アジュレム酸を含有する層と、「プッシュ」層として示される第2の層との2つの層を有する。半透過性被膜は、流体(例えば、水)が錠剤に進入し、層を侵食することを可能にするために使用される。ある特定の実施形態において、この持続放出投薬形態物はさらに、被覆錠剤の中心に開けられるレーザー孔を有する。アジュレム酸または他の(3R, 4R)-8-テトラヒドロカンナビノール-11-酸を含有する層は、アジュレム酸または別の(3R, 4R)-8-テトラヒドロカンナビノール-11-酸、崩壊剤、粘性増強剤、結合剤、および浸透圧剤を有する。プッシュ層は、崩壊剤、結合剤、浸透圧剤、および粘性増強剤を有する。

【0093】

別の態様において、本発明は、制御放出投薬形態物である超高純度アジュレム酸の投薬形態物を特徴とし、これにより、超高純度アジュレム酸の制御された放出が提供される。

【0094】

さらなる実施形態において、投薬形態物は、生体適合性マトリックスおよび超高純度アジュレム酸を有する錠剤を有する。持続放出投薬形態物はまた、治療活性薬剤を含有するバイオポリマー微小球体を含有する硬質外皮カプセルを有する場合がある。生体適合性マトリックスおよびバイオポリマー微小球体はそれぞれ、薬物の放出および送達のための細孔を含有する。これらの細孔は、バイオポリマー微小球体の生体適合性マトリックスを細孔形成剤と混合することによって形成される。それぞれの生体適合性マトリックスまたはバイオポリマー微小球体が、生体適合性ポリマー、または生体適合性ポリマーの混合物から構成される。マトリックスおよび微小球体は、生体適合性ポリマーおよび活性薬剤(本明細書中に記載される化合物)を溶媒に溶解し、細孔形成剤(例えば、揮発性塩)を加えることによって形成させることができる。溶媒および細孔形成剤の蒸発により、活性化合物を含有するマトリックスまたは微小球体が提供される。さらなる実施形態において、持続放出投薬形態物は、超高純度アジュレム酸および1若しくはそれ以上のポリマーを含有し、かつ、超高純度アジュレム酸および1若しくはそれ以上のポリマーを圧縮することによって調製することができる錠剤を有する。いくつかの実施形態において、そのような1若しくはそれ以上のポリマーは、超高純度アジュレム酸と配合される吸湿性ポリマーを有する場合がある。水分にさらされたとき、錠剤は溶解し、膨潤する。この膨潤は、持続放出投薬形態物が上部GI管に留まることを可能にする。ポリマー混合物の膨潤速度を、種々の等級品のポリエチレンオキッドを使用して変化させることができる。

【0095】

他の実施形態において、持続放出投薬形態物は、活性薬剤および結合剤の懸濁物により被覆される粒子コアをさらに有し、続いてポリマーにより被覆されるカプセルを有する。ポリマーは速度抑制ポリマーである場合がある。一般に、速度抑制ポリマーの送達速度は、活性薬剤が溶解させられる速度によって決定される。

【0096】

超高純度アジュレム酸の様々な投薬形態物を対象に投与することができる。例示的な投薬形態物には、経口用投薬形態物(例えば、錠剤またはカプセル)、局所用投薬形態物(例えば、局所用パッチ、ゲル、および軟膏など)、眼用投薬形態物(例えば、点眼剤または液体配合物など)、介在性投薬形態物(例えば、液体配合物など)、および吸入型投薬形態物(例えば、吸入剤、噴霧剤、エアロゾル、およびスプレー剤など)が含まれる。

【 0 0 9 7 】

ある特定の実施形態において、超高純度アジュレム酸は、単回投薬量が1日1回での約0.5mg～約120mgであるか、または、1日3回まででの約0.15mg～約40mgである投薬形態物に配合される。

【 0 0 9 8 】

他の実施形態において、超高純度アジュレム酸は、単回投薬量が対象の体重1kgにつき約0.01mg～約1.5mgである投薬形態物に配合される。さらなる実施形態において、投薬形態物は、1日3回までで、かつ、対象の体重1kgにつき約0.003mgから約0.5mgまでで投与される。

【 0 0 9 9 】

本明細書中で使用される場合、用語「治療効果的な量」は、指定された障害または疾患を処置するために、あるいは代替では、障害または疾患を処置する薬理的応答を得るために十分である量である。投与の最も効果的な手段および投薬量を決定する方法は、治療のために使用される組成物、治療の目的、処置されている標的細胞、および処置されている対象により変化する可能性がある。処置投薬量は一般に、安全性および効力を最適化するために決定される場合がある。単回または多数回の投与を、用量レベルおよび服用パターンが処置医によって選択されることにより行うことができる。好適な投薬配合物、および薬剤を投与する好適な方法は、当業者によって容易に決定することができる。例えば、組成物は、約0.01mg/kg～約200mg/kg、約0.1mg/kg～約100mg/kg、または約0.5mg/kg～約50mg/kgで投与される場合がある。本明細書中に記載される化合物が別の薬剤または治療法と同時に施されるとき、効果的な量が、当該薬剤が単独で使用されるときよりも少なくなる場合がある。

【 0 1 0 0 】

実施形態において、上記で議論される状態を防止するために、および/または処置するために本発明の方法において使用することができる治療剤のうちの1若しくはそれ以上が、医薬的に許容されるキャリア、ビヒクル、または補助剤とともに配合される。用語「医薬的に許容されるキャリア、ビヒクル、または補助剤」は、本発明の化合物と一緒に対象に投与されることがあるキャリア、ビヒクル、または補助剤で、治療量の当該化合物を送達するために十分である用量で投与されるときにその薬理的活性を損なわず、かつ、非毒性であるものを示す。

【 0 1 0 1 】

化合物は、塩として、例えば、医薬的に許容される塩形態などとして配合される場合があり、これらには、下記の酸付加塩が含まれるが、それらに限定されない：無機酸（例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、および硝酸など）により形成される酸付加塩、および、有機酸（例えば、酢酸、シュウ酸、酒石酸、コハク酸、リンゴ酸、フマル酸、マレイン酸、アスコルビン酸、安息香酸、タンニン酸、パモ酸、アルギン酸、ポリグルタミン酸、ナフタレンスルホン酸、ナフタレンジスルホン酸、およびポリガラクトロン酸など、これらに限定されない）により形成される酸付加塩。医薬的に許容される塩にはまた、存在する酸性プロトンが無機塩基または有機塩基と反応することができるときに形成されることがある塩基付加塩が含まれる。好適な医薬的に許容される塩基付加塩には、金属塩、例えば、アルミニウム、カルシウム、リチウム、マグネシウム、カリウム、ナトリウム、および亜鉛から作製される塩など、または第一級アミン、第二級アミンおよび第三級アミン、環状アミンを含む置換アミンを含む有機塩基から作製される塩、例えば、カフェイン、アルギニン、ジエチルアミン、N-エチルピペリジン、ヒスチジン、グルカミン、イソプロピルアミン、リシン、モルホリン、N-エチルモルホリン、ピペラジン、ピペリジン、トリエチルアミン、トリメチルアミンなどから作製される塩が含まれる。これらの塩のすべてが、例えば、適切な酸または塩基を本発明の化合物と反応させることにより本発明の対応する化合物から従来の手段によって調製される場合がある。Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, and Use (P. H. Stahl & C. G. Wermuth編, Verlag Helvet

10

20

30

40

50

ica Chimica Acta, 2002) [1]。

【0102】

本発明の投薬形態物において使用されることがある医薬的に許容されるキャリア、補助剤、およびビヒクルには、下記のものが含まれるが、それらに限定されない：イオン交換体、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、自己乳化性薬物送達システム（SEDDS）（例えば、d-E-トコフェロールポリエチレングリコール1000スクシナートなど）、薬学的投薬形態物において使用される界面活性剤（例えば、各種Tween、または他の類似するポリマー状送達マトリックスなど）、血清タンパク質（例えば、ヒト血清アルブミンなど）、緩衝剤物質（例えば、リン酸塩、グリシン、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、飽和植物脂肪酸の不完全グリセリド混合物、水、塩など）、または電解質（例えば、硫酸プロタミン、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩など）、コロイド状シリカ、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、セルロース系物質、ポリエチレングリコール、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ポリアクリレート、ワックス、ポリエチレン-ポリオキシプロピレン-ブロックコポリマー、ポリエチレングリコール、および羊毛脂。シクロデキストリン（例えば、アルファ-シクロデキストリン、ベータ-シクロデキストリン、および-シクロデキストリンなど）、または化学修飾された誘導体（例えば、2-および3-ヒドロキシプロピル-ベータ-シクロデキストリンを含めて様々なヒドロキシアルキルシクロデキストリンなど）、あるいは他の可溶化された誘導体もまた、線維性状態の防止および/または処置のために本発明の方法において使用することができる本明細書中に記載される式の化合物の送達を高めるために都合良く使用される場合がある。さらなる好適な賦形剤が、Handbook of Pharmaceutical Excipients (R.C. Rowe 他、Pharmaceutical Press, 2009) [9]に見出される場合がある。ある特定の実施形態において、単位投薬配合物が即時放出のために調合され、だが、一方または両方の薬剤の遅延放出または持続放出のために調合される単位投薬配合物もまた開示される。

【0103】

1つの実施形態において、本発明の方法において使用することができる2つ以上の治療剤は、これらの薬剤が異なる時間で投薬物から放出されるように単一の単位用量物で配合される。

【0104】

別の実施形態において、例えば、治療剤のうちの1若しくはそれ以上が1日に1回または2回投与される場合、当該薬剤は、長期の放出を提供するために配合される。例えば、薬剤は腸溶性被覆とともに配合される。代替の実施形態において、薬剤は、二相性の徐放性送達システムを使用して配合され、それにより、長期の胃滞留を提供する。例えば、いくつかの実施形態において、送達システムは下記のものを含む：(1) 大きい水溶性を有する医薬品と、1若しくはそれ以上の親水性ポリマー、1若しくはそれ以上の疎水性ポリマーおよび/または1若しくはそれ以上の疎水性材料（例えば、1若しくはそれ以上のワックス、脂肪アルコールおよび/または脂肪酸エステルなど）を含有する実質的に均一な顆粒から形成される内側の固体微粒子相、ならびに、(2) 内側の固体微粒子相の上記顆粒が埋め込まれ、かつ、全体にわたって分散される外側の固体連続相で、1若しくはそれ以上の疎水性ポリマー、1若しくはそれ以上の疎水性ポリマーおよび/または1若しくはそれ以上の疎水性材料（例えば、1若しくはそれ以上のワックス、脂肪アルコールおよび/または脂肪酸エステルなど）を含み、錠剤に圧縮される場合があるか、またはカプセルに詰められる場合がある外側の固体連続相。いくつかの実施形態において、薬剤は、水を吸収したときに膨潤して、摂取様式の期間中での胃における投薬形態物の保持を促進させるために十分に大きいサイズになる親水性ポリマーから構成されるポリマーマトリックスに組み込まれる。

