

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-540241

(P2024-540241A)

(43)公表日 令和6年10月31日(2024.10.31)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 C	215/44 (2006.01)	C 0 7 C	215/44	C S P	4 C 2 0 6
A 6 1 K	31/137(2006.01)	A 6 1 K	31/137		4 H 0 0 6
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 3	
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/00		
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/00		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全55頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-525932(P2024-525932)	(71)出願人	524161597		
(86)(22)出願日	令和4年10月27日(2022.10.27)		ザイウィー, エルエルシー		
(85)翻訳文提出日	令和6年6月25日(2024.6.25)		アメリカ合衆国 ニュージャージー 0 8		
(86)国際出願番号	PCT/US2022/078779		5 4 0, プリンストン, ランバート		
(87)国際公開番号	WO2023/076997		ドライブ 1 5 5		
(87)国際公開日	令和5年5月4日(2023.5.4)	(74)代理人	100078282		
(31)優先権主張番号	63/272,743		弁理士 山本 秀策		
(32)優先日	令和3年10月28日(2021.10.28)	(74)代理人	100113413		
(33)優先権主張国・地域又は機関			弁理士 森下 夏樹		
	米国(US)	(74)代理人	100181674		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA		弁理士 飯田 貴敏		
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(	(74)代理人	100181641		
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A		弁理士 石川 大輔		
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR	(74)代理人	230113332		
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,		弁理士 山本 健策		
	最終頁に続く			最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 治療上の使用のためのアンブロキソールの修飾形態

(57)【要約】

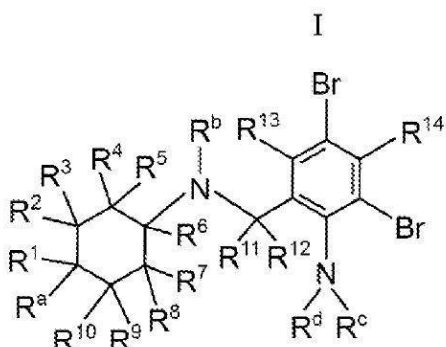
本発明は、アンブロキソールおよび関連化合物の多重重水素化類似体形態（ブロムヘキシンおよびアンブロキソール塩、アンブロキソール塩酸塩を含む）、これを含む組成物、ならびに、アンブロキソールおよび関連化合物の多重重水素化類似体の投与を含む様々な疾患および医学的状态を予防および／または処置する方法に関する。本発明は、アンブロキソールおよび関連化合物の多重重水素化類似体形態（ブロムヘキシン、薬学的に許容され得るその塩、およびアンブロキソール塩酸塩などのアンブロキソールの薬学的に許容され得る塩を含む）、これを含む組成物、ならびに、アンブロキソールおよび関連化合物の多重重水素化類似体の投与を含む、様々な疾患および医学的状态を予防および／または処置する方法に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I :

【化 8】



10

I

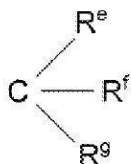
による多重重水素化化合物あるいは薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物またはプロドラッグであって、式中、

R^a は、H、ヒドロキシル (OH)、低級アルキル、および低級アルコールから選択され、必要に応じて、前述の基のいずれかの 1 またはそれを超える H 原子が重水素 (D) で置換されており、

20

R^b は、H、重水素 (D) および

【化 9】



から選択され、式中、 R^e 、 R^f および R^g は、独立に、H および D から選択され、

30

R^c および R^d は、独立に、H および D から選択され、

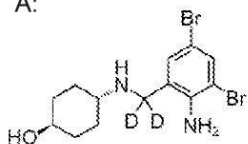
$R^1 \sim R^{14}$ の各々は、独立に、H および D から選択され；

前記多重重水素化化合物は、少なくとも 2 個の重水素 (D) 原子を含み、

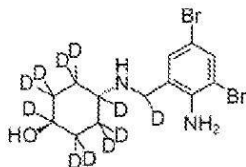
但し、前記化合物は、以下；

【化 10】

A:



B:



40

に示すビスー重水素化アンブロキソール A でも [D₁₁] - アンブロキソール B でもない、
多重重水素化化合物あるいは薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物またはプロドラッグ。

【請求項 2】

少なくとも 3 個の重水素 (D) 原子を含む、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

少なくとも 10 個の重水素 (D) 原子を含む、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

50

前記重水素原子が、式 I の化合物の前記環構造上にのみ提供される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5】

R^{11} および R^{12} の少なくとも 1 つが重水素 (D) である、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 6】

R^{11} および R^{12} の両方が重水素 (D) である、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 7】

前記化合物が、 $R^1 \sim R^{10}$ のそれぞれでのみ； $R^1 \sim R^{10}$ 、 R^{11} および R^{12} のそれぞれでのみ； $R^1 \sim R^{10}$ 、 R^{13} および R^{14} のそれぞれでのみ；または $R^{11} \sim R^{14}$ のそれぞれでのみ重水素化されている、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の化合物。

10

【請求項 8】

前記化合物が、 $R^1 \sim R^{14}$ のそれぞれにおいて重水素化されている、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 9】

前記化合物が、アンプロキソールの多重重水素化類似体またはブロムヘキシンの多重重水素化類似体である、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 10】

前記化合物が、以下：

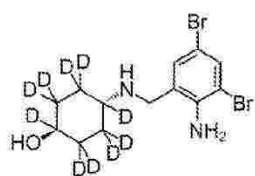
20

30

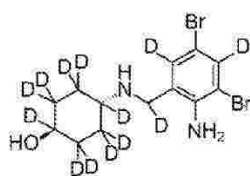
40

50

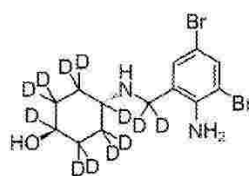
【化 1 1】



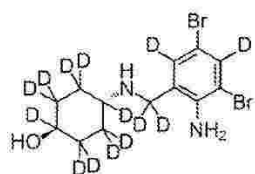
1



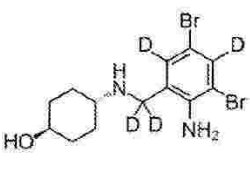
2



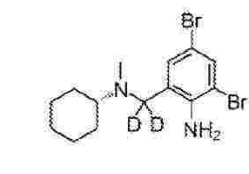
3



4

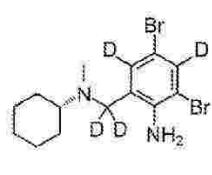


5

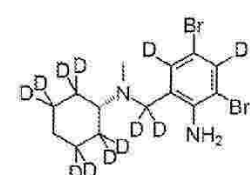


6

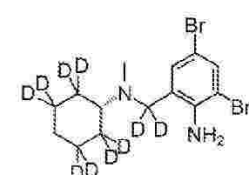
10



7

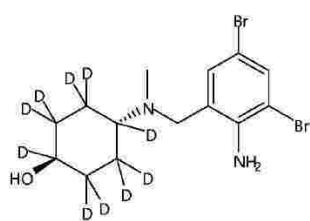


8

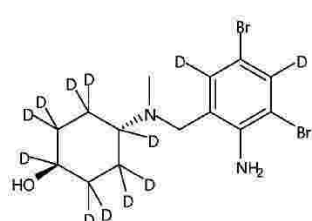


9

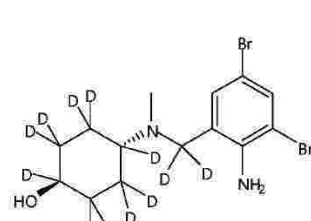
20



10

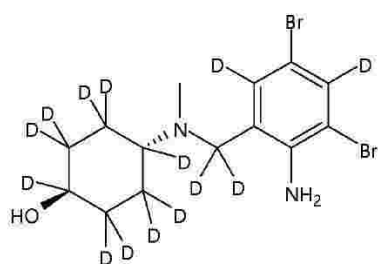


11

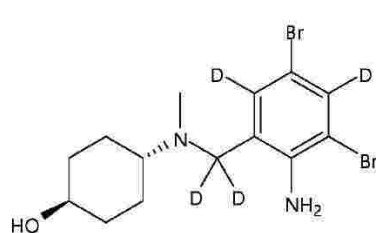


12

30



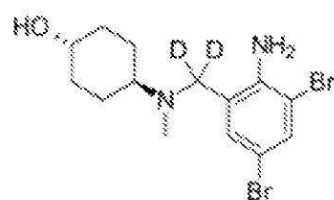
13



14

40

【化 1 2】



15

50

から選択される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 1 1】

請求項 1 ～ 1 0 のいずれか一項に記載の化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）を、必要に応じて薬学的に許容され得る担体と組み合わせて含む、医薬組成物。

【請求項 1 2】

前記組成物が、液体経口医薬組成物である、請求項 1 1 に記載の組成物。

【請求項 1 3】

請求項 1 ～ 1 0 のいずれか一項に記載の高負荷の式 I の化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）を含む請求項 1 2 に記載の組成物であって、前記組成物が、（i）式 I の化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）；および（i i）少なくとも 1 つの薬学的に許容され得る賦形剤を含み、式 I の化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）が、約 6 0 ～ 約 9 7 重量パーセントの有効薬学成分と約 3 ～ 約 4 0 重量パーセントの前記賦形剤とを含む顆粒コアを有する顆粒の形態であり、前記重量パーセントが、前記顆粒コアの総重量に基づく、組成物。

10

【請求項 1 4】

請求項 1 ～ 1 0 のいずれか一項に記載の高負荷の式 I の化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）を含む請求項 1 2 に記載の組成物であって、前記組成物が、（i）式 I の化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）；（i i）少なくとも 1 つの薬学的に許容され得る賦形剤；および（i i i）希釈剤を含み、式 I の化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）は、約 6 0 ～ 約 9 7 重量パーセントの有効薬学成分と、約 3 ～ 約 4 0 重量パーセントの前記賦形剤とを含む顆粒コアを有する顆粒の形態であり、前記重量パーセントは、前記顆粒コアの総重量に基づいており；前記顆粒コアは、（i v）約 0 . 5 ～ 約 5 % の重量増加をもたらす量の水溶性シールコーティング、および（v）約 0 . 5 ～ 約 5 0 % の重量増加をもたらす量の腸溶コーティングでコーティングされている、組成物。

20

【請求項 1 5】

呼吸器疾患および状態、リソソーム蓄積症（L S D）、ならびに神経疾患および状態からなる群より選択される、対象の疾患または医学的状态を予防および／または処置する方法であって、前記方法が、有効量の請求項 1 ～ 1 0 のいずれか一項に記載の化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）または請求項 1 1 ～ 1 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物を前記対象に投与するステップを含む、方法。

30

【請求項 1 6】

予防および／または処置される前記疾患または医学的状态が気管支肺疾患であるか、またはゴーシェ病、ポンペ病もしくはファブリー病であるか、またはパーキンソン病、レビー小体型認知症、アルツハイマー病もしくは前頭側頭型認知症である、請求項 1 5 に記載の方法。

【請求項 1 7】

有効量の請求項 1 ～ 1 0 のいずれか一項に記載の化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）または請求項 1 1 ～ 1 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物を前記対象に投与することを含む方法であって、前記方法が、対象の平均余命を延ばすため、または対象の老化を処置、抑制もしくは軽減するため、または対象の加齢性症状もしくは加齢性疾患を処置、抑制もしくは軽減するため、または対象の健康寿命、寿命および／もしくは精神的鋭敏性を増加させるためのものである、方法。

40

【請求項 1 8】

対象におけるアルツハイマー病（A D）または病理学的タンパク質のミスフォールディング、凝集および沈着に関連する他の疾患（パーキンソン病（P D）、ハンチントン病（H D）および前頭側頭変性症（F T D）を含む）を予防および／または処置する、その症

50

状を軽減する、および／またはその進行を遅延させるための方法であって、前記方法が、有効量のアンブロキシソール（またはアンブロキシソール塩酸塩およびブロムヘキシシンの関連化合物）または請求項 1～10 のいずれか一項に記載の化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）を、1 またはそれを超える適切な抗ペーアミロイド抗体またはその断片と組み合わせて前記対象に投与するステップを含む、方法。

【請求項 19】

アルツハイマー病（AD）または病理学的タンパク質のミスフォールディング、凝集および沈着に関連する他の疾患（パーキンソン病（PD）、ハンチントン病（HD）および前頭側頭変性症（FTD）を含む）を予防する、その症状を軽減する、および／またはその進行を遅延させるための方法であって、有効量のアンブロキシソール（またはアンブロキシソール塩酸塩およびブロムヘキシシンの関連化合物）または請求項 1～10 のいずれか一項に記載の化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）を前記対象に投与するステップを含む、方法。

10

【請求項 20】

前記対象が、AD または病理学的タンパク質のミスフォールディング、凝集および沈着に関連する他の疾患（パーキンソン病（PD）、ハンチントン病（HD）および前頭側頭変性症（FTD）を含む）のリスクのある患者または発症の初期段階にある患者を示すバイオマーカーについてアッセイすることによって選択される、請求項 18 または 19 に記載の方法。

20

【請求項 21】

前記対象が、AD のリスクのある患者または AD 発症の初期段階にある患者を示すリン酸化タウタンパク質（p-tau）についてアッセイすることによって選択される、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記対象が、AD または病理学的タンパク質のミスフォールディング、凝集および沈着に関連する他の疾患（パーキンソン病（PD）、ハンチントン病（HD）および前頭側頭変性症（FTD）を含む）のリスクのある患者を示す少なくとも 1 つの遺伝子または遺伝子座の遺伝子型決定によって選択される、請求項 18 または 19 に記載の方法。

30

【請求項 23】

前記対象が、ApoE 遺伝子、p-tau217、p-tau181、p-tau231、p-tau235 および／または N3pG の遺伝子型決定によって選択される、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記対象が、ApoE 遺伝子の $\epsilon 4$ 対立遺伝子、p-tau217、p-tau181、p-tau231、p-tau235 および／または N3pG の遺伝子型決定によって選択される、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記アンブロキシソール（または関連化合物）または請求項 1～10 のいずれか一項に記載の化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）が、

40

（i）例えば、2～50 μM 、2～25 μM または 10～20 μM など、1 μM よりも高い前記対象の血清中のピーク濃度を提供する投与量；

（ii）例えば、5～50 μM 、5～25 μM または 10～20 μM など、3 μM よりも高い前記対象の脳組織中のピーク濃度を提供する投与量；または

（iii）約 250 mg～1000 mg／日または 750～1000 mg／日の範囲内である投与量；

から選択される一日投与量で前記対象に投与される、請求項 18～24 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

50

【0001】

発明の分野

本発明は、様々な治療適用での使用に適したアンブロキソール、アンブロキソール塩酸塩および／またはブロムヘキシンの修飾形態に関する。

【背景技術】

【0002】

従来技術の議論

アンブロキソール、アンブロキソール塩酸塩および構造的に関連する「親化合物」であるブロムヘキシンは粘液溶解剤であり、1970年代後半以降、過剰なおよび／または非常に粘稠な粘液の産生に関連する急性および慢性の呼吸器疾患および状態の処置に使用するために多くの国で利用可能になっている。

10

【0003】

酸性カルシウム貯蔵庫からのpH依存性カルシウム放出を介してリソソームのエキソサイトシスを誘発することにより（Fois Gら、Cell Calcium 58（6）：628－637，2015）、アンブロキソールは、例えば痰を分解し、II型肺細胞による界面活性剤の産生を刺激して（Seiffert Cら、Toxicol Appl Pharmacol 203（1）：27－35，2005）、気道壁への粘液の付着を減少させることにより、粘液クリアランスを促進するように作用すると考えられている。さらに、アンブロキソールは、神経細胞のナトリウムチャンネルを強力に阻害して、特にロゼンジの形で投与した場合に、急性の咽頭痛に使用される迅速な鎮痛を可能にすることが見出されている（de Mey Cら、Arzneimittelforschung 28（5a）：889－898，1978）。

20

【0004】

最近では、アンブロキソールを他の多くの医療用途に別の目的で使うことに幅広い関心が寄せられている。例えば、アンブロキソールは、リソソーム酵素β-グルコセレブロシダーゼ（GCase，UniProtKB Entry P04062）の「分子シャペロン」として作用し、それによってこの酵素の活性を増加させることができることが報告されている。これは、アンブロキソールが、最も一般的なリソソーム蓄積症であり、GCaseの欠乏によって引き起こされるゴーシェ病（Maegawa GHBら、J Biol Chem 284（35）：23502－23516，2009）の処置に適している可能性があることを意味し得る。同様に、GCaseの活性を増加させるこの能力は、グルコセレブロシダーゼ遺伝子、GBA1に機能喪失変異を有する個体におけるパーキンソン病（PD）の処置に有益であり得る（McNeill Aら、Brain、137（5）：1481－1495，2014）。最近の報告では、アンブロキソールを毎日投与すると、健康な非ヒト霊長類の脳のGCase活性を増加させることができたことが示されている（Migdalska-Richards Aら、Synapse 71（7）：e21967，2017）。

30

したがって、アンブロキソールは、引き続き研究上の多大な関心および努力の対象となっている。本発明者らは、アンブロキソールに基づく新しい治療方法および組成物を同定および開発するための研究の過程で、アンブロキソールの新規な修飾形態（すなわち、アンブロキソール類似体）を設計した。これらの修飾化合物は、アンブロキソール、アンブロキソール塩酸塩およびブロムヘキシンのうちの1つまたはそれより多くよりも、例えば、体内での半減期および作用持続時間の延長につながる安定性の向上など、1またはそれを超える利点を提供し得ると考えられる。

40

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】Maegawa GHBら、J Biol Chem(2009)284（35）：23502～23516

【非特許文献2】McNeill Aら、Brain、（2014）137（5）：14

50

8 1 ~ 1 4 9 5

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

発明の概要

この概要は、以下の詳細な説明でさらに説明される概念の選択を簡略化した形で紹介するために提供される。この概要は、特許請求される主題の重要なまたは本質的な特徴を特定することを意図したものではなく、特許請求される主題の範囲を限定するために使用されることを意図したものでもない。特許請求される主題の他の特徴、詳細、有用性、および利点は、添付の図面に示され、添付の特許請求の範囲に定義される態様を含む以下の詳細な説明から明らかになるであろう。

10

【0007】

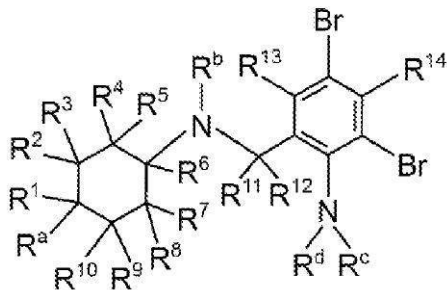
本発明は、アンブロキソールおよび関連化合物の多重重水素化類似体形態（ブロムヘキシン、薬学的に許容され得るその塩、およびアンブロキソール塩酸塩などのアンブロキソールの薬学的に許容され得る塩を含む）、これを含む組成物、ならびに、アンブロキソールおよび関連化合物の多重重水素化類似体の投与を含む、様々な疾患および医学的状態を予防および／または処置する方法に関する。

【0008】

より具体的には、本発明は、特に、式 I による多重重水素化化合物：

【化 1】

20



I

30

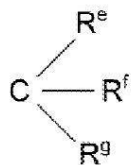
〔式中、

R^a は、H、ヒドロキシル (OH)、低級アルキル（例えば、 CH_3 および CH_2CH_3 などの C_{1-3} アルキル）、および低級アルコール（例えば、 CH_2OH などの C_{1-3} アルコール）から選択され、必要に応じて、前述の基のいずれかの 1 またはそれを超える H 原子が重水素 (D) で置換されており、

R^b は、H、重水素 (D) および

【化 2】

40



（式中、 R^e 、 R^f および R^g は、独立に、H および D から選択される）から選択され、

R^c および R^d は、独立に、H および D から選択され、

$R^1 \sim R^{14}$ の各々は、独立に、H および D から選択され；

50

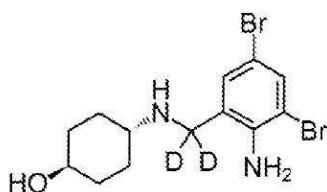
該多重重水素化合物は、少なくとも２個の重水素（D）原子を含み、但し、該化合物は、以下に示すビス-重水素化アンブロキソール A でも [D₁₁] -アンブロキソール B でもない；

あるいは薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物またはプロドラッグを提供する。

【0009】

ビス-重水素化アンブロキソール A（ZW-001）：

【化3】

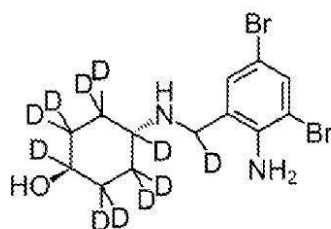


10

【0010】

[D₁₁] -アンブロキソール B：

【化4】



20

【0011】

式 I の化合物中のいずれかまたは全ての H 原子は重水素原子で置換され得ることが企図される。いくつかの実施形態において、化合物は、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 または 20 個の重水素（D）原子を含む。好ましくは、化合物は少なくとも 3 個の重水素（D）原子を含む。

