

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7068827号
(P7068827)

(45)発行日 令和4年5月17日(2022.5.17)

(24)登録日 令和4年5月9日(2022.5.9)

(51)国際特許分類

A 6 1 K	31/4184 (2006.01)	A 6 1 K	31/4184
A 6 1 P	1/16 (2006.01)	A 6 1 P	1/16
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00 1 2 1
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00

請求項の数 27 (全40頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2017-568408(P2017-568408)

(86)(22)出願日 平成28年6月30日(2016.6.30)

(65)公表番号 特表2018-519340(P2018-519340
A)

(43)公表日 平成30年7月19日(2018.7.19)

(86)国際出願番号 PCT/US2016/040566

(87)国際公開番号 WO2017/004454

(87)国際公開日 平成29年1月5日(2017.1.5)

審査請求日 令和1年6月28日(2019.6.28)

(31)優先権主張番号 62/187,061

(32)優先日 平成27年6月30日(2015.6.30)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

早期審査対象出願

(73)特許権者 518000327

アイガー グループ インターナショナル

インコーポレイテッド

アメリカ合衆国 94301 カリフォル

ニア州 パロアルト ウェブスター スト

リート 2061

(74)代理人 100102978

弁理士 清水 初志

(74)代理人 100102118

弁理士 春名 雅夫

(74)代理人 100160923

弁理士 山口 裕孝

(74)代理人 100119507

弁理士 刑部 俊

(74)代理人 100142929

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 炎症性状態および癌性状態を治療するための、クロロキン化合物およびクレミゾール化合物の使用

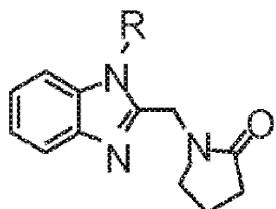
(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

有効量のクレミゾール、または肝臓中のCYP450酵素によって生成されるクレミゾール代謝産物を含む、肝臓癌と診断されている対象を治療するための薬学的組成物であって、クレミゾール代謝産物が、M1、M2、M3、M4、M5、M6、M7、M8、M10、M11、M12、M13、M14、M15、M16、M17、またはM18より選択される、薬学的組成物：

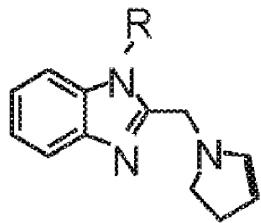
ここで、

M1は



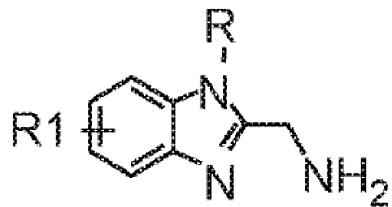
であるか、またはその薬学的に許容される塩であり；

M2は



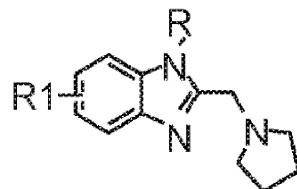
であるか、またはその薬学的に許容される塩であり；
M3およびM11はそれぞれ

10



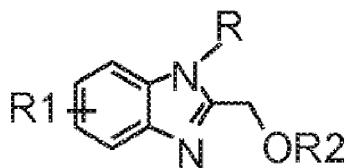
であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、式中、
M3においてR1はHであり、
M11においてR1はOHであり；
M4、M14、およびM15は、それぞれ

20



であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、式中、
M4においてR1はOHであり、
M14においてR1はO-グルクロニドであり、
M15においてR1はO-gluc(ラクタム)であり；
M5、M8、およびM17は、それぞれ

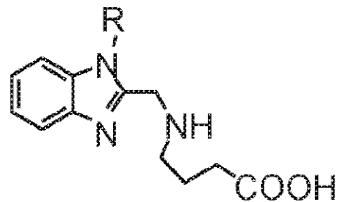
30



40

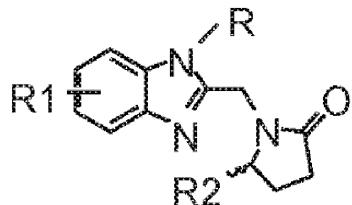
であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、式中、
M5においてR1およびR2はHであり、
M8においてR1はOHであり、かつR2はHであり、
M17においてR1はHであり、かつR2はglucであり；
M6は

50



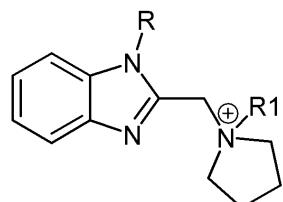
であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、
M7、M16、およびM18は、それぞれ

10



であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、式中、
M7においてR1およびR2はHであり、
M16においてR1はHであり、かつR2はO-glucであり、
M18においてR1はO-glucであり、かつR2はOHであり；
M10およびM13は、それぞれ

