

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7610537号

(P7610537)

(45)発行日 令和7年1月8日(2025.1.8)

(24)登録日 令和6年12月24日(2024.12.24)

(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 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/00
A 6 1 P	25/08 (2006.01)	A 6 1 P	25/08
A 6 1 P	25/18 (2006.01)	A 6 1 P	25/18
A 6 1 P	25/24 (2006.01)	A 6 1 P	25/24

請求項の数 18 (全33頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2021-577316(P2021-577316)
(86)(22)出願日	令和2年6月29日(2020.6.29)
(65)公表番号	特表2022-538286(P2022-538286 A)
(43)公表日	令和4年9月1日(2022.9.1)
(86)国際出願番号	PCT/EP2020/068306
(87)国際公開番号	WO2021/001326
(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	1909506.6
(32)優先日	令和1年7月2日(2019.7.2)
(33)優先権主張国・地域又は機関	英国(GB)

(73)特許権者	507092676 ウィスタ 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 6-13, プキ バトク クレセント 25
(74)代理人	100079108 弁理士 稲葉 良幸
(74)代理人	100109346 弁理士 大貫 敏史
(74)代理人	100117189 弁理士 江口 昭彦
(74)代理人	100134120 弁理士 内藤 和彦
(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

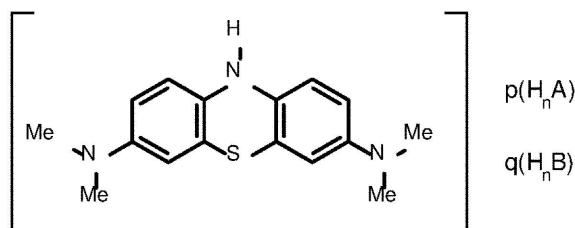
(54)【発明の名称】 シナプス変性症の処置における使用のためのメチルチオニウム

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

対象におけるシナプス変性症障害の治療的処置の方法のための、メチルチオニウム (MT) 含有化合物を含む治療用組成物であって、障害が、統合失調症；脳虚血；多発性硬化症 (MS)；うつ病；驚愕症候群；トゥレット症候群；自閉症スペクトラム障害 (ASD)；局所性手ジストニア；実験的アレルギー性脳炎 (EAE)；緑内障；タウ病態と関連しないリソソーム蓄積症からなるリストから選択され、方法が、前記対象にMT含有化合物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る、治療用組成物。

【請求項 2】

哺乳動物対象の脳におけるシナプトフィジンのレベルを増加させる、請求項 1 に記載の治療用組成物。

【請求項 3】

処置が、その障害のためのさらなる治療剤と組み合わせられる、請求項 1 に記載の治療用組成物。

【請求項 4】

総 1 日用量が、前記対象への 1 日当たり $2 \sim 100 \text{ mg}$ の MT 又は $10 \sim 60 \text{ mg}$ の MT である、請求項 1 又は請求項 2 に記載の治療用組成物。

【請求項 5】

総 1 日用量が、2 つ若しくはそれより多い用量へと分割される、請求項 4 に記載の治療用組成物。

【請求項 6】

総 1 日用量が、概ね 10 、 11 、 12 、 13 、 14 、 15 、 16 、 17 、 18 、 19 、 20 mg のいずれかから概ね 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 、 60 mg のいずれかである、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の治療用組成物。

【請求項 7】

前記総 1 日用量が、 $20 \sim 40 \text{ mg}$ である、請求項 6 に記載の治療用組成物。

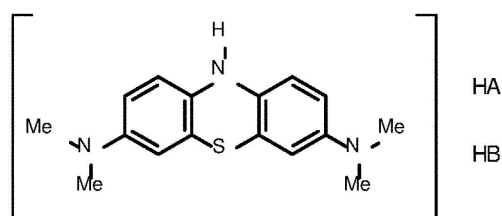
【請求項 8】

前記対象が、前記シナプス変性症障害を有するとして診断されてきたヒトであるか、又は前記方法が、前記診断を行うことを含む、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の治療用組成物。

【請求項 9】

前記 LMTX 化合物が、下記の式

【化 3】



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 1～8 のいずれか一項に記載の治療用組成物。

【請求項 10】

前記 LMTX 化合物が、下記の式

10

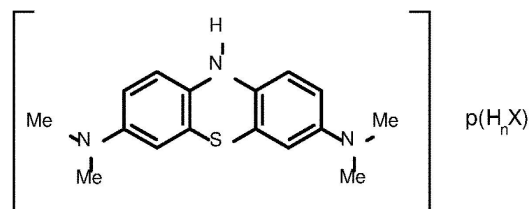
20

30

40

50

【化 4】



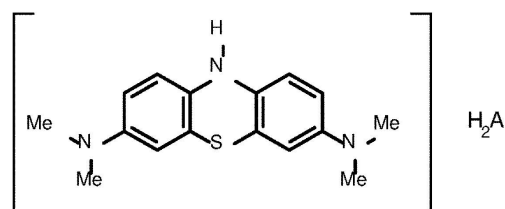
を有し、式中、 H_nX のそれぞれは、プロトン酸である、請求項 9 に記載の治療用組成物。

10

【請求項 1 1】

前記 LMTX 化合物が、下記の式

【化 5】



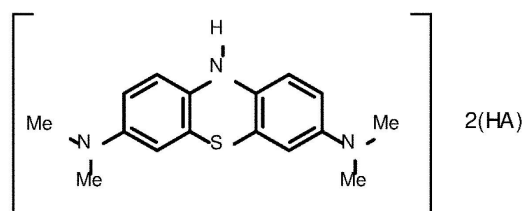
20

を有し、 H_2A が、ジプロトン酸である、請求項 9 に記載の治療用組成物。

【請求項 1 2】

前記 LMTX 化合物が、下記の式

【化 6】



30

を有し、ビスモノプロトン酸塩である、請求項 1 0 に記載の治療用組成物。

【請求項 1 3】

前記又は各プロトン酸が、無機酸である、請求項 9 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の治療用組成物。

【請求項 1 4】

前記又は各プロトン酸が、ハロゲン化水素酸又は HCl ; HBr ; HNO_3 ; H_2SO_4 から選択される、請求項 1 3 に記載の治療用組成物。

40

【請求項 1 5】

前記又は各プロトン酸が、有機酸である、請求項 9 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の治療用組成物。

【請求項 1 6】

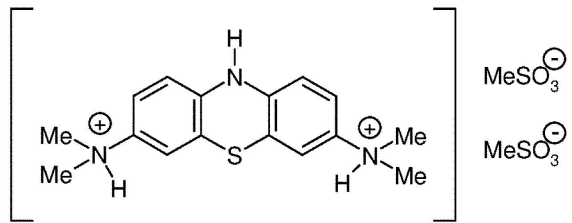
前記又は各プロトン酸が、 H_2CO_3 ; CH_3COOH ; メタンスルホン酸、1, 2-エタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ナフタレンジスルホン酸、p-トルエンスルホン酸から選択される、請求項 1 5 に記載の治療用組成物。

【請求項 1 7】

前記 LMTX 化合物が、LMTM :

50

【化 7】



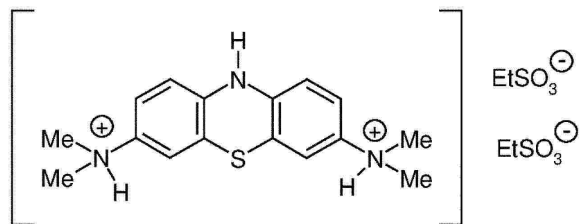
である、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の治療用組成物。