【0105】

配合物における超高純度アジュレム酸は、速効性形態および徐放性形態の組合せとして

配合される場合がある。例えば、超高純度アジュレム酸は単一の放出特性を伴って配合される。例えば、超高純度アジュレム酸は、改変放出型形態物、例えば、徐放性形態物には存在しない。

【0106】

本発明の組成物は、3回の食事のそれぞれ、2回の主要な食事のそれぞれ、または1回の食事の直前に、あるいは、3回の食事のそれぞれ、2回の主要な食事のそれぞれ、または1回の食事とともに服用される場合がある。他の実施形態において、本明細書中に開示される組成物は1日1回または1日2回で投与することができ、食事の直前または食事とともに投与される必要はない。

【0107】

本発明の方法において使用することができる本発明の投薬形態物は、経口投与、非経口投与、吸入スプレー、局所投与、直腸投与、腸管投与、鼻腔投与、口内投与、膣投与によって、または埋め込まれたリザーバーを介して、好ましくは、経口投与によって、または注射による投与によって投与される場合がある。本発明の医薬組成物は、どのようなキャリア、補助剤、またはビヒクルであれ、従来の非毒性の医薬的に許容されるキャリア、補助剤、またはビヒクルを含有する場合がある。場合により、配合物のpHが、配合された化合物またはその送達形態の安定性を高めるために、医薬的に許容される酸、塩基または緩衝剤により調節される場合がある。非経口の用語には、本明細書中で使用される場合、皮下、皮内、静脈内、筋肉内、関節内、動脈内、滑液包内、胸骨内、クモ膜下腔内、病巣内、および頭蓋内への注射技術または注入技術が含まれる。

【0108】

本発明の方法において使用することができる投薬形態物は、無菌の注射可能な調製物の形態である場合があり、例えば、無菌の注射可能な水性懸濁物または油性懸濁物としてである場合がある。この懸濁物は、好適な分散化剤または湿潤化剤（例えば、Tween 80など）および懸濁化剤を使用して、この技術分野において知られている技術に従って配合される場合がある。無菌の注射可能な調製物はまた、非経口的に許容される非毒性の希釈剤または溶媒における無菌の注射可能な溶液または懸濁物である場合があり、例えば、1, 3-ブタンジオールにおける溶液としてである場合がある。用いられることがある許容され得るビヒクルおよび溶媒には、マンニトール、水、リンゲル液、および等張性塩化ナトリウム溶液が含まれる。加えて、無菌の固定油が、溶媒または懸濁用媒体として従来から用いられる。この目的のために、無刺激性の固定油はどれも用いられる場合があり、これには、合成されたモノグリセリドまたはジグリセリドが含まれる。天然の医薬的に許容される様々なオイル（例えば、オリーブ油またはひまし油など）が、それらのポリオキシエチル化体ではとりわけ、注射剤の調製において有用であるように、脂肪酸（例えば、オレイン酸およびそのグリセリド誘導体など）が注射剤の調製において有用である。これらのオイル溶液またはオイル懸濁物はまた、医薬的に許容される投薬形態物（例えば、エマルションおよび/または懸濁物など）の配合において一般に使用される長鎖アルコール系の希釈剤または分散剤、あるいはカルボキシメチルセルロースまたは同様な分散化剤を含有する場合がある。他の一般に使用されている界面活性剤、例えば、医薬的に許容される固体投薬形態物、液体投薬形態物または他の投薬形態物の製造において一般に使用される各種Tween若しくは各種Spanおよび/または他の類似する乳化剤あるいは生物学的利用能強化剤などもまた、配合目的のために使用される場合がある。

【0109】

本発明の化合物または組成物は、例えば、投薬形態物における成分として経口投与される場合がある。投薬形態物は、どのようなキャリア、補助剤、またはビヒクルであれ、従来の非毒性の医薬的に許容されるキャリア、補助剤、またはビヒクルを含有する場合がある。場合により、配合物のpHが、配合された化合物またはその送達形態の安定性を高めるために、医薬的に許容される酸、塩基または緩衝剤により調節される場合がある。

【0110】

本発明の投薬形態物は、いずれかの経口的に許容される投薬形態物で経口投与される場

10

20

30

40

50

合があり、そのような投薬形態物には、カプセル、錠剤、エマルション、ならびに、水性の懸濁物、分散物、および溶液が含まれるが、これらに限定されない。経口使用のための錠剤の場合、一般に使用されるキャリアには、ラクトースおよびトウモロコシデンプンが含まれる。滑剤、例えば、ステアリン酸マグネシウムなどもまた、典型的に加えられる。カプセル形態での経口投与のために、有用な希釈剤には、ラクトースおよび乾燥トウモロコシデンプンが含まれる。水性の懸濁物および/またはエマルション剤が経口投与される時、有効成分は、乳化剤および/または懸濁化剤と組み合わせられる油相に懸濁または溶解される場合がある。所望されるならば、ある特定の甘味剤および/または香味剤および/または着色剤が加えられる場合がある。

【0111】

10

本発明の投薬形態物はまた、直腸投与のための坐薬の形態で投与される場合がある。これらの組成物は、線維性状態の防止および/または処置のために本発明の方法において使用することができる本発明の化合物を、室温では固体であるが、直腸温度では液体であり、したがって、直腸において融解して、活性成分を放出することになる好適な非刺激性賦形剤と混合することによって調製することができる。そのような材料には、カカオバター、蜜ろう、およびポリエチレングリコールが含まれるが、これらに限定されない。

【0112】

本発明の投薬形態物の眼投与が、所望される処置が眼適用によって容易にアクセス可能である領域または器官を伴うときには有用である。眼投与のために、組成物が、クリーム、軟膏、または液体点眼調製物の結膜嚢における滴注によって適用され得るかもしれない。

20

【0113】

本発明の投薬形態物の局所投与が、所望される処置が局所適用によって容易にアクセス可能である領域または器官を伴うときには有用である。皮膚への局所適用のために、投薬形態物は、キャリアに懸濁または溶解される活性成分を含有する好適な軟膏とともに配合されなければならない。本発明の化合物の局所投与のためのキャリアには、鉱油、流動パラフィン、白色ワセリン、プロピレングリコール、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン化合物、乳化用ワックス、および水が含まれるが、これらに限定されない。代替では、本発明の方法において使用することができる医薬組成物は、好適な乳化剤とともにキャリアに懸濁または溶解される活性成分を含有する好適なローションまたはクリームとともに配合することができる。好適なキャリアには、鉱油、ソルビタンモノステアレート、ポリソルベート60、セチルエステルワックス、セテアリルアルコール、2-オクチルドデカノール、ベンジルアルコール、および水が含まれるが、これらに限定されない。本発明の医薬組成物はまた、直腸坐薬配合物によって、または好適な浣腸配合物で下部腸管に局所適用される場合がある。局所用経皮パッチもまた、本発明において含まれる。

30

【0114】

本発明の方法において使用することができる本発明の投薬形態物は、鼻腔エアロゾルまたは鼻腔吸入によって投与される場合がある。そのような組成物が、医薬品配合の技術分野において広く知られている技術に従って調製され、また、ベンジルアルコールまたは他の好適な保存剤、生物学的利用能を高めるための吸収促進剤、フルオロカーボン、および/またはこの技術分野において知られている他の可溶化剤若しくは分散化剤を用いて、生理的食塩水における溶液として調製される場合がある。

40

【0115】

本発明の投薬形態物が、本明細書中に記載される式の化合物と、1若しくはそれ以上のさらなる治療剤または予防剤との組合せを有するとき、当該化合物および当該さらなる薬剤はともに、単独療法による療法で通常の場合には投与される投薬量の約1%~100%の間、より好ましくは約5%~95%の間での投薬量レベルで存在しなければならない。さらなる薬剤は、多回服用療法の一部として、本発明の化合物とは別に投与される場合がある。代替では、それらの薬剤は、単一組成物において本発明の化合物と一緒に混合される単回投薬形態物の一部である場合がある。

50

【0116】

ある特定の実施形態において、本発明の方法において使用することができる投薬形態物は、所望される持続放出を提供するための材料の混合物を有するカプセルを有する。

【0117】

他の実施形態において、本発明の方法において使用することができる投薬形態物は、半透過性被膜により被覆される錠剤を有する。ある特定の実施形態において、錠剤は、超高純度アジュレム酸を含有する層と、「プッシュ」層として示される第2の層との2つの層を有する。半透過性被膜は、流体（例えば、水）が錠剤に進入し、層を侵食することを可能にするために使用される。ある特定の実施形態において、この持続放出投薬形態物はさらに、被覆錠剤の中心に開けられるレーザー孔を有する。超高純度アジュレム酸を含有する層は、超高純度アジュレム酸、崩壊剤、粘性増強剤、結合剤、および浸透圧剤を有する。プッシュ層は、崩壊剤、結合剤、浸透圧剤、および粘性増強剤を有する。

10

【0118】

さらなる実施形態において、本発明の方法において使用することができる投薬形態物は、生体適合性マトリックスおよび超高純度アジュレム酸を有する錠剤を有する。持続放出投薬形態物はまた、治療活性薬剤を含有するバイオポリマー微小球体を含有する硬質外皮カプセルを有する場合がある。生体適合性マトリックスおよびバイオポリマー微小球体はそれぞれ、薬物の放出および送達のための細孔を含有する。これらの細孔は、生体適合性マトリックスまたはバイオポリマー微小球体を細孔形成剤と混合することによって形成される。それぞれの生体適合性マトリックスまたはバイオポリマー微小球体が、生体適合性ポリマー、または生体適合性ポリマーの混合物から構成される。マトリックスおよび微小球体は、生体適合性ポリマーおよび活性薬剤（本明細書中に記載される化合物）を溶媒に溶解し、細孔形成剤（例えば、揮発性塩）を加えることによって形成させることができる。溶媒および細孔形成剤の蒸発により、活性化合物を含有するマトリックスまたは微小球体が提供される。

20

【0119】

本発明の方法において使用することができる持続放出投薬形態物は、超高純度アジュレム酸および1若しくはそれ以上のポリマーを含有し、かつ、超高純度アジュレム酸および1若しくはそれ以上のポリマーを圧縮することによって調製することができる錠剤を有する。いくつかの実施形態において、そのような1若しくはそれ以上のポリマーは、超高純度アジュレム酸活性薬剤（すなわち、本明細書中に記載される化合物）と配合される吸湿性ポリマーを有する場合がある。水分にさらされたとき、錠剤は溶解し、膨潤する。この膨潤は、持続放出投薬形態物が上部GI管に留まることを可能にする。ポリマー混合物の膨潤速度を、種々の等級品のポリエチレンオキシドを使用して変化させることができる。

30

【0120】

他の実施形態において、本発明の方法において使用することができる持続放出投薬形態物は、活性薬剤および結合剤の懸濁物により被覆される粒子コアをさらに有し、続いてポリマーにより被覆されるカプセルを有する。ポリマーは速度抑制ポリマーである場合がある。一般に、速度抑制ポリマーの送達速度は、活性薬剤が溶解させられる速度によって決定される。