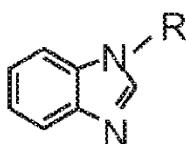
20



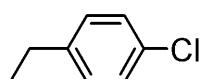
30

であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、式中、
M10においてR1はO-であり、
M13においてR1はglucであり；
M12は

40



であるか、またはその薬学的に許容される塩であり；
M1、M2、M3、M4、M5、M6、M7、M8、M10、M11、M12、M13、M14、M15、
M16、M17、またはM18において、Rは



である。

50

【請求項 2】

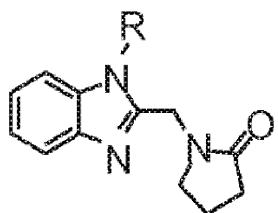
有効量のクレミゾール、または肝臓中のCYP450酵素によって生成されるクレミゾール代謝産物を含む、肝臓癌を発症するリスクを有している該対象において、肝臓癌発症を予防するための薬学的組成物であって、

該対象が、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、B型肝炎感染、または肝硬変と診断されており、

クレミゾール代謝産物が、M1、M2、M3、M4、M5、M6、M7、M8、M10、M11、M12、M13、M14、M15、M16、M17、またはM18より選択される、薬学的組成物：
ここで、

M1は

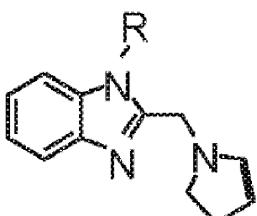
10



であるか、またはその薬学的に許容される塩であり；

M2は

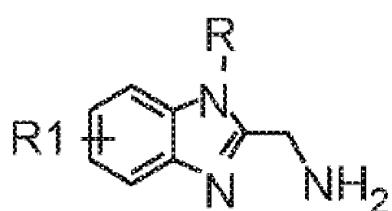
20



であるか、またはその薬学的に許容される塩であり；

M3およびM11はそれぞれ

30



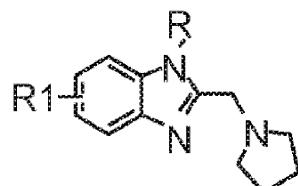
であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、式中、

M3においてR1はHであり、

40

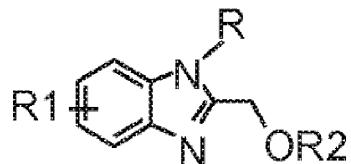
M11においてR1はOHであり；

M4、M14、およびM15は、それぞれ



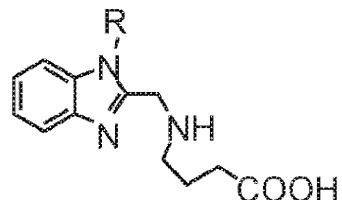
50

であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、式中、
 M4においてR1はOHであり、
M14においてR1はO-グルクロニドであり、
 M15においてR1はO-gluc(ラクタム)であり；
 M5、M8、およびM17は、それぞ



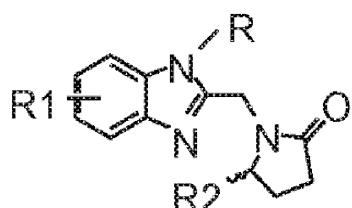
10

であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、式中、
 M5においてR1およびR2はHであり、
 M8においてR1はOHであり、かつR2はHであり、
 M17においてR1はHであり、かつR2はglucであり；
 M6は



20

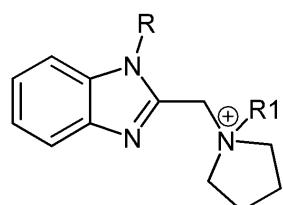
であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、
 M7、M16、およびM18は、それぞ



30

であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、式中、
 M7においてR1およびR2はHであり、
 M16においてR1はHであり、かつR2はO-glucであり、
 M18においてR1はO-glucであり、かつR2はOHであり；
 M10およびM13は、それぞ

40

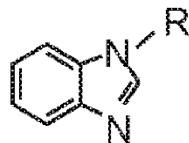


であるか、またはその薬学的に許容される塩であり、式中、
 M10においてR1はO-であり、

50

M13においてR1はglucであり；

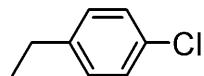
M12は



であるか、またはその薬学的に許容される塩であり；

M1、M2、M3、M4、M5、M6、M7、M8、M10、M11、M12、M13、M14、M15、

M16、M17、またはM18において、Rは



である、前記薬学的組成物。

【請求項 3】

肝臓癌が肝細胞癌である、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項 4】

前記対象が、NASHと診断されている、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項 5】

前記対象が、NAFLDと診断されている、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項 6】

前記予防の結果が、無癌生存期間または全生存期間を延長することである、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項 7】