10

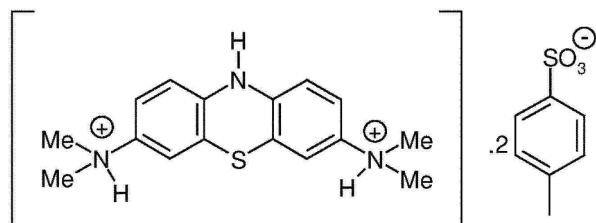
【請求項 1 8】

前記 L M T X 化合物が、

【化 8】



20

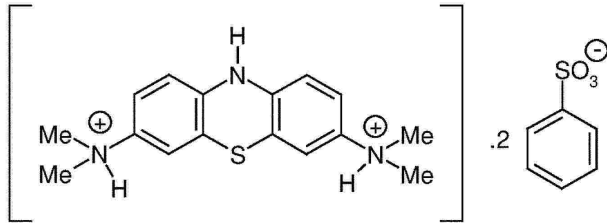


30

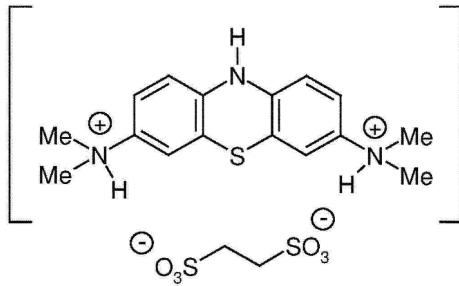
40

50

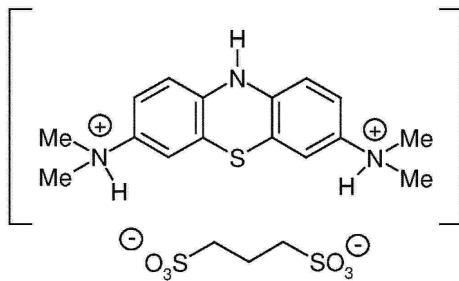
【化 9】



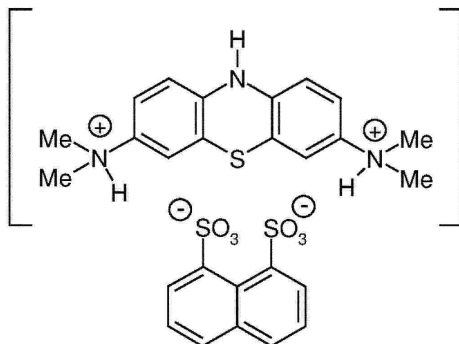
10



20



30



からなるリストから選択される、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の治療用組成物。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

技術分野

本発明は全般的に、シナプス変性症(synaptopathy)を処置するための方法及び材料に関する。

【背景技術】

【0002】

背景技術

シナプスはニューロンの不可欠な構成要素であり、脳における情報の系統的な流れを可

50

能とする。シナプスの発生、多様化、及び分化は、脊椎動物におけるより高い脳機能及び認知の進化において中心的役割を果たした。一方において、シナプス活性のモジュレーションは、脳恒常性を制御する主要な戦略を構成する。他方、シナプス生理機能における僅かではあるが持続的な攪乱は、脳障害として顕在化し得る大きな欠陥をもたらし得る。

【0003】

シナプス小胞（SV）が媒介する伝達物質放出は、ニューロンの情報伝達の主要な機序である。SVは、この厳密に調節されているプロセスを促進する非常に特異的なポリペプチド組成物によって特性決定される。

【0004】

シナプトフィジンは、4つの膜貫通ドメイン、並びにプロリン、グリシン、及びチロシンに富んだ独特の細胞質側末端を伴う、SVの豊富で不可欠な膜糖タンパク質である。

【0005】

シナプトフィジンは、神経伝達物質放出及びシナプス可塑性の調節において、並びにSVの生合成及びリサイクリングにおいて結び付けられてきた。シナプトフィジン発現の増加は、長期増強と相関することが見出されてきており、シナプトフィジン発現の調節が学習及び記憶の根底にある機序に影響を与え得ることを示唆する。

【0006】

異常なシナプトフィジン発現は、神経変性疾患及び精神障害と関連付けられてきた。マウスにおけるシナプトフィジンの除去は、行動変化、例えば、探索行動の増加、損なわれた物体新規性認識、及び空間学習の低下を生じさせることが報告されている（Schmitt, U., et al. "Detection of behavioural alterations and learning deficits in mice lacking synaptophysin." *Neuroscience* 162.2(2009):234-243）。

【0007】

用語「シナプス変性症」は、シナプス機能障害から生じた脳障害を指すために使用されてきた。いくつかの神経発達疾患（例えば、統合失調症、大うつ病、自閉症スペクトラム障害（ASD）、ダウン症候群、びくくり病、及びてんかん）、神経系疾患（例えば、ジストニア、レボドパによって誘発されるジスキネジア、及び虚血）並びに神経変性疾患（例えば、アルツハイマー及びパーキンソン病）の主要な決定要因としてシナプス機能障害の重要性についての根拠がいまや存在する（Lepeta et al., 2016）。

【0008】

米国特許出願公開第20020040032号は、神経系疾患を有する患者又は神経系疾患を発生させる危険性のある患者に有効量のプリン誘導体若しくは類似体、テトラヒドロインドロン誘導体若しくは類似体、又はピリミジン誘導体若しくは類似体を投与することを含む、シナプトフィジンの合成及び／又は分泌を増加させる方法に関する。言及した神経系疾患の例は、神経変性疾患、例えば、アルツハイマー病又は神経発達障害、例えば、ダウン症候群を含む。

【0009】

しかしながら、脳におけるシナプトフィジンレベルをモジュレート、特に、増加させることができるさらなる化合物を特性決定することは、当技術分野への貢献を実現することができる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

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、神経変性疾患の動物モデル及び正常な（野生型）動物の両方において、治療的に関連性のある用量で、様々な脳領域においてシナプトフィジンレベルを増加させることができることを本発明者らは予想外に見出してきた。

【課題を解決するための手段】

【0011】

10

20

30

40

50

本知見は、シナプス変性症の処置における使用のための治療的に関連性のある用量での L M T X 塩についての新規な有用性を示す。

【0012】

ビス（ヒドロメタンスルホネート）（L M T M；U S A N 名、ヒドロメチルチオニンメシレート）は、A D 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ている（Wischnik et al., 2018）。メチルチオニウム（M T）部分は、酸化型（M T⁺）及び還元型（L M T）形態で存在することができる。L M T M は、酸化型 M T⁺ 形態より非常により良好な医薬特性を有する L M T の安定化した塩である（Baddeley et al., 2015；Harrington et al., 2015）。M T⁺ よりむしろ L M T が *i n v i t r o* 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）。L M T 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 *i n v i t r o* 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 *i n v i v o* 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）。L M T はまた、A D 脳組織から単離した対らせん状細線維（P H F）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）。

【0013】

経口的に与えられた L M T M は、*i n v i t r o* 及び *i n v i v o* 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 A D 臨床試験において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 L M T M 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、M R I によって測定した脳萎縮の進行の速度の低減、並びに F D G - P E T 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、L M T M 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、A D のために承認された対症療法処置との組み合わせにおいて、L M T M 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。

【0014】

L M T M 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 2008/155533 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、機能低下及び病理の処置のために示唆されてきた。

【0015】

本研究は、上記で考察した対症処置へのアドオンとしての L M T M 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、「L 1」；（Melis et al., 2015b））を、野生型マウスと比較した。

【0016】

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。L M T M 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 L M T M 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。

【0017】

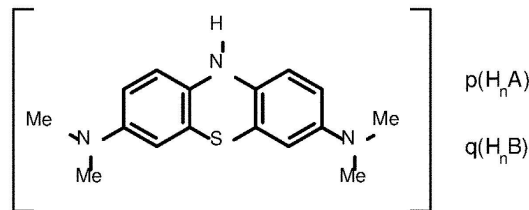
しかし予想外に、これらの研究はまた、LMTX塩が、L1及び野生型マウスの両方において、治療的に関連性のある用量で、様々な脳領域におけるシナプトフィジンレベルを増加させたことを明らかにした。この知見は、シナプス機能障害の疾患におけるLMTXについての新規な有用性を提供する。