30

【0012】

いくつかの実施形態では、重水素原子は、式 I の化合物の環構造上にのみ提供される。例えば、ジプロモフェニルアニリン環は、最大 2 個の重水素（D）原子を含んでもよく、必要に応じて置換されたシクロヘキシル環は、最大 10 個の重水素（D）原子を含んでもよい。必要に応じて、ジプロモフェニルアニリン環上に存在するアミン置換基は、1 個または 2 個の重水素（D）原子を含んでもよい。すなわち、R^c および R^d の少なくとも一方、好ましくは両方が D である。

【0013】

いくつかの他の実施形態では、重水素原子は、式 I の化合物の環構造の一方または両方、ならびにそれらの環構造間の連結基上に提供される。重水素化されている場合、連結基は 1 または 2 個の重水素（D）原子を含んでもよい。

40

【0014】

いくつかの実施形態では、R¹¹ および R¹² の少なくとも一方、好ましくは両方が重水素（D）である。

【0015】

いくつかの実施形態では、化合物の多重重水素化の効果の一つは、代謝、例えば式 I による化合物の環構造間の連結基の炭素-窒素共有結合の（例えば、酸化を介する）切断による代謝などに対する耐性（重水素化を欠く対応する化合物と比較して）である。

【0016】

50

いくつかの特定の実施形態では、化合物は、 $R^1 \sim R^{10}$ のそれぞれでのみ； $R^1 \sim R^{10}$ 、 R^{11} および R^{12} のそれぞれでのみ； $R^1 \sim R^{10}$ 、 R^{13} および R^{14} のそれぞれでのみ；または $R^{11} \sim R^{14}$ のそれぞれでのみ重水素化されている；一方、他の特定の実施形態において、化合物は、 $R^1 \sim R^{14}$ のそれぞれで重水素化されている。

【0017】

いくつかの実施形態では、化合物は、アンプロキソールの多重重水素化類似体またはブロムヘキシンの多重重水素化類似体である。

【0018】

いくつかの実施形態では、化合物は、アンプロキソールまたはブロムヘキシンの多重重水素化類似体の薬学的に許容され得る塩、好ましくは塩酸塩である。

【0019】

本発明はまた、式Iの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）を含む医薬組成物、ならびに式Iの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）の投与を含む、対象において様々な疾患および医学的状态を予防および／または処置する方法も提供する。

【0020】

より具体的には、本発明は、呼吸器疾患および状態（例えば、気管支肺疾患、および特に過剰なおよび／または非常に粘稠な粘液の産生に関連する疾患）からなり、急性咽頭痛、ゴーシェ病などのリソソーム蓄積症（LDS）、オートファジーの機能不全を伴う神経疾患および状態（例えば、PDおよび他の老化関連疾患）（Dockrill P., Science Alert, February, 2020）に関連する疼痛を含む群から選択される疾患または医学的状态を予防および／または処置する方法を提供する。

【0021】

さらに、本発明は、パーキンソニズム（PDおよびレビー小体型認知症を含む）、アルツハイマー病（AD）および／またはピック病などの神経疾患および状態に関連する症状を処置、軽減および／または安定化する方法を提供する。

【0022】

さらに、本発明は、対象の平均余命を延ばす方法を提供する。具体的には、式Iの化合物は、（a）対象の老化を処置、抑制、または軽減する方法、（b）対象の加齢性症状または加齢性疾患を処置、抑制、または軽減する方法、および／または（c）対象の健康寿命（healthspan）、寿命、および／または精神的鋭敏性（mental acuity）を高める方法で使用するすることができる。

【0023】

好ましい実施形態では、対象は哺乳動物であり、さらに好ましい実施形態では、哺乳動物はヒト、飼育動物（例えば、イヌ、ネコ、ウマ）または家畜（例えば、ウシまたはブタ）である。

【図面の簡単な説明】

【0024】

本発明の目的および特徴は、以下の詳細な説明および添付の図面を参照してよりよく理解することができる。

【0025】

【図1-1】図1は、本発明の代表的な化合物（化合物1から14）の構造を提供する。

【図1-2】同上。

【図1-3】同上。

【0026】

【図2】図2は、ZW-001（1）（ビス-重水素化アンプロキソールA）、ZW-002（2）（本明細書では「化合物1」とも呼ばれる）、ZW-003（3）（本明細書では「化合物3」とも呼ばれる）およびアンプロキソール（4）の構造を提供する。

【0027】

【図3】図3は、アンプロキソールがマウス動物モデルにおいて寿命を延ばすことができ

10

20

30

40

50

たことを示す動物データを提供する。群 1 は、アンプロキソールを投与しなかった対照動物を表す；群 2 は、2 ヶ月齢から始めて、固形飼料補充物として毎日 50 mg / kg（体重）のアンプロキソールを投与した動物を表す。

【0028】

【図 4】図 4 は、7 ヶ月齢のときにアンプロキソールで処置し、新規場所認識（novel place recognition）について試験したマウスから得られた結果を示す。これは、見慣れない場所に見いだされる見慣れた物体の認識を伴う、短期作業記憶を測定するための認知試験である（Magenら、Eur J Neurosci 35 : 870-882, 2012; Magen and Chesselet, J Parkinson's Disease 1: 217-227, 2011 参照）。識別指数（DI）= $(t_{\text{novel}} - t_{\text{familiar}}) / (t_{\text{novel}} + t_{\text{familiar}})$ を使用して、新規場所で物体の近くを探索するのに費やされた時間（「 t_{novel} 」）と全体の総探索時間を比較して評価した。0 より大きい識別指数スコアは、良好な場所認識メモリを示すと考えられる。

10

【0029】

【図 5-1】図 5 は、マウス細胞における基礎のマクロオートファジーに対するアンプロキソールの効果を示す。タンデムレポーター mCherry-GFP-LC3 を発現する培養中のマウス線維芽細胞（NIH3T3 細胞）を、完全培地中で指示濃度のアンプロキソールに 24 時間曝露した。パネル A。分析したオートファジー区画の概略図。パネル B ~ D。オートファジー液胞（AV）（パネル B）；オートファゴソーム（APG）（パネル C）；およびオートリソソーム（AUT）（パネル D）の数。全ての値は平均 + s.e.m. であり、定量化は、ハイコンテンツ顕微鏡を使用する 3 つの異なる実験で、条件ごとに少なくとも 2,500 個の細胞で行った。未処置（0 μ M アンプロキソール）との差は、* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ および *** $p < 0.001$ で有意である。

20

【図 5-2】同上。

【0030】

【図 6-1】図 6 は、ヒト iPSC 由来神経細胞に対する重水素化アンプロキソールの効果を示す。図中、ZW-001 と示される化合物は、本明細書中でビス-重水素化アンプロキソール A と別途記載される化合物であり、図中 ZW-002 と示される化合物は、本明細書中で化合物 1 と別途言及される化合物である。

30

【図 6-2】同上。

【図 6-3】同上。

【0031】

【図 7】図 7 は、リソソーム、オートファゴソームおよび TFE B 遺伝子発現に対する重水素化アンプロキソールの効果を示す。図中、ZW-001 と示される化合物は、本明細書中でビス-重水素化アンプロキソール A と別途記載される化合物であり、図中 ZW-002 と示される化合物は、本明細書中で化合物 1 と別途言及される化合物である。

【発明を実施するための形態】

【0032】

詳細な説明

40

I. 定義

以下の定義は、以下の明細書の説明で使用される特定の用語に対して提供される。

【0033】

本明細書および特許請求の範囲で使用される、単数形の「a」、「an」および「the」は、文脈上明らかに示されている場合を除き、複数形の言及を含む。

【0034】

本発明は、本発明の構成成分ならびに本明細書に記載の他の成分または要素を「含む」（オープンエンド）またはそれらから「本質的になる」ことができる。本明細書で 사용되는場合、「含む」とは、列挙された要素、または、それらの構造もしくは機能等価物と、列挙されていない任意の他の 1 または複数の要素を意味する。「有する」および「含む

50

」という用語はまた、文脈上別段の示唆がない限り、オープンエンドと解釈されるべきである。本明細書で使用される場合、「から本質的になる」とは、本発明が、特許請求の範囲に列挙される成分に加えて成分を含んでもよいが、その追加の成分が、請求項に記載の本発明の基本的かつ新規な特徴を実質的に変更しない場合に限ることを意味する。

【0035】

本明細書で使用される場合、「対象」は、脊椎動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒト、さらにより好ましくはペットなどの飼育動物、または家畜である。哺乳動物には、限定されるものではないが、マウス、サル、ヒト、家畜、スポーツ動物およびペットが含まれる。他の好ましい実施形態では、「対象」は、げっ歯類（例えば、モルモット、ハムスター、ラット、マウス）、マウス（murine）（例えば、マウス（mouse））、イヌ（canine）（例えば、イヌ（dog））、ネコ（feline）（例えば、ネコ（cat））、ウマ（equine）（例えば、ウマ（horse））、霊長類、サル（例えば、サルまたは類人猿）、サル（例えば、マーモセット、ヒヒ）、または類人猿（例えばゴリラ、チンパンジー、オランウータン、テナガザル）である。他の実施形態では、非ヒト哺乳動物、特にヒトでの治療効果を実証するためのモデルとして従来使用されている哺乳動物（例えば、マウス、霊長類、ブタ、イヌまたはウサギ動物）を使用することができる。好ましい実施形態では、「個体」または「患者」（処置の対象などの場合）とは、哺乳動物、特に非ヒト霊長類、例えば類人猿およびサルを意味し、最も特にヒトを意味する。

【0036】

本明細書において理解されるように、本発明の医薬組成物の「有効量」とは、対象において治療上有益な応答を誘発するのに適した組成物の量を指し、例えば、呼吸器疾患および状態に関連する粘液クリアランスの促進、急性咽頭痛に関連する疼痛の軽減、リソソーム蓄積症（LSD）および神経疾患および状態に関連する症状の好転(amelioration)の提供、あるいは、健康寿命、寿命および／または精神的鋭敏性の延長および／または増加および／または改善、例えば、対象における生存および／または健康的な老化の増加、ならびに／あるいは病的状態および／または加齢性の病気の減少に適した組成物の量を指す。

【0037】

本明細書において使用される「用量」または「投与量」という用語は、対象への投与に適した物理的に別個の単位を指し、各投与量は、所望の応答を生じるように計算された所定量の有効薬学的成分を含む。

【0038】

「約」または「およそ」という用語は、当業者が決定する特定の値の許容され得る範囲内であることを意味し、許容され得る範囲は、値の測定または決定方法、例えば測定システムの限界に部分的に依存するものである。例えば、「約」は、所与の値の20%まで、好ましくは10%まで、より好ましくは5%まで、より好ましくはさらに1%までの範囲を意味し得る。あるいは、特に生物学的システムまたはプロセスに関して、この用語は、ある値の1桁以内、好ましくは5倍以内、より好ましくは2倍以内を意味し得る。特に明記しない限り、「約」という用語は、例えば±1~20%、好ましくは±1~10%、より好ましくは±1~5%など、特定の値に対して許容され得る誤差範囲内であることを意味する。なおさらなる実施形態では、「約」は、+/-5%を意味すると理解されるべきである。

【0039】

値の範囲が提供されている場合、その範囲の上限と下限の間に介在する各値、およびその定められた範囲内の他の任意の定められた値または介在する値は、本発明に包含されることが理解される。これらのより小さい範囲の上限および下限は、独立してより小さい範囲に含まれてもよく、記載された範囲内の任意の具体的に除外された限界に従って、本発明に包含される。記載された範囲が限界の一方または両方を含む場合、それらの含まれる限界の一方または両方を除いた範囲も本発明に含まれる。

【0040】

本明細書で使用される全ての百分率および比率は、本明細書で特に明記されない限り、全組成物の重量による。特に指定のない限り、全ての温度は摂氏である。特に指定のない限り、行われる全ての測定は25℃および常圧で行われる。

【0041】

本明細書に列挙される全ての範囲は、2つの値の「間の」範囲を列挙するものを含め、終点を含む。「約」、「一般に」、「実質的に」、「およそ」などの用語は、絶対的なものではないが、先行技術で当てはまらない用語または値を修飾するものと解釈されるべきである。当業者によって理解されるように、そのような用語は、状況およびそれらが修飾する用語によって規定される。これには、少なくとも、値を測定するために使用される所与の技術について、予想される実験誤差、技術誤差、および機器誤差の程度が含まれる。

10

【0042】

本明細書において、2またはそれを超える項目のリストで使用される場合の「および／または」という用語は、列挙された特性のいずれか1つが存在し得るか、または列挙された特徴の2つまたはそれを超える任意の組み合わせが存在し得ることを意味する。例えば、本発明の組成物が特徴A、Bおよび／またはCを含むと記載されている場合、組成物はAの特徴のみ；Bのみ；Cのみ；AとBの組み合わせ；AとCの組み合わせ；BとCの組み合わせ；またはA、BおよびCの組み合わせを含むことができる。

【0043】

本明細書で使用される場合、「低級アルキル」という用語は、1～8個の炭素原子を有する直鎖アルキル基、分枝アルキル基および環状アルキル基（例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、tert-ブチル、ペンチル、ヘキシル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチルなど）を含む。

20

【0044】

本明細書で使用される場合、「低級アルコール」という用語は、1～8個の炭素原子と1またはそれを超えるヒドロキシル(OH)基を有する直鎖、分枝または環状アルキル基を含むアルコール基（例えば、メタノール、エタノール、プロパノールなど）を含む。

【0045】

本明細書で使用される「薬学的に許容され得る塩」という用語は、式Iの化合物の望ましい生物学的活性を保持する塩を指し、これには、薬学的に許容され得る酸付加塩および塩基付加塩が含まれる。式Iの化合物の適切な薬学的に許容され得る酸付加塩は、無機酸または有機酸から調製されてよい。このような無機酸の例は、塩酸、硫酸およびリン酸である。好適な有機酸は、脂肪族、脂環式、芳香族、複素環式、カルボン酸およびスルホン酸のクラスの有機酸から選択することができ、その例は、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、コハク酸、グリコール酸、グルコン酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、フマル酸、マレイン酸、アルキルスルホン酸およびアリールスルホン酸である。薬学的に許容され得る塩に関するさらなる情報は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Edition, Mack Publishing Co, Easton PA 1995に見出すことができる。

30

【0046】

「溶媒和物」という用語は、好適な溶媒による溶媒和から生じる式Iの化合物の任意の形態を指す。そのような形態は、例えば、結晶性溶媒和物、または溶媒と溶解した化合物との間に形成され得る複合体であり得る。

40

【0047】

「プロドラッグ」という用語は、生体内で、通常は代謝手段（例えば、加水分解、還元または酸化）によって式Iの化合物に変換される化合物を意味する。例えば、ヒドロキシル基を含有する式Iの化合物のエステルプロドラッグは、インビボでの加水分解によって式Iの化合物に変換可能であり得る。ヒドロキシル基を含有する式Iの化合物の適切なエステルは、例えば、酢酸エステル、クエン酸エステル、乳酸エステル、酒石酸エステル、マロン酸エステル、シュウ酸エステル、サリチル酸エステル、プロピオン酸エステル、

50

コハク酸エステル、フマル酸エステル、マレイン酸エステル、メチレンビス-*p*-ヒドロキシナフトエ酸エステル、ゲンチジン酸エステル (*gentisate*)、イセチオン酸エステル、ジ-*p*-トルオイル酒石酸エステル、メタンスルホン酸エステル、エタンスルホン酸エステル、ベンゼンスルホン酸エステル、*p*-トルエンスルホン酸エステル、シクロヘキシルスルファミン酸エステルおよびキナ酸エステルであり得る。別の例として、カルボキシ基を含有する式 I の化合物のエステルプロドラッグは、インビボでの加水分解によって式 I の化合物に変換可能であり得る。エステルの例としては、Leinweber F J, Drug Metab Rev 18:379-439 (1987) に記載のものが挙げられる。同様に、アミノ基を含有する式 I の化合物のアシルプロドラッグは、インビボでの加水分解によって式 I の化合物に変換可能であり得る。アミンを含むこれらおよびその他の官能基のプロドラッグの例は、Prodrugs: challenges and rewards, Valentino J Stella (ed), Springer, 2007 に記載されている。

10

【0048】

「誘導体」化合物は、この用語が本明細書で使用される場合、非臭素化親化合物の臭素化バージョンなど、第 1 の化合物から誘導される第 2 の化合物を指す。例えば、アンブロキシソールは、親化合物であるブロムヘキシンの誘導体である。

【0049】

本明細書で使用される場合、式 I の化合物の特定の位置（例えば、 R^1 、 R^2 など）に位置する水素原子を説明するために使用される「重水素」、「D」および「重水素化」という用語は、化合物の調製において、特定の位置の重水素の存在量が、自然に予想される存在量を超えており（すなわち、0.015% 超）、好ましくは少なくとも 90% であり（すなわち、化合物の調製において、重水素は、調製物を構成する分子の少なくとも 90% において特定の位置に存在する）、より好ましくは少なくとも 95% または少なくとも 98% であることを意味すると理解される。

20

【0050】

本明細書で使用される場合、「寿命」とは、死亡までの時間を意味する。本明細書中で使用される場合、「健康寿命」または「健康的な老化」は、重篤な疾患に罹患することなく（または最適には罹患することなく）生活できる期間を意味する。本明細書で使用される場合、「精神的鋭敏性」は、集中力、注意持続時間、および鋭さなどの対象の認知能力の尺度である。

30

【0051】

本明細書で使用される場合、「栄養感知」は、Efeyanら、「Nutrient Sensing Mechanisms and Pathways,」Nature 517:302-310 (2015)（参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）に記載されているように、栄養レベルの変動を感知し応答する細胞の能力である。

【0052】

本明細書で使用される場合、「老化、加齢性症状、および／または加齢性疾患を処置、抑制、および／または軽減すること」などは、老化および／または変性障害の徴候の発生リスクを低下させること、発症を遅延させること、進行を遅らせること、ならびに／あるいは重症度および／または症状発現を軽減することを意味し、限定されないが、老化および／または変性障害の徴候の発生、発症または進行を予防することを含む。

40

【0053】

本明細書で使用される「薬学的に許容され得る担体」という用語は、組成物の他の成分と適合性であり、組成物を投与される意図された対象に有害ではないあらゆる担体、希釈剤または賦形剤を意味する。

【0054】

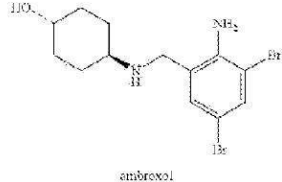
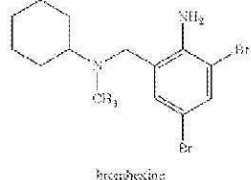
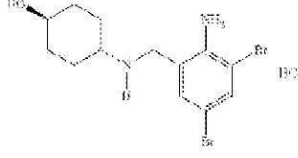
本発明の化合物

本発明の化合物は、アンブロキシソールおよび式 I によって定義される関連化合物（ブロムヘキシンおよびアンブロキシソール塩酸塩を含む）の多重重水素化類似体形態である。表

50

1 は、アンブロキソール（化学名 *trans*-4-（（2-アミノ-3,5-ジブロモベンジル）アミノ）シクロヘキサノールとしても公知）、ブロムヘキシシ（化学名 2-アミノ-3,5-ジブロモ-N-シクロヘキシル-N-メチルベンゼンメタンアミンとしても公知）およびアンブロキソール塩酸塩の構造を示す。

表 1：アンブロキソール、ブロムヘキシシおよびアンブロキソール塩酸塩の構造
【表 1】

アンブロキソール	
ブロムヘキシシ	
アンブロキソール塩酸塩	

10

20

【0055】

いくつかの実施形態では、化合物は、図 1 に示されるアンブロキソールおよびブロムヘキシシの多重重水素化類似体から選択される。これらの化合物（特に化合物 3～5）の多重重水素化の効果の一つは、代謝、例えば式 I による化合物の環構造間の連結基の炭素-窒素共有結合の（例えば、酸化を介する）切断による代謝などに対する耐性（重水素化を欠く対応する化合物と比較して）であると考えられる。言い換えれば、これらの化合物（特に化合物 3～5）の多重重水素化の効果の一つは、より高い安定性であると考えられる。したがって、いくつかの好ましい実施形態では、化合物は、図 1 に示される多重重水素化アンブロキソール類似体化合物 3～5 から選択される。

30

【0056】

本発明の化合物は、呼吸器疾患および状態、リソソーム蓄積症（LSD）、ならびに神経疾患および状態を含む様々な疾患および医学的状态を予防および／または処置する方法に使用することができ、また、対象の平均余命を延ばす方法にも使用することができる。そのような方法では、より大きな安定性（例えば、重水素化を欠く対応する化合物と比較して）を示す本発明の化合物は、例えば、1 またはそれを超える有利な薬物動態特性を示し得る。

40

【0057】

本発明の化合物の調製

本発明の化合物は、有機合成の当業者に公知の方法によって調製することができる。例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第 2004/0242700 号は、アンブロキソールの調製のための合成プロトコルを提供する。このプロトコルは、アンブロキソールおよび関連化合物の多重重水素化類似体形態の合成を可能にするように容易に適合させることができる。さらに、重水素（D）で標識されたアンブロキソールおよび関連化合物の合成のためのプロトコルは、Latli Bら、J Lab