40

【0121】

カプセルの限定されない例には、ゼラチンカプセル、HPMC、硬質外皮、軟質外皮、または持続放出混合物を収容するためのいずれかの他の好適なカプセルが含まれるが、これらに限定されない。

【0122】

上記の持続放出投薬形態物において使用される溶媒には、酢酸エチル、トリアセチン、ジメチルスルホキシド（DMSO）、炭酸プロピレン、N-メチルピロリドン（NMP）、エチルアルコール、ベンジルアルコール、グリコフロール、アルファ-トコフェロール、Miglyol 810、イソプロピルアルコール、フタル酸ジエチル、ポリエチレングリコール400（PEG 400）、クエン酸トリエチル、および安息香酸ベンジルが

50

含まれるが、これらに限定されない。

【0123】

上記の持続放出投薬形態物において使用される粘性改変剤には、カプリル酸/カプリン酸トリグリセリド(Migliolo 1810)、ミリスチン酸イソプロピル(IPM)、オレイン酸エチル、クエン酸トリエチル、フタル酸ジメチル、安息香酸ベンジル、およびポリエチレンオキシドの様々な等級品が含まれるが、これらに限定されない。上記の持続放出投薬形態物において使用される高粘性液体キャリアには、ショ糖酢酸イソ酪酸エステル(SAIB)および酢酸酪酸セルロース(CAB) 381-20が含まれるが、これらに限定されない。

【0124】

好ましい半透過性層を構成する材料の限定されない例には、セルロース系ポリマー、例えば、酢酸セルロース、セルロースアシラート、セルロースジアシラート、セルローストリアシラート、二酢酸セルロース、三酢酸セルロース、またはそれらのいかなる混合物など、エチレン酢酸ビニルコポリマー、ポリエチレン、エチレンのコポリマー、ポリオレフィン(エチレンオキシドコポリマー(例えば、Engage(登録商標)-Dupont Dow Elastomers)を含む)、ポリアミド、セルロース系材料、ポリウレタン、ポリエーテルブロック化アミド、およびコポリマー(例えば、PEBAX(登録商標)、セルロース系酢酸酪酸エステルおよびポリ酢酸ビニル)が含まれるが、これらに限定されない。上記の持続放出投薬形態物において用いられることがある崩壊剤の限定されない例には、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、アルギン酸ナトリウム、または類似する賦形剤が含まれるが、これらに限定されない。

【0125】

上記の持続放出投薬形態物において用いられることがある結合剤の限定されない例には、ヒドロキシアルキルセルロース、ヒドロキシアルキルアルキルセルロース、またはポリビニルピロリドンが含まれるが、これらに限定されない。

【0126】

上記の持続放出投薬形態物において用いられることがある浸透圧剤の限定されない例には、ソルビトール、マンニトール、塩化ナトリウム、または他の塩が含まれるが、これらに限定されない。上記の持続放出投薬形態物において用いられることがある生体適合性ポリマーの限定されない例には、ポリ(ヒドロキシル酸)、ポリ無水物、ポリオルトエステル、ポリアミド、ポリカーボネート、ポリアルキレン、ポリアルキレングリコール、ポリアルキレンオキシド、ポリアルキレンテレフタラート、ポリビニルアルコール、ポリビニルエーテル、ポリビニルエステル、ポリハロゲン化ビニル、ポリビニルピロリドン、ポリシロキサン、ポリ(ビニルアルコール)、ポリ(酢酸ビニル)、ポリスチレン、ポリウレタンおよびそのコポリマー、合成セルロース、ポリアクリル酸、ポリ(酪酸)、ポリ(吉草酸)、およびポリ(ラクチド-co-カプロラクトン)、エチレン酢酸ビニル、それらのコポリマーおよびブレンド物が含まれるが、これらに限定されない。

【0127】

上記の持続放出投薬形態物において用いられることがある吸湿性ポリマーの限定されない例には、ポリエチレンオキシド(例えば、4,000,000~10,000,000の分子量を有するpolyox(登録商標))、セルロースヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、架橋ポリアクリル酸、およびキサンタムガムが含まれるが、これらに限定されない。

【0128】

上記の持続放出投薬形態物において用いられることがある速度抑制ポリマーの限定されない例には、ポリマー状アクリラート、メタクリラートラッカーまたはその混合物、ポリマー状アクリラートラッカー、メタクリラートラッカー、アクリル酸エステルおよびメタクリル酸エステルのコポリマーを有するアクリル樹脂、または可塑剤を伴うメタクリル酸アンモニウムラッカーが含まれるが、これらに限定されない。

【0129】

キット

本明細書中に記載される投薬形態物はキットにおいて提供される場合がある。キットは、(a) 本明細書中に記載される方法において使用される化合物と、必要な場合には、(b) 情報提供物とを含む。情報提供物は、本明細書中に記載される方法および/または本明細書中に記載される方法のための投薬形態物の使用に関する記述物、説明物、販売用資料、または他のものであることが可能である。

【0130】

キットの情報提供物はその形態において限定されない。1つの実施形態において、情報提供物は、当該化合物の製造、当該化合物の分子量、濃度、使用期限に関する情報、回分処理または製造地の情報、およびその他を含むことができる。1つの実施形態において、情報提供物は、当該化合物を投与するための方法に関連する。

10

【0131】

1つの実施形態において、情報提供物は、本明細書中に記載される化合物を、本明細書中に記載される方法を行うための好適な様式で、例えば、本明細書中に記載される化合物を製造するために反応を行うための好適な様式で使用するための説明書を含むことができる。

【0132】

キットの情報提供物はその形態において限定されない。多くの場合において、情報提供物、例えば、説明書が、印刷物で、例えば、印刷された文面、図面、および/または写真、例えば、ラベルまたは印刷シートで提供される。しかしながら、情報提供物はまた、他の形式で、例えば、Braille点字、コンピューター読み取り可能物、ビデオ記録、または音声記録などで提供することができる。別の実施形態において、キットの情報提供物は、キットの使用者が、本明細書中に記載される化合物および/または本明細書中に記載される方法におけるその使用に関する実質的情報を得ることができる連絡先情報、例えば、実際の住所、電子メールアドレス、ウェブサイト、または電話番号である。当然のことではあるが、情報提供物はまた、様々な形式のどのような組合せでも提供されることが可能である。

20

【0133】

本明細書中に記載される投薬形態物に加えて、キットの組成物は他の成分を含むことができ、例えば、溶媒または緩衝剤、安定剤、保存剤、香味矯臭剤（例えば、苦いアントゴニストまたは甘味剤）、芳香剤、色素または着色剤、例えば、キットにおける1若しくはそれ以上の成分を染めるための、または着色するための色素または着色剤、あるいは他の化粧用成分、および/または、本明細書中に記載される状態若しくは障害を処置するための第2の薬剤などを含むことができる。代替では、そのような他の成分は、キットにおいて、しかし、本明細書中に記載される化合物とは異なる組成物または容器において含まれることが可能である。そのような実施形態において、キットは、本明細書中に記載される化合物およびそのような他の成分を混合するための説明書、または本明細書中に記載される化合物をそのような他の成分と一緒に使用するための説明書を含むことができる。

30

【0134】

いくつかの実施形態において、キットの成分は、不活性な条件のもとで（例えば、窒素または別の不活性ガス（例えば、アルゴンなど）のもとで）貯蔵される。いくつかの実施形態では、キットの成分は、（例えば、乾燥剤とともに）無水条件のもとで貯蔵される。いくつかの実施形態では、キットの成分は遮光容器（例えば、琥珀色バイアルなど）において貯蔵される。

40

【0135】

本明細書中に記載される投薬形態物はどのような形態でも提供されることが可能であり、例えば、液体形態、乾燥形態、または凍結乾燥形態で提供されることが可能である。本明細書中に記載される化合物は実質的に純粋および/または無菌であることが好ましい。本明細書中に記載される化合物が液体溶液で提供されるとき、液体溶液は好ましくは水溶液であり、無菌の水溶液が好ましい。本明細書中に記載される化合物が乾燥形態で提供さ

50

れるとき、再構成が一般には、好適な溶媒の添加によって行われる。当該溶媒（例えば、無菌水または無菌の緩衝液）を必要な場合にはキットにおいて提供することができる。

【0136】

キットは、本明細書中に記載される投薬形態物を含有する組成物のための1若しくはそれ以上の容器を含むことができる。いくつかの実施形態において、キットは、別個の容器、仕切り、または区画を組成物および情報提供物のために含有する。例えば、組成物を、びん、バイアル、またはシリンジにおいて含有することができ、情報提供物をビニール袋またはパケットにおいて含有することができる。他の実施形態において、キットの別々の要素が、仕切りのない1つの容器の中に含有される。例えば、投薬形態物が、ラベルの形態での情報提供物が貼付されているびん、バイアル、またはシリンジに含有される。いくつかの実施形態において、キットは、本明細書中に記載される化合物の1若しくはそれ以上の単位投薬形態物（例えば、本明細書中に記載される投薬形態物）をそれぞれが含有する複数（一包み）の個別容器を含む。例えば、キットは、本明細書中に記載される投薬形態物の単一の単位用量物をそれぞれが含有する複数のシリンジ、アンプル、ホイルパケット、またはブリスターパックを含む。

10

【0137】

キットの容器は、気密性、防水性（例えば、水分または蒸発における変化に対して不浸透性）、および/または光非透過性であることが可能である。

【0138】

キットは必要な場合には、投薬形態物の使用のために好適であるデバイスを含み、例えば、シリンジ、ピペット、鉗子、計量スプーン、スワブ（例えば、綿スワブまたは木製スワブ）、またはいずれかのそのようなデバイスを含む。

20

【0139】

したがって、具体的な様々な組成物および超高純度なテトラヒドロカンナビノール-11-酸が開示されている。本発明の数多くの実施形態が記載されている。それにもかかわらず、様々な改変が、本発明の精神および範囲から逸脱することなく行われることがあることが理解されるであろう。したがって、他の様々な実施形態が下記の特許請求項の範囲内である。しかしながら、当業者には、既に記載されている改変のほかにはるかに多くの改変が、本明細書中における発明的概念から逸脱することなく可能であることが明らかであるはずである。したがって、本発明の主題は、本開示の精神における場合を除いて限定

30

【実施例】

【0140】

下記の実施例は、本発明のある特定の好ましい実施形態および態様を明らかにするために、また、さらに例示するために提供されており、本発明の範囲を限定するものとして解釈されることはない。

40

【実施例1】

【0141】

C B 1 および C B 2 に関する超高純度 A J A の評価

超高純度なアジュレム酸（J B T - 1 0 1）を合成し、C B 1 受容体および C B 2 受容体に対するその結合を以前の調製物の結合と比較した。

【0142】

超高純度 A J A に関して、著しい違いが、C B 1 および C B 2 に関するその K_i において存在する。1つの具体的な実施形態において、図9に示されるように、C B 2 についての超高純度 A J A の結合親和性が、C B 1 についての結合親和性よりも約 $10 \times \sim 20$