【0018】

このように、一態様では、哺乳動物対象の脳におけるシナプトフィジンのレベルを増加させる方法を提供し、この方法は、1日当たり対象への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】



(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。

【0019】

対象は、増加したレベルのシナプトフィジンを必要としているものであるように選択し得る。

【0020】

対象は、シナプス変性症を有するか、又はシナプス変性症を発生させる危険性のあるヒト対象又は患者であり得る。

【0021】

対象は、神経発達疾患、神経系疾患、若しくは神経変性疾患を有するか、又は神経発達疾患、神経系疾患、若しくは神経変性疾患を発生させる危険性のあるヒト対象又は患者であり得る。

【0022】

増加したレベルは、複数の脳領域においてあり得る。例えば、記憶のために重要な側頭葉は、てんかんにおいて通常影響を受ける。統合失調症は、神経発達障害と考えられることが多い；イメージングによって、統合失調症はより小さな視床及び側頭葉並びに大きな尾状核を伴う全般的な皮質喪失及び脳室拡大によって特性決定される。しかし、脳の接続性によって、シナプス機能障害の効果は、複数の脳領域において発揮し得る。

【0023】

本発明者らの知見は、LMTX化合物について必要が従前に示されてこなかった、神経発達疾患、神経系疾患及び神経変性疾患におけるLMTX化合物の新規な使用についての関係付けを有する。本発明者らの知見は、LMTXが使用のために従前に示唆されてきた疾患における患者部分群における使用のための関係付けをさらに有し、これらの部分群は、シナプス機能障害がさらに具体的に関係付けられているものである。

【0024】

このように、本発明の別の態様は、対象における障害の治療的処置の方法を提供する。適当な障害を、下記のように列挙する。特に、LMTXが有用性を有し得る「シナプス変性症」は、

- ・統合失調症
- ・うつ病

10

20

30

40

50

- ・てんかん
 - ・驚愕症候群 (Startle syndrome) (トゥレット症候群及び不安障害)
 - ・自閉症スペクトラム障害 (ASD) (自閉症、アスペルガー症候群、特定不能の広汎性発達障害 (PDD-NOS)、及び小児期崩壊性障害)
 - ・局所性手ジストニア
 - ・脳虚血
 - ・実験的アレルギー性脳炎 (Experimental allergic encephalitis, EAE)
 - ・多発性硬化症 (MS)
 - ・緑内障
- を含む。

10

【0025】

ADにおけるシナプトフィジンの役割に対する多くの根拠が存在する。シナプスは、病態の最も早い部位であると考えられ、シナプス消失は、ADを有する対象における認知機能低下の絶好の病理学的相関現象である (Terry et al.,1991)。海馬におけるシナプス異常は、ADを有する個人における神経病理及び記憶欠損の重症度と相関し、この欠陥は、ADの早期における認知機能低下についての神経心理学的証拠に先行し得る (Sze et al.,1997)。

【0026】

さらに、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) は、遅発型ADと関連する20超の遺伝子座を同定してきたが、これらは3つの主要な生物学的経路—脂質代謝、免疫系、及びシナプス機能障害／細胞膜プロセスにグループ化された (Van Giau et al.,2019;Verheijen and Sleegers,2018,Understanding Alzheimer Disease at the Interface between Genetics and Transcriptomics.Trends Genet.34:434-447)。

20

【0027】

シナプスの密度は、ポジトロン放出断層撮影イメージングを使用してADにおいて *in vivo* で検出することができる (Chen et al.,2018,Assessing synaptic density in Alzheimer disease with synaptic vesicle glycoprotein 2a positron emission tomographic imaging.JAMA Neurol.75:1215-1224)。これは、患者選択判定基準のために、並びに疾患修飾治療の治験、特に、シナプスの保存及び回復を標的とするものについての結果尺度 (outcome measure) としての両方で使用し得る。例えば、11C-UCB-J-PET BPNDによってアセスメントして、認知的に正常な参加者と比較して少なくとも30%の海馬SV2A特異的結合の低減を示す患者を選択し得る (Chen,2018を参照されたい)。

30

【0028】

このように、遅発型ADを有する部分群における対象、特に、シナプス機能障害を有すると特性決定されるものは、本発明のさらなる標的患者群を形成する。

【0029】

リソソーム蓄積症 (LSD) は、リソソーム機能における欠陥からもたらされる、約70のまれな遺伝性の代謝性障害の群である (例えば、Parenti,Andria and Ballabio,2015,Lysosomal Storage Diseases:From Pathophysiology to Therapy.Ann.Rev.Med.66:471-486;Lloyd-Evans and Haslett,2016,The lysosomal storage disease continuum with ageing-related neurodegenerative disease.Ageing Research Reviews 32:104-121)。リソソームは細胞内の大分子を消化し、リサイクリングのためにフラグメントを細胞の他の部分へと送る。このプロセスにおける酵素に欠陥がある場合、大分子は細胞内に蓄積し、細胞死をもたらす。リソソーム蓄積症についての治療法は知られておらず、処置は大部分が対症的である。

40

【0030】

LSDは一般に、関与する主要な蓄積された材料の性質によって分類され、下記の障害：脂質蓄積障害；ゴーシェ病及びニーマン-ピック病を含めたスフィンゴリピド症；ガングリオシドーシス (テイサックス病を含めた)；脳白質ジストロフィー；ムコ多糖症 (ハ

50

ンター症候群及びハーラー病を含めた)；糖タンパク質蓄積障害；ムコリピドーシス；グリコーゲン蓄積症ⅠⅠ型(ポンペ病)；並びにシスチン症に大まかに分けることができる。

【0031】

代わりに、LSDは、タンパク質の標的、例えば、様々なリソソーム酵素における欠陥(テイサックス病、Ⅰ細胞病、及びスフィンゴリピド症、例えば、クラッペ病、ガングリオシドーシス、ゴーシェ病、ニーマンピック病、異染性脳白質ジストロフィーを含めた)；スルファターゼの翻訳後修飾(複数のスルファターゼ欠損)；酵素保護タンパク質(例えば、ガラクトシアリドーシスにおける欠陥のあるカテプシンA)；膜貫通タンパク質(例えば、サラ病におけるスフィンゴ脂質アクチベータータンパク質及びシアリン)によって分類し得る(例えば、<http://www.lysosomal diseases network.org/official-list-lysosomal-diseases>を参照されたい)。

10

【0032】

リソソーム蓄積障害(LSD)は、神経変性過程を示すことが多く、LSDにおける中枢神経系を処置する治療法は存在しない。さらに、これらの病的状態においてニューロンの変性を推進する機序は、殆ど未知のままである。LSDのマウスモデルにおいて、損なわれたリソソーム活性は、不溶性 α -シヌクレインの核周部蓄積、及びシステインストリングタンパク質 α (CSP α)のプロテアソーム分解の増加をもたらす(Sambri et al., 2017, *Lysosomal dysfunction disrupts presynaptic maintenance and restoration of presynaptic function prevents neurodegeneration in lysosomal storage diseases*. *EMBO Molecular Medicine* 9:112-132)。その結果、神経終末における α -シヌクレイン及びCSP α の両方の利用可能性は強力に減少し、このように、SNARE複合体アセンブリー及びシナプス小胞リサイクリングを阻害する。

20

【0033】

LSDにおける神経変性は、プレシナプス機能を再確立することによって減速し得る。このように、本明細書における開示によるシナプス維持の改善は、LSDの効果を処置又は緩和するための1つの手段を提供する。