50

e l C o m p d R a d i o p h a r m 5 3 : 1 5 - 2 3 , 2 0 1 0 (参 照 に よ り そ の 全 体 が 本 明 細 書 に 組 み 込 ま れ る) に 開 示 さ れ て お り 、 こ れ は 式 I の 化 合 物 の 調 製 に も 容 易 に 適 合 さ せ る こ と が で き る 。 例 え ば 、 L a t s i ら 、 2 0 1 0 の 「 ス キ ー ム 4 」 は 、 2 - ア ミ ノ - 3 , 5 - ジ ブ ロ モ ベ ン ズ ア ル デ ヒ ド を そ の 化 合 物 の 重 水 素 化 類 似 体 で 置 換 す る こ と に よ り 、 ジ ブ ロ モ フェ ニ ル ア ラ ニ ン 環 上 に 重 水 素 (D) を さ ら に 含 む 式 I の 化 合 物 の 調 製 に 適 合 さ せ る こ と が で き る 。 さ ら に 、 本 発 明 の 化 合 物 は 、 本 明 細 書 に 例 示 さ れ る 方 法 な ど の 方 法 に よ っ て 調 製 す る こ と が で き る 。

【 0 0 5 8 】

本発明の化合物の塩

酸性または塩基性基（カルボキシル基またはアミノ基など）を典型的に含有する化合物の場合、そのような基は必ずしも遊離酸または遊離塩基の形態とは限らない。本発明の化合物に言及する場合、その言及は、その化合物の塩形態を含むことが意図される。したがって、本発明の範囲内には、式 I の化合物の塩、特にアンブロキシールおよびブロムヘキシンの多重重水素化類似体の塩が含まれる。好ましい塩は、薬学的に許容され得る塩である。

10

【 0 0 5 9 】

「塩」という用語は、遊離酸または遊離塩基の付加塩を包含する。「薬学的に許容され得る塩」という用語は、医薬適用において有用性をもたらす範囲内の毒性プロファイルを有する塩を指す。とはいえ、薬学的に許容され得ない塩は、高い結晶化度などの特性を有し得、これは例えば治療用化合物の合成、精製または製剤化のプロセスにおける有用性など、本発明の実施において有用性を有する。

20

【 0 0 6 0 】

適切な薬学的に許容され得る酸付加塩は、無機酸または有機酸から調製することができる。無機酸の例としては、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硝酸、炭酸、硫酸およびリン酸が挙げられる。好適な有機酸は、脂肪族、脂環式、芳香族、芳香脂肪族（*araliphatic*）、複素環式、カルボン酸およびスルホン酸のクラスの有機酸から選択することができ、その例としては、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、コハク酸、グリコール酸、グルコン酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、アスコルビン酸、グルクロン酸、マレイン酸、フマル酸、ピルビン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸、安息香酸、アントラニル酸、4-ヒドロキシ安息香酸、フェニル酢酸、マンデル酸、エンボン酸（パモ酸）、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、パントテン酸、トリフルオロメタンスルホン酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、スルファニル酸、シクロヘキシルアミノスルホン酸、ステアリン酸、アルギン酸、β-ヒドロキシ酪酸、サリチル酸、ガラクトール酸、シュウ酸、マロン酸およびガラクトン酸が挙げられる。薬学的に許容され得ない酸付加塩の例としては、例えば、過塩素酸塩およびテトラフルオロオロウ酸塩が挙げられる。これらの酸付加塩は全て、例えば、好適な酸を特定の化合物と反応させることによって、式 I の化合物から調製することができる。

30

【 0 0 6 1 】

式 I の化合物の適切な薬学的に許容され得る塩基付加塩としては、例えば、アルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩および遷移金属塩、例えば、カルシウム塩、マグネシウム塩、カリウム塩、ナトリウム塩および亜鉛塩を含む金属塩が挙げられる。薬学的に許容され得る塩基付加塩には、塩基性アミンから作製される有機塩、例えば、N, N'-ジベンジルエチレンジアミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、メグルミン（N-メチルグルカミン）およびプロカインなども含まれる。薬学的に許容され得ない塩基付加塩の例としては、リチウム塩およびシアネート塩が挙げられる。これらの塩基付加塩は全て、例えば、好適な塩基を特定の化合物と反応させることによって、式 I の化合物から調製することができる。

40

【 0 0 6 2 】

本発明の化合物の使用方法

上述のように、本発明の化合物は、呼吸器疾患および状態、リソソーム蓄積症（LSD

50

）、ならびに神経疾患および状態を含む様々な疾患および医学的状态を予防および／または処置する方法に使用することができ、対象の平均余命を延ばす方法にも使用することができる。例えば、式Ⅰの化合物は、（a）対象の老化を処置、抑制、または軽減する方法、（b）対象の加齢性症状または加齢性疾患を処置、抑制、または軽減する方法、および／または（c）対象の健康寿命、寿命、および／または精神的鋭敏性を高める方法で使用することができる。

【0063】

いくつかの他の実施形態では、本発明は、より具体的には、対象の疾患または医学的状态を予防および／または処置する方法に関し、該疾患または状態は、呼吸器疾患および状態（例えば、気管支肺疾患、および特に過剰なおよび／または非常に粘稠な粘液の産生に関連する疾患）からなり、急性咽頭痛、ゴーシェ病などのリソソーム蓄積症（LDS）、および神経疾患および状態（例えば、パーキンソン病（PD）およびオートファジーの機能不全を伴う他の老化関連疾患）に関連する疼痛を含む群から選択され、前記方法は、有効量の式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）を対象に投与することを含む。本発明はまた、呼吸器疾患および状態、リソソーム蓄積症（LDS）ならびに神経疾患および状態から選択される疾患または医学的状态を予防および／または処置するための薬物としての式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）の使用に関する。さらに、本発明は、治療有効量の式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）を薬学的に許容され得る担体と共に含む、呼吸器疾患および状態、リソソーム蓄積症（LSD）ならびに神経疾患および状態から選択される疾患または医学的状态の処置のための医薬組成物に関する。

10

20

【0064】

いくつかの他の実施形態では、本発明は、有効量の式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）を対象に投与することを含む、対象の健康寿命、寿命および／または精神的鋭敏性を延長する方法に関する。本発明はまた、平均余命を延長し、かつ／あるいは老化または加齢性疾患もしくは症状を軽減するための薬物としての式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）の使用に関する。さらに、本発明は、治療有効量の式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）を薬学的に許容され得る担体と共に含む、平均余命を延ばす処置のための医薬組成物に関する。

30

【0065】

いくつかのさらなる実施形態では、本発明は、対象の健康寿命、寿命および／または精神的鋭敏性の増加および／または改善を誘導する長期方法に関し、前記方法は、治療有効量の式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）を投与することを含み、該化合物の投与は、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9または10年間にわたる。このような方法では、対象の寿命、健康寿命、精神的鋭敏性および／または健康的な老化は、未処置の対照対象と比較して、好ましくは最大約10%、20%、30%、40%、50%、60%または70%延長、改善または促進される。

40

【0066】

加齢性の病気および症状の例としては、限定されるものではないが、心血管疾患、メタボリック症候群、骨量減少障害、神経変性疾患、前糖尿病、糖尿病、肥満、骨粗鬆症、冠動脈疾患、脳血管疾患、心臓発作、脳卒中、末梢動脈疾患、大動脈弁疾患、脳卒中、軽度認知障害、前認知症（pre-dementia）、認知症、黄斑変性症、および白内障、薄毛、白髪、運動機能の喪失、スタミナ低下、疲労、感染に対する感受性の増加、代謝変化、生化学的变化、心肥大、心不全、心筋梗塞、虚血再灌流傷害、炎症性疾患、炎症促進状態、関節症、自己免疫疾患、および／またはアルツハイマー病（AD）が挙げられる。

【0067】

50

本発明の方法では、化合物は、約20～500mg/日、50～150mg/日、50～200mg/日、50～250mg/日、250～500mg/日、または250mg～1500mg/日の一日投与量で対象に投与されてよい。場合によってはこれらの範囲外の用量を使用することが必要であり得るため、より高い用量またはより低い用量も企図される。一日投与量は、一日の投薬あたりそれを2～4回に等分するなど、分割してもよい。さらに、対象の健康寿命、寿命および/または精神的鋭敏性の増加および/または改善を誘導する方法において必要とされ得るような長期投与の場合には、化合物は、好ましくは、およそ50mg/日、75mg/日、100mg/日、150mg/日、200mg/日、250mg/日、300mg/日、350mg/日、400mg/日、450mg/日、500mg/日、550mg/日、600mg/日、650mg/日、700mg/日、750mg/日、800mg/日、850mg/日、900mg/日、950mg/日、1000mg/日、1050mg/日、1100mg/日、1150mg/日、1200mg/日、1250mg/日、1300mg/日、1350mg/日の用量で、または50～150mg/日、50～200mg/日、50～250mg/日、250～500mg/日、250mg～1000mg/日、または1000mg～1500mg/日または1000mg/日未満の用量で、あるいは、およそ1mg/kg/日、2mg/kg/日、3mg/kg/日、4mg/kg/日、5mg/kg/日、6mg/kg/日、7mg/kg/日、8mg/kg/日、9mg/kg/日、10mg/kg/日、11mg/kg/日、12mg/kg/日、および/または4～12mg/kg/日の用量で投与されてよい。

10

20

【0068】

いくつかの好ましい実施形態では、本発明の方法は、急性咽頭痛に関連する疼痛を患っているヒト、過剰なおよび/または非常に粘性の粘液の産生に関連する気管支肺疾患を患っているヒト、ゴーシェ病などのリソソーム蓄積症(LSD)、ならびにパーキンソン病(レビー小体病を伴うPDおよび認知症を含む)、AD、および/または前頭側頭型認知症などの神経疾患および状態を患っているヒトを含む対象に特に適用され得る。

【0069】

パーキンソン病および機能不全オートファジーを伴う他の疾患

本発明のアムプロキソール(およびアムプロキソール塩酸塩およびブロムヘキシン)ならびにアムプロキソールの多重重水素化類似体は、アルツハイマー病(AD)およびパーキンソン病(PD)などのオートファジーおよび慢性炎症の機能不全を伴う加齢性疾患、ならびに線維筋痛症を含む慢性疼痛を特徴とする疾患状態の処置に特に適用され得る。

30

【0070】

上記のように、アムプロキソールがGCASEの活性を増加させる能力は、PDの主要な遺伝性危険因子であるグルコセレブロシダーゼ遺伝子、GBA1(McNeill Aら、2014, 前出)に機能喪失変異を有する個体におけるPDの処置に有益であり得る(Dojra, Neurodegeneration, 14:36, 2019)。アムプロキソール処置によるGCASE活性の増強は、リソソームの分解能力を増加させ、PDの病理発生に関与するタンパク質である細胞内凝集 α -シヌクレイン(α Syn)のクリアランスを助けると予想される(Migdalska-Richards Aら、2016前掲)。GCASE欠乏はまた、PDで観察されるリソソームおよびミトコンドリアの機能不全にも関連しており(Brooker and Krainc, 2021 Essays in Biochemistry, 65(7), pp. 873-883)、これによりアムプロキソールによるリソソームおよびミトコンドリア機能の改善が部分的に説明される可能性がある(Magalhaesら、2018 Scientific Reports, 8(1), p. 1385)。この有望な前臨床データに基づいて、アムプロキソールの使用は、PD(例えば、Silveira CRAら、BMC Neurol 19:20, 2019、およびMullin Sら、JAMA Neurol 77:427-434, 2020を参照)および脂質蓄積障害ゴーシェ病(Zimran, Altareescu and Elstein, 2013 Blood Cells, Molecule

40

50

s & Diseases, 50 (2), pp. 134–137; Naritaら、2016 Annals of Clinical and Translational Neurology, 3 (3), pp. 200–215) の疾患修飾化合物として臨床試験で研究中である。

【0071】

しかしながら、アンブロキソールの潜在的に有益な生物学的活性は、そのGCASEのシャペロン作用をはるかに超えることが知られている。特に、アンブロキソールは、オートファジーエンドリソソームネットワーク(AELN)(McNeillら、2014 Brain: A Journal of Neurology, 137 (Pt 5), pp. 1481–1495; Foissら、2015 Cell Calcium, 58 (6), pp. 628–637; Magalhaesら、2018, 前出)、誘発免疫応答(Beehら、2008 European Journal of Medical Research, 13 (12), pp. 557–562; Kern and Schwickert, 2017 Journal of Pain Research, 10, pp. 1905–1929)、および慢性疼痛に關与するチャネルの遮断(Russoら、2022 Pain [Preprint]. <https://doi.org/10.1097/j.pain.00000000000002693>で入手可能)に広範な効果を發揮する。したがって、アンブロキソールは、AELN、免疫系または侵害受容の欠陥を中心の特徴として有する無数の疾患の処置に有用であることが判明する可能性がある。例として、PDおよびADを含む多くの神経変性障害では、AELN内の神経毒性タンパク質種の産生または分解に障害が見られ、これが脳組織における慢性炎症環境を促進し得る。

10

20

【0072】

アンブロキソールが細胞プロセスにその影響を及ぼす機構のいくつかは解明されている。アンブロキソールは両親媒性アミンであり、受動拡散を介して細胞膜を容易に通過し、細胞内および細胞小器官内の空間に直接アクセスすることができる。細胞内では、アンブロキソールは弱塩基として作用し、プロトン化されて、リソソームおよび後期エンドリソソーム経路の他の構造を含む酸性細胞内区画に捕捉される(Magalhaes Jら、2018, 前出; およびFoiss Gら、2015, 前出)。これらの特性は、アンブロキソールの高いバイオアベイラビリティと、脳、肺および皮膚などの脂質の豊富な臓器系に蓄積する傾向を説明する(Mullin Sら、2020, 前出)。細胞質内で、アンブロキソールは、細胞代謝の過程で産生されるフリーラジカルの強力なスカベンジャーおよび安定剤として、また自然免疫応答の一部としても作用する(Stetinova, Herout and Kvetina, 2004 Clinical and Experimental Medicine, 4 (3), pp. 152–158)。最後に、アンブロキソールは、神経障害性疼痛に關連する $\text{Na}^+_{v1.7/8}$ チャネルを直接遮断することによって鎮痛を与えることが示されている(Kern and Schwickert, 2017, 前出)。

30

【0073】

酸性区画におけるアンブロキソールの両親媒性捕捉は、いくつかの方法でAELN系に影響を及ぼす。リソソームにおけるアンブロキソールのプロトン化の重要な結果の一つは、結果として起こるリソソーム内腔の脱酸である(Mullin Sら、2020, 前出、およびLusら、PLOS One 12:e0173771, 2017)。このプロセスは、細胞小器官内のカルシウム貯蔵を動員し、リソソーム関連転写因子EB(TFEB)の活性化をもたらす。活性化されたTFEBは核に再局在化し、そこでTFEBはリソソーム生合成に対する主要な調節制御を用いて遺伝子ネットワークの転写を初期化する(Medina DLら、Nat Cell Biol 17:288–299, 2015)。この遺伝子ネットワークの上方制御は、長寿命タンパク質(Sardielloら、2009 Science, 325 (5939), pp. 473–477)、特に高リン酸化タウ(Martini-Stoicaら、2018 The Journal

40

50

of Experimental Medicine, 215 (9), pp. 2355–2377)などの神経変性障害に関連するタンパク質を分解する細胞能力の増加をもたらす。アンプロキソールは、細胞培養でもインビボでもTFEBを効果的に活性化する。脳 (Magalhãesら、2018, 前出)、皮膚 (McNeillら、2014, 前出)、または免疫関連組織 (Choiら、2018, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 62 (9)) に由来する培養物では、アンプロキソールの適用は、転写レベル、タンパク質レベル、および／または活性化レベルでTFEBの上方制御をもたらす。

【0074】

関連して、高用量レジメンのアンプロキソールは、細胞オートファジーを分泌レジメンに促進することができる (例えば、McNeill Aら、2014, 前出、およびSilveira CRAら、2019, 前出を参照)。分泌性オートファジーは、正常に機能しているタンパク質および欠陥のあるタンパク質がオートファゴソームと呼ばれる膜結合小器官にパッケージングされて細胞外に分泌される機構を含み、オートファゴソームがリソソームと融合してオートファゴソーム内容物の分解および再利用を促進する、分解性オートファジーに代わるプロセスである (Rabouille Cら、J Cell Sci 125: 5251–5255, 2012)。オートファジー依存性分泌の上方制御は、神経変性障害における疾患修飾の潜在的な経路として認識されている (Ponpuak Mら、Curr Opin Cell Biol, 35: 106–116, 2015)。PD、ならびにADの場合、凝集しやすいタンパク質aSyn (PDの場合; 例えば、Dehay Bら、J Neurosci Off J Soc Neurosci 30: 12535–12544, 2010を参照) およびベータアミロイド (ADの場合; 例えば、Vickers JCら、Exp Neurol 141: 1–11, 1996を参照) は、オートファジー液胞に蓄積する分解耐性封入体を形成する。どちらの場合も、タンパク質凝集体は、細胞のオートファジー処理経路に沿った複数のポイントで調節不全を引き起こし、これは分泌の負荷軽減によって緩和される可能性がある。

【0075】

アンプロキソールは、分泌オートファジー系に直接関与することができる。PD病理を発現するように操作された細胞および非改変対応物からの初代神経細胞培養物において、アンプロキソールは、このタンパク質の凝集しやすいバージョンの細胞内貯蔵を除去しながら、aSynの分泌を増強する (Magalhães Jら、2018, 前出)。これらの結果は、脳由来細胞培養物へのプロムヘキシンの適用によって細胞内凝集傾向のあるタウのクリアランスが促進されるAD病理にもさらに拡張される (Chauhan Sら、Nat Commun 6: 8620, 2015)。総合すると、これらのデータは、アンプロキソールが、より低い自然分解能力を有する神経細胞などの細胞から毒性タンパク質凝集体を除去しながら、自然細胞分解能力を増加させることによって、AELNに有益な効果を発揮することを示している。

【0076】

アンプロキソールがヒトの健康に影響を及ぼすもう一つの重要な系は、免疫応答である。疫学および前臨床研究は、免疫応答を自然炎症応答から抗炎症／適応状態に誘導することが、複数の慢性疾患状態にとって有益である可能性を示している。例えば、多くの神経変性障害では、患者の血清および脳脊髄液の長期的サンプリングにより、インターロイキン1β、6、8、組織壊死因子αを含むサイトカインなどの炎症反応マーカーの進行性の増加、ならびに認知機能の喪失を反映するNLRP3関連インフラマソームの活性化が示されている (Henekaら、2015 The Lancet. Neurology, 14 (4), pp. 388–405; Wang, Liu and Zhou, 2015 Translational Neurodegeneration, 4, p. 19)。一致して、自然免疫調節機能を有する多くの遺伝子の変異体は、ADおよびPDのリスク増加に関連している (Hollingworthら、2011 Nature Genetics, 43 (5), pp. 429–435; Griciuc and Tanzi,

2021 Current Opinion in Neurology, 34 (2), pp. 228-236)。対照的に、インターフェロンガンマおよびインターロイキン12などの抗炎症および適応免疫のマーカーの上方調節は、高齢成人におけるADの発生率の低下と相関する(Yangら、2022 Alzheimer's & Dementia, 18 (4), pp. 645-653)。

【0077】

神経変性障害は、免疫系が長期の時間枠にわたって免疫攻撃の原因を軽減できない場合に生じる慢性炎症状態を象徴する。神経変性障害の場合、これらの免疫傷害は、主に脳の細胞によって産生される有毒な凝集タンパク質によって部分的に引き起こされていることがある。慢性炎症はまた、マイコプラズマ肺炎などの体内で持続する感染症および自己由来抗原による不適切な免疫活性化との関連で発生することもあり得る。

10

【0078】

炎症に関して、アンブロキシソールはまた、病原性と自己由来の脅威の両方に対する免疫応答を大きく再形成することも示されている。複数の器官系、特に脳(Jiangら、2020, BioMed Research International, 2020, p. e8131286)、肺(Takedaら、2016 Immune Network, 16 (3), pp. 165-175; Zhangら、2016; Kokaiら、2021 Microorganisms, 9 (4), p. 880)および腸(Schneiderら、2021 EMBO Molecular Medicine, 13 (1), p. e12724; Cavaluら、2022 The FASEB Journal, 36 (9), p. e22496)にわたる研究により、アンブロキシソールが、免疫応答の適応的側面を維持しながら、そのような脅威に対する炎症促進性応答を減少させるように作用することが確認されている。特に、アンブロキシソールは、インターロイキン1 β 、6、8、10および組織壊死因子- α (Bianchiら、1990 Agents and Action, 31 (3-4), pp. 275-279; Jiangら、2003, Pharmacology & Toxicology, 92 (4), pp. 173-179; Wangら、2011 Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi=Zhongguo Yingyong Shenglixue Zazhi=Chinese Journal of Applied Physiology, 27 (2), pp. 231-235)などの炎症促進性サイトカインの発現を減少させ、ならびにNF- κ Bなどのインフラマソーム活性化の上流の経路を減少させることが示されている(Cavaluら、2022, 前出)。この抑制は、少なくとも部分的には、フリーラジカルを除去するアンブロキシソールの能力によるものであり(Peroniら、2013 International Journal of Immunopathology and Pharmacology, 26 (4), pp. 883-887)、特定の炎症関連チャネルの直接的な遮断を伴うこともあり得る(上記のSchneiderら、2021)。