50

X 大きい。比較のために、図 9 には、様々な他の K_i および $K_i(CB1)/K_i(CB2)$ 比が様々な他のカンナビノイドおよび他の以前に合成的に製造された A J A について示される [1 0、1 1]。

【実施例 2】

【0143】

同じ研究における A J A 対 T H C の直接比較

1. 結合 - C B 1 / C B 2 * C B 2 結合は、向精神性作用を伴うことなく抗炎症性影響および抗線維性影響を媒介するので非常に望ましい性質である。

【0144】

2. リング試験 - 脳のレベルにおける C B 1 アゴニスト活性によって媒介される向精神性影響として一般に受け入れられるカタレプシー応答。それぞれの化合物を様々な治療的用量で試験した [1 1]。

【0145】

3. インビボでのガン。A J A は、T H C によってもたらされる阻害よりも大きい、腫瘍成長の小さいが、有意な阻害を示す。選ばれた用量は抗炎症性範囲であった [1 2]。

【0146】

4. P K データ。A J A はいくらかのカンナビノイド様 C N S 活性をより大きい用量で示す一方で、優れた治療指数を他のカンナビノイド化合物と比較して示す。これは、比較的低下した C N S 浸透を反映しているかもしれない [3]。そのうえ、薬物動態学的分析は、いくらかの脳内浸透がラットにおいて認められるにもかかわらず、脳内浸透は幾分か限定されることを示している。これは、脳におけるピークレベルが、ピークでの薬力学的時点で測定される場合、血漿において見られるレベルのほんの 2 5 % ~ 3 0 % に達するからである。このことは、著しくより大きい相対的な脳内浸透を示す W I N 5 5 , 2 1 2 - 2 および T H C により認められるプロフィル（脳内レベルが、血漿において見られるレベルの 1 0 0 % ~ 1 9 0 % に達する）とは対照的である。これらのデータは、A J A が神経障害性疼痛患者における疼痛スコアを大麻様の向精神性有害事象の非存在下で低下させることが見出されたヒトにおける近年の知見を補うものである [1 3]。

【実施例 3】

【0147】

C B 1 受容体および C B 2 受容体に対する超高純度 A J A の活性の研究

超高純度なアジュレム酸 (J B T - 1 0 1) を、マウスにおけるその薬理学的影響について、同様にまた、C B 1 および C B 2 のカンナビノイド受容体の機能的なインビトロ活性化について評価した。

【0148】

具体的には、J B T - 1 0 1 を、[3 5 S] G T P S ターンオーバーをインビトロでの C B 1 受容体および C B 2 受容体において刺激するその能力について評価した。この化合物はまた、ホットプレートアッセイでのその抗侵害受容影響について、また、リング不動性試験でのカタレプシー影響について、ともにメスの C D - 1 マウスにおいて評価された。直腸温度もまたこれらのマウスにおいて測定した。

【0149】

使用された方法の概論

抗侵害受容のためのホットプレート試験

ホットプレート試験を使用して、超高純度 A J A および他の薬理学的薬剤の鎮痛活性を、マウスがその前足を舂める反応時間、および / または、5 4 ~ 5 6 に加熱され、かつ、その温度で維持されるアルミニウム製ホットプレートに置かれた後で飛び跳ねる反応時間に基づいて測定した。Kitchen I および Green P G、Differential Effects of DFP Poisoning and Its Treatment on Opioid Antinociception in the Mouse、Life Sci.、33:669-672 (1983)。この試験は、C B 1 アゴニスト活性を測定することが示されている。

【 0 1 5 0 】

アルミニウム表面を、水を金属内の通路に循環することによって 55 ± 1 で維持した。透明なプラスチック円筒（18 cmの直径および26 cmの高さ）を表面に置いて、逃亡を阻止した。終点を、マウスが、後足を舐めることを行ったか、または表面から飛び跳ねたかのどちらかである時間とした；どのような場合でも、動物は、30秒を超えてプレートの上に置かなかった。マウスは2回以上は決して使用しなかった；コントロール値および試験値を、例えば、3時間離して測定した。超高純度A J Aおよび他の試験化合物をホットプレート試験の約90分前に経口投与した。応答時間（潜伏時間）におけるパーセント変化を、コントロール値の平均を試験値の平均と比較することによって計算し、統計学的有意性をペアード t 検定によって求めた。

10

【 0 1 5 1 】

用量応答を $0.05 \text{ mg/kg} \sim 56 \text{ mg/kg}$ の用量で超高純度A J Aについて行った。超高純度A J Aは、米国特許第5,338,753号明細書から得られるA J Aよりもはるかに大きい用量を、痛覚消失を認めるためには必要とした。

【 0 1 5 2 】

カタレプシー影響の測定

カタレプシー応答を、Pertweeによって記載されるリング試験を使用して測定した（Pertwee RG、The Ring Test. A Quantitative Method of Assessing the Cataleptic Effect of Cannabis in Mice、Br. J. Pharmacol.、46:753-763（1972））。マウスを、16 cmの垂直の棒に取り付けられる直径が5.5 cmの水平のワイヤリングに載せた。後足および前足をリングの反対側に置いた。周囲温度を30 で維持し、環境は聴覚刺激および明るい光が除かれていた。応答を、マウスが5分の試験期間にわたって不動であった時間の割合として計算した。

20

【 0 1 5 3 】

用量応答を $0.05 \text{ mg/kg} \sim 56 \text{ mg/kg}$ の経口用量に対して超高純度A J Aについて行った。超高純度A J Aは、米国特許第5,338,753号明細書から得られるA J A（3a）よりもはるかに大きい用量を、カタレプシーを認めるためには必要とした。

【 0 1 5 4 】

GTP - ガンマ - S アッセイ

CB1受容体またはCB2受容体がアゴニストによって活性化されるとき、Gタンパク質アルファサブユニットの親和性がGDPに対してGTPに関して増大する。結果として、GDPがGタンパク質から追い出され、GTPまたはGTP Sが結合する。放射性標識（例えば、 $[^3\text{H}]\text{S}$ ）などがGTP S分子に結合するならば、Gタンパク質/ $[^3\text{H}]\text{S}$ 複合体の形成を、液体シンチレーション分光光度法を使用して直接に測定することができる。Weiland他（1994）、Methods Enzymol、237:3-13。Griffin他、PET、285:553-560、1998。

30

【 0 1 5 5 】

GTP - ガンマ - S アッセイを使用して、ヒトのCB1受容体およびCB2受容体に対するA J Aの機能的活性化を研究し、CB2受容体についての超高純度A J Aの選択性をさらに求めた。図13に示されるように、GTP - ガンマ - S アッセイにおける超高純度A J Aの効力は、CB1アッセイの場合よりもCB2アッセイにおいて約10X良好であった。このことは、CB1に対してCB2についての超高純度A J Aの改善された選択性を裏づけている。

40

【 0 1 5 6 】

実験の詳細インビトロ機能的アッセイのためのストック溶液の調製

インビトロ機能的アッセイのために、JBT-101のストック溶液をエタノールまたはDMSOにおいて調製した。

50

【0157】

インビボ試験のための溶液の調製

⁹-THC [National Institute on Drug Abuse (NIDA)、メリーランド州Rockville]、インドメタシン (Sigma-Aldrich、ミズーリ州St. Louis)、およびJBT-101をピーナッツ油またはベニバナ油 (食品等級) のビヒクルに溶解した。化合物を経口胃管法により20 µl / kgの体積で投与した。

【0158】

カンナビノイド受容体におけるインビトロ機能的アッセイ材料および方法

CB1受容体アッセイおよびCB2受容体アッセイは、HEK-293発現系から単離される、Perkin Elmer (マサチューセッツ州Waltham) から購入される膜調製物を伴う。試験化合物のGタンパク質共役シグナル伝達 (GTP - - [35S]) アッセイを、0.4 mLのアッセイ緩衝液 (50 mM TRIS-HCl (pH 7.4)、1 mM EDTA、100 mM NaCl、5 mM MgCl₂、0.5% (w/v) BSA) における試験化合物 (250 nM ~ 1 mM)、GDP (20 µM)、GTP - - [35S] (100 pM)、ならびに、hCB1膜調製物およびhCB2膜調製物 (0.4 pM) から成るインキュベーション混合物において行った。非特異的結合を100 µMの非標識GTP - - Sの存在下で求め、基礎的結合を薬物の非存在下で求めた。二連のサンプルを30 で1時間インキュベーションし、結合した複合体を前記のような反応混合物からろ過し、液体シンチレーションカウンターで計数した。特異的結合を、非特異的結合を総結合から引き、総基礎的結合 - 非特異的結合によって除することによって計算した。データをプロットし、GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc.、カリフォルニア州San Diego) を用いて分析した。

【0159】

インビトロアッセイ：結果および考察

CP55940 (陽性コントロール) は、GTP - - 35Sターンオーバーを、hCB1受容体およびhCB2受容体の両方を介してnM濃度で刺激した (表2; CB1についてはEC₅₀ = 9.99 ± 2.5 nM、CB2についてはEC₅₀ = 3.96 ± 1.3 nM)。これらの結果は、CP55,940がこれらのGタンパク質共役受容体部位においてアゴニストとして作用することを示している (図13、上段パネル)。JBT-101もまた、GTP - - 35Sターンオーバーを、両方のカンナビノイド受容体を介して刺激し、しかし、はるかにより小さい効力により刺激した (図13、下段パネル)。CB1受容体におけるJBT-101についてのEC₅₀が9209 ± 2042 nMであり、これに対して、CB2受容体におけるEC₅₀が1020 ± 92 nMであった (表2)。CB1受容体に対してCB2受容体の活性化についての効力における9倍の差は、CB2受容体と結合することについてのこの化合物の12倍の選択性と一致しており、このことは、JBT-101が、CB1受容体において活性でない用量でCB2受容体を活性化するのであることを示唆している。

【0160】

【表 2】

表 2. hCB1 受容体および hCB2 受容体における GTP- γ -35S ターンオーバー

| 化合物 | hCB ₁ EC ₅₀ (nM) | | | | 平均 (\pm SEM) |
|----------|--|-------|-------|-------|--------------------|
| | 反復 1 | 反復 2 | 反復 3 | 反復 4 | |
| CP55,940 | 6.989 | 6.294 | 9.529 | 17.14 | 9.99 (2.5) |
| JBT-101 | 13694 | 5830 | 11647 | 5664 | 9209 (2042) |
| 化合物 | hCB ₂ EC ₅₀ (nM) | | | | 平均 (\pm SEM) |
| | 反復 1 | 反復 2 | 反復 3 | 反復 4 | |
| CP55,940 | 2.81 | 0.69 | 5.91 | 6.41 | 3.96 (1.3) |
| JBT-101 | 930 | 815 | 1232 | 1101 | 1020 (92) |