【0034】

国際公開第2012/107706号及び国際公開第2018/0198823号は両方とも、タウ病態と関連するリソソーム蓄積障害を処置することにおける、タウ凝集阻害剤としてのそれらの能力におけるLMTX化合物の有用性を考察している。ニーマンピック病C型(NPC)及びサンフィリポ症候群B型の両方が、言及される(Suzuki et al. 1995, *Neurofibrillary tangles in Niemann-Pick type C*, *Acta Neuropathol.*, 89(3) 227-238; Ohmi et al. 2009 *Sanfilippo syndrome type B, a lysosomal storage disease, is also a tauopathy*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106:8332-8337をまた参照されたい)。

30

【0035】

しかし、本開示を考慮して、他のタイプのLSDは、タウ病態と関連しないものでさえ、LMTXタイプの化合物の使用によって改善し得ることを見ることができる。このように、任意選択で、タウオパチーではない、例えば、NPC又はサンフィリポ症候群B型ではない、LSDの処置は、本発明の一態様を形成する。例は、ゴーシェ病；テイサックス病；脳白質ジストロフィー；ムコ多糖症(ハンター症候群及びハーラー病を含めた)；糖タンパク質蓄積障害；ムコリピドーシス；グリコーゲン蓄積症ⅠⅠ型(ポンペ病)；シスチン症；Ⅰ細胞病；クラッペ病；ガングリオシドーシス；異染性脳白質ジストロフィー；複数のスルファターゼ欠損；ガラクトシアリドーシス；サラ病を含む。

40

【0036】

他の例は、アクチベーター欠損、GM2-ガングリオシドーシス；GM2-ガングリオシドーシス、AB異型；アルファーマンノシドーシス；ベーターマンノシドーシス；アスパルチルグルコサミン尿症；リソソーム酸リパーゼ欠損；チャナリンードルフマン症候群；ダノン病；ファブリー病；ファーバー病；ファーバー脂肪性肉芽腫症；フコシドーシス；ガラクトシアリドーシス(ノイラミニダーゼ及びベーターガラクトシダーゼの混合欠損

50

); GM1-ガングリオシドーシス; ムコ多糖症障害; MPS I、ハーラー症候群; MPS I、ハーラー-シャイエ症候群; MPS I、シャイエ症候群; MPS II、ハンター症候群; MPS II、ハンター症候群; モルキオ症候群、A型/MPS IVA; モルキオ症候群、B型/MPS IVB; MPS IXヒアルロニダーゼ欠損; MPS VIマロトラーミー症候群; MPS VIIスライ症候群; ムコリピドーシスI、シアリドーシス; 偽性ハーラーポリジストロフィー/ムコリピドーシスIII型; ムコリピドーシスIIIC/ML III GAMMA; ムコリピドーシスIV型; 神経セロイドリポフスチン症; CLN6疾患-非定型遅発型小児性、遅発型異型、早期若年性; バッテン-シュピールマイアー-フォクト/若年性NCL/CLN3疾患; フィンランド異型遅発型小児性CLN5; ヤンスキー-ビールショースキー病/遅発型小児性CLN2/TPP1疾患; クッフス/成人発症型NCL/CLN4疾患; 北部てんかん/異型遅発型小児性CLN8; サンタヴォリー-ハルティア/小児性CLN1/PPT疾患; 濃化異骨症; サンドホフ病/GM2ガングリオシドーシス; サンドホフ病/GM2ガングリオシドーシス; サンドホフ病/GM2ガングリオシドーシス; シンドラー病; 神崎病; 小児性遊離シアル酸蓄積症(ISSD); 進行性ミオクロヌステんかんを伴う脊髄性筋萎縮症(SMAPME); クリスチャンソン症候群; ロウ眼脳腎症候群; シャルコー-マリー-トゥースタイプ4J、CMT4J; ユニス-バロン症候群; 両側性側頭後頭多小脳回(BTOP); X連鎖性高カルシウム尿腎結石症、デントー1; デント病2を含む。

【0037】

本発明の別の態様は、上記のような方法、例えば、哺乳動物対象の脳におけるシナプトフィジンのレベルを増加させる方法、又は本明細書に記載されている特定の疾患を処置する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。

【0038】

本発明の別の態様は、上記の方法、例えば、哺乳動物対象の脳におけるシナプトフィジンのレベルを増加させる方法、又は本明細書に記載されている特定の疾患を処置する方法における使用のための、医薬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。

【0039】

認知障害と特に(しかし限定的ではなく)関連して、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おらず、且つ従前に受けてこなかったものであり得る。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))、リバスチグミン(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。

【0040】

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。

【0041】

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。

【0042】

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み得る。

【0043】

用語「処置」は、「組合せ」治療的処置を含み、ここでは、関連性のある疾患を処置す

10

20

30

40

50

る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組み合わせる。

【0044】

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MT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得、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得る。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、5～10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時間若しくはそれ超の時間離して、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。

【0045】

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同じ疾患のための処置とのMT化合物の使用である。

- ・統合失調症：統合失調症の処置のための治療剤は典型的には、ドパミン又はセロトニン神経伝達に全般的に影響を与える抗精神病剤である。第1世代抗精神病剤は、クロルプロマジン、フルフェナジン、ハロペリドール及びペルフェナジンを含む。第2世代抗精神病剤はより少ない副作用を有し、クロザピン、オランザピン、クエチアピン及びリスペリドンを含む。

- ・うつ病は、第2世代抗精神病剤による処置が関与し得る。

- ・てんかんは、その作用が脳における過剰な電気活動を低減させることを目指す様々な抗てんかん薬によって処置し得る。これらは、バルプロ酸ナトリウム（E p i l i n）、レベチラセタム、フェノバルビタール、トピラメート及びゾニサミドを含む。

- ・驚愕症候群（トゥレット症候群及び不安障害）。チック症状の処置において最も証明された有効性を有する医薬品のクラスは、リスペリドン（R i s p e r d a l）、ジブラシドン（G e o d o n）、ハロペリドール（H a l d o l）、ピモジド（O r a p）及びフルフェナジン（P r o l i x i n）を含めた定型及び非定型神経遮断剤である。

- ・自閉症スペクトラム障害（A S D）。A S Dと診断された米国の小児の半分超は、精神活性薬又は抗痙攣剤を処方されており、最も一般の薬物クラスは、抗うつ剤、刺激薬、及び抗精神病剤である。抗精神病剤のみが有効性を明らかに示してきた。選択的セロトニン再取込み阻害剤（S S R I）及びドーパミン遮断剤は、A S Dと関連するいくつかの不応行動を低減させることができる。

- ・局所性手ジストニア：この状態は、障害の症状を低減させるが、治療法ではない、ボツリヌス神経毒Aの注射で処置されることが多い。抗コリン作用薬、例えば、A r t a n eは、適応外使用のために処方し得る。

- ・脳虚血。アルテプラザーゼは、血栓溶解薬である。これは、急性虚血性脳卒中の処置のために米国食品医薬品局によって承認された組織プラスミノゲンアクチベーターである。

- ・実験的アレルギー性脳炎（E A E）は、多発性硬化症を処置するために使用される治療によって処置し得る自己免疫性脱髄状態である。

- ・多発性硬化症（M S）は、フマル酸ジメチル、フィンゴリモド（スフィンゴシン-1-リン酸受容体モジュレーター）、ナタリズマブ（T y s a b r i）、アレムツズマブ、オクレリズマブ、インターフェロン及び酢酸グラチラマーで処置し得る慢性炎症性脱髄状態である。

- ・緑内障：いくつかのクラスの医薬品を使用して、緑内障を処置し得る。プロスタグランジン類似体、例えば、ラタノプロスト、ビマトプロスト及びトラボプロストは、眼房水のぶどう膜強膜路を増加させる。局所的ベータアドレナリン作動性受容体アンタゴニスト、例えば、チモロール、レボブノロール、及びベタキソロールは、毛様体の上皮による眼房水産生を減少させる。アルファ2-アドレナリンアゴニスト、例えば、ブリモニジン及びアプラクロニジンは、眼房水産生を減少させ、ぶどう膜強膜路を増加させるという二重の機序によって作用する。より選択的でないアルファアゴニスト、例えば、エピネフリンは、毛様体血管の血管収縮によって眼房水産生を減少させる。縮瞳剤（副交感神経刺激剤）、例えば、ピロカルピンは、小柱網を開き、眼房水の流出の増加を可能として、毛様体

10

20

30

40

50

筋の収縮によって作用する。エコチオフエート、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤は、慢性緑内障において使用される。炭酸脱水酵素阻害剤、例えば、ドルゾラミド、布林ゾラミド、及びアセタゾラミドは、毛様体における炭酸脱水酵素を阻害することによって眼房水の分泌を低下させる。

・LSD：処置は、酵素補充療法、小分子薬理学的シャペロン、又は遺伝子変異を修正するための遺伝子療法戦略を含む（Bruni S, Loschi L, Incerti C, Gabrielli O, Coppa GV. Update on treatment of lysosomal storage diseases. Acta Myol. 2007;26(1):87-92.）；Parenti, Giancarlo, et al. “New strategies for the treatment of lysosomal storage diseases.” International journal of molecular medicine 31.1 (2013):11-20.