20

30

【0079】

非ステロイド系抗炎症薬などの非特異的免疫抑制剤とは異なり、アンブロキシソールは、抗炎症性および適応免疫系の態様を維持し、場合によっては増強する。これには、病原体およびオポアルブミン負荷に応答した肺組織における抗炎症性サイトカインであるインターロイキン10および12ならびに適応免疫関連インターフェロン γ の上方制御が含まれる(Takedaら、2016, 前出; Kokaiら、2021, 前出)。これらの免疫エフェクターは、慢性閉塞性肺障害などの慢性呼吸器疾患におけるアンブロキシソールの長期にわたる臨床的有用性を説明する可能性がある(Plomer and de Zeeuw, 2017 MMW Fortschritte der Medizin, 159 (Suppl 5), pp. 22-33)。さらに、それらは、潰瘍性大腸炎モデルにおける炎症の減少(Schneiderら、2021, 前出)および脳内出血モデルにおけるミクログリア活性化の減少(Jiangら、2020, 前出)の前臨床所見を説明することができる。

40

50

【0080】

上記の抗炎症効果は、アンプロキソールのオートファジーに対する影響に関連している可能性が高い。オートファジーは、免疫応答の調節において重要な役割を果たすことが注目されている。特に、TFEB機能の活性化は、NLRP3およびASCなどのインフラマソーム成分を含む炎症の重要なメディエーターの分解を促進する（Shiら、Nature Immunology, 13 (3), pp. 255-263 (2012); Deretic, Immunity, 54 (3), pp. 437-453 (2021)）。分解によってインフラマソームが不活性化されると、IL-1 β などの炎症促進性サイトカインの産生および放出の減少を含む炎症応答が弱まる。したがって、アンプロキソールの免疫調節機能は、オートファジーに対するその効果の下流にあると考えられる。

10

【0081】

最後に、アンプロキソールは強力な鎮痛特性を有する。機構的には、この効果は、侵害受容に関与する神経細胞によって優先的に発現されるNav1.7（Leffler, Reckzeh and Nau, 2010 European Journal of Pharmacology, 630 (1-3), pp. 19-28）および1.8（Weiser and Wilson, 2002 Molecular Pharmacology, 62 (3), pp. 433-438）を含む電位依存性ナトリウムチャネルを遮断するアンプロキソールの能力に起因する（Bennettら、2019 Physiological Reviews, 99 (2), pp. 1079-1151）。この機構は、急性咽頭痛に関連する中程度から重度の疼痛の処置としてのアンプロキソールの古典的な使用を少なくとも部分的に説明する（Fischerら、2002 Arzneimittel-Forschung, 52 (4), pp. 256-263）。さらに、神経障害性疼痛の処置のためのアンプロキソールの使用に対する関心が高まっている（Russoら、2022, 前出）。

20

【0082】

したがって、結論として、理論に拘束されることを望むものではないが、上記の観察結果は、アンプロキソールが、AELNの障害に関連する有毒な細胞内タンパク質、タンパク質断片、ミスフォールディングされたタンパク質、タンパク質凝集体または破片の分解および／または分泌を増加させ得ることを示していると考えられる。アンプロキソールはさらに、フリーラジカルの除去および炎症関連チャネルとの相互作用を通じて、免疫反応を炎症の少ない状態に調節する。最後に、アンプロキソールは、慢性疼痛を特徴とする疾患状態において上方制御されるチャネルを直接遮断する。

30

【0083】

関連一本発明のアンプロキソールおよび関連化合物（ブロムヘキシンおよびアンプロキソール塩酸塩などのアンプロキソールの薬学的に許容され得る塩を含む）、ならびに多重重水素化類似体などのアンプロキソール類似体は、オートファジー機能不全にもかかわらず、罹患細胞から有毒な凝集タンパク質（例えば、凝集した α Syn、ベータアミロイドおよびタウタンパク質）の分泌を可能にし、細胞小器官の健康を維持することによって、PD、ADおよびオートファジーの機能不全を伴う他の老化関連疾患などの神経疾患および状態の有効な処置としてかなりの可能性を提供する。

40

【0084】

場合によっては、アンプロキソール（または本発明の関連化合物もしくは多重重水素化類似体）を、例えば有毒な凝集タンパク質の予防および／または除去を意図した薬剤との併用療法で投与することが有利であり得る。

【0085】

したがって、本発明の別の態様では、対象におけるアルツハイマー病（AD）または病理学的タンパク質のミスフォールディング、凝集および沈着に関連する他の疾患（パーキンソン病（PD）、ハンチントン病（Huntington's disease）（HD）および前頭側頭変性症（FTD）を含む）の予防、症状の軽減および／または進行の安定化のための方法が提供され、前記方法は、有効量の本発明のアンプロキソール（また

50

はアンブロキシソール塩酸塩およびブロムヘキシンなどの関連化合物) または多重重水素化類似体を、1またはそれを超える適切な抗ベータアミロイド抗体またはその断片と組み合わせて対象に投与することを含む。

【0086】

このような併用療法は、例えば、ADに関連する凝集ベータアミロイドの除去において相乗効果を生み出す可能性がある。

【0087】

本発明のアンブロキシソール(または関連化合物)または多重重水素化類似体および抗ベータアミロイド抗体またはその断片は、例えば、同じ医薬組成物で、または別々の医薬組成物で投与されてよい。別々の医薬組成物で投与される場合、本発明のアンブロキシソール(または関連化合物)または多重重水素化類似体および抗ベータアミロイド抗体またはその断片は、同時にまたは逐次的に任意の順序で(例えば、数秒以内、数分以内、さらには数時間(例えば、2~48時間)以内に)投与され得る。

【0088】

抗ベータアミロイド抗体またはその断片は、当業者に公知のものから選択されてよい。適切な抗体には、バピネオズマブ(ファイザー社/ヤンセン・ファーマシューティカルズ社)、ソラネズマブ(イーライリリー・アンド・カンパニー)、ガンテルマブ(ホフマン・ラ・ロシュ)、クレネズマブ(ジェネンテック社)、ポネズマブ(ファイザー社)、BAN2401/レカナマブ(BioArctic Neuroscience, AB/エーザイ社/バイオジェン社)およびアデュカヌマブ(Aduhelm(商標)バイオジェン社)からなる群のヒトまたはヒト化抗A β モノクローナル抗体が含まれ得る(van Dyck CH., Biol Psychiatry 83(4):311-319, 2018も参照)。適切な抗体断片には、Sebollela A., J Neurochem 142(6):934-937, 2017およびZha Jら, Scientific Reports 6:36631, 2016に記載のscFv分子を含む、A β を標的とするFab断片およびscFv抗体などの断片が含まれ得る。

【0089】

いくつかの態様では、本方法は、ADまたは病理学的タンパク質のミスフォールディング、凝集および沈着に関連する他の疾患(パーキンソン病(PD)、ハンチントン病(Huntingdon's disease)(HD)および前頭側頭変性症(FTD)を含む)の予防、その症状の軽減、および/またはその進行の遅延のために操作されるべきである。したがって、本方法は、例えば、疾患または状態の発生、発症または進行、あるいは疾患または状態の1またはそれを超える症状または有害な特徴(例えば、A β タンパク質の毒性凝集)の発生、発症または進行を予防することができる。ベータアミロイドおよびタウの凝集は、アルツハイマー病の発症の初期に現れることが知られているので、本発明のアンブロキシソール(または関連化合物)または多重重水素化類似体を投与することによって達成され得るような、A β またはタウの毒性凝集体の予防および/または除去を意図した治療方法は、大きな可能性を提供する。

【0090】

変形例では、本発明は、ADまたは病理学的タンパク質のミスフォールディング、凝集および沈着に関連する他の疾患(パーキンソン病(PD)、ハンチントン病(Huntingdon's disease)(HD)および前頭側頭変性症(FTD)を含む)の予防、その症状の軽減、および/またはその進行の遅延のための方法であって、対象に有効量の本発明のアンブロキシソール(またはアンブロキシソール塩酸塩およびブロムヘキシンなどの関連化合物)または多重重水素化類似体を投与することを含む方法を提供し得る。すなわち、本発明のアンブロキシソールまたは関連化合物または多重重水素化類似体は、唯一の活性剤として使用することができる。

【0091】

ADまたは病理学的タンパク質のミスフォールディング、凝集および沈着に関連する他の疾患(パーキンソン病(PD)、ハンチントン病(Huntingdon's dis

10

20

30

40

50

e a s e) (H D) および前頭側頭変性症 (F T D) を含む) の予防、その症状の軽減、および／またはその進行の遅延のための方法のいくつかの実施形態では、対象は、A D または病理学的タンパク質のミスフォールディング、凝集および沈着に関連する他の疾患 (パーキンソン病 (P D)、ハンチントン病 (H u n t i n g d o n ' s d i s e a s e) (H D) および前頭側頭変性症 (F T D) を含む) のリスクのある患者または発症の初期段階にある患者を示す適切なバイオマーカーに基づいて選択されてよい。A D の場合、バイオマーカーは、A D の初期または前臨床段階で C S F および／または血液中に高いレベルで存在することが分かっている特定のリン酸化タウタンパク質 (p - t a u) であり得る (S u a r e z - C a l v e t M ら、E M B O M o l M e d 12 : e 12921, 2020)。したがって、一例では、本方法は、適切な試料 (例えば、C S F、全血または血漿の試料) 中の p - t a u 217 (すなわち、T h r - 217 残基でリン酸化されたタウ)、また、より好ましくは p - t a u 181 (すなわち、T h r - 181 残基でリン酸化されたタウ) のレベルの増加についてアッセイすることによって対象を選択することをさらに含み得る。これらのバイオマーカーは、A β 陽性と A β 陰性の認知障害のない対象を正確に区別することができ、さらに、p - t a u 181 バイオマーカーは、A D の前臨床段階では軽度であるが有意に増加することが示されている (S u a r e z - C a l v e t M ら、2020, 前出)。他の p - t a u t a u アイソフォーム、例えば p - t a u 231 (A s h t o n, N. J. ら、A c t a N e u r o p a t h o l 1-16 (2021) または p - t a u 235 (L a n t e r o - R o d r i g u e z, J. ら、E m b o M o l M e d 13, e15098 (2021)) も同様にアッセイすることができる。他の潜在的なバイオマーカーとしては、グルコース代謝、または陽電子放射断層撮影法 (P E T) によって測定されるベータアミロイドもしくはタウなどの凝集タンパク質が挙げられる (T h e r r i a u l t, J. ら、N a t A g i n g 1-10 (2022) d o i : 10.1038 / s 43587-022-00204-0. I a c c a r i n o, L., ら、" J o u r n a l o f A l z h e i m e r ' s D i s e a s e, 59, p p 603-614 (2017))。アミロイド沈着および神経線維層の菲薄化を含む網膜イメージングベースのバイオマーカーは、A D の早期診断にも使用することができ得る (S n y d e r, P. J. ら、A l z h e i m e r s D e m e n t. D i a g n. A s s e s s. D i s. M o n i t. 4, 169-178 (2016); K o r o n y o, Y. ら、J C I I n s i g h t 2, (2017))。

10

20

30

40

50

【0092】

A D または他のアミロイド症のリスクのある患者または発症の初期段階にある患者を示す他の適切なバイオマーカーとしては、例えば、A p o E 遺伝子の ϵ 4 対立遺伝子および／またはピログルタミン酸修飾アミロイド β タンパク質、N 3 p G が挙げられる。血漿 N F L (神経フィラメント軽鎖) は、多くの神経変性疾患で上昇する。それは特定の神経変性疾患に特異的なものではなく、代わりに疾患の活動性および重症度を反映する。例えば、それは、活動性の進行中の脱髄を有する多発性硬化症患者で上昇するが、患者が免疫抑制剤で処置されると低下する (B a r r o, C. & Z e t t e r b e r g, H. A c t a N e u r o l S c a n d (2021) d o i : 10.1111 / a n e.13415)。神経細胞タンパク質を有する血漿エキソソームも、パーキンソン病 (P a r k s i n o n ' s d i s e a s e)、アルツハイマー病、および頭部損傷を含むいくつかの神経変性疾患を診断するための有望なバイオマーカーであると思われる (R a s t o g i, S. ら、I n t J M o l S c i 22, 440 (2021))。

【0093】

A D または病理学的タンパク質のミスフォールディング、凝集および沈着に関連する他の疾患 (パーキンソン病 (P D)、ハンチントン病 (H u n t i n g d o n ' s d i s e a s e) (H D) および前頭側頭変性症 (F T D) を含む) の予防、その症状の軽減、および／またはその進行の遅延のための方法のいくつかの実施形態では、対象は、A D または病理学的タンパク質のミスフォールディング、凝集および沈着に関連する他の疾患 (パーキンソン病 (P D)、ハンチントン病 (H u n t i n g d o n ' s d i s e a s e) (H D) および前頭側頭変性症 (F T D) を含む) のリスクのある患者または発症の初期段階にある患者を示す適切なバイオマーカーに基づいて選択されてよい。A D の場合、バイオマーカーは、A D の初期または前臨床段階で C S F および／または血液中に高いレベルで存在することが分かっている特定のリン酸化タウタンパク質 (p - t a u) であり得る (S u a r e z - C a l v e t M ら、E M B O M o l M e d 12 : e 12921, 2020)。したがって、一例では、本方法は、適切な試料 (例えば、C S F、全血または血漿の試料) 中の p - t a u 217 (すなわち、T h r - 217 残基でリン酸化されたタウ)、また、より好ましくは p - t a u 181 (すなわち、T h r - 181 残基でリン酸化されたタウ) のレベルの増加についてアッセイすることによって対象を選択することをさらに含み得る。これらのバイオマーカーは、A β 陽性と A β 陰性の認知障害のない対象を正確に区別することができ、さらに、p - t a u 181 バイオマーカーは、A D の前臨床段階では軽度であるが有意に増加することが示されている (S u a r e z - C a l v e t M ら、2020, 前出)。他の p - t a u t a u アイソフォーム、例えば p - t a u 231 (A s h t o n, N. J. ら、A c t a N e u r o p a t h o l 1-16 (2021) または p - t a u 235 (L a n t e r o - R o d r i g u e z, J. ら、E m b o M o l M e d 13, e15098 (2021)) も同様にアッセイすることができる。他の潜在的なバイオマーカーとしては、グルコース代謝、または陽電子放射断層撮影法 (P E T) によって測定されるベータアミロイドもしくはタウなどの凝集タンパク質が挙げられる (T h e r r i a u l t, J. ら、N a t A g i n g 1-10 (2022) d o i : 10.1038 / s 43587-022-00204-0. I a c c a r i n o, L., ら、" J o u r n a l o f A l z h e i m e r ' s D i s e a s e, 59, p p 603-614 (2017))。アミロイド沈着および神経線維層の菲薄化を含む網膜イメージングベースのバイオマーカーは、A D の早期診断にも使用することができ得る (S n y d e r, P. J. ら、A l z h e i m e r s D e m e n t. D i a g n. A s s e s s. D i s. M o n i t. 4, 169-178 (2016); K o r o n y o, Y. ら、J C I I n s i g h t 2, (2017))。

)(H D)および前頭側頭変性症(F T D)を含む)のリスクのある患者を示す少なくとも1つの遺伝子または遺伝子座の遺伝子型決定に基づいて選択され得る。A Dの場合、遺伝子型決定は、アポリポタンパク質E(A p o E)をコードする遺伝子のものであり得る。A p o Eの ϵ 4対立遺伝子を保有する対象は、より一般的な ϵ 3対立遺伝子を保有する対象と比較してA Dのリスクが高いのに対して、 ϵ 2対立遺伝子はリスクを低下させる(L i u C - Cら、N a t R e v N e u r o l . 9 (2) : 1 0 6 - 1 1 8 , 2 0 1 3)。A p o E遺伝子型決定を行うための適切な方法論は当業者に公知であり、例えば、適切なP C Rプロトコルを含む(例えば、Z h o n g Lら、M o l N e u r o d e g e n e r . 1 1 : 2 , 2 0 1 6参照)。しかしながら、他の実施形態では、対象は、p - t a u 2 1 7、p - t a u 1 8 1および／またはN 3 p Gの遺伝子型決定に基づいて選択され得る。

10

【0094】

アルツハイマー病(A D)または病理学的タンパク質のミスフォールディング、凝集および沈着に関連する他の疾患(パーキンソン病(P D)、ハンチントン病(H u n t i n g d o n ' s d i s e a s e)(H D)および前頭側頭変性症(F T D)を含む)を予防および／または処置するための方法のいくつかの実施形態では、本発明のアンプロキソール(または関連化合物)または多重重水素化類似体は、

(i)例えば、2~50 μ M、2~25 μ Mまたは10~20 μ Mなど、1 μ Mよりも高い対象の血清中のピーク濃度を提供する投与量；

(i i)例えば、5~50 μ M、5~25 μ Mまたは10~20 μ Mなど、3 μ Mよりも高い対象の脳組織中のピーク濃度を提供する投与量；または

(i i i)約250mg~1000mg／日または750~1000mg／日の範囲内である投与量

20

から選択される、比較的高い一日投与量で対象に投与されることが好ましい場合がある；

なぜなら、そのような一日用量は、本発明のアンプロキソール(または関連化合物)または多重重水素化類似体が、罹患細胞からの有毒な凝集タンパク質(例えば、凝集A β)の分泌を上方制御することを可能にするために必要であり得るためである。

【0095】

医薬組成物

一態様では、本発明は、治療有効量の式Iの化合物(例えば、図1に示す化合物)または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグを、薬学的に許容され得る担体と共に含む、呼吸器疾患および状態、リソソーム蓄積症(L S D)、ならびに神経疾患および状態を含む、対象の様々な疾患および医学的状态を予防および／もしくは処置するため、または対象の平均余命を延長するための組成物を含む。例えば、式Iの化合物(または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ)を含む組成物は、(a)対象の老化を処置、抑制、または軽減する、(b)対象の加齢性症状または加齢性疾患を処置、抑制、または軽減する、および／または(c)対象の健康寿命、寿命および／もしくは精神的鋭敏性を高めるために使用され得る。

30

【0096】

式Iの化合物(または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ)は、薬学的に許容され得る担体と組み合わせて、医薬組成物の形態で投与されてよい。このような組成物において、式Iの化合物は、0.1~99.99重量パーセントを構成し得る。

40

【0097】

式Iの化合物は、好ましくは、選択された投与経路および標準的な薬学的実施に基づいて選択された薬学的に許容され得る担体と共に投与される。式Iの化合物は、薬学的調製物の分野における標準的な実施に従って剤形に製剤化することができる。A l p h o n s o G e n n a r o , e d . R e m i n g t o n ' s P h a r m a c e u t i c a l S c i e n c e s , 1 8 t h E d i t i o n (1 9 9 0) , M a c k P u b l i s h i n g C o . , E a s t o n , P aを参照されたい。適切な剤形は、例えば、錠剤、カプ

50

セル剤、液剤、非経口液剤、トローチ剤、坐剤または懸濁剤を含み得る。本発明の化合物に容易に適合させることができるアンプロキソール、ブロムヘキシンまたは他のアンプロキソール誘導体の経口、局所、坐剤および非経口製剤の調製の適切な例は、例えば、国際公開第2005/007146号の実施例1～8、またはその同等物である米国特許出願公開第2005/00148747号に開示されており、これは参照により本明細書に組み込まれる。

【0098】

別の態様では、本発明は、呼吸器疾患および状態、リソソーム蓄積症（LSD）、ならびに神経疾患および状態を含む、対象の様々な疾患および医学的状态を予防および／または処置するため、または対象の平均余命を延長するための薬物の調製における式Iの化合物の使用を提供する。

10

【0099】

非経口投与の場合、式Iの化合物は、水、油（特に植物油）、エタノール、食塩溶液、水性デキストロース（グルコース）および関連する糖溶液、グリセロール、またはプロピレングリコールもしくはポリエチレングリコールなどのグリコール、またはサプリメントとしての植物抽出物などの適切な担体または希釈剤と混合され得る。非経口投与用溶液は、活性剤の水溶性塩を含むことが好ましい。安定剤、抗酸化剤および防腐剤もまた添加されてよい。適切な抗酸化剤としては、亜硫酸塩、アスコルビン酸、クエン酸およびその塩、ならびにEDTAナトリウムが挙げられる。適切な防腐剤には、塩化ベンザルコニウム、メチルーまたはプロピルパラベン、およびクロルブタノールが含まれる。非経口投与用の組成物は、水溶液もしくは非水溶液、分散物、懸濁物またはエマルジョンの形態をとることができる。

20

【0100】

経口投与の場合、式Iの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）は、錠剤、カプセル剤、丸剤、散剤、顆粒剤または他の適切な経口剤形の調製のための1またはそれを超える固体不活性成分と組み合わせることができる。例えば、式Iの化合物は、充填剤、結合剤、保水剤、崩壊剤、溶解遅延剤、吸収促進剤、湿潤剤、吸収剤または滑沢剤などの少なくとも1つの賦形剤と組み合わせることができる。錠剤の一実施形態によれば、式Iの化合物は、カルボキシメチルセルロースカルシウム、ステアリン酸マグネシウム、マンニトールおよびデンプンと組み合わせられ、その後、従来の打錠法によって錠剤に形成され得る。