10

【0161】

マウスでのインビボ試験

被験体

20

Charles River (ノースカロライナ州 Raleigh) から得られるメスの CD-1 マウス (20 g ~ 25 g) を、ホットプレート侵害受容アッセイ、直腸温度アッセイ、およびリング不動性アッセイにおける評価のために使用した。別々のマウスを、それぞれの化合物のそれぞれの用量をこの一連の手順で試験するために使用した。マウスは、そのホームケージに居るときには餌および水を自由に取ることができた。すべての動物を、12 時間の明暗サイクル (午前 7 時に照明開始) を伴う温度制御された (20 ~ 22) 環境で飼育した。

【0162】

インビボ方法

それぞれのマウスを一連の 3 つの試験で試験した。この場合、試験では、カンナビノイド CB1 アゴニストにより、マウスにおけるインビボ影響 (Martin 他、1991)、抗侵害受容 (ホットプレートアッセイ)、低下した直腸温度およびリング不動性がもたらされる。試験化合物の投与に先立って、直腸温度およびホットプレート試験でのベースライン潜伏時間をマウスにおいて測定した。後者の手順では、マウスを 55 の設定での加熱された表面 (マウス低温 / 高温プレート痛覚消失装置、Stoelting、イリノイ州 Wood Dale) に置くことが伴った。マウスが足を上げるか、または舐めるまでの時間を測定し、測定後、マウスを装置から除いた。マウスが 30 秒以内に足を上げなかったか、または舐めなかったならば、マウスを装置から除き、30 秒の潜伏時間を記録した。ベースラインにおける温度およびホットプレート潜伏時間の測定の後、マウスにはビヒクルまたは薬物を経口胃管法により投与した。ホットプレート潜伏時間および温度を、ピーナッツ油ビヒクルまたは JBT-101 の (経口胃管法による) 投与の 90 分後に、あるいは、9-THC またはインドメタシンの (経口胃管法による) 投与の 60 分後に再び測定した。続いて、マウスを、16 cm の高さでリングスタンドに取り付けられる 5.5 cm のリングに載せ、動物が 5 分の期間の期間中に動かないままであった時間の量を記録した。加えて、マウスがリングから落ちたか、または飛び降りた回数を記録した。動物マウスが 5 回を超えてリングから落ちたならば、試験を終了した。

30

40

【0163】

データ分析

直腸温度の値を、(注入前の) コントロール温度と薬物投与後の温度との差 () として表した。抗侵害受容を、下記のように 30 秒最大試験潜伏時間を使用してパーセント

50

最大可能影響 (MPE) として表した: $[(\text{試験} - \text{コントロール}) / (30 - \text{コントロール})] \times 100$ 。カタレプシーについての評価の期間中、マウスがリング装置の上で動かないままであった時間 (秒単位) の総量 (呼吸およびひげ運動については除く) を測定し、カタレプシー様行動の目安として使用した。この値を 300 s によって除し、100 を乗じて、パーセント不動性を得た。マウスが 5 回を超えてリングから落ちたならば、試験を終了し、当該マウスについてのリング不動性データは分析において含まれなかった。別々の被験体間 ANOVAs を使用して、それぞれの測定を分析した。コントロール (ビヒクル) からの有意な差を、必要に応じてチューキー事後検定 ($\alpha = 0.05$) によりさらに分析した。

【0164】

インビボ試験: 結果および考察

コントロール試験により、ピーナッツ油ビヒクル (陰性コントロール) はこれら 3 つの試験 (ホットプレート、直腸温度、およびカタレプシー) のいずれにおいても活性でなかったことが明らかにされた [図 14、図 15、および図 16、それぞれのパネルの左側]。インドメタシンの 30 mg/kg の用量もまた、有意な影響をこれら 3 つの測定のいずれにも及ぼさなかった。対照的に、30 mg/kg および/または 100 mg/kg の経口用量において、9-THC (陽性コントロール) は、それぞれの測定をビヒクル条件と比較した場合、有意な抗侵害受容 [100 mg/kg のみ; $F(9, 50) = 5.71$ 、 $p < 0.05$ 、図 15]、リング不動性 [両方の用量; $F(9, 48) = 21.18$ 、 $p < 0.05$ 、図 14]、および低体温 [両方の用量; $F(9, 50) = 15.08$ 、 $p < 0.05$ 、図 16] をもたらした。JBT-101 を、0.05 mg/kg から 56 mg/kg にまで及ぶ経口用量でこれら 3 つのインビボ試験で評価した。試験された用量のどれも、ホットプレート試験における有意な抗侵害受容をもたさず (図 15、右側)、また、直腸温度における有意な変化をもたさなかった (図 16、右側)。30 mg/kg および 56 mg/kg の経口用量において、JBT-101 は、ビヒクル条件と比較した場合、カタレプシー試験におけるパーセントリング不動性を有意に増大させた (図 14、右側。 $F(9, 48) = 21.18$ 、 $p < 0.05$)。増大の大きさは 30 mg/kg および 56 mg/kg の用量において類似しており、9-THC の 30 mg/kg の用量で認められる増大に近かった。JBT-101 のより低い用量 (最大で 10 mg/kg) はこの測定に影響を及ぼさなかった。

【0165】

まとめると、マウスにおけるホットプレート試験および直腸温度試験において JBT-101 (0.05 mg/kg ~ 56 mg/kg) によってもたらされる影響のパターンは、9-THC (本研究; Martin 他、1991) および他の精神活性カンナビノイド (アミノアルキルインドール類 (Compton 他、1992a)、二環性カンナビノイド (Compton 他、1992b)、ならびにインドール由来カンナビノイドおよびピロール由来カンナビノイド (Wiley 他、1998; Wiley 他、2012) を含む) によって示されるパターンと似ていなかった。JBT-101 はリング不動性をより大きい用量 (30 mg/kg および 56 mg/kg) で増大させ、大きさが、30 mg/kg の 9-THC によってもたらされる大きさと類似していたにもかかわらず、薬学的影響のその全体的パターンは 9-THC 様の精神活性を示唆していなかった。

【0166】

要約

JBT-101 (超高純度アジュレム酸) によってもたらされる薬理学的影響のプロファイルは、アジュレム酸の以前に報告された影響と著しく異なる。以前に合成された (精製されていない) アジュレム酸は効力を (Wiley (2005) において総説される) 痛みおよび炎症のいくつかの前臨床モデルにおいて示している; しかしながら、これはまた、9-THC および他の精神活性な CB1 受容体アゴニストに特徴的であるインビボでの薬理学的影響のプロファイルをもたらしした。これらの影響には、マウスにおける自発的活動の抑制、抗侵害受容、低体温、およびカタレプシー、ならびにラットにおける 9-T

10

20

30

40

50

H C 様の判別可能な刺激影響 (V a n n 他、 2 0 0 7) が含まれた。これらの影響は、これらのより初期のアジュレム酸合成産物によって示される良好な C B 1 受容体結合親和性と一致している: N o v a r t i s 化合物については $K_i = 5.7 \text{ nM}$ (D y s o n 他、 2 0 0 5)、H U - 2 3 9 については $K_i = 32.3 \text{ nM}$ (P e r t w e e 他、 2 0 1 0)。さらに、これらの化合物についての C B 1 / C B 2 結合の比率が低かった (0 . 1 0 および 0 . 1 9、それぞれ)。対照的に、J B T - 1 0 1 は、C B 1 受容体 ($K_i = 628 \pm 6 \text{ nM}$) と比較した場合、C B 2 受容体における 1 2 倍を超える選択的結合親和性 ($K_i = 51 \pm 11 \text{ nM}$) を示した。本明細書中に示されるように、J B T - 1 0 1 はまた、C B 1 受容体と比較した場合、C B 2 受容体の活性化についての類似する選択性を示した。そのうえ、 $56 \text{ mg / kg (p.o.)}$ までの用量において、9 - T H C および他の精神活性カンナビノイドの投与の後で特徴的に認められる行動影響が、超高純度アジュレム酸に関しては最小限に認められた。J B T - 1 0 1 はリング不動性を増大させたが、より大きい用量 (30 mg / kg および 56 mg / kg) においてのみであった。まとめると、これらの結果は、J B T - 1 0 1 の影響が (非精製の) アジュレム酸のより初期の合成物の影響とは異なることを明らかにする。結論として、J B T - 1 0 1 の薬理学的プロファイルは、J B T - 1 0 1 が、C B 1 受容体活性をほとんど有しない C B 2 選択的化合物であることと一致している。

10

【実施例 4】

【0167】

C B 2 および C B 1 についての選択されたカンナビノイドの結合曲線

20

図 1 2 は、超高純度 A J A、ならびに、C B 2 および C B 1 に対して選択的な参照カンナビノイドアンタゴニストについての結合曲線を示す。

【0168】

C B 受容体結合アッセイ

膜の調製 - H E K - 2 9 3 T 細胞を A T C C (バージニア州 M a n a s s a s) の指針に従って培養し、P o l y f e c t (Q i a g e n、カリフォルニア州 V a l e n c i a) または F u g e n e (R o c h e、ニュージャージー州 N u t l e y) を製造者の説明書に従って使用して、S V 4 0 プロモーターに機能的に連結されるヒト C B 1 c D N A (G e n b a n k X 5 4 9 3 7) または C B 2 c D N A (G e n b a n k X 7 4 3 2 8) によりトランスフェクションした。トランスフェクション後 4 8 時間で、細胞を、細胞スクレーパーを使用して、氷冷の膜緩衝液 (20 mM HEPES 、 6 mM MgCl_2 、 1 mM EDTA 、 $\text{pH } 7.2$) に集めた。細胞を窒素キャビテーションチャンバーに移し、 900 bar の圧力を 3 0 分間加えた。圧力を解放し、細胞破片を回収し、4 で 1 0 分間、 1000 g で遠心分離した。上清を回収し、遠心分離を、上清が沈殿物を含まなくなるまで繰り返した。その後、膜を、4 で 2 0 分間の $12,000 \text{ g}$ での遠心分離によってペレット化した。膜を適量の膜緩衝液に再懸濁した。膜濃度を、B i o R a d (カリフォルニア州 H e r c u l e s) タンパク質アッセイ色素試薬を製造者の説明書に従って使用して求めた。膜を 1 mg / ml に希釈し、小分け物を液体窒素において急速凍結し、 -80 で貯蔵した。

30

【0169】

結合アッセイ - ヒト C B 1 受容体またはヒト C B 2 受容体を発現する膜の $0.5 \text{ ng} \sim 10 \text{ ng}$ を、結合緩衝液 (50 mM Tris 、 10 mM MgCl_2 、 1 mM EDTA 、 $0.1\% \text{ BSA}$ 、 $\text{pH } 7.4$) 中、 $0.5 \text{ nM} \sim 2 \text{ nM}$ の放射性リガンド ($[3\text{H}]$ - C P 5 5 9 4 0 ; P e r k i n E l m e r、ただし、示される場合には、 3 nM の $[3\text{H}]$ - S R 1 4 1 7 1 6 を放射性リガンドとして使用した)、および様々な濃度のリガンドの存在下でインキュベーションした (9 6 ウエルプレートのウエルあたり $200 \mu\text{L}$ の総体積)。膜を室温で 2 時間インキュベーションし、その後、F i l t e r m a t e 1 9 6 H a r v e s t e r (P a c k a r d I n s t r u m e n t s、イリノイ州 D o w n e r s G r o v e) を使用して、(0.1% ポリエチレンイミンにより 1 時間 ~ 2 時間) 予浸された 9 6 ウエル G F / B フィルタープレート (P a c k a r d B i o