10

【0046】

これらの他の治療剤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MT化合物の使用は、本発明の一態様を形成する。

【0047】

他の実施形態では、処置は、「単独療法」であり、つまり、MT含有化合物は、別の活性剤と（上で考察した意味の範囲内で）組み合わせて使用されない。

【0048】

上で述べたように、MT化合物の投与は、AChEI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。

【0049】

20

しかし、このようなAChEI又はメマンチン処置は、MT化合物による処置の開始の後、例えば、MT化合物による概ね3カ月の処置の後、任意選択で開始又は再開しても良い。それは、例えば、遅発型AD（シナプス機能障害）について処置されている対象に関して望ましくあっても良い。

【発明を実施するための形態】

【0050】

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。

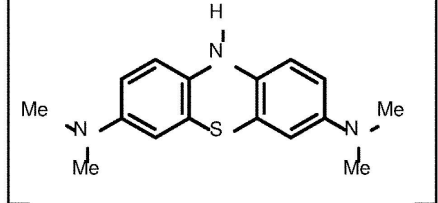
【0051】

30

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。

【0052】

【表1】

 p(H_nA) q(H_nB)	オプション: p = 1, 2 q = 0, 1 n = 1, 2 (p + q) × n = 2
---	---

40

【0053】

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る。

【0054】

「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

50

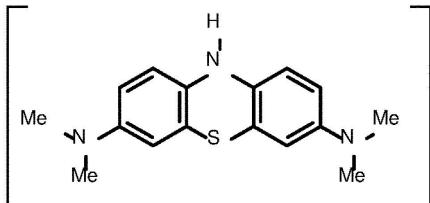
モル超である)。

【0055】

一実施形態では、塩は、下記の式

【0056】

【表2】

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

10

【0057】

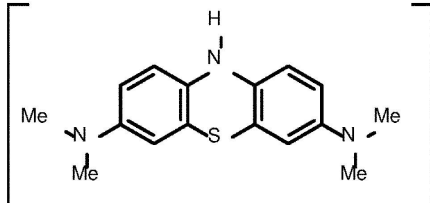
を有する混合塩であり、式中、HA及びHBは、異なるモノプロトン酸である。

【0058】

しかし好ましくは、塩は、混合塩ではなく、下記の式

【0059】

【表3】

	$p = 1, 2$ $n = 1, 2$ $p \times n = 2$ であるとき：
--	--

20

【0060】

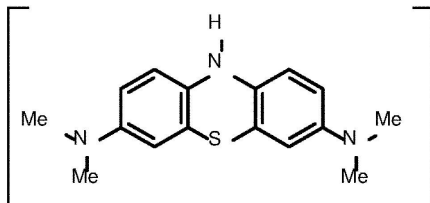
を有し、式中、 H_nX のそれぞれは、プロトン酸、例えば、ジプロトン酸又はモノプロトン酸である。

【0061】

一実施形態では、塩は、下記の式

【0062】

【表4】

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

40

【0063】

を有し、式中、 H_2A は、ジプロトン酸である。

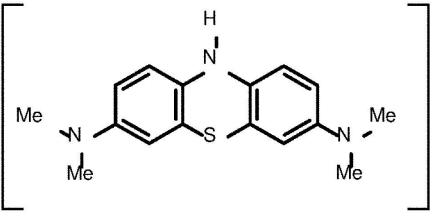
【0064】

好ましくは、塩は、ビスモノプロトン酸である下記の式

【0065】

50

【表 5】

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

10

【 0 0 6 6 】

を有する。

【 0 0 6 7 】

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（例えば、H C l、H B r）、硝酸（H N O 3）、硫酸（H 2 S O 4）、

有機酸：炭酸（H 2 C O 3）、酢酸（C H 3 C O O H）、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。

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。

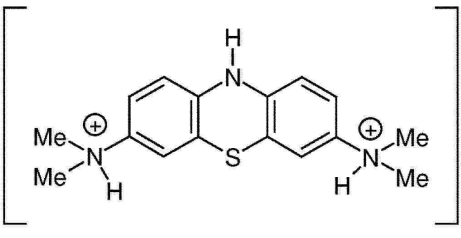
20

【 0 0 6 8 】

好ましい M T 化合物は、L M T M である。

【 0 0 6 9 】

【表 6】

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

30

【 0 0 7 0 】

無水塩は、概ね 4 7 7 . 6 の分子量を有する。L M T コアについての 2 8 5 . 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 . 6 7 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。

【 0 0 7 1 】

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

【 0 0 7 2 】

したがって、本発明は、概ね 2 ～ 1 0 0 m g ／日の L M T M の総 1 日用量を包含する。

【 0 0 7 3 】

より好ましくは、概ね 6 ～ 1 2 m g ／日の L M T M の総用量を利用し、これは、約 3 .
5 ～ 7 m g の M T に対応する。

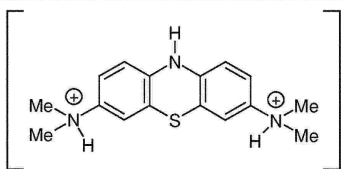
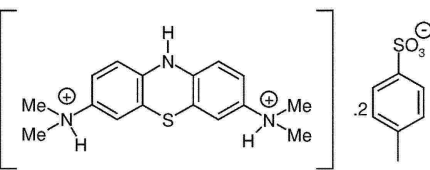
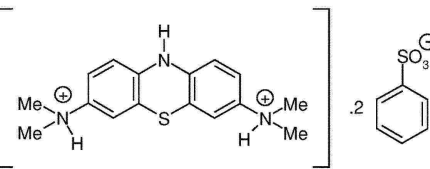
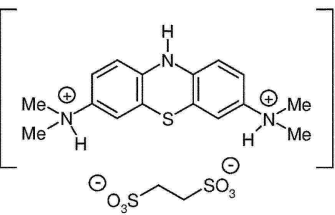
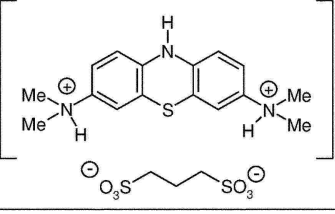
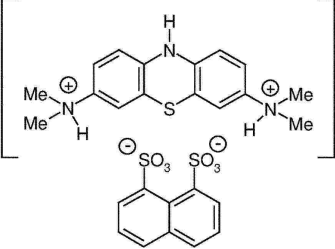
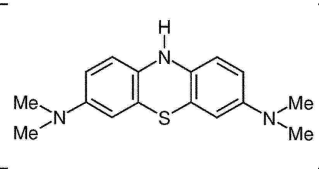
【 0 0 7 4 】

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。

50

【 0 0 7 5 】

【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)
8		LMT.2HCl	358.33 (1.25)