30

【0101】

経口投与の場合、式Iの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）は、液体経口医薬組成物で提供され得る。液体経口剤形は、錠剤およびカプセル剤などの固体剤形に比べて特有の利点を提供することができる。例えば、多くの場合、特定の疾患または状態を処置するのに必要な活性成分の量は、1日に1回またはそれを超える回数、複数の錠剤またはカプセルを必要とする。複数の錠剤またはカプセルの摂取には、有効薬学的成分だけでなく、錠剤およびカプセルの製剤化に使用される複数回用量の賦形剤も含まれる。このような賦形剤、例えば油およびアルコールは、一般的に多くの患者が十分に耐容性を示さず、一般的に胃部不快感を引き起こす。さらに、液体経口剤形は、有効薬学的成分の送達に1日にたった1回または2回の投与で達成されるので、固体剤形よりも患者が遵守しやすい。さらに、液体経口剤形は、胃腸管からの有効薬学的成分の迅速な吸収を提供する。さらに、液体経口剤形は、矯味矯臭剤および／または嗜好剤（palatability agent）の使用が可能であり、患者の受容性およびコンプライアンスをさらに促進する。

40

【0102】

したがって、いくつかの好ましい実施形態では、本発明の組成物は液体経口医薬組成物である。そのような組成物は、ゴーシェ病などのリソソーム蓄積症（LSD）、またはPDなどの神経疾患もしくは状態を予防および／または処置するのに特に適し得る。いくつかの実施形態では、組成物は、有効量を小体積（例えば、15 mL用量、1日2回またはそ

50

れを超える回数)で送達するために、「高負荷 (high loading)」の式 I の化合物 (または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ) を含む。本発明による高薬物負荷液体経口医薬組成物は、以下の利点の少なくとも 1 つを提供し得る。(1) 胃腸管内の吸着の改善; (2) 24 時間にわたる有効血中濃度の維持; (3) 固体剤形と比較して、賦形剤の望ましくない副作用の軽減; (4) 必要な用量の数の減少; (5) 味および口当たりの改善。

【0103】

本発明の高薬物負荷液体経口医薬組成物の特定の一実施形態では、組成物は、(i) 式 I の化合物 (または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ); および (ii) 少なくとも 1 つの薬学的に許容され得る賦形剤を含み、該式 I の化合物 (または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ) は、約 60 ~ 約 97 重量パーセントの有効薬学成分と、約 3 ~ 約 40 重量パーセントの賦形剤とを含む顆粒コアを有する顆粒の形態であり、該重量%は、顆粒コアの総重量に基づく。

10

【0104】

本発明の高薬物負荷液体経口医薬組成物のもう一つの実施形態では、組成物は、(i) 式 I の化合物 (または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ); (ii) 少なくとも 1 つの薬学的に許容され得る賦形剤; および (iii) 希釈剤を含み、該式 I の化合物 (または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ) は、約 60 ~ 約 97 重量パーセントの有効薬学成分と、約 3 ~ 約 40 重量パーセントの賦形剤とを含む顆粒コアを有する顆粒の形態であり、該重量パーセントは、顆粒コアの総重量に基づく; 該顆粒コアは、(iv) 約 0.5 ~ 約 5 % の重量増加をもたらす量の水溶性シールコーティング、および (v) 約 0.5 ~ 約 50 % の重量増加をもたらす量の腸溶コーティングでコーティングされている。

20

【0105】

そのような高薬物負荷液体経口医薬組成物は、例えば: (a) 約 60 ~ 約 97 重量パーセントの式 I の化合物 (または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ) および約 3 ~ 約 40 重量パーセントの少なくとも 1 つの薬学的に許容され得る賦形剤を含む顆粒コアを有する顆粒を調製するステップであって、該重量パーセントが顆粒コアの総重量に基づいているステップ; (b) 約 0.5 ~ 約 5 % の重量増加をもたらす量の水溶性シールコーティングで顆粒をコーティングするステップと; (c) 約 0.5 ~ 約 50 % の重量増加をもたらす量の腸溶コーティングで、ステップ (b) で調製した顆粒をコーティングするステップ; および (d) ステップ (c) で調製された腸溶コーティングされた顆粒を含む液体懸濁物および液体懸濁物製剤を調製するステップであって、該液体懸濁物製剤が、懸濁化剤、高薬物負荷液体経口医薬組成物の安定性を向上させるためのビヒクル、および希釈剤を含むステップを含む方法によって調製されてよい。

30

【0106】

式 I の化合物 (または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ) は、好ましくは、微粒子化後、約 100 ミクロン ~ 約 500 ミクロン、より好ましくは、約 100 ~ 約 300 ミクロン、約 150 ~ 約 350 ミクロン、約 200 ~ 約 350 ミクロンの粒径を有する顆粒の形態であることが好ましく、さらにより好ましくは、粒径は、約 100 ~ 約 200 ミクロン、約 150 ~ 約 250 ミクロン、約 200 ~ 約 300 ミクロン、約 200 ~ 約 400 ミクロン、約 250 ~ 約 350 ミクロン、約 250 ~ 約 450 ミクロン、約 300 ~ 約 400 ミクロン、約 300 ~ 約 500 ミクロン、約 350 ~ 約 450 ミクロン、および/または約 400 ~ 約 500 ミクロンの大きさである。これらの範囲内の粒径は、コーティング可能であり、使用者に嘔むように促すことなく飲み込みやすさを提供することが見出されている。例えば、好ましい実施形態では、約 250 ~ 約 350 ミクロンの粒径が、コーティングする能力とざらざらした「口あたり」を回避する能力とのバランスをとることが見出されている。粒径は、例えば Hydro S 分散ユニットを備えた Malvern Mastersizer Apparatus MS 2000 を使用して、レーザー光散乱によって測定することができる。例えば、式 I の化合物の微粒子

40

50

化は、カッティングミル、ピン／ケージミル、ハンマーミル、ジェットミル、流動床ジェットミルおよびボールミルなどの乾式ミルを使用して乾燥状態で実施することができる。

【0107】

顆粒コアを調製するために使用され得る好ましい賦形剤は結合剤である。結合剤は、任意の水溶性の薬学的に許容され得るポリマーであってよい。一実施形態では、式Iの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）は粉末の形態であり、ほとんどの粉末の凝集特性が低いために、結合剤が必然的に一緒に結合する。好ましくは、結合剤は、ポビドン（ポリビニルピロリドン）、コポビドン（ビニルピロリドン-酢酸ビニル共重合体）、微結晶性セルロース、粉末セルロース、結晶性セルロース、シリコン処理微結晶性セルロース、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、ヒドロキシプロピルセルロースおよびヒドロキシプロピルメチルセルロースなどのセルロース誘導体、デンプン、アルファ化デンプン、ポリメタクリレート、圧縮糖、スクロースおよびマンニトール、ソルビトール、マルチトールおよびキシリトールなどの糖アルコールならびにそれらの混合物から選択される。より好ましくは、結合剤はヒドロキシプロピルセルロース（K l u c e l L F）である。

10

【0108】

高負荷液体経口医薬組成物に使用される顆粒は、好ましくは、約60～約97重量パーセント（好ましくは約75～約97重量パーセント、より好ましくは約90重量パーセント超～97重量パーセント、および約3～約40重量パーセントの結合剤、好ましくは約3～約25重量パーセント、より好ましくは約3～約10重量パーセント）の式Iの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）を含む顆粒コアを調製することを含む直接球形化によって調製され、該重量パーセントは、顆粒コアの総重量に基づく。造粒は、高剪断下（ミキサー造粒）または流動床（流動床造粒）で行うことができる。

20

【0109】

顆粒コアは、必要に応じて、約0.5～約5%の重量増加をもたらす量の水溶性シールコーティング、より好ましくは約0.5～約3%の重量増加、さらにより好ましくは約0.5～約2%の重量増加、さらにより好ましくは約0.5～約1%の重量増加、さらにより好ましくは約1～約2%の重量増加、さらにより好ましくは約1～約3%の重量増加、さらにより好ましくは約1～約4%の重量増加、より好ましくは約2～約3%の重量増加、さらにより好ましくは約2～約4%の重量増加、より好ましくは約1%の重量増加、より好ましくは約2%の重量増加、より好ましくは約3%の重量増加、および／またはより好ましくは約4%の重量増加をもたらす量の水溶性シールコーティングでシールコーティングされる。水溶性シールコーティングを適用することにより、腸溶コーティングをより受容しやすい滑らかで均一な顆粒が生成されることが見出されている。好ましい水溶性ポリマーとしては、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）、カルボキシメチルセルロース（ナトリウム塩およびカルシウム塩）、エチルセルロース、メチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、エチルヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース（HPC）、L-HPC（低置換HPC）、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、アクリル酸およびその塩のポリマー、ビニルピロリドン-酢酸ビニル共重合体（例えば、K o l l i d o n（登録商標）VA64, BASF）、ゼラチン、グアーガム、部分加水分解デンプン、アルギネートおよびキサンタンが挙げられる。最も好ましくは、水溶性ポリマーはヒドロキシプロピルメチルセルロースである。シールコーティングは、好ましくは、W u r s t e r カラムを備えたボトムスプレー流動床コーターによって適用される。

30

40

【0110】

シールコーティングに加えて、またはシールコーティングの非存在下で、顆粒コアは、必要に応じて、顆粒コア上に直接に、または顆粒コアに以前に適用されたシールコーティング上に、腸溶コーティングでコーティングされてもよい。好ましくは、腸溶コーティングは、顆粒コアの総重量に基づいて、約0.5～約50%の重量増加、約1～約40%の

50

重量増加、約2～約30%の重量増加、約3～約20%の重量増加、または約4～約10%の重量増加をもたらす量で適用される。より好ましくは、腸溶コーティングは、顆粒コアの総重量に基づいて、約0.5～約5%の重量増加、約1～約4%の重量増加、または約2～約3%の重量増加をもたらす量で適用される。腸溶コーティングは、好ましくは、Wursterカラムを備えたボトムスプレー流動床コーターによって適用される。

【0111】

腸溶コーティングは、アクリレートポリマーまたは水性セルロース分散物から選択されるポリマーを含む。アクリレートポリマーおよび／または水性セルロース分散物の組み合わせも使用することができる。好ましくは、アクリレートポリマーは、ポリメタクリレートメチルメタクリレート共重合体（Eudragit（登録商標）L100）、ポリエチルアクリレートメチルメタクリレートトリメチルアンモニオエチルメタクリレートクロリド共重合体（オイドラギットRL100、RS100）、ポリメタクリレートエチルアクリレート共重合体（Eudragit（登録商標）L30D-55）、エチルアクリレートメチルメタクリレートトリメチルアンモニオエチルメタクリレートクロリド共重合体（Eudragit（登録商標）RL30D）、エチルアクリレートメチルメタクリレートトリメチルアンモニオエチルメタクリレートクロリド共重合体（Eudragit（登録商標）RS30D）、およびポリエチルアクリレートメチルメタクリレート共重合体（Eudragit（登録商標）NE30D）から選択される。より好ましくは、アクリレートポリマーは、ポリメタクリレートエチルアクリレート共重合体（Eudragit（登録商標）L30D-55）である。腸溶コーティングは、好ましくは、Wursterカラムを備えたボトムスプレー流動床コーターによって適用されてよい。腸溶コーティングは、pHが約4.5～約6.5の間である対象の消化管の領域への有効薬学的成分の送達を増加させ得る。腸溶コーティングはまた、式Iの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）の近位小腸もしくは小腸中間部またはその両方への送達も増加させる。さらに、腸溶コーティングは、式Iの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）の、十二指腸、空腸、または回腸中間部のうちの1つまたはそれより多くへの送達を増加させ得る。好ましくは、腸溶コーティングは、約4.5～約5.5のpHで水溶液に溶解し始める。

【0112】

高薬物負荷液体経口医薬組成物の安定性を高めるビヒクルは、好ましくは保護コロイドであり得る。

【0113】

本発明の高負荷液体経口医薬組成物は、可塑剤をさらに含有してもよい。好ましい可塑剤は、フタル酸ジエチル、フタル酸ジブチル、クエン酸トリエチルおよびグリセロールである。可塑剤の組み合わせも使用することができる。より好ましくは、可塑剤はクエン酸トリエチルである。

【0114】

一実施形態では、高負荷液体経口医薬組成物は溶液の形態である。別の実施形態では、高負荷液体経口医薬組成物は懸濁物の形態である。懸濁物を形成するため、腸溶コーティング顆粒は液体懸濁物製剤と組み合わせることができる。液体懸濁物製剤は、懸濁化剤、高薬物負荷液体経口医薬組成物の安定性を向上させるためのビヒクル、および希釈剤を含み得る。多くの懸濁化剤は安定性向上剤としても機能するため、懸濁化剤と高薬物負荷液体経口医薬組成物の安定性を向上させるビヒクルとは同じであっても異なってもよい。

【0115】

懸濁化剤の例としては、限定されるものではないが、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、トラガカントゴム、およびモノステアリン酸グリセロールが挙げられる。より好ましくは、液体経口医薬組成物の安定性を高めるビヒクルは、保護コロイドである。保護コロイドの例としては、限定されるものではないが、ヒドロキシメチルセルロース、カ

10

20

30

40

50

ルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリビニルアルコール、ゼラチン、およびポリビニルピロリドンが挙げられる。保護コロイドの組み合わせも使用されてよい。好ましい保護コロイドは、セルロースガム、キサンタンガム、およびカラギーナンの混合物である。希釈剤の例としては、限定されるものではないが、水、アルコール（例えば、メチルアルコール、エチルアルコール、プロピルアルコール、i-プロピルアルコールなど）、アセトン、グリセリン、油（例えば、ヒマシ油）、任意の他の薬学的に許容され得る希釈剤またはそれらの混合物が挙げられる。最も好ましくは、懸濁物または溶液希釈剤として水が使用される。さらに、pH調整剤および／または抗酸化剤も使用することができる。

【0116】

本発明の液体懸濁物製剤のいくつかの特定の実施形態では、製剤は、微結晶性セルロースおよびカルボキシメチルセルロースナトリウム（Avicel RC-591）、ガム（CP Kelco）、および水；あるいは、微結晶性セルロースおよびカルボキシメチルセルロースナトリウム（Avicel RC-591）、セルロースガム、キサンタンガム、およびカラギーナン（Ticaloid Ultrasmooth）、および水を含む。

【0117】

好ましい実施形態によれば、液体懸濁物製剤は、約0.5%～約3%の少なくとも1つの懸濁化剤；約0.5%～約1%の少なくとも1つの保護コロイド；および約98%の希釈剤を含み、該重量パーセント値は、液体懸濁物製剤の重量に基づく。より好ましくは、保護コロイドは、約0.1～0.5重量パーセントの量で使用される。いくつかの特定の実施形態では、液体懸濁物製剤は、約1.5%の少なくとも1つの懸濁化剤；約0.2%の少なくとも1つの保護コロイド；および約98%の希釈剤を含む。

【0118】

好ましくは、懸濁物形態の高薬物負荷液体経口医薬組成物は、約5 Pa・s未満の粘度を有する。より好ましくは、懸濁物形態の高薬物負荷液体経口医薬組成物は、約3 Pa・s未満、最も好ましくは約1 Pa・s未満の粘度を有する。

【0119】

いくつかの実施形態では、高薬物負荷液体経口医薬組成物は、ゴーシェ病（1型、2型および3型ゴーシェ病を含む）、ポンベ病（乳児型および遅発型を含む）およびファブリー病から選択されるリソソーム蓄積症を予防および／または処置するため、またはPDを予防および／または処置する（例えば、症状を緩和する）ために使用される。高薬物負荷液体経口医薬組成物で予防および／または処置することができる他のリソソーム蓄積症には、GM1-ガングリオシドーシス、テイ・サックス病、サンドホフ病、ニーマン・ピック病、クラッペ病、ファーバー病、異染性白質ジストロフィー、ハーラー・シャイ病、ハンター病、サンフィリップ病A、サンフィリップ病B、サンフィリップ病C、サンフィリップ病D、モルキオ病A、モルキオ病B、マロトー・ラミー病、スライ病αマンノシドーシスβマンノシドーシス、フコース蓄積症、シアリドーシスおよびシンドラー・神崎病が含まれる。

【0120】

いくつかのより特定の実施形態では、高薬物負荷液体経口医薬組成物は、1型、2型および3型ゴーシェ病から選択されるリソソーム病を予防および／または処置するために使用される。いくつかのさらなる特定の実施形態では、高薬物負荷液体経口医薬組成物は、グルコセレブロシダーゼ（GCase）に変異を有する対象（例えば、βグルコセレブロシダーゼにおける変異であり、対象はゴーシェ病および／またはパーキンソン病のいずれかを有する可能性もある）を予防および／または処置するために使用される。βグルコセレブロシダーゼの変異は、以下から選択され得る。

a. 以下のいずれか1つの位置での点変異：D140H、V15L、G46E、K79N、R119Q、P122S、R131L、K157Q、N188S、Y212H、F213I、F216V、F216Y、H225Q、F251L、R257E、P289L、A309V、H311R、W312C、Y323I、G325R、E326K、C342

10

20

30

40

50

G、R 3 5 3 G、R 3 5 9 X（終結）、S 3 6 4 T、N 3 7 0 S、L 3 7 1 V、G 3 7 7 S、V 3 9 4 L、V 3 9 8 F、P 4 0 1 L、D 4 0 9 H、D 4 0 9 V、P 4 1 5 R、L 4 4 4 P、A 4 5 6 P、V 4 6 0 V、R 4 6 3 C、G 4 7 8 SまたはR 4 9 6 Hおよび／またはそれらの任意の組み合わせ；

b．L 4 4 4 Pでの点変異；

c．N 3 7 0 Sでの点変異；

d．E 3 2 6 Kでの点変異；

e．L 4 4 4 P、A 4 5 6 P、およびV 4 6 0 Vでの点変異；

f．D 1 4 0 HおよびE 3 2 6 Kでの点変異；

g．H 2 5 5 QおよびD 4 0 9 Hでの点変異；

h．8 4 G Gでのグアニン挿入；

i．イントロン2でのスプライス部位変異（I V S 2 D S + l G - A）、結果としてエクソン2がスキップされる；

j．G C a s e 遺伝子内の1 b pの欠失（ゲノム配列の1 0 2 3 d e l C）、

k．G C a s e 遺伝子内の5 5 b pの欠失（ゲノムDNA中のヌクレオチド5 8 7 9 ~ 5 9 3 3）；

l．ホモ接合性2 5 9 C - Tトランジション（ゲノムDNA中の1 7 6 3）；

m．G C a s e 遺伝子内のホモ接合性1 b p欠失、結果としてフレームシフトが起こり、エクソン6のタンパク質が早期切断される；および

n．G C a s e 遺伝子のイントロン10のスプライス部位の最初の位置でのGからAへの置換、結果としてI V S l 0の最初の1 1塩基対が挿入され、エクソン11の最初の1 1塩基対が欠失する。

【0 1 2 1】

いくつかの実施形態では、高薬物負荷経口液体医薬組成物は、酵素補充療法（例えば、併用療法）を受けている対象にも投与することができる。そのような酵素補充療法の例としては、限定されるものではないが、組換えグルコセレブロシダーゼ、例えばイミグルセラーゼ、ベラグルセラーゼ、タリグルセラーゼアルファ（E L E L Y S O（登録商標））および／またはエリグルスタット（C E R D E L G A（登録商標））が挙げられる。高薬物負荷経口液体医薬組成物は、酵素補充療法と同時に、逐次的に、または異なる時間に投与することができる。

【0 1 2 2】

いくつかの実施形態では、高薬物負荷経口液体医薬組成物は、ミスフォールディングされた、および／または誤って輸送されたグルコセレブロシダーゼを有する対象を処置するための、アンブロキシソールの多重重水素化類似体またはブロムヘキシンの多重重水素化類似体または薬学的に許容され得るその塩を含む。さらなる実施形態では、高薬物負荷経口液体医薬組成物は、対象のリソソーム蓄積症を処置または予防するためのアンブロキシソールの多重重水素化類似体またはブロムヘキシンの多重重水素化類似体または薬学的に許容され得るその塩を含む。なおさらなる実施形態では、高薬物負荷経口液体医薬組成物は、グルコセレブロシダーゼに変異を有する対象を処置するためのアンブロキシソールの多重重水素化類似体またはブロムヘキシンの多重重水素化類似体または薬学的に許容され得るその塩を含む。なおさらなる実施形態では、高薬物負荷経口液体医薬組成物は、β-グルコセレブロシダーゼに変異を有する対象を処置するためのアンブロキシソールの多重重水素化類似体またはブロムヘキシンの多重重水素化類似体または薬学的に許容され得るその塩を含む。また、いくつかの好ましい実施形態では、β-グルコセレブロシダーゼの変異は、N 3 7 0 S、L 4 4 4 P、および／またはE 3 2 6 Kから選択される。さらなる実施形態では、高薬物負荷経口液体医薬組成物は、ゴーシェ病に罹患している対象を処置するためのアンブロキシソールの多重重水素化類似体またはブロムヘキシンの多重重水素化類似体または薬学的に許容され得るその塩を含む。さらなる実施形態では、高薬物負荷経口液体医薬組成物は、PDに罹患している対象を処置するためのアンブロキシソールの多重重水素化類似体またはブロムヘキシンの多重重水素化類似体または薬学的に許容され得るその塩を