40

50

science、コネティカット州 Shelton) の上にろ過し、500 mL の氷冷の洗淨緩衝液 (25 mM HEPES、1 mM CaCl_2 、5 mM MgCl_2 、0.25 M NaCl) により洗淨した。フィルタープレートを乾燥し、その後、50 μL のシンチレーション液をそれぞれのウェルに加えた (Microscint 20、Packard、コネティカット州 Shelton)。プレートを、Topcount NXT (Packard、コネティカット州 Shelton) で計数した。

【0170】

データ分析 - グラフをプロットし、 IC_{50} 値を、Prismソフトウェア (GraphPad、バージョン4.0、米国カリフォルニア州 San Diego) を使用する非線形回帰分析によって求めた。 K_i 値を、ヒトCB1受容体についてSR141716受容体についての2.9 nM、ならびに、ヒトCB1受容体およびヒトCB2受容体についてCP55,940についての2.5 nMおよび0.92 nMの報告される K_i 値 (McPartland他、BJP、2007) をそれぞれ使用するCheng & Prussoff法を使用して IC_{50} 値から計算した。

【実施例5】

【0171】

超高純度AJAにより誘導されるCB2受容体媒介インビボ影響

線維症動物モデル - プレオマイシン誘導皮膚線維症

8匹のマウス (6週齢 ~ 12週齢のC57B1) から成る群にプレオマイシン (20 μg / マウス) またはビヒクルのs.c.注射を14日間与え、その後、1週間の回復を与えた。並行して、1日目に開始して、2%メチルセルロース (MC) に懸濁される超高純度AJA、またはビヒクルを、0 mg / kg、2.5 mg / kg、5.0 mg / kg、および10 mg / kgで経口胃管法によって投与した。21日目に、マウスを屠殺した。その皮膚を集め、常法による組織学アッセイ (H&E染色、トリクローム染色、およびビクロシリウスレッド染色)、免疫組織化学アッセイ (パラフィン包埋サンプルまたは凍結サンプル)、インサイチューハイブリダイゼーション・アッセイ、コラーゲンアッセイ (SIRCOL)、およびリアルタイムqPCRまたはマイクロアレイハイブリダイゼーションのためのRNA単離のために処理した。皮膚切片を注意深く特徴づけし、損傷皮膚における皮膚炎症、皮膚肥厚、コラーゲン蓄積 (トリクローム)、およびコラーゲン架橋 (シリウスレッド) について定量化した。

【0172】

結果：図18に示されるように、超高純度AJAは、マウス・ペロマイシン (belomycin) ・モデルにおけるCB2媒介皮膚線維症の阻害のために試験されたすべての用量において効果的であった。これらの同じ用量は、図14 ~ 図16に示されるCB1媒介の行動モデルでは完全に効果的ではなく、このことは、超高純度アジュレム酸におけるCB2活性がいかなるCB1活性の非存在下においても維持されることを裏づけていた。

【0173】

炎症動物モデル - 足浮腫モデル

CD-1マウス (メス) を実験群に無作為に割り当て、1週間にわたって順応させた。試験化合物の投与に先立って、ベースラインでの右側後足の体積を、水置換デバイス (プレチスモメーター、Stoelting) を使用してガス (イソフルラン) 麻酔下で測定した。0日目に、2%のMCに懸濁される超高純度AJA、またはビヒクルを、経口胃管法によって、0 μg / kg、5 μg / kg、50 μg / kg、および500 μg / kgで投与した。処置を施した90分後、動物には、5%エタノールにおける100 mg / mLのアラキドン酸溶液の10マイクロリットルを皮下注射によって右側後足の足裏面に与えた。コントロール動物群 (群1) には等体積の5%エタノール溶液を投与した。左側後足には注射しなかった。足底内注射をガス麻酔下で行った。足裏内注射の45分後、右側後足の体積を、プレチスモメーターを使用してガス麻酔下で測定した。

【0174】

結果：図19に示されるように、超高純度AJAは、炎症をマウス足浮腫モデルで阻害

することにおいて試験されたすべての用量において効果的であった。これらの同じ用量は、図14～図16に示されるCB1媒介の行動モデルでは完全に効果的ではなく、このことは、超高純度アジュレム酸におけるCB2活性がいかなるCB1活性の非存在下においても維持されることを裏づけていた。

【0175】

参考文献：

1. Stahl, P. H. および Wermuth, C. G. (編) (2002)、Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties Selection and Use、Verlag Helvetica Chimica Acta/Wiley-VCH、Zurich 10
2. Burstein, S. H. ; Audette, C. A. ; Breuer, A. ; Devane, W. A. ; Colodner, S. ; Doyle, S. A. ; Mechoulam, R.、J Med Chem、1992、35、3135-3
3. Dyson, A. 他 (2005)、Antihyperalgesic properties of the cannabinoid CT-3 in chronic neuropathic and inflammatory pain states in the rat、Pain、116(1-2)、129-137
4. Recht, L. D. 他 (2001)、Antitumor effects of ajulemic acid (CT3), a synthetic non-psychoactive cannabinoid、Biochem. Pharmacol. 20
、62(6)、755-763
5. LeRoy, E. C. (1974)、Increased Collagen Synthesis by Scleroderma Skin Fibroblasts in Vitro a Possible Defect in the Regulation or Activation of the Scleroderma Fibroblast、J. Clin. Invest.、54(4)、880-889
6. Welch, S. C. および Walters, M. E. (1978)、Reduction of aryl diethyl phosphates with titanium metal: a method for deoxygenation of phenols、The Journal of Organic Chemistry 30
、43(25)、4797-4799
7. Wang, F.、Chiba, K.、および Tada, M. (1992)、Facile deoxygenation of phenols and enols using sodium borohydride-nickel chloride、Journal of the Chemical Society、Perkin Transactions、1(15)、1897-1900
8. Saa, J. M. 他 (1990)、Deoxygenation of highly hindered phenols、The Journal of Organic Chemistry、55(3)、991-995
9. Rowe, R. C. (2009)、Handbook of Pharmaceutical Exceptients、6th ed.、Pharmaceutical Press 40
10. Pertwee, R. G. 他 (2010)、International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid Receptors and Their Ligands: Beyond CB1 and CB2、Pharmacol. Rev.、62(4)、588-631
11. Burstein, S. H. 他 (1992)、Synthetic nonpsychotropic cannabinoids with potent anti-inflammatory, analgesic, and leukocyte ant 50

i adhesion activities, J Med Chem, 35 (17), 3135 - 3141

12. Recht, L. D. 他 (2001)、Antitumor effects of ajulemic acid (CT3), a synthetic non-psychoactive cannabinoid, Biochem Pharmacol, 62 (6), 755 - 763

13. Karst, M. 他 (2003)、Analgesic effect of the synthetic cannabinoid CT-3 on chronic neuropathic pain: a randomized controlled trial, Jama, 290 (13), 1757 - 1762

10

14. Rhee M-H, Vogel Z, Barg J, Bayewitch M, Levy R, Hanus L, Breuer A, および Mechoulam R, Cannabinol Derivatives: Binding to Cannabinoid Receptors and Inhibition of Adenylyl cyclase, J. Med. Chem., 1997, 40, 3228 - 3233

15. McPartland JM, Glass M, Pertwee RG, Meta-analysis of cannabinoid ligand binding affinity and receptor distribution: interspecies differences, Br J Pharmacol, 2007 Nov; 152 (5): 583 - 93

20

16. Cheng Y, Prusoff WH, Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (IC_{50}) of an enzymatic reaction, Biochem Pharmacol, 1973 Dec 1; 22 (23): 3099 - 108

17. 米国特許第5,338,753号明細書。S. Burstein および R. Mechoulam、抗炎症剤および鎮痛剤として有用な (3R, 4R) - 6 - THC - 7 - 酸 (1994年8月)

18. Weiland 他 (1994)、Measurement of receptor-stimulated guanosine-5'-O-(γ -thio) triphosphate binding by G proteins, Methods Enzymol, 237: 3 - 13

30

19. Griffin 他、Evaluation of Cannabinoid Receptor Agonists and Antagonists Using the Guanosine-5'-O-(3-[35 S]thio)-triphosphate Binding Assay in Rat Cerebellar Membranes, JPET, 285: 553 - 560, 1998

20. Wiley 他、Structural and pharmacological analysis of O-2050, a putative neutral cannabinoid CB(1) receptor antagonist, Eur. J. Pharmacol., 2011, 651 (1-3): 96 - 105

40

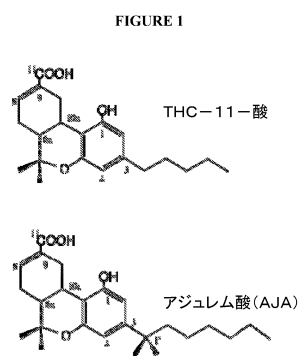
21. Wiley JL および Martin BR, Cannabinoid pharmacological properties common to other centrally acting drugs, Eur. J. Pharmacol., 2003, 471 (3): 185 - 193

22. Burstein 他、Synthetic non-psychootropic cannabinoids with potent anti-inflammatory, analgesic and leukocyte anti adhesion activities, J. Med. Chem., 35: 3135 - 3141 (19

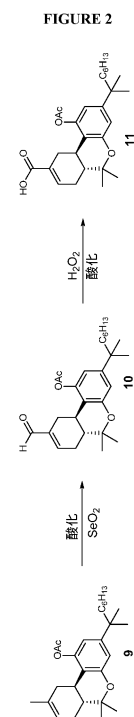
50

9 2)