【 0 0 7 6 】

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。

【 0 0 7 7 】

一実施形態では、それは、化合物 1 である。

【 0 0 7 8 】

一実施形態では、それは、化合物 2 である。

【 0 0 7 9 】

10

20

30

40

50

一実施形態では、それは、化合物 3 である。

【0080】

一実施形態では、それは、化合物 4 である。

【0081】

一実施形態では、それは、化合物 5 である。

【0082】

一実施形態では、それは、化合物 6 である。

【0083】

一実施形態では、それは、化合物 7 である。

【0084】

一実施形態では、それは、化合物 8 である。

【0085】

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。

【0086】

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シナプス変性症疾患のために有益であり得ると結論付けることができる。

【0087】

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によって、好ましい用量は少なくとも 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。

【0088】

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、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。

【0089】

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

【0090】

例の投与量は、20～40mgである。

【0091】

さらなる例の投与量は、8又は16又は24mg／日である。

【0092】

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てもよく、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。

【0093】

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。

【0094】

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。

【0095】

10

20

30

40

50

【表 8】

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 ^{外挿}	1
1 日 2 回	1.47	1.13
1 日 3 回	1.65	1.28

10

【0096】

例えば、3.5～7mg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、

b. i. d. で分割するとき、これは、5.1～10.3の血漿中のMTの蓄積と等しくてもよく、

t. i. d. で分割するとき、これは、5.8～11.6の血漿中のMTの蓄積と等しくてもよい。

【0097】

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、MT化合物の総1日投薬量はより低くあり得る。

20

【0098】

一実施形態では、LMTMは、概ね9mg／1日1回；4mg、b. i. d.；2.3mg、t. i. dで投与される（LMTMの重量に基づいて）。

【0099】

一実施形態では、LMTMは、概ね34mg／1日1回；15mg、b. i. d.；8.7mg、t. i. dで投与される（LMTMの重量に基づいて）。

【0100】

本発明のMT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。

30

【0101】

一の実施形態では、MT化合物は、本明細書に記載のようなLMTX化合物、及び薬学的に許容される担体、賦形剤、又は添加剤を含む組成物として投与される。

【0102】

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。

【0103】

LMTX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号に記載されている。

40

【0104】

一の実施形態では、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LMTX化合物を含む組成物である。

50

【0105】

一部の実施形態では、組成物は、他の活性剤をさらに含む。

【0106】

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。

【0107】

一部の実施形態では、組成物は、錠剤である。

【0108】

一部の実施形態では、組成物は、カプセル剤である。

【0109】

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。

【0110】

一部の実施形態では、前記カプセル剤は、HPMC（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。

【0111】

一部の実施形態では、単位中のMTの量は、2～60mgである。

【0112】

一部の実施形態では、単位中のMTの量は、10～40、又は10～60mgである。

【0113】

一部の実施形態では、単位中のMTの量は、20～40、又は20～60mgである。

【0114】

例の投与量単位(dosage unit)は、2～10mgのMTを含有し得る。

【0115】

さらなる例の投与量単位は、2～9mgのMTを含有し得る。

【0116】

さらなる例の投与量単位は、3～8mgのMTを含有し得る。

【0117】

さらなる好ましい投与量単位は、3.5～7mgのMTを含有し得る。

【0118】

さらなる好ましい投与量単位は、4～6mgのMTを含有し得る。

【0119】

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20mgのMTである。

【0120】

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。

【0121】

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、63mgなどを含み得る。

【0122】

本明細書に記載されている組成物（例えば、規定の用量のMT含有化合物、プラス任意選択で、他の成分）は、それらの治療上の使用又は予防的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。

【0123】

10

20

30

40

50

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。

【0124】

一実施形態では、パック又はパケットは、このように実質的に水分不浸透性（substantially moisture-impervious）であるブリスターパック（好ましくは、アルミニウムキャビ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。

10

【0125】

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。

【0126】

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。

【0127】

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。

20

【0128】

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。

【0129】

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。

30

【0130】

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。これらの参考文献のそれぞれは、それぞれの個々の参考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。

【0131】

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。

40

【0132】

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。

【0133】

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

50

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。

【0134】

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。

【0135】

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。

10

【0136】

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】

【0137】

【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。（**、 $p < 0.01$ ；***、 $p < 0.001$ ）。

【図2】タウトランスジェニックL1マウスにおける、（A）SNARE複合タンパク質（SNAP25、シンタキシン及びVAMP2）並びに（B）海馬、大脳皮質視覚野、対角帯及び中隔野における平均として免疫組織化学的に測定した α -シヌクレインのレベルに対する、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。（*、 $p < 0.05$ ；***、 $p < 0.001$ ；****、 $p < 0.0001$ ）。

20

【実施例】

【0138】

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：

30

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。

【0139】

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、NMRI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のタンパク分解的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）。

40

【0140】

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及び他のシヌクレイノパチーの特徴を示しているコリン作動性（Mes

50

ulam, 2013 ; Pepeu and Grazia Giovannini, 2017) 及びグルタミン酸作動性 (Reve tt et al., 2013) 機能における神経化学的障害を模倣する。

【0141】

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 α -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 α -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。

【0142】

【表9】

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	シンタキシン	VAMP2	シナプトフィジン
α -シヌクレイン					
SNAP25	*				
シンタキシン	—	**			
VAMP2	—	*	*		
シナプトフィジン	—	**	*	—	
シナプシン	—	—	—	—	—

表1. (続き)

B、L1マウス

	α -シヌクレイン	SNAP25	シンタキシン	VAMP2	シナプトフィジン
α -シヌクレイン					
SNAP25	—				
シンタキシン	—	—			
VAMP2	—	—	—		
シナプトフィジン	—	—	—	*	
シナプシン	—	—	*	—	—

【0143】

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LMTM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、LMTMを与える。下記において、本発明者らは、AChEI、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。

【0144】

野生型及びL1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/day ）又はメマンチン（ 2 又は 20 mg/kg/day ）又はビヒクルで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、LMTM（ 5 及び 15 mg/kg ）又はビヒクルを、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。

【0145】

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/day は、血漿中の親MTの C_{max} レベルに関してヒトにおける概ね 8 mg/day 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/day 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、単位のないZスコア変換として提示する。

【0146】

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/day ）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/day 、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。

【0147】

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。

【0148】

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。

【0149】

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。

【0150】

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）。

【0151】

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

10

20

30

40

50

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 1 B）。

【 0 1 5 2 】

【表 1 0】

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に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	-	-

【 0 1 5 3 】

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（表 3 を参照）。LMTM 単独は、海馬における ACh 放出、脳シナプトソーム調製物からのグルタメート放出、シナプトフィジンレベル、ミトコンドリア複合体 IV 活性、及び行動の変化におけるかなりの増加を生じさせる。LMTM が慢性のリバスチグミンによって先行されたとき、これらの効果のどれもが見られなかった。実際に、SNARE 複合タンパク質（図 2 A）及びシヌクレイン（図 2 B）の場合、組合せによって生じた低減は、LMTM 処置の非存在下で見られるもの未満のレベルであった。

【 0 1 5 4 】

【表 1 1】

表 3. 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、L1 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、n/a は結果がまだ入手可能でないことを示す。

L1 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%
グルタメート放出	↑ x 200%	n/a
SNARE 複合体	-	↓ x 300%
シナプトフィジン	↑ x 400%	↓ x 300%
α -シヌクレイン	-	↓ x 200%
ミトコンドリア複合体 IV	↑ x 50%	↓ x 30%
行動	↑ x 30%	↓ x 20%

【0155】

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。

【0156】

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 IV 活性における増加、及び行動機能低下の反転を含む。薬理学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。

【0157】

薬理学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ことができる。

【0158】

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と思われる。

【0159】

MT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AChレベルの増加に関与する機序であることはありそうにない。

【0160】

具体的には、(M2/M4負のフィードバック受容体を遮断することによって) ACh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、LMTM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ACh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M2/M4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ACh放出を制限する。