含む。

【0123】

本発明の医薬組成物はまた、単位剤形で製剤化することができ、それぞれの投与量は、単位用量当たり約50～約1000mg、より典型的には約250～約500mgの式Ⅰの化合物を含有する。「単位剤形」という用語は、ヒト対象および他の哺乳動物のための単位投与量として適切な、物理的に別個の単位を指し、それぞれの単位は、適切な薬学的に許容され得る担体と関連して、所望の治療効果を生じるように計算された所定量の式Ⅰの化合物を含有する。

【0124】

さらに好ましい実施形態では、式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）は、所与の期間にわたる数回の用量、例えば1週間またはそれを超える期間、一日用量として投与される。例えば、約20～500mg/日、50～150mg/日、50～200mg/日、50～250mg/日、250～500mg/日、または250mg～1000mg/日の一日投与量が利用され得る。場合によってはこれらの範囲外の投与量を使用することが必要であり得るため、より高い用量またはより低い用量も企図される。一日投与量は、一日の投薬あたりそれを2～4回に等分するなど、分割してもよい。

10

【0125】

本発明の医薬組成物はまた、例えば、所望の放出プロファイルを提供するために様々な割合のヒドロキシプロピルメチルセルロース、他のポリマーマトリックス、ゲル、透過性膜、浸透系、多層コーティング、微粒子、リポソームおよび／またはミクロスフェアを使用して、その中の活性成分の緩徐放出または制御放出を提供するように製剤化することもできる。

20

【0126】

一般に、制御放出調製物は、所望の期間にわたって一定の薬理活性を維持するために必要な速度で活性成分を放出することができる医薬組成物である。このような剤形は、所定の期間にわたって身体に薬物を供給するため、従来の非制御製剤よりも長期間にわたって薬物レベルを治療域に維持する。

【0127】

米国特許第5,674,533号には、強力な末梢鎮咳剤であるモグイスティンを投与するための液体剤形の制御放出医薬組成物が開示されている。米国特許第5,059,595号には、器質性精神障害の治療のための胃耐性錠剤の使用による活性薬剤の制御放出が記載されている。米国特許第5,591,767号には、強力な鎮痛特性を有する非ステロイド性抗炎症剤であるケトロラックの制御投与のための液体リザーバー経皮パッチが記載されている。米国特許第5,120,548号には、膨潤性ポリマーからなる制御放出薬物送達デバイスが開示されている。米国特許第5,073,543号には、ガングリオシドーリポソームビヒクルによって捕捉された栄養因子を含有する制御放出製剤が記載されている。米国特許第5,639,476号には、疎水性アクリルポリマーの水性分散物に由来するコーティングを有する安定な固体制御放出配合物が開示されている。生分解性微粒子は、制御放出製剤に使用されることが知られている。米国特許第5,354,566号には、活性成分を含有する制御放出粉末が開示されている。米国特許第5,733,566号には、抗寄生虫組成物を放出するポリマー微粒子の使用が記載されている。これらの技術のいずれかまたは全ては、式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）の制御放出に適合させることができる。

30

40

【0128】

式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）の制御放出はまた、様々な誘導因子、例えばpH、温度、酵素、水、または他の生理的条件もしくは化合物によっても刺激され得る。薬物放出の機構は様々である。例えば、一実施形態では、放出制御成分は膨潤し、患者への投与後に活性成分を放出するのに十分な大きさの多孔開口部を形成することができる。本発明の文脈における「制御放出成分」とい

50

う用語は、本明細書において、医薬組成物中の式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）の制御放出を促進する1つまたは複数の化合物、例えばポリマー、ポリマーマトリックス、ゲル、透過性膜、リポソームおよび／またはミクロスフェアと定義される。別の実施形態では、制御放出成分は生分解性であり、体内の水性環境、pH、温度、または酵素への曝露によって誘導される。別の実施形態では、活性成分が室温で固体であるゾルゲルマトリックスに組み込まれているゾルゲルを使用することができる。このマトリックスは、ゾルゲルマトリックスのゲル形成を誘導するのに十分高い体温を有する対象、好ましくはヒトまたは他の哺乳動物に移植され、それによって活性成分が対象に放出される。

【0129】

鼻腔内投与または吸入による投与に適した本発明の化合物を含む組成物が特に興味深い。したがって、式Ⅰの化合物は、鼻腔内または吸入による投与用に、典型的には、乾燥粉末吸入器からの乾燥粉末の形態で（単独で、混合物として、例えば、無水もしくは一水和物の形態、好ましくは一水和物のラクトース、マンニトール、デキストラン、グルコース、マルトース、ソルビトール、キシリトール、フルクトース、スクロースまたはトレハロースとの乾燥ブレンドで、または、例えばリン脂質と混合した構成成分粒子の混合物として）、あるいは、ジクロロフルオロメタンなどの適切な噴霧体を使用してまたは使用せずに、加圧容器、ポンプ、スプレー、噴霧器（好ましくは電気流体力学を使用して微細ミストを生成する噴霧器）、またはnebulaeからのエアゾールスプレーとして製剤化することができる。

【0130】

加圧容器、ポンプ、スプレー、噴霧器、またはnebulaeは、例えば、エタノール（必要に応じて、水性エタノール）または化合物を分散させる、可溶化するまたはその放出を延長させるのに適した代替作用物質、溶媒として1または複数の噴霧体および必要に応じて界面活性剤、例えばソルビタントリオレートまたはオリゴ乳酸などを含む、式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）の溶液または懸濁物を含有する。

【0131】

乾燥粉末または懸濁物製剤で使用する前に、式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）は、吸入による送達に適したサイズ（典型的には5ミクロン未満）に微粉化される。これは、スパイラルジェットミリング、流動床ジェットミリング、ナノ粒子を形成するための超臨界流体処理、高圧均質化、または噴霧乾燥などの任意の好適な粉碎方法によって達成され得る。

【0132】

電気流体力学を使用して微細ミストを生成する噴霧器で使用するための式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）の適切な溶液製剤は、作動当たり1μg～20mgの化合物を含有し得、作動体積は1μL～100μLで変化し得る。典型的な製剤は、式Ⅰの化合物、プロピレングリコール、滅菌水、エタノールおよび塩化ナトリウムを含み得る。プロピレングリコールの代わりに使用され得る代替溶媒としては、グリセロールおよびポリエチレングリコールが挙げられる。吸入器または注入器で使用するためのカプセル、プリスターおよびカートリッジ（例えば、ゼラチンまたはHPMC製）は、式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）と、ラクトースまたはデンプンなどの適切な粉末基剤と、L-ロイシン、マンニトール、またはステアリン酸マグネシウムなどの性能調整剤との粉末混合物を含有するように製剤化することができる。

【0133】

式Ⅰの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）の吸入／鼻腔内投与のための製剤は、即時放出および／または放出調節されるように製剤化することができる。放出調節製剤には、遅延放出製剤、持続放出製剤、パルス放出製剤、制御二重放出製剤、標的化放出製剤およびプログラム放出製剤が含まれる。持続放出ま

10

20

30

40

50

たは制御放出は、例えば、ポリ（D，L-乳酸-ε-グリコール酸）を使用することによって得ることができる。

【0134】

本発明の化合物の投与

いくつかの好ましい実施形態では、本発明の化合物は患者に経口投与される。しかしながら、化合物は、直腸投与、肺投与、舌下投与および非経口投与を含む任意の経路によって投与することができる。非経口投与には、例えば、静脈内投与、筋肉内投与、動脈内投与、腹腔内投与、鼻腔内投与、膣内投与、膀胱内投与（例えば、膀胱への投与）、皮内投与、経皮投与、局所投与または皮下投与が含まれる。

【0135】

投薬間隔は、週1回、週2回、隔日、1日1回、典型的には1日1回、2回、3回または4回であってよく、薬物が常時存在しているようにするために、用量は昼夜を通じて等間隔で投与される。しかしながら、当業者は、処置スケジュールが任意の所与の対象に対して最適化することができ、式Iの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）の投与が1日1回よりも少ない頻度で起こり得ることを認識するであろう。処置は、必要とされる長さの期間にわたって行ってもよい。

【0136】

対象において治療上有益な応答を誘発するために必要とされる式Iの化合物（または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ）の具体的な用量は、当然、対象の大きさ、体重、年齢および性別、ならびに化合物の投与経路をはじめとする個々の対象の特定の状況によって決定される。

【0137】

例えば、約20～500mg/日、50～150mg/日、50～200mg/日、50～250mg/日、250～500mg/日、または250mg～1000mg/日の一日投与量が利用され得る。しかしながら、場合によってはこれらの範囲外の投与量を使用する必要があるため、より高いまたはより低い用量も企図される。一日投与量は、一日の投薬あたりそれを2～4回に等分するなど、分割してもよい。さらに、対象の健康寿命、寿命および/または精神的鋭敏性の増加および/または改善を誘導する方法において必要とされ得るような長期投与の場合には、化合物は、好ましくは、およそ50mg/日、75mg/日、100mg/日、150mg/日、200mg/日、250mg/日、300mg/日、350mg/日、400mg/日、450mg/日、500mg/日、550mg/日、600mg/日、650mg/日、700mg/日、750mg/日、800mg/日、850mg/日、900mg/日、950mg/日、1000mg/日、1050mg/日、1100mg/日、1150mg/日、1200mg/日、1250mg/日、1300mg/日、1350mg/日の用量で、または50～150mg/日、50～200mg/日、50～250mg/日、250～500mg/日、250mg～1000mg/日、または1000mg～1500mg/日または1000mg/日未満の用量で、あるいは、およそ1mg/kg/日、2mg/kg/日、3mg/kg/日、4mg/kg/日、5mg/kg/日、6mg/kg/日、7mg/kg/日、8mg/kg/日、9mg/kg/日、10mg/kg/日、11mg/kg/日、12mg/kg/日、および/または4～12mg/kg/日の用量で投与されてよい。

【0138】

本発明はまた、本発明の医薬組成物の成分のうちの1またはそれより多くで充填された1またはそれを超える容器を含む医薬パックまたはキットを提供する。必要に応じて、このような容器には、医薬品または生物学的製品の製造、使用または販売を規制する政府機関によって規定された形式の通知が関連付けられ、この通知は、ヒト投与のための製造、使用または販売の機関による承認を反映する。

【0139】

さらなる説明がなくても、当業者は、前述の説明および以下の例示的な実施例を使用して、式Iの化合物（例えば、図1に示す化合物）または薬学的に許容され得るその塩、溶

10

20

30

40

50

媒和物もしくはプロドラッグを容易に作製および利用し、本発明の方法を実施することができると考えられる。以下の実施例は、本発明の好ましい実施形態をいくつか指摘するが、決して本開示を限定するものとして解釈されるべきではない。さらに、本明細書では実施形態を参照して本発明を説明したが、このような実施形態および本明細書で提供される実施例は、本発明の原理および用途の単なる例示であることを理解されたい。したがって、例示的な実施形態および実施例には多数の変更を加えることができ、例えば以下の特許請求の範囲によって定義される本発明の精神および範囲から逸脱することなく他の構成を考案することができることを理解されたい。本明細書で引用される全ての特許出願、特許、文献および参考文献は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【実施例】

10

【0140】

実施例

以下の実施例を参照して本発明をさらに説明する。以下の内容は単なる例であり、本発明の範囲内でありながら細部に変更が加えられることがあることは理解されよう。

【0141】

実施例1：化合物の合成および代謝アッセイ

多重重水素化化合物2、4および5（図1に示す）は、Latli Bら、J Label Compd Radiopharm 53:15-23, 2010に記載されている1またはそれを超える合成スキームを適合させることによって合成することができる。例えば、化合物2は、2-アミノ-3,5-ジブロモベンズアルデヒドを2-アミノ-3,5-ジブromo-4,6-[²H₂]-ベンズアルデヒドで置換する（すなわち、2個の重水素でベンゼン環上の水素を置換する）ことによって、Latliら、2010の「スキーム4」を修飾し、記載の化合物を多重重水素化4-アミノシクロヘキサノールと反応させることによって合成することができる。ジジュウテロ（dideutero）-2-アミノ-3,5-ジブromoベンズアルデヒドは、当業者に公知の方法によっていくつかの出発物質から得ることができ、それには、限定されないが、第1のステップで使用される¹⁴C標識アントラニル酸の過重水素化アントラニル酸類似体から出発し、Latliら、2010の「スキーム2」に提示される方法が含まれる。

20

【0142】

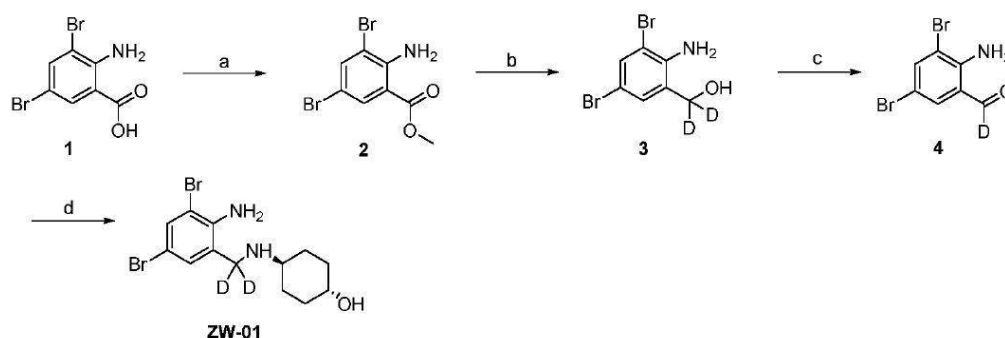
実施例1. 1-ビス-重水素化アンブロキソールA（ZW-001）HCl塩の合成

30

【0143】

化合物ビス-重水素化アンブロキソールAのHCl塩（本明細書ではZYW-001を使用するが、スキーム1ではZW-01と表示）をスキーム1に従って調製した。

【化5】



40

【0144】

試薬および条件：a) MeOH（溶媒および試薬）、H₂SO₄（2.3当量）、65℃、24時間；b) NaOMe（5mol%）、NaBD₄（3.0当量）、MeOH、25℃、7時間；c) MnO₂（1.3当量）、トルエン、80℃、80分；d) トランス-4-アミノシクロヘキサノール（1当量）、NaBD₄（3.0当量）、EtOH、80℃、5時間。

50

【0145】

中間体2の調製：MeOH（120ml）中の2-アミノ-3,5-ジブロモ安息香酸1（7.0g、23.73mmol）の溶液に、濃H₂SO₄（3ml、54.00mmol）を添加した。反応混合物を24時間還流した（反応の完了をTLCでモニター）。割り当てられた時間の後、反応混合物を0℃に冷却し、飽和水酸化ナトリウム溶液をpH 5.5（pH紙で測定）になるまで添加し、続いて飽和NaHCO₃（水溶液）をpH 7.5に達するまで添加した、反応混合物から白色の固体が沈殿した。混合物を濾過し、残渣を氷冷MeOH（25ml）で洗浄した。濾液を50mlのジクロロメタンで2回抽出した。合わせた有機抽出物を乾燥させ（Na₂SO₄、75g）、濾過し、濃縮すると、オフホワイトの結晶性固体2が得られ、これをさらに精製することなく使用した（3.3g、66%）。MS（ESI）：m/z 309（M+H）⁺。

10

【0146】

中間体3の調製：磁気攪拌子を装備し、ゴム隔壁を取り付けた50mlの二口丸底フラスコに、2（1.5g、5mmol）、メタノール（10ml）、および5mol%のNaOMe（13.5mg、0.25mmol）を25℃で装入した。反応物を窒素下で20分間攪拌し、粉末NaBD₄（627mg、15mmol）を絶えず攪拌しながら一度に添加した。混合物を窒素下、25℃でさらに7時間攪拌した。反応の進行をTLCで追跡した。10mlのメタノールを加えて反応をクエンチした。得られた溶液をロータリーエバポレーターで減圧下で蒸発させ、残渣を30mlのジクロロメタンに再懸濁し、セライトで濾過した。濾液を無水硫酸ナトリウム（50g）で乾燥させ、溶媒をロトバップで蒸発させて、粗製反応生成物4（0.75g、53%）を得、これを精製することなくその後の反応に使用した。MS（ESI）：m/z 284（M+H）⁺。

20

【0147】

中間体4の調製：トルエン（30ml）中の粗製3（0.75g、2.65mmol）の溶液を酸化マンガン（IV）（1.63g、18.5mmol、88%）で処置し、反応混合物を80℃で80分間攪拌した。周囲温度に冷却したら、混合物をセライトで濾過した。セライトパッドをトルエン（100ml）で十分に洗浄し、濾液を濃縮してピンク色の固体（0.48g、64%）4を得、これを精製することなくその後の反応に使用した。MS（ESI）：m/z 281（M+H）⁺。

【0148】

ZW-001 HCl塩の調製：エタノール（15ml）中の4（0.48g、1.7mmol）およびtrans-4-アミノシクロヘキサノール（0.2g、1.7mmol）の混合物を80℃で5時間加熱し、周囲温度まで冷却させた。重水素化ホウ素ナトリウム（0.22g、5.1mmol）を添加し、周囲温度での攪拌を2時間続けた後、飽和NH₄Cl（水溶液）（5ml）でクエンチした。溶媒を除去した後、固体をジクロロメタンに再懸濁し、セライトで濾過した。セライトパッドを100mlのジクロロメタンですすぎ、濾液を減圧下で濃縮してオフホワイトの固体を得た。フラッシュカラム（シリカゲル60、230～400メッシュ、EtOAc中7% MeOH）で溶出すると、オフホワイトの結晶性固体が得られ、これをHCl塩に変換した（90mg、12%）。MS（ESI）m/z：380.9（M+H）⁺。化学純度（LCMS）：>99%。¹H NMR（d₄-メタノール）δ（ppm）：1.35（m, 2H）、1.5（m, 2H）、2.05（m, 2H）、2.25（m, 2H）、3.2（m, 1H）、3.55（m, 1H）、7.45（s, 1H）、7.65（s, 1H）。

30

40

【0149】

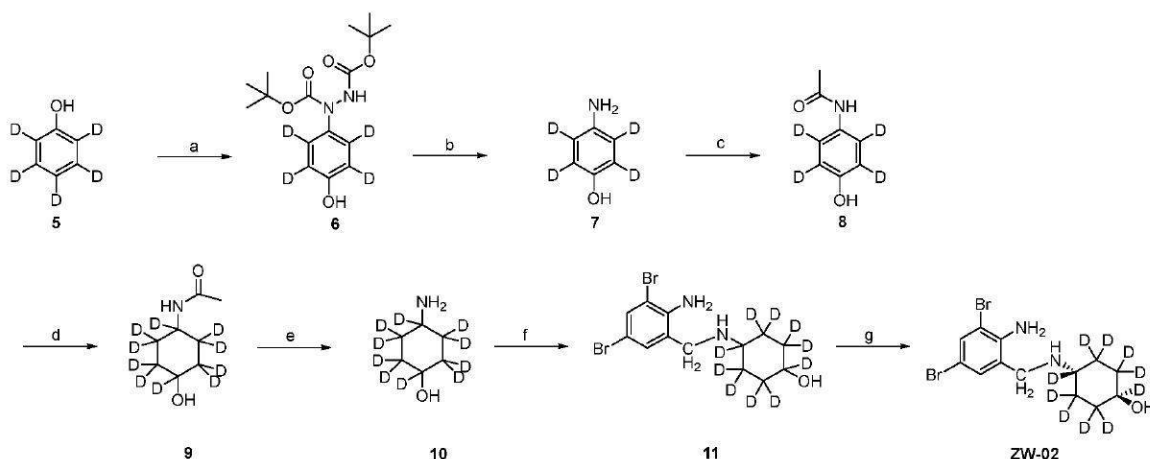
実施例1. 2-化合物ZW-002の合成

【0150】

化合物ZW-002（他に本明細書では化合物1とも呼ばれ、スキーム2ではZW-02と表示）をスキーム2に従って調製した。

50

【化 6】



10

20

30

40

50

【0151】

試薬および条件：a) ジーtert-ブチルアゾジカルボキシレート（2当量）、 Ag_2O （5 mol %）、 H_2O 、 0°C 、30分；b) HCl （7.1当量）、 MeOH 、 55°C 、24時間；c) 無水酢酸（1.5当量）、 H_2O 、 55°C 、12時間；d) D_2 （500 psi）、5% $\text{Rh}/\text{Al}_2\text{O}_3$ （40重量%）、 CD_3OD 、72時間；e) KOH （2.3当量）、 H_2O 、 100°C 、6時間；f) NaBH_4 （2.0当量）、 EtOH 、 80°C 、3時間。g) HCl （2当量）、 CH_2Cl_2 、5分。

【0152】

中間体6の調製：フェノール- d_5 （5.5.0 g、49.9 mmol）とジーtert-ブチルアゾジカルボキシレート（30.0 g、100 mmol）の混合物を、攪拌子を入れた250 ml 丸底フラスコに加え、テフロン（登録商標）で裏打ちされたキャップで密封した。次いで、水（150 ml）を導入した。得られた混合物を15分間攪拌し、次いで 0°C に冷却し、その時点で Ag_2O （0.58 g、5 mol %）を添加し、得られた混合物を30分間激しく攪拌した。割り当てられた時間になったら、反応混合物を水500 mlに添加し、100 mlの酢酸エチルで4回抽出した。有機部分を合わせ、 Na_2SO_4 （300 g）で乾燥させた後、濾過した。その後、溶媒を真空中で除去すると、粗製黄色固体6（13 g、80%）が得られ、これをさらに精製することなく使用した。MS（ESI）： m/z 217（断片） $^+$ 。