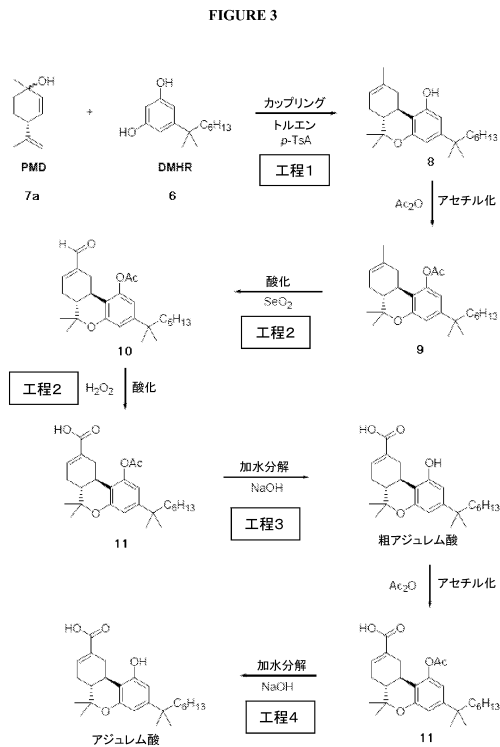
【図 1】



【図 2】



【 図 3 】



【 図 4 - 1 】

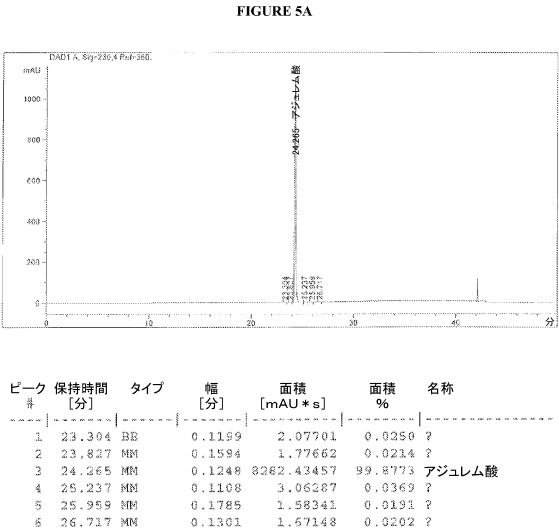
FIGURE 4

| | AJA (米国特許 第5,338,753号 明細書から) | AJA (AMRI) 3306-C-R0-01-49-01 | AJA (NORAC 超高純度) JBA1001A04 |
|-------------|------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| 合成方法 | アルコールの カルボン酸への酸化 | メチルの カルボン酸への酸化 | メチルの カルボン酸への酸化 |
| 物質の外見 | 不明 | 褐色の固体 | 白色～褐色の固体 |
| APCI-MS | 構造と一致 | 構造と一致 | 構造と一致 |
| プロトンNMR | 構造と一致 | 構造と一致 | 構造と一致 |
| カーボンNMR | 不明 | 構造と一致 | 構造と一致 |
| IRスペクトル | 幅広いバンド 3100-3600NM | 幅広いバンド 2900-3000NM | 幅広いバンド 2900-3000NM |
| 融点 | 112-114 ^o C | 97-99 ^o C | 97-99 ^o C |
| 結合親和性 | CB1>CB2 (5:1) | CB2>CB1 (13:1) | CB2>CB1 (12:1) |
| 純度 % (HPLC) | 不明 | 99.0% | 99.8% |
| 総不純物 | 不明 | 0.3% | 0.2% |
| 残留溶媒 | 不明 | <5000PPM | <300PPM |
| 水分含有量 | 不明 | 1.6% | 1.0% |

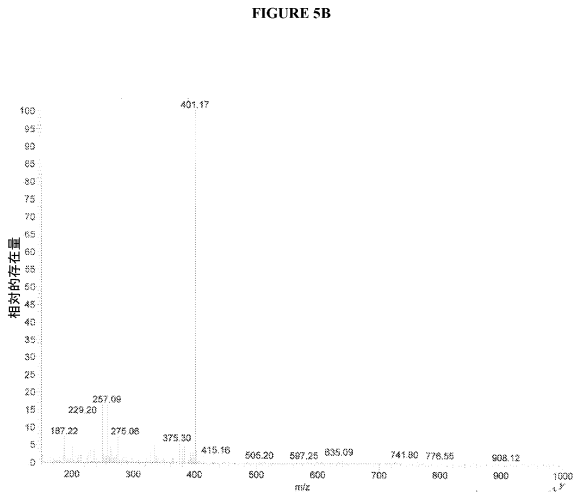
【 図 4 - 2 】

| | | | |
|-----|----|-------|-------|
| 内容物 | | | |
| 重金属 | 不明 | 15PPM | 21PPM |

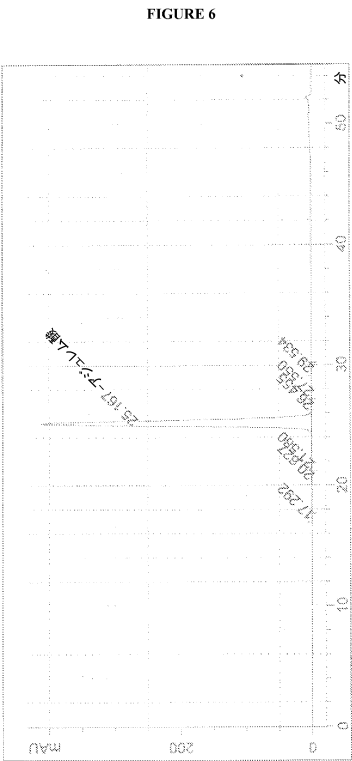
【 図 5 A 】



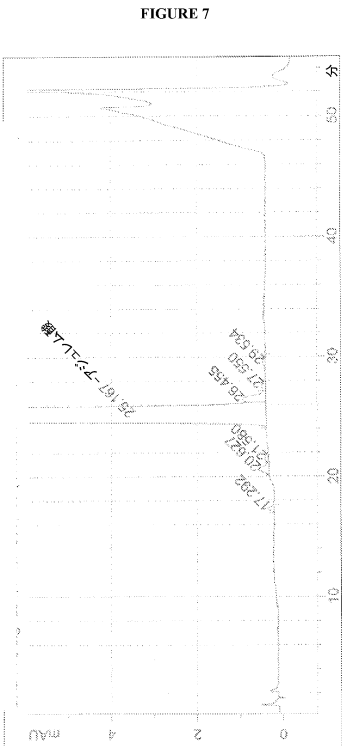
【 図 5 B 】



【 図 6 】



【 図 7 】



【 図 8 】

FIGURE 8

| 試験名 | 規格値 | 試験結果 | 分析完了日 | | | | | | |
|--|--|---|----------|----------|------|-------|------|-------|----------|
| 物質の外見 | 白色～褐色の固体 | 合格(白色～褐色の固体) | 12年6月13日 | | | | | | |
| 同一性、FTIR | 参照標準物に一致 | 合格(参照標準物に一致) | 12年6月04日 | | | | | | |
| 同一性、 ¹ Hおよび ¹³ C NMR | 参照標準物に一致 | 合格(参照標準物に一致) | 12年5月31日 | | | | | | |
| 同一性、LCMS | 構造と一致 | 合格 [M+]=401.17(構造と一致) | 12年5月31日 | | | | | | |
| 同一性、HPLCによるRT | 保持時間、 参照標準物の±2% | 合格 (保持時間、参照標準物の±2%) | 12年6月14日 | | | | | | |
| アッセイ、HPLC | 95.0 – 102.0% w/w (SPHYROL, 401.17, 25.17, 25.17) | 100.2% w/w ¹ . | 12年6月25日 | | | | | | |
| 純度、HPLC | ≥ 97.0% AUC | 99.8% AUC | 12年6月14日 | | | | | | |
| 関連不純物、HPLC | | | | | | | | | |
| 個々の関連不純物 | それぞれ、≤ 0.050% AUC | <table><tr><th>RRT</th><th>結果</th></tr><tr><td>0.82</td><td>0.06%</td></tr><tr><td>1.05</td><td>0.14%</td></tr></table> | RRT | 結果 | 0.82 | 0.06% | 1.05 | 0.14% | 12年6月14日 |
| RRT | 結果 | | | | | | | | |
| 0.82 | 0.06% | | | | | | | | |
| 1.05 | 0.14% | | | | | | | | |
| 総関連不純物 | ≤ 3.0% AUC | 0.2% | | | | | | | |
| 残留溶媒、 GC-MS | アセトニトリル | ≤ 410 ppm | 69 ppm | 12年6月18日 | | | | | |
| | THF | ≤ 720 ppm | ND | | | | | | |
| | トルエン | ≤ 990 ppm | ND | | | | | | |
| | アセトン | ≤ 5000 ppm | 29 ppm | | | | | | |
| | IPA | ≤ 5000 ppm | 25 ppm | | | | | | |
| | ヘプタン | ≤ 5000 ppm | 8 ppm | | | | | | |
| | MTBE | ≤ 5000 ppm | 164 ppm | | | | | | |
| tert-BuOH | ≤ 5000 ppm | ND | | | | | | | |
| 水分含有量、KF | 報告結果 | 1.0% | | 12年6月05日 | | | | | |
| 強熱残分 | 報告結果 | 0.12% w/w | | 12年5月31日 | | | | | |
| 融解範囲、DSC | 報告結果 | 開始: 92.75°C ピーク: 99.03°C | | 12年6月05日 | | | | | |
| 金属分析、ICP-MS | 報告結果 | 米医薬局方35<231> ¹ に 記載の元素については 検出されず | | 12年6月14日 | | | | | |
| セレン含有量、ICP | ≤ 50 ppm | 21 ppm | | 12年6月14日 | | | | | |

【図 9】

FIGURE 9

| 選択されたカンナビノイドについての親和性定数 | | | |
|---------------------------|---------------------------|------------------------------|---------------|
| リガンド | Ki CB2 | Ki CB1 | Ki CB1/Ki CB2 |
| AJA (JBT-101) | 51 (31, 82) | 628 (150, 2500) | 12.3 |
| AJA (AMRI) | 43 (22, 84) | 582 (300, 1250) | 13.5 |
| AJA (753号特許) ³ | 170.5 ¹ | 32.3 ¹ | 0.19 |
| WIN-55,212 | 0.3 ~ 16.2 ² | 1.9 ~ 123 ² | ND |
| SR144528 | 0.3 ~ 5.6 ² | 50.3 to >10,000 ² | ND |
| SR141716 | 514 ~ 13,200 ² | 1.8 ~ 12.3 ² | ND |

JBT-101およびAMRIの各調製物についての結合データは3回~11回の独立した実験の平均±(範囲)を表す。¹Rhee他(1997)から引用されるデータ。²Pertwee他(2010)から引用されるデータ。³[³H]-CP 55, 940を使用して当該方法で記載されるように行われる放射性リガンド結合。すべての値がnM単位である。³米国特許第5, 338, 753号明細書。

- 10 1. Rhee, M. H.; Vogel, Z.; Barg, J.; Bayewitch, M.; Levy, R.; Hanus, L.; Breuer, A.; Mechoulam, R. *J Med Chem* **1997**, 40, 3228.
2. Pertwee, R. G.; Howlett, A. C.; Abood, M. E.; Alexander, S. P.; Di Marzo, V.; Elphick, M. R.; Greasley, P. J.; Hansen, H. S.; Kunos, G.; Mackie, K.; Mechoulam, R.; Ross, R. A. *Pharmacol Rev* **2010**, 62, 588.