【0161】

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、AChレベルが3~5倍に上昇する。これらの実験においてLMTMがリバスチグミンと相加的ではないという事実は、LMTM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、LMTM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。

【0162】

MT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、ACh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、MT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)。MT部分は、複合体I (-0.4 mV) 及び複合体I V (+0.4 mV) の酸化還元電位の間の中間である概ね0 mVの酸化還元電位を有する。

【0163】

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、LMTM処置に続いて増加を示さなかった。LMTM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における改善と関連しなかった。

【0164】

定性的に同様であるが、単独で与えられるLMTMの効果は、タウトランスジェニックL1マウスにおいて非常により顕著であり、より幅広い。これについての最も可能性がある説明は、LMTMが、タウオリゴマーに対する阻害効果とタウ依存性ではない固有の活性化効果とを一緒に合わせるというものである。LMTM処置に続くタウオリゴマーレベルにおける低減は、シナプス機能のより明白な活性化、並びに神経伝達物質、例えば、ACh及びグルタメートの放出を促進する。同様に、LMTMは、タウトランスジェニックL1マウスにおいて見られる空間記憶欠損を反転させる (Melis et al., 2015a)。代わりに、LMTMは、例えば、タウ病態を欠いている野生型マウスにおいて見られるように、タウに依存しない異なる機序を介して作用し得る。LMTMが慢性リバスチグミンのバックグラウンドに対して導入されたときに見られるマイナスの効果は、LMTM単独で見られる活性化の反転を単純に反映するように思われる。

【0165】

シナプスタンパク質が機能することに対するタウオリゴマーの有害効果は、シナプス小胞のドッキング、膜融合及び神経伝達物質の放出への直接の干渉の結果であるとして容易に理解可能である。タウトランスジェニック L1 マウスにおいて、例えば、シナプス小胞タンパク質レベルは、S N A R E 複合体又は α -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おらず、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の喪失を意味する。この結果は、タウトランスジェニックマウスからのシナプトソーム調製物からのグルタメート放出における障害、及び L M T M による処置に続く正常なグルタメート放出の回復として直接的に見ることができる。

【0166】

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。

【0167】

実施例 4 - シナプス変性症

本明細書に開示されているように、L M T X 化合物は、障害されたマウス及び野生型マウスの両方において、治療的に関連性のある用量で、様々な脳領域におけるシナプスタンパク質の平均レベルを増加させることができる。シナプスタンパク質のこの増加を使用して、疾患、例えば、シナプス変性症、すなわち、シナプス機能障害から生じた脳障害、又はこのようなシナプス機能障害が障害の病因若しくは症状の一因となる脳障害におけるシナプスタンパク質の統合の喪失を補い得る。このような疾患の非限定的なリストは、下記を含む。

【0168】

統合失調症は、遺伝因子及び環境因子の間の相互作用として生じる、複雑な病因を伴う破壊的な精神障害である。統合失調症は神経発達障害であり、シナプス障害は、疾患が発生することにおいて決定的役割を果たしている。1982 年において、Feinberg は、統合失調症が異常なシナプス刈り込みの結果として生じ得ると提唱した。シナプス障害は、独立した疾患の特質として研究及び理解することができないが、恒常性事象の複雑なネットワークの一部としてのみ研究及び理解することができる。発育、グリアー神経相互作用、エネルギー恒常性の変化、多様な遺伝的素因、神経免疫プロセス及び環境の影響は全て、独自に個別の様式でシナプスの形態学及び接続性の繊細な恒常性バランスを変え、このように、この破壊的な障害の様々な症状の出現をもたらす。Faludi 及び Mirnics (2011) は、統合失調症を「シナプス」、「オリゴデンドログリア」、「代謝性」及び「炎症性」サブクラスへと大まかに層別化してきた。

【0169】

S N A P - 25 のレベルは、統合失調症の小脳においてかなり枯渇している (Mukaetova-Ladinska et al., 2002)。タウ及び M A P 2、並びに S N A P 25 以外のシナプスタンパク質、例えば、シナプトフィジン及びシンタキシンは影響を受けない。これは、小脳のシナプスネットワークの変化が統合失調症において起こるという根拠を提供する。これらの変化は、小脳-前脳結合、特に、前頭葉との結合に影響を与え、統合失調症における臨床的表現型の特徴である認知の測定異常を生じさせ得る。

【0170】

S N A R E 複合体の調節された形成、並びにヒト脳の特定の領域（眼窩前頭皮質）における S N A R E タンパク質及びアクセサリー分子の異常な発現は、統合失調症と関連する (Katrancha et al., 2015)

【0171】

うつ病。ストレスによってもたらされるニューロンの萎縮及びグルタミン酸作動性シナプス結合の喪失は、うつ病の症状への重要な引き金となっているものである。H P A 軸に

10

20

30

40

50

加えて、シナプス数及び機能は、うつ病において結び付けられてきた他の因子（特に、神経栄養因子）によって変化する（Duman et al.,2016）。

【0172】

自閉症スペクトラム障害は、異常なシナプス伝達及びシナプス可塑性と関連する障害の複雑な群である（Giovedi et al.,2014）。後シナプスホーマー1及びプレシナプスシナプトフィジンの両方のレベルは、ASDのshank3b欠損ゼブラフィッシュモデルの成人の脳においてかなり低減した（Liu et al.,2018）。

【0173】

てんかん：いくつかのシナプスタンパク質は、てんかん（Giovedi et al.,2014）において結び付けられている。電気キンドリングは、ラットにおける海馬体及び梨状皮質の両方においてシナプトフィジン免疫反応性を増加させる（Li et al.,2002）。

【0174】

びっくり病（過剰驚愕症）は、予期しない聴覚刺激、体性感覚刺激及び視覚刺激に対する誇張された持続的な驚愕反応、全身的な筋肉の硬直、並びに夜間ミオクロヌスによって特性決定されるまれな非てんかん性障害である。主要な形態は、遺伝的な根拠：グリシン受容体遺伝子の $\alpha 1$ サブユニットであるGLRA1又は関連する遺伝子における変異を有する（Bakker et al.,2006）。関連する症候群は、トゥレット症候群及び不安障害を含む。

【0175】

局所性手ジストニアは、不随意運動及び異常姿勢を生じさせる、筋けいれんによって特性決定される症候群である。シナプス可塑性におけるかなりの変化は、ジストニア動物モデル及び患者において説明されてきた（Quartarone and Pisani,2011）。

【0176】

脳虚血は、虚血性長期増強（LTP）と一致するシナプスの変化をもたし、シナプス可塑性の異常な形態を特徴付ける新規なモデルを表す。（Orfila et al.,2018）。シナプトフィジンについての免疫反応性は、虚血性病変において脳虚血の3～7日後に一時的に増加するが、損傷された領域におけるシナプトフィジン免疫染色は、ラットにおいて徐々に減少し、一過性脳虚血の1カ月後に最終的に殆ど消失した（Korematsu et al.,1993）。

【0177】

炎症性サイトカインである腫瘍壊死因子（TNF）及びインターロイキン- 1β （IL- 1β ）は、LTP及びシナプススケーリングにおいて重要な生理学的役割を果たしている。しかし、シナプス可塑性に対するこれらのサイトカインの作用は、神経炎症の状態下で変化し得る。変化したシナプス可塑性は、特に、実験的アレルギー性脳炎（EAE）及び多発性硬化症（MS）についての生理的状态又は炎症状態下で起こる（Rizzo et al.2018）。シナプトフィジン、シナプシンI、及びPSD-95免疫反応性は、EAEの慢性モデル及び急性モデル両方の灰白質及び白質の両方において低減した（Zhu et al.,2013）。