【0153】

中間体7の調製：中間体6（10.0 g、30 mmol）をメタノール150 mlに添加し、30分間攪拌した。割り当てられた時間の後、ジオキサン中4N HCl 54 ml（215 mmol）を添加し、反応混合物を 55°C で24時間攪拌すると、懸濁固体が形成された。混合物を室温に冷却し、濾過した。残渣を酢酸エチル200 mlで洗浄した。得られた淡紫色の固体（2.5 g、74%）、7を真空オーブン中 35°C で16時間乾燥させ、さらに精製することなく次のステップに使用した。MS（ESI）： m/z 114（ $\text{M}+\text{H}$ ） $^+$ 。

【0154】

中間体8の調製：7（2.5 g、22 mmol）の水（90 ml）中の溶液を無水酢酸3.25 ml（34 mmol）で処置し、混合物を攪拌しながら30分間 55°C に加熱した後、室温まで冷却し、12時間攪拌した。割り当てられた時間の後、混合物を酢酸エチル（ $3 \times 100\text{ ml}$ ）で抽出した。有機画分を合わせ、ブライン（50 ml）で洗浄し、 Na_2SO_4 （200 g）で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮すると、1.3 gの褐色の固体（38%）8が得られ、これを精製することなくその後のステップで使用した。MS（ESI） m/z ：156.1（ $\text{M}+\text{H}$ ） $^+$ 。

【0155】

中間体9の調製：重水素化メタノール（15 ml）中の8（1.3 g、8.4 mmol）および5% Rh/Al₂O₃（0.6 g）の混合物を、高圧反応器中、500 psiの重水素ガス下で72時間撹拌した。混合物を短いセライトパッドで濾過し、メタノールですすぎ、真空中で濃縮して1.43 gの半固体を得、これを精製することなく次のステップで使用した。MS（ESI）m/z：168.1（M+H）⁺。

【0156】

中間体10の調製：9（1.43 g、8.5 mmol）のKOH水溶液（10 ml、2 N）中の溶液を6時間穏やかに加熱還流した。反応の進行はMS（ESI）でモニターした。完了後、反応混合物を室温に冷却し、NaCl（3.5 g）で飽和させ、次いで、CH₃Cl：IPA（3：1）20 mlで3回抽出し、Na₂SO₄（150 g）で乾燥させ、真空中で濃縮すると、0.3 g（28%）の粘性半固体10が得られ、これをさらに精製することなく次のステップに使用した。

10

【0157】

中間体11の調製：エタノール（25 ml）中の粗製4（0.5 g、1.8 mmol）および10（0.25 g、2.2 mmol）の混合物を80℃で3時間加熱し、周囲温度まで冷却させた。水素化ホウ素ナトリウム（0.17 g、4.5 mmol）を添加し、周囲温度での撹拌を2時間続けた後、飽和NH₄Cl（水溶液）（5 ml）でクエンチした。溶媒を除去した後、固体をジクロロメタンに再懸濁し、セライトで濾過した。セライトパッドをジクロロメタン100 mlですすぎ、濾液を減圧下で濃縮して、オフホワイトの固体（480 mg、70%）11をシス／トランス異性体の混合物として得た。固体をSFC条件に供して異性体を分離した。MS（ESI）：m/z 389（M+H）⁺。

20

【0158】

ZW-002HCl塩の調製：ジクロロメタン（5 ml）中のZW-002遊離塩基（145 mg、0.4 mmol）の溶液を、ジオキサン中の4 N HCl（0.2 ml、0.8 mmol）で処置した。溶液を室温で5分間撹拌した後、ヘキサンを添加し（15 ml）、得られた溶液を2℃で24時間保持すると、ZW-002HCl塩が結晶化した。濾過後、白色の固体（100 mg、60%）を回収し、真空中35℃で一晩乾燥させた。MS（ESI）m/z：388.9（M+H）⁺。化学純度（LCMS）：>99%。¹H NMR（d₄-メタノール）δ（ppm）：4.25（s，2H）、7.45（s，1H）、7.65（s，1H）。

30

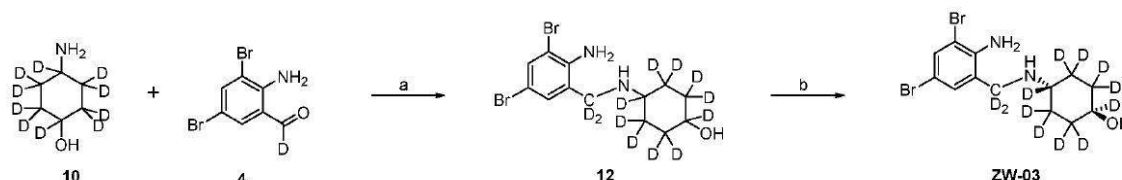
【0159】

実施例1.3-化合物ZW-003の合成

【0160】

化合物ZW-003（他に本明細書では化合物3とも呼ばれ、スキーム3ではZW-03と表示）をスキーム3に従って調製した。

【化7】



40

【0161】

試薬および条件：a) NaBD₄（2.0当量）、EtOH、80℃、3時間；b) HCl（2当量）、CH₂Cl₂、5分。

【0162】

中間体12の調製：エタノール（25 ml）中の粗製4（0.5 g、1.8 mmol）および10（0.27 g、2.2 mmol）の混合物を80℃で3時間加熱し、周囲温度まで冷却させた。重水素化ホウ素ナトリウム（0.23 g、5.4 mmol）を添加し、

50

周囲温度での攪拌を2時間続けた後、飽和 NH_4Cl （水溶液）（5 mL）でクエンチした。溶媒を除去した後、固体をジクロロメタンに再懸濁し、セライトで濾過した。セライトパッドをジクロロメタン100 mLですすぎ、濾液を減圧下で濃縮して、オフホワイトの固体（600 mg、87%）12をシス／トランス異性体の混合物として得た。固体をSFC条件に供して異性体を分離した。MS（ESI）： m/z 391（ $\text{M}+\text{H}$ ）⁺。

【0163】

ZW-003HCl塩の調製：ジクロロメタン（5 mL）中のZW-003遊離塩基（82 mg、0.2 mmol）の溶液を、ジオキサン中の4N HCl（0.1 mL、0.4 mmol）で処置した。溶液を室温で5分間攪拌した後、ヘキサンを添加し（15 mL）、得られた溶液を2℃で24時間保持すると、ZW-002HCl塩が結晶化した。濾過後、オフホワイトの固体（60 mg、70%）を回収し、真空中35℃で一晩乾燥させた。MS（ESI） m/z ：391.0（ $\text{M}+\text{H}$ ）⁺。化学純度（LCMS）：>99%。¹H NMR（ d_4 -メタノール） δ （ppm）：7.45（s, 1H）、7.65（s, 1H）。

【0164】

多重重水素化化合物の安定性は、日常的なインビトロ代謝アッセイ（例えば、CYP3A4依存性代謝を達成するためのマイクロソームインキュベーションの使用）を行い；アッセイされた化合物（例えば、化合物2）の消失および予想される代謝産物化合物（例えば、カルボン酸および／またはジプロモアントラニル酸）の形成を追跡することによって容易に試験することができる。多重重水素化化合物のインビトロ代謝アッセイは、例えば、アンブロキソールおよび／または1または複数の他の適切な比較化合物と比較して行うことができる。化合物の多重重水素化は、例えば、アッセイされた化合物のより遅い消失、および／または代謝産物のより遅い形成によって示されるように、このようなアッセイにおける代謝に対する耐性を提供すると予想される。

【0165】

実施例2：ヒト肝マイクロソームにおけるアンブロキソールおよび類似体の代謝安定性

アンブロキソールおよび重水素化類似体の代謝安定性をヒト肝マイクロソームの存在下で試験して、異なる部位での重水素化のアンブロキソールの代謝安定性に対する効果を評価した。

【0166】

試験設計－試験化合物（アンブロキソールおよび重水素化類似体）をジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解して、1 mMストック溶液を調製した。最終化合物濃度が1 μM になるように、化合物をヒト肝マイクロソームの調製物（1 mg/mLのタンパク質濃度で1回のインキュベーションにつき200 μL ）に添加した。試料を還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）再生系（NADP、1 mM、pH 7.4；グルコース-6-リン酸、5 mM、pH 7.4；グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ、1単位/mL）の存在下、37℃でインキュベートした。陽性対照（ミダゾラム、1 μM 、0.1 mg/mLタンパク質）を同時にインキュベートして、マイクロソーム調製物が予想通りに機能していることを確実にした。試料は $t=0$ 、30、60および120分に採取し、アセトニトリルを添加してクエンチした。

【0167】

クエンチした試料を、タンデム質量分析検出（に連結した液体クロマトグラフィーLC／MS-MS）によって分析した。各時点での試験化合物の濃度を、時点 $t=0$ における化合物の濃度（100%値とする）に対する残存%に変換した。全てのデータポイントをデータ処理に含めた。各試験化合物の排出速度定数（ k_{el} 、 min^{-1} ）は、実験データを単一の指数関数的減衰式（ $A_t = A_0 e^{-k_{el}t}$ 、式中、 A_t は時間 t における残存%であり、 A_0 は100%、 k_{el} は排出速度定数、 t は時間である）に当てはめることに基づいて、親化合物の消失の時間経過から決定した。インビトロ半減期（ $t_{1/2}$ ）を、式： $t_{1/2} = \ln(2) / k_{el}$ に基づいて k_{el} から決定した。排出速度定数は、インビトロ固有クリアランス CL_{int} -マイクロソーム（ $\mu\text{L}/\text{分}/\text{mg}$ タンパク質）を

計算するためにも使用した。

【0168】

結果－化合物構造を図2に示す。重水素化化合物ZW-001、ZW-002、およびZW-003の推定インビトロ排出半減期($t_{1/2}$)およびインビトロ固有クリアランス(CL_{int} -マイクロソーム)を表2に示し、親化合物アンブロキソールについて得た値と比較した。

表2：試験した化合物のインビトロ排出半減期($t_{1/2}$)および固有クリアランス(CL_{int} -マイクロソーム)

【表2】

	$t_{1/2}$ (min)	CL_{int} -マイクロソーム ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ タンパク質)
ZW-001	99	7.00
ZW-002	90	7.70
ZW-003	90	7.70
アンブロキソール	60.8	11.4

10

【0169】

表2に示すように、アンブロキソールの重水素化は、重水素化スキームに関係なく、重水素化化合物の排出半減期がアンブロキソールに対して約50%増加するので、代謝に対する安定性の改善をもたらす。興味深いことに、アミノジプロモベンジル部分のメチレン基の重水素化を伴わないシクロヘキシル環の重水素化(化合物ZW-002)は、メチレン基の重水素化(化合物ZW-001)と同じ安定性の改善をもたらす。対照的に、メチレン基とシクロヘキシル環(化合物ZW-003)の両方の重水素化は、この化合物の安定性が同じ排出半減期を特徴とするので、相乗的な安定化効果も相加的な安定化効果ももたらさない。

20

【0170】

実施例3：寿命の改善に活性を示す化合物2を用いた予測的研究

化合物2は、アンブロキソールの多重重水素化類似体である。本発明の化合物の代表例として、この化合物は、以下のように寿命を改善する活性について調査され得る。

【0171】

仔マウスから飼育し、ケージあたり1～4匹の動物を収容し、Teklad 7013 NIH-31げっ歯類用固形飼料と水を自由に摂取させた2ヶ月齢の離乳した雄BDF1マウスを、22～25匹のほぼ等しい2つの群に分ける。一方の群には以前と同様にTeklad固形飼料を与え続ける(対照)；もう一方の群は、固形飼料1kg当たり300mgの化合物2を配合したTeklad固形飼料に切り替える。この製剤は、成体雄BDF1マウスの平均自由固形飼料消費(average ad libitum chow consumption)に基づいて、処置群の各マウスに50mg/kg/日(体重ベース)を送達するように設計された。マウスは、自然に死ぬまで、または16ヶ月齢に達するまで、この食餌で維持され、その時点で実験は終了する。実験の経過中、全てのマウスは定期的にケージから取り出され、様々な感覚運動、認知および/または行動試験に供する過程で取り扱われる。

30

40

【0172】

図3は、化合物2の代わりにアンブロキソールを使用した、前段落に記載の実験の動物データを提供する。これは、アンブロキソールがマウス動物モデルにおいて寿命を延ばすことができることを示す。群1は、アンブロキソールを投与しなかった対照動物を表す；群2は、2ヶ月齢から始めて、毎日50mg/kgのアンブロキソールを固形飼料サプリメントとして投与した動物を表す。このデータはまた、アンブロキソールが寿命を増加させただけでなく、殺されたときに、群2の生き残った動物は、平均して群1の動物と少なくとも同じくらい健康的であるように見え、寿命と並行して健康寿命が延長されたことを示していることも示唆している。化合物2も同様の結果を達成することが予想される。

50

【0173】

実施例4：PDのマウスモデルにおける振戦の改善に活性を示す化合物2を用いた予測的研究

化合物2は、以下のようにパーキンソン病のマウス動物モデルにおいて振戦を改善する活性について調べることができる。

【0174】

安静時振戦を示す6-OHDAマウス（すなわち、6-ヒドロキシドーパミンを線条体に注射したマウス）を選択する。各群に少なくとも10匹のマウスを含む3群のマウスに、「高用量」（第1群：150mg/kg/日の化合物2）、「低用量」（第2群：50mg/kg/日の化合物2）、または化合物2の投与なし（対照群）を投与し、筋電図検査またはフォースプレートに基づく測定（Bekarら、Nat Med 14：75-80，2008）を使用して、マウスの振戦を毎日モニターし、安静時振戦に対する化合物2の効果を評価する。

10

【0175】

実施例5：ADのマウスモデルにおける凝集Aβに対する効果を示す、化合物2を用いた予測的研究

化合物2は、以下のように、アルツハイマー病のマウス動物モデルにおけるアミロイドβペプチド（Aβ）の凝集沈着に対する活性を調べることができる。

【0176】

Aβの産生の著しい上昇を示すADマウスモデルを選択する（例えば、ヒトアミロイド前駆体タンパク質（APP）に「スウェーデン変異」を含むマウス）。3群のマウス；すなわち、「高用量」群（150mg/kg/日の化合物2）、「低用量」群（50mg/kg/日の化合物2）、および対照群（化合物2なし）を使用して、適切な処置期間後に、例えば、銀染色またはAβ免疫組織化学をコンゴレッドもしくはチオフラビンS組織化学と比較することによって、凝集したAβのびまん性および線維性沈着物の相対的発生について、分析を行うことができる（Jankowskyら、Mol Neurodegen, 12：89，2017）。

20

【0177】

実施例6：認知機能の改善に活性を示す化合物2を用いた予測的研究

化合物2は、以下のようにマウス動物モデルにおいて認知機能を改善する活性について調べることができる。

30

【0178】

各群に少なくとも13匹のマウスを含む3群のマウスに、7ヶ月目に認知鋭敏性（cognitive acuity）試験を行う。マウスの3つの群は、「高用量」群（150mg/kg/日の化合物2）、「低用量」（50mg/kg/日の化合物2）群、および対照群（化合物2なし）である。

【0179】

化合物2の代わりにアンプロキソールを使用したこのような実験の結果を図4に示す。用量に関連した認知鋭敏性の改善が観察され、「高用量」群は最良の認知鋭敏性結果を示し、「低用量」群は対照群と「高用量」群の動物の間の結果を示し、対照群はベースラインの認知鋭敏性結果を示した。投与量の結果は、マウスにおいてGCASEシャペロン活性を効果的に促進することが以前に観察された用量よりも大幅に低い（例えば、Migdalska-Richardsら、Ann Neurol 80：766-775，2016）。

40

【0180】

実施例7：マクロオートファジーの誘導を示す化合物2を用いた予測的研究

化合物2は、以下のように、培養中のマウス細胞においてマクロオートファジーを誘導するその能力について調べることができる。

【0181】

マウス線維芽細胞（NIH3T3）をAmerican Type Culture

50

Collection (ATCC) から入手した。細胞は、10% 新生仔ウシ血清 (NCS)、50 μ g/ml ペニシリン、および 50 μ g/ml ストレプトマイシンの存在下、37℃、5% CO₂ でダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM) (Sigma、ミズーリ州セントルイス) 中で維持する。ガラス底の 96 ウェルプレートにプレーティングした細胞を、指示された時間処置し、固定した後、ハイコンテツ顕微鏡 (Operetta、PerkinElmer) を使用して画像を取得する。例えば、ウェルあたり 9 つの異なる視野の画像を捕捉することができ、平均 2,500 ~ 3,000 個の細胞が得られる。核および点は、製造業者のソフトウェアを使用して識別される。細胞あたりの粒子/点の数は、非飽和画像で閾値処理した後、サイトゾル領域で「粒子識別子」関数を用いて定量化することができる。いずれの場合も、焦点面の厚さは 0.17 μ m に設定され、最大核径を有する切片が定量化のために選択される。値は、取得条件下で細胞あたりの総ての点の 10 ~ 20 % となる、細胞切片あたりの点の数として提示され得る。インタクトな細胞におけるマクロオートファジー活性は、mCherry-GFP-LC3 タンデム構築物を担持するレンチウイルスによる形質導入の際に測定される (Kimura S ら、Autophagy 3 (5) : 452-460, 2007)。ガラス底 96 ウェルプレートにプレーティングした細胞および蛍光を両方のチャンネルで読み取る。両方のフルオロフォアに対して陽性の点はオートファゴソームに対応し、一方赤色フルオロフォアのみに対して陽性の点はオートリソソームに対応する。オートファジーフラックスは、オートファゴソーム (黄色) からオートリソソーム (赤色点のみ) への変換として決定される。

10

【0182】

20

図 5 は、化合物 2 の代わりにアンブロキソールを使用した同等の実験の結果を示す。アンブロキソールは、GCase シャペロンとしてのその薬理学的活性とは別に、栄養感知を阻害している可能性があると思われる。栄養感知に干渉することによって、アンブロキソールは、生物が栄養制限状態または絶食状態に入るのに好適な動物の細胞による応答を誘発し、その結果、リソソーム生合成、およびオートファジー誘導を特徴とする「異化シグナル伝達」モードに生物を移行させ、寿命、健康寿命、および/または認知鋭敏性の改善をもたらし得る (例えば、Efeyan ら、Nature、517 : 302 ~ 310, 2015 を参照) (その全体が参照により本明細書に組み込まれる)。したがって、アンブロキソールおよびアンブロキソールの多重重水素化類似体および関連化合物は、栄養感知を全身的に阻害し、その結果、生物全体が異化シグナル伝達モードに入る可能性がある。

30

【0183】

この研究の「低」および「高」マウス用量から計算したヒト等価用量 (HED) は、約 4 mg/kg/日 および 12 mg/kg/日 であり、これは平均 62.5 kg のヒトの場合、約 250 mg/日 または 750 mg/日 である。したがって、好ましい実施形態では、およそ 50 mg/日、75 mg/日、100 mg/日、150 mg/日、200 mg/日、250 mg/日、300 mg/日、350 mg/日、400 mg/日、450 mg/日、500 mg/日、550 mg/日、600 mg/日、650 mg/日、700 mg/日、750 mg/日、800 mg/日、850 mg/日、900 mg/日、950 mg/日、1000 mg/日、1050 mg/日、1100 mg/日、1150 mg/日、1200 mg/日の用量、または 50 ~ 150 mg/日、50 ~ 200 mg/日、50 ~ 250 mg/日、250 ~ 500 mg/日、250 mg ~ 1000 mg/日、または 1000 mg 未満の用量、あるいは、およそ 1 mg/kg/日、2 mg/kg/日、3 mg/kg/日、4 mg/kg/日、5 mg/kg/日、6 mg/kg/日、7 mg/kg/日、8 mg/kg/日、9 mg/kg/日、10 mg/kg/日、11 mg/kg/日、12 mg/kg/日、および/または 4 ~ 12 mg/kg/日の用量で投与される式 I の化合物 (または薬学的に許容され得るその塩、溶媒和物もしくはプロドラッグ) の長期投与は、健康寿命、寿命および/または精神的鋭敏さの改善において効果的であると期待され得る。

40

【0184】

50

実施例 8：多重重水素化類似体の高薬物負荷液体経口医薬組成物への製剤化およびその特性

顆粒の調製－化合物 2（本発明の化合物の代表例として）の適切な顆粒は、以下のように調製することができる：粉末の形態の微粉化化合物 2 をロータ造粒機（GX R-35 ロータ造粒機、Freund-Vector Corporation）に入れ、ヒドロキシプロピルセルロース（HPC-Klucel LF）の結合剤溶液をアンブロキソール HCl 粉末に噴霧して顆粒コアを形成する。次いで、追加の化合物 2 の粉末を結合剤溶液と共噴霧して、球体を成長させる。化合物 2 の層を加えるにつれて、粒子はより球形になった。得られた球体は、97 重量%の化合物 2 と 3 重量%の HPC を含有し得る。約 350 ミクロンの粒径（ x_{50} ）および約 0.7 g/ml の密度が達成され得る。