【図 10】

FIGURE 10

| マウスにおけるカタレプシー影響 ^a | | |
|------------------------------|------------|--------------|
| 処置 | 用量 (mg/kg) | 応答 ± SD |
| ビヒクル ^b | — | 7.7 ± 4.4 |
| 1a | 0.1 | 22.9 ± 10.3* |
| 3a | 0.1 | 5.8 ± 3.4 |
| 3a (AJA) | 1.0 | 12.2 ± 6.0 |
| 6a | 0.25 | 12.3 ± 10.3 |
| 6a | 0.5 | 13.8 ± 7.9 |
| 6a | 1.0 | 10.4 ± 10.6 |
| 6a | 4.0 | 8.7 ± 5.6 |
| Δ ⁶ -THC-7-酸 | 5.0 | 10.1 ± 6.8 |
| Δ ⁶ -THC-7-酸 | 0.5 | 10.0 ± 7.5 |
| Δ ¹ -THC | 40 | 48.9 ± 16* |

^a値は、マウス不動時間の割合の平均±SDとして表される。他の詳細については実験の節を参照のこと。アステリクス(*)は、ANOVAによって95%の有意性を示す；他の場合には統計学的有意性がない。^bピーナッツ油(50 μL)を経口投与によって与えた。

| 用量 (mg/kg) | 抗慢害受容影響 ^a | | | | |
|------------|----------------------|-----------|-----------|---------|-------------|
| | 2a | 1a | 6b | 3e | 6a |
| 0.025 | — | — | — | — | 10.3(5) |
| 0.050 | — | — | — | — | 61.7(5)* |
| 0.10 | — | — | — | — | 49.5(20)* |
| 0.25 | 30.0(5)* | 44.4(5)* | 10.4(5) | — | 61.3(17)*** |
| 0.50 | 72.3(5)*** | 58.3(5)** | 49.0(10)* | — | 51.7(9)* |
| 1.0 | — | 10.2(5) | 106.1(5)* | — | 14.7(5) |
| 2.0 | — | — | 37.5(10) | 42.9(9) | — |
| 4.0 | — | — | 3.1(10) | — | — |

^a値は潜伏時間におけるパーセント変化である。括弧内の数字はマウスの数である。
*P<0. 05; **P<0. 01; ***P<0. 05。ベアード検定による；他の場合には統計学的有意性がない；同じ条件のもと、インドメタシン(10mg/kg)は潜伏時間における51. 1%の増大をもたらした；ナプロキセン(40mg/kg)は64. 4%の増大を生じさせた。

【図 11】

FIGURE 11

ラットでの全身投与の後におけるカンナビノイドの血漿中レベルおよび脳内レベル

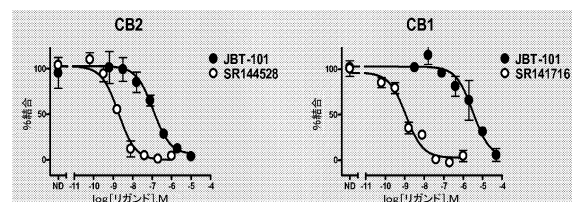
| | CT-3 | | WIN55,212-2 | | Δ ⁹ -THC | |
|--------|-----------|--------|-------------|--------|---------------------|--------|
| | 1 h | 3 h | 1 h | 3 h | 1 h | 3 h |
| 血漿 | 1.178±120 | 936±75 | 150±17 | 104±22 | 156±19 | 178±35 |
| 脳 | 455±103 | 890±15 | 197±27 | 203±40 | 154±15 | 184±33 |
| 脳/血漿比率 | 0.3 | 0.4 | 1.3 | 1.9 | 1.0 | 1.0 |

CT-3の経口投与(3mg/kg)；または、WIN55, 212-2およびΔ⁹-THCの皮下投与(10mg/kg)の後で得られるラット由来の血漿サンプルおよび脳サンプルにおける濃度をHPLC/MSIによって測定した。データは、測定ポイントあたり3匹のラットからの平均±SEMを示す。

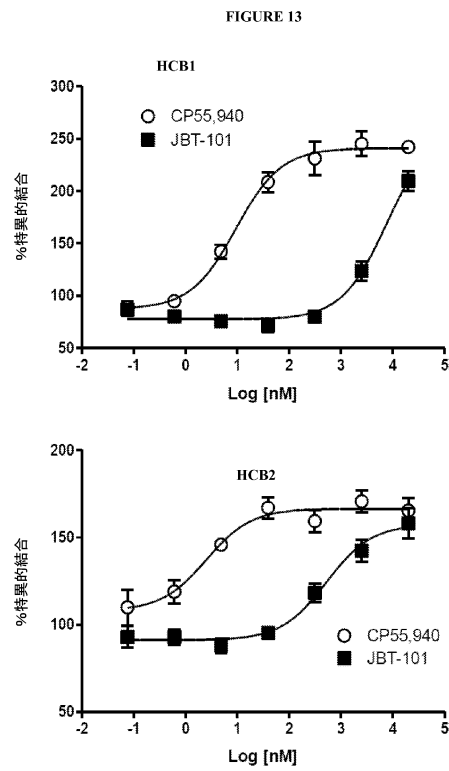
Dyson et. al., Pain 116: 129-137 (2005)から引用される表。

【図 12】

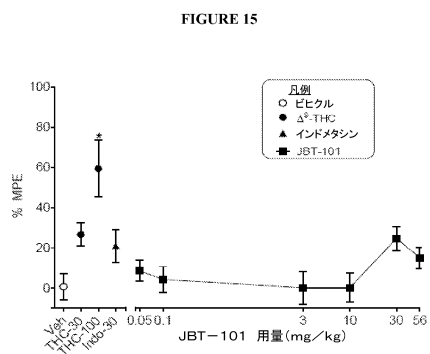
FIGURE 12



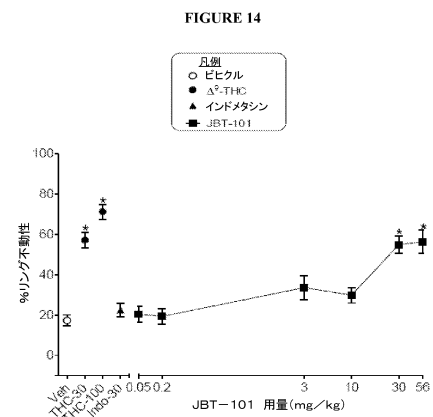
【図 13】



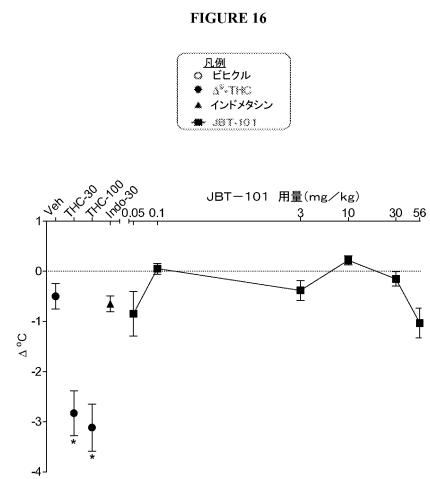
【図 15】



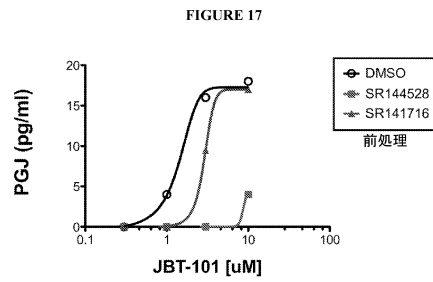
【図 14】



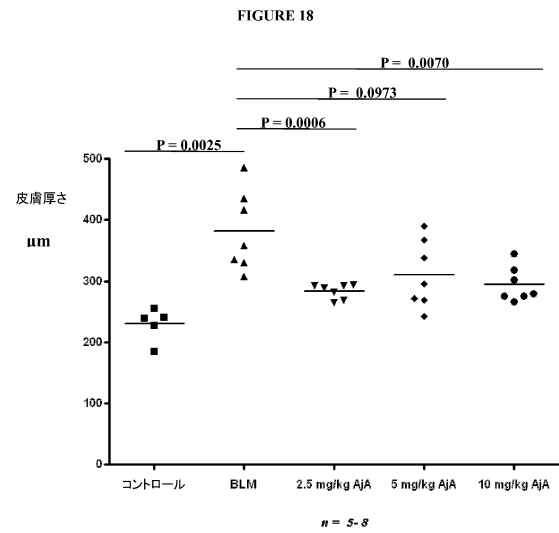
【図 16】



【図 17】

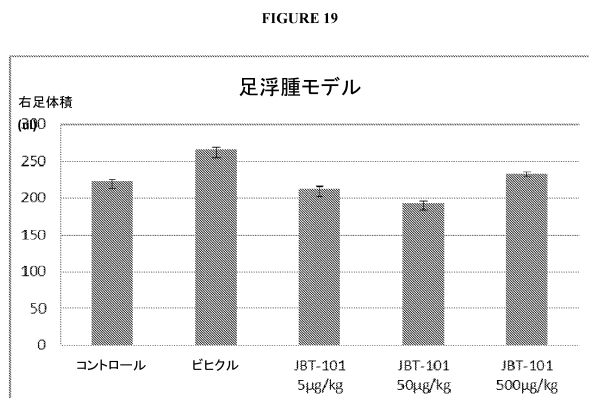


【図 18】



統計学: ノンパラメトリック/ー検定 — マン・ホイットニー検定 — 両側P値

【図 19】



フロントページの続き

| | | | |
|---------------|-----------|---------------|-------|
| (51)Int.Cl. | | F I | |
| A 6 1 P 17/02 | (2006.01) | A 6 1 P 17/02 | |
| A 6 1 P 25/00 | (2006.01) | A 6 1 P 25/00 | |
| A 6 1 P 25/04 | (2006.01) | A 6 1 P 25/04 | |
| A 6 1 P 29/00 | (2006.01) | A 6 1 P 29/00 | |
| A 6 1 P 37/06 | (2006.01) | A 6 1 P 37/06 | |
| A 6 1 P 43/00 | (2006.01) | A 6 1 P 43/00 | 1 1 1 |

(31)優先権主張番号 61/763,630

(32)優先日 平成25年2月12日(2013.2.12)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(72)発明者 フレイ、ディーン エー.

アメリカ合衆国、6 2 0 2 5 イリノイ州、エドワーズヴィル、2 チャーチル コート

(72)発明者 ゴーデル、デイビッド

アメリカ合衆国、5 3 7 1 7 ウィスコンシン州、マディソン、7 0 1 プレイリー スモーク
ロード

(72)発明者 ライニキー、カール イー.

アメリカ合衆国、8 7 0 4 3 ニューメキシコ州、ブラシタス、ピーオーボックス 2 9 2

合議体

審判長 光本 美奈子

審判官 前田 佳与子

審判官 淵野 留香

(56)参考文献 米国特許出願公開第2004/0143126(US,A1)

米国特許出願公開第2007/60636(US,A1)

米国特許出願公開第2004/0186166(US,A1)

米国特許出願公開第2012/309820(US,A1)

特表2008-543800(JP,A)

J.Chromatogr.B,2005年,Vol.820,No.1,pp.77-82,
p.78,left column 2.1Biochemical Pharmacology,2001年,Vol.62,No.6,
p.755-763

(58)調査した分野(Int.Cl.,DB名)

A61K31/00-31/80