【0178】

緑内障及びADは、いくつかの特徴を共有する。これらは両方とも高齢者に影響を与え、神経変性、慢性及び進行性であり、不可逆的細胞死をもたらす。AD及び緑内障はまた、いくつかの共通の特徴、例えば、 $A\beta$ 蓄積／凝集、タウ凝集及び過剰リン酸化を共有する。両方の疾患は、ニューロン回路の早期の変化、及びマイトジェン活性化タンパク質キナーゼ（MAPK）のリン酸化、それに続く炎症過程、グリア反応、活性酸素種産生、酸化ストレス及びミトコンドリアの異常、細胞死をもたらす神経変性プロセスの伝搬によって特徴付けられる。両方の疾患は、共通の特徴、例えば、網膜内層のレベルでのシナプス機能障害及び神経細胞死によって特徴付けられる。緑内障は、AD及び老化と頻繁に関連する疾患であると認識される（Criscuolo et al.,2017）。

【0179】

実施例4についての参考文献

Bakker,MJ,van Dijk,JG,van den Maagdenberg,AMJM,Tijssen,MAJ(2006)Startle

10

20

30

40

50

syndromes. *Lancet Neurol.* 5:513-524

Criscuolo, C, Fabiani, C, Cerri, E, Domenici, L (2017) Synaptic dysfunction in Alzheimer's disease and glaucoma: from common degenerative mechanisms toward neuroprotection. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 11:53

Duman, RS, Aghajanian, GK, Sanacora, G, Krystal, JH (2016) Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants. *Nature Med.* 22:238

Faludi, G, Mirnics, K (2011) Synaptic changes in the brain of subjects with schizophrenia. *Int. J. Devel. Neurosci.* 29:305-309

Giovedi, S, Corradi, A, Fassio, A, Benfenati, F (2014) Involvement of synaptic genes in the pathogenesis of autism spectrum disorders: the case of synapsins. *Frontiers in Pediatrics* 2:94

Korematsu, K, Goto, S, Nagahiro, S, Ushio, Y (1993) Changes of immunoreactivity for synaptophysin (' protein p38 ') following a transient cerebral ischemia in the rat striatum. *Brain Res.* 616:320-324

Lepeta, K, Lourenco, MV, Schweitzer, BC, Martino Adami, PV, Banerjee, P et al. (2016) Synaptopathies: synaptic dysfunction in neurological disorders. *J. Neurochem.* 139:785-805

Liu, C-x, Li, C-y, Hu, C-c, Wang, Y, Lin, J et al. (2018) CRISPR/Cas9-induced shank3b mutant zebrafish display autism-like behaviors. *Molecular Autism* 9:23

Mukaetova-Ladinska, EB, Hurt, J, Honer, WG, Harrington, CR, Wischik, CM (2002) Loss of synaptic but not cytoskeletal proteins in the cerebellum of chronic schizophrenics. *Neurosci. Lett.* 317:161-165

Orfila, JE, McKinnon, N, Moreno, M, Deng, G, Chalmers, N et al. (2018) Cardiac arrest induces ischemic long-term potentiation of Hippocampal CA1 neurons that includes physiological long-term potentiation. *Neural Plasticity* 2018:9275239

Poirel, O, Mella, S, Videau, C, Ramet, L, Davoli, MA et al. (2018) Moderate decline in select synaptic markers in the prefrontal cortex (BA9) of patients with Alzheimer's disease at various cognitive stages. *Sci. Rep.* 8:938

Quartarone, A, Pisani, A (2011) Abnormal plasticity in dystonia: Disruption of synaptic Homeostasis. *Neurobiol. Dis.* 42:162-170

Rizzo, FR, Musella, A, De Vito, F, Freseghna, D, Bullitta, S et al. (2018) Tumor necrosis factor and interleukin-1 modulate synaptic plasticity during neuroinflammation. *Neural Plasticity* 2018:8430123

Sze, C-I, Troncoso, JC, Kawas, C, Mouton, P, Price, DL, Martin, LJ (1997) Loss of the presynaptic vesicle protein synaptophysin in Hippocampus correlates with cognitive decline in Alzheimer disease. *J. Neuropathol. Exptl. Neurol.* 56:933-944

Terry, RD, Masliah, E, Salmon, DP, Butters, N, DeTeresa, R et al. (1991) Physical basis of cognitive alterations in Alzheimer's disease: synapse loss is the major correlate of cognitive impairment. *Ann. Neurol.* 30:572-580

Giau, VV, Senanarong, V, Bagyinszky, E, An, SSA, Kim, S (2019) Analysis of 50 neurodegenerative genes in clinically diagnosed early-onset Alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences* 20:1514

Zhu, B, Luo, L, Moore, GRW, Paty, DW, Cynader, MS (2003) Dendritic and synaptic pathology in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Am. J. Pathol.* 162:1639-1650

他の参照文献

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, 411

10

20

30

40

50

9-4131.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.

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.

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.2017.170.

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 inHealth and disease.*Trends Cognitive Sci.*15,28-36.

Katrantha,SM,and Koleske,AJ(2015)SNARE Complex Dysfunction:A Unifying Hypothesis for Schizophrenia.*Biol.Psychiatry* 78:356-358.

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.

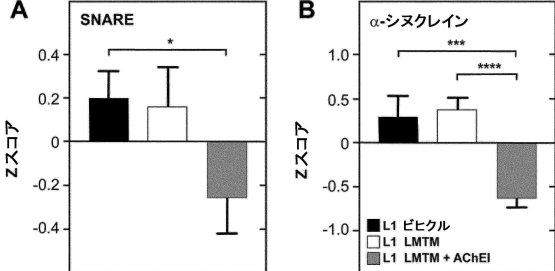
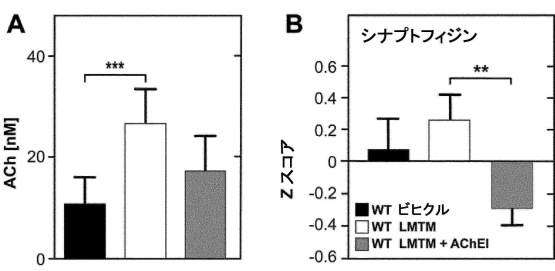
Melis,V.,Magbagbeolu,M.,Rickard,J.E.,Horsley,D.,Davidson,K.,Harrington,K.A.,et al.(2015a).Effects of oxidized and reduced forms of methylthioninium in two transgenic mouse tauopathy models.*Behav.Pharmacol.*26,353-368.doi:10.1097/fbp.000000000000133.

- 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 brain oxygen consumption. *Eur. J. Pharmacol.* 511, 151-158.
- Wilcock, G. K., Gauthier, S., Frisoni, G. B., Jia, J., Hardlund, J. H., Moebius, H. J., et al. (2018). Potential of low dose leuco-methylthioninium 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.
- 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.
- 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.

【図面】

【図 1】

【図 2】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 P 25/28 (2006.01)

A 6 1 P 25/28

A 6 1 P 27/06 (2006.01)

A 6 1 P 27/06

(72)発明者 シャー エービー 2 5 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
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 2 5 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 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 2 4 5アールピー キング ストリート
3 9 5 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 2 0 1 8 / 0 1 9 8 2 3 (WO, A 1)

Francesco PANZA et al., " Tau-Centric Targets and Drugs in Clinical Development for the Treatment of Alzheimer ' sDisease ", BioMed Research International, 2016年, Vol. 2016, p. 1-15, DOI: 10.1155/2016/3245935

Santosh JADHAV et al., " A walk through tau therapeutic strategies ", Acta Neuropathologica Communications, 2019年02月15日, Vol. 7, No. 22, DOI:10.1186/s40478-019-0664-z

Gernot RIEDEL et al., " Mechanisms of Anticholinesterase Interference with Tau Aggregation Inhibitor Activity in a Tau-Transgenic Mouse Model ", Current Alzheimer Research, 2020 年05月18日, Vol. 17, No. 3, p.285-296, DOI: 10.2174/1567205017666200224120926

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

A 6 1 K

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)