10

【0185】

顆粒への水溶性シールコーティングの適用－化合物 2 の顆粒は、Wurster カラムを備えたボトムスプレー流動床コーターを使用して、滑らかで均一な基材を生成するためにシールコーティングされ得る。バッチサイズはおよそ 750 グラムであってよい。適切なシールコーティングは、9.1 重量%のヒプロメロース（HPMC）；0.9 重量%のクエン酸トリエチル（TEC）；および 90 重量%の水を含有する。顆粒は、2%重量増加までシールコーティングすることができる。

【0186】

顆粒への腸溶コーティングの適用－シールコーティングされた化合物 2 顆粒は、Wurster カラムを備えたボトムスプレー流動床コーターを使用して腸溶コーティングされ得る。バッチサイズはおよそ 750 グラムであってよい。適切な腸溶コーティングは、58.0 重量%のオイドラギット L30D55；0.9 重量%のクエン酸トリエチル（TEC）；8.7 重量%の Plasacryl T20；および 32.5 重量%の水を含有する。シールコーティングされた顆粒は、35%重量増加まで腸溶コーティングすることができる。

20

【0187】

溶解特性－腸溶コーティングされた顆粒は、腸内溶解特性（enteric dissolution property）を試験することができる。アンブロキソール塩酸塩を含む等価顆粒の溶解パラメータを表 3 に示す。

表 3：溶解パラメータ

30

【表 3】

装置	II (パドル)
フェーズI媒体 (0~120分)	750 mL 0.1 N HCl
フェーズII媒体 (120~240分)	250mLの0.2Mリン酸三ナトリウムをフェーズ1 に添加する。 pHを6.8に調整する
パドル速度	75 rpm
試料採取時点	120, 135, 150, 165, 180, 240 分
試料体積	2 mL
試料の数	N=2

40

【0188】

実施例 9：ヒト iPSC 由来神経細胞に対する重水素化アンブロキソールの効果に関する研究

ヒト iPSC 由来神経細胞に対する重水素化アンブロキソールの効果を調べ、結果を図 6 に提供する。ヒト iPSC 由来神経細胞を培養下で 14 日間成長させた。リソソームを「LysoTracker」で染色し、細胞を固定し、共焦点顕微鏡を使用して画像化した。リソソームサイズは、IMARIS ソフトウェア（Bitplane）を使用して測

50

定した。

【0189】

実施例10：リソソーム、オートファゴソームおよびTFEB遺伝子発現に対する重水素化アンプロキソールの効果に関する研究

リソソーム、オートファゴソームおよびTFEB遺伝子発現に対する重水素化アンプロキソールの効果を調べ、結果を図7に提供する。マウス神経芽細胞腫（N2A）細胞を、溶媒単独（DMSO）、10マイクロモル濃度のアンプロキソールまたは重水素化アンプロキソール化合物D1またはD2で3日間処置した。細胞を抽出し、mRNAをqPCRによって定量化した。

【0190】

実施例9および10で得られたデータは、以下のことを示している：

- ・細胞は全て、化合物の存在下で成長する
- ・全ての化合物は、ヒト神経細胞、およびアルツハイマー病を引き起こす変異を有するヒト神経細胞においてリソソームの大きさを増加させる
- ・このことから、 β -グルコセレブロシダーゼ（UniProt Entry P04062）（「GBA」）だけでなく、リソソーム遺伝子全般の機能が改善されていることが推測され得る。
- ・全ての化合物が、リソソームおよびオートファゴソーム遺伝子の発現量と、TFEBの発現量を増加させる
- ・これらの増加の一部は、元のアンプロキソール化合物よりも大幅な改善である。

【0191】

本明細書で引用されるそれぞれの特許、特許出願、および刊行物の開示は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0192】

特定の実施形態を参照して本発明を開示したが、本発明の真の精神および範囲から逸脱することなく、本発明の他の実施形態および変形が当業者によって考案され得ることは明らかである。添付の特許請求の範囲は、そのような全ての実施形態および同等の変形を含むと解釈されることを意図している。

10

20

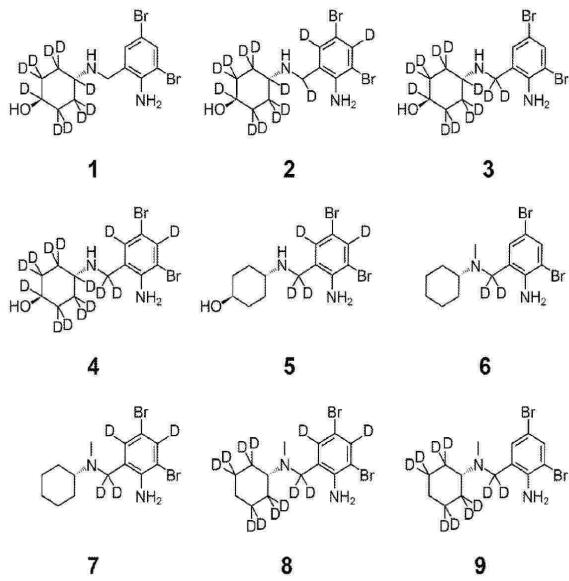
30

40

50

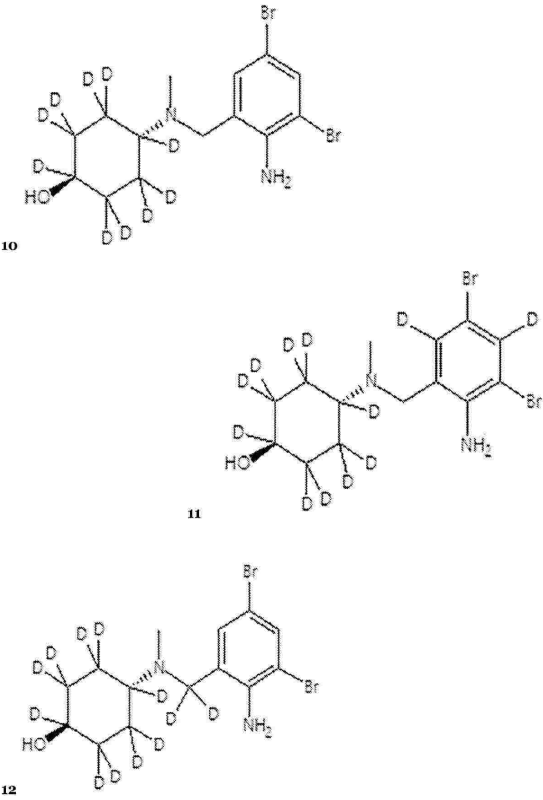
【図面】
【図 1 - 1】

FIGURE 1



【図 1 - 2】

FIGURE 1 - 続き



10

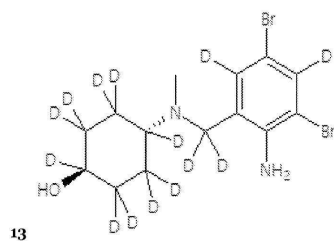
20

30

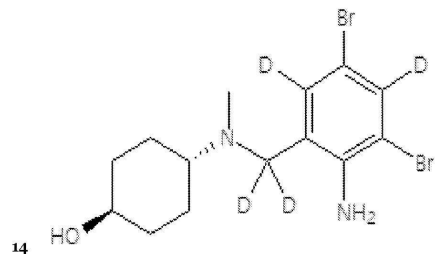
40

50

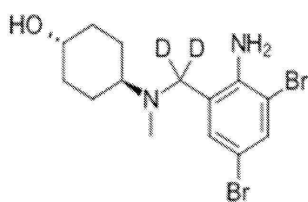
FIGURE 1 – 続き



13



14



15

FIGURE 3

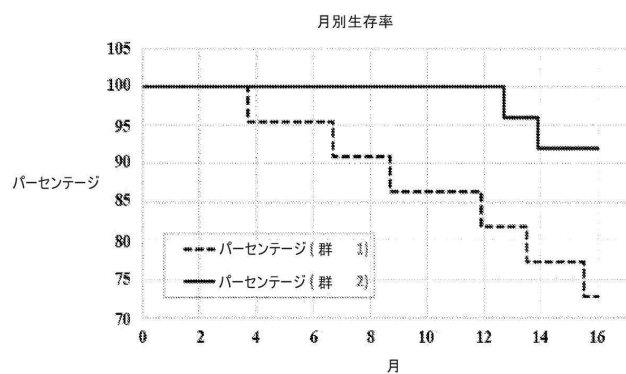
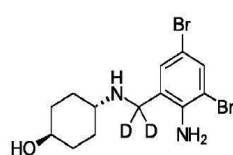
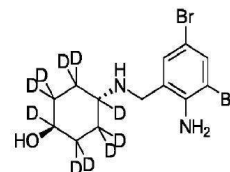


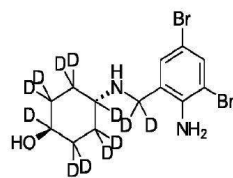
FIGURE 2



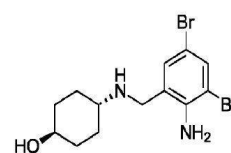
ZW-001: ビスー重水素化アンブロキソールA



ZW-002: 化合物 1

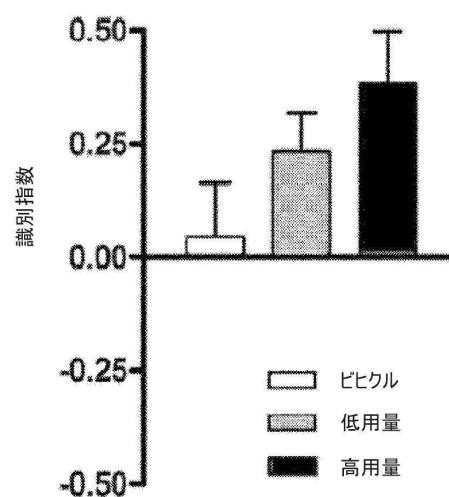


ZW-003: 化合物 3



アンブロキソール

FIGURE 4



10

20

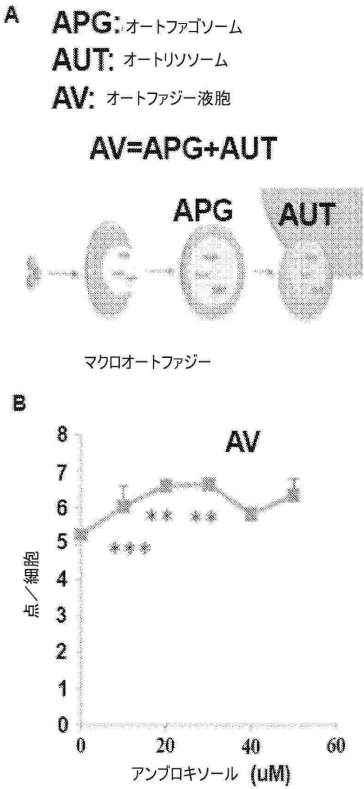
30

40

50

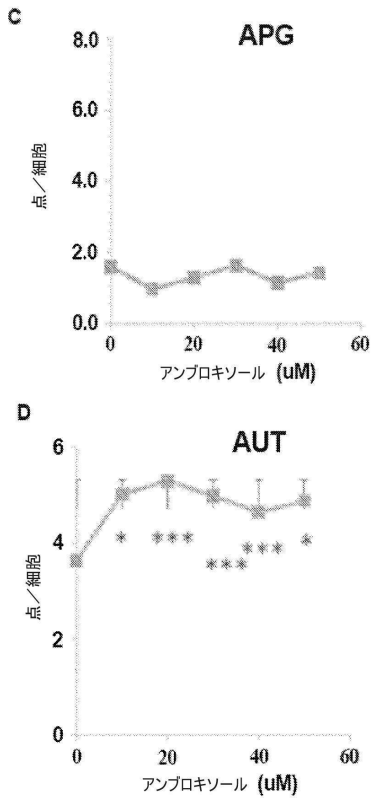
【図 5 - 1】

FIGURE 5



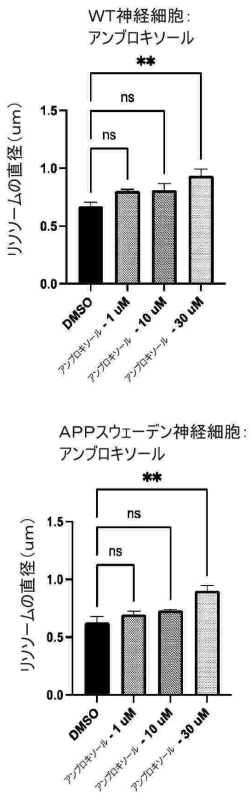
【図 5 - 2】

FIGURE 5 続き



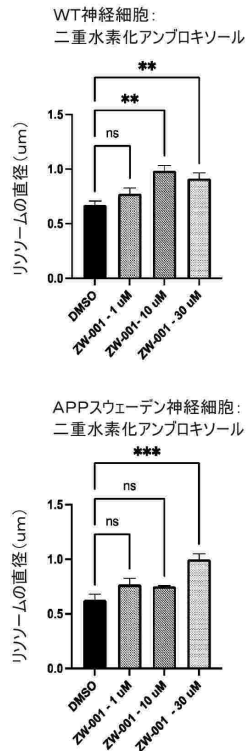
【図 6 - 1】

FIGURE 6



【図 6 - 2】

FIGURE 6 続き



10

20

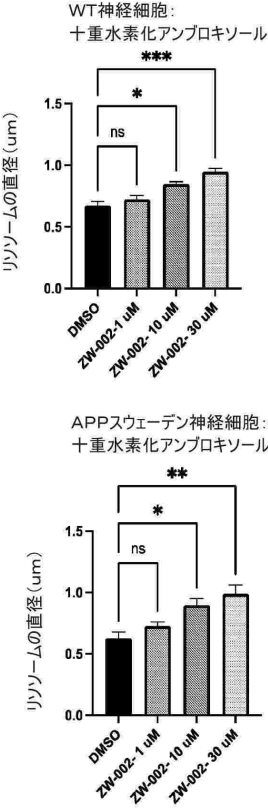
30

40

50

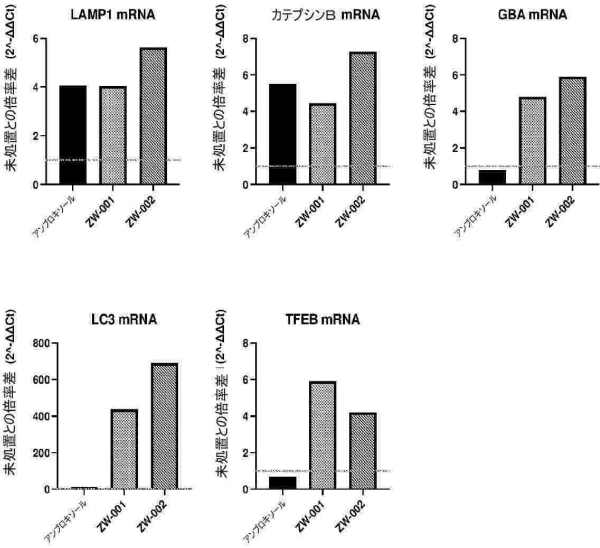
【図 6 - 3】

FIGURE 6 続き



【図 7】

FIGURE 7



10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/078779

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07B59/00 A61P11/12 A61K31/135 C07C215/44 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61P A61K C07B C07C Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BACHIR LATLI ET AL: "Synthesis of labeled ambroxol and its major metabolites", JOURNAL OF LABELLED COMPOUNDS AND RADIOPHARMACEUTICALS, vol. 53, 1 January 2009 (2009-01-01), pages 15-23, XP055533660, GB	1-16,25
Y	ISSN: 0362-4803, DOI: 10.1002/jlcr.1694 scheme 4, page 18, [2H11]-Ambroxol use of compound to study the metabolic breakdown of Ambroxol for use in treating respiratory, inflammatory and viral diseases: see introduction Cis-isomer of [2H10]-Ambroxol: see page 21, left column, last five lines; Traces of [2H10] and [2H]9-Ambroxol were observed: see page 21, right column, first sentence. ----- -/--	1-16,25
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 13 February 2023		Date of mailing of the international search report 20/04/2023
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Lange, Tim

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/078779

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2018/148113 A1 (STC UNM [US]) 16 August 2018 (2018-08-16)	1-16, 25
Y	bis-deuterated Ambroxol derivatives, with two deuterium-atoms at the methylene-position of the benzylamine moiety: see claim 6 Pharmaceutical compositions therewith (see claim 9) and in mixtures with further bioactive agents (see claim 10); use of compound for treating respiratory diseases (see claim 36) and cancerous diseases (see claims 19-22) and infectious diseases (claims 37-39) Use of a deuterium-labelled derivative of Ambroxol for increasing the bioavailability of the drug: see claims 45 and 47	1-16, 25
X	----- DATABASE Chemical Abstracts Registr [Online] American Chemical Society; 13 November 2011 (2011-11-13), N N: "No Title", XP093022890, retrieved from STN Database accession no. 1331823-93-8 the whole document	1, 2, 4
X	----- DATABASE ACS Registry Database [Online] Americal Chemical Society; 13 September 2011 (2011-09-13), N. N.: "no title", XP093022894, retrieved from STN Database accession no. 1331823-93-8 the whole document	1, 2, 4
X	----- DATABASE Chemical Abstracts Regist [Online] American Chemical Society - Chemical Abstracts Services; 22 October 2010 (2010-10-22), N. N.: "no title", XP093022897, retrieved from STN Database accession no. 1246818-80-3 the whole document	1, 2, 4
	----- -/--	

2

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

page 2 of 3

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/078779

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GUPTA MONIKA ET AL: "Deuteration as a Tool for Optimization of Metabolic Stability and Toxicity of Drugs", GLOBAL JOURNAL OF PHARMACY & PHARMACEUTICAL SCIENCES, vol. 1, no. 4, 27 March 2017 (2017-03-27), XP055860642, DOI: 10.19080/GJPPS.2017.01.555566 Retrieved from the Internet: URL:https://juniperpublishers.com/gjpps/pdf/GJPPS.MS.ID.555566.pdf> the whole document -----	1-16, 25
X,P	CN 114 907 221 A (HUACHUANG SYNTHETIC PHARMACEUTICAL CO LTD) 16 August 2022 (2022-08-16) compounds 2-4; use of compounds for treatment of respiratory diseases (see claims 5) and in pharmaceutical compositions (claim 6) -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/078779**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:
1-16, 25 (all partially)

30

40

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2022 /078779

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-16, 25(all partially)

Compounds of the Markush formula of claim 1, pharmaceutical compositions therewith and the compounds for use in methods of treatment of respiratory diseases.

2. claims: 17(completely); 1-14, 25(partially)

Compounds of the Markush formula of claim 1, pharmaceutical compositions therewith and the compounds for use in methods of treatment or reducting or inhibition of age-related symphoms and for increasing the lifespan of a subject.

3. claims: 18-24(completely); 1-16, 25(partially)

Compounds of the Markush formula of claim 1, pharmaceutical compositions therewith and the compounds for use in methods of treatment of diseases associated to pathological protein misfolding or dementia-related diseases such as Alzheimer's, Parkinson's or Huntington's disease or Frontotemporal degeneration (FTD), or dementia with Lewis bodies

4. claims: 1-16, 25(all partially)

Compounds of the Markush formula of claim 1, pharmaceutical compositions therewith and the compounds for use in methods of treatment of diseases associated to metabolic diseases such as Pompe's, Fabry's or Gaucher's diseas

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2022/078779

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2018148113 A1	16-08-2018	AU 2018219149 A1	19-09-2019
		CA 3055311 A1	16-08-2018
		CN 110740983 A	31-01-2020
		EP 3580191 A1	18-12-2019
		JP 2020506236 A	27-02-2020
		KR 20190116320 A	14-10-2019
		US 2019269806 A1	05-09-2019
		US 2020237687 A1	30-07-2020
		WO 2018148113 A1	16-08-2018

CN 114907221 A	16-08-2022	NONE	

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 25/16 (2006.01)	A 6 1 P 25/16	
A 6 1 P 25/14 (2006.01)	A 6 1 P 25/14	
MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU, CV,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,I T,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX, MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV, SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW		
(72)発明者	アンダーソン, スティーブン	
	アメリカ合衆国 ニュージャージー 0 8 5 4 0, プリンストン, スプリングデール ロード 1 5 8	
(72)発明者	パステルナーク, スティーブン	
	カナダ国 エヌ 6 ジー 4 アール 1 オンタリオ, ロンドン, サールミア ロード 1 0	
(72)発明者	ジャック, ヴィンセント	
	アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 4, サマービル, ロジャース アベニュー 1 1 8 ナンバー 2	
(72)発明者	ブラッサード, ジェラルド	
	アメリカ合衆国 ペンシルベニア 1 9 0 4 7, ラングホーン, ガンニング レーン 3	
F ターム (参考)	4C206 AA01 AA02 AA03 FA31 KA20 MA01 MA04 MA36 MA72 NA14 NA15 ZA02 ZA15 ZA16 ZA22 4H006 AA01 AA03 AB20 BJ50 BM30 BM73 BN20 BU42 BU46	