有効量の抗ウイルス薬と組み合わせて対象に投与される、請求項2記載の薬学的組成物であって、該抗ウイルス薬が、インターフェロン、ヌクレオシド類似体、直接作用型抗ウイルス薬、インターフェロン-2b、ペグインターフェロン-2a、エンテカビル、ラミブジン、アデホビル、テルビブジン、テノホビル、ソフォスブビル、レジパスビル、オムビタスピル、パリタブレビル、リトナビル、ダサブビル、グラゾブレビル、エルバスビル、アスナブレビル、デクラタスピル、またはベクラブビルを含む、前記薬学的組成物。

【請求項 8】

前記有効量が、1日1回、1日2回、または1日3回投与される200～500mgである、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項 9】

前記有効量が、1日1回、1日2回、または1日3回投与される少なくとも200mgである、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項 10】

前記有効量が、1日1回、1日2回、または1日3回投与される少なくとも300mgである、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項 11】

前記有効量が、1日1回、1日2回、または1日3回投与される少なくとも400mgである、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項 12】

前記有効量が、1日1回、1日2回、または1日3回投与される少なくとも500mgである、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項 13】

クレミゾール、またはクレミゾール代謝産物が、2ヶ月以上投与される、請求項2記載の薬

10

20

30

40

50

学的組成物。

【請求項 1 4】

クレミゾール、またはクレミゾール代謝産物が、3ヶ月以上投与される、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項 1 5】

クレミゾール、またはクレミゾール代謝産物が、4ヶ月以上投与される、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項 1 6】

クレミゾール、またはクレミゾール代謝産物が、5ヶ月以上投与される、請求項2記載の薬学的組成物。

10

【請求項 1 7】

有効量のCYP3A4阻害剤と組み合わせて対象に投与される、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項 1 8】

前記対象が、B型肝炎感染と診断されている、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項 1 9】

前記対象が、肝硬変と診断されている、請求項2記載の薬学的組成物。

【請求項 2 0】

クレミゾールを含む、請求項1または2のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項 2 1】

前記有効量が、1日1回、1日2回、または1日3回投与される200～500mgである、請求項1記載の薬学的組成物。

20

【請求項 2 2】

前記有効量が、1日1回、1日2回、または1日3回投与される少なくとも200mgである、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項 2 3】

前記有効量が、1日1回、1日2回、または1日3回投与される少なくとも300mgである、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項 2 4】

前記有効量が、1日1回、1日2回、または1日3回投与される少なくとも400mgである、請求項1記載の薬学的組成物。

30

【請求項 2 5】

前記有効量が、1日1回、1日2回、または1日3回投与される少なくとも500mgである、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項 2 6】

クレミゾールまたはクレミゾール代謝産物が、3ヶ月間投与される、請求項1記載の薬学的組成物。

【請求項 2 7】

クレミゾールまたはクレミゾール代謝産物が、5ヶ月間投与される、請求項1記載の薬学的組成物。

【発明の詳細な説明】

40

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる2015年6月30日に出願された米国仮特許出願第62/187,061号の恩典を主張する。

【0002】

連邦政府による資金提供を受けた研究開発の記載

本発明は、米国立衛生研究所および米国立アレルギー感染症研究所によって授与されたR42 AI088793/NIAID NIH HHS/米国のもとで、政府の支援を受けてなされた。政府は、本発明において一定の権利を有している。

50

【 0 0 0 3 】**発明の分野**

本発明は、医学分野、より具体的には、特に肝臓の炎症性状態および癌性状態を治療および予防するための、ある種の化合物の使用を対象としている。

【背景技術】**【 0 0 0 4 】****背景**

炎症性状態および癌性状態の治療および予防は、未達成の大きな医学的ニーズである。特に、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)のような肝臓の炎症性状態には、改良された治療法が必要とされている。未治療のままにされたNASHおよび他の炎症性肝臓障害、例えばウイルス感染症に起因するものは、肝細胞癌をもたらし得る。本発明は、後述するように炎症性状態および/または癌性状態を治療および/または予防するための方法を提供することによって、これらのニーズに取り組む。

10

【発明の概要】**【 0 0 0 5 】****概要**

クレミゾールおよび/もしくはクロロキンまたはその類似体の有効量を、それを必要とする対象に投与する段階を含む方法が、本明細書において開示される。本発明のいくつかの局面において、対象には、R-クロロキン、クレミゾール、またはクレミゾールと組み合わせたR-クロロキンのいずれかが投与される。

20

【 0 0 0 6 】

本発明のいくつかの局面において、対象は、炎症性状態を有している。

【 0 0 0 7 】

本発明の他の局面において、対象は、肝臓の炎症性状態を有している。本発明のいくつかの局面において、対象は非アルコール性脂肪性肝炎を患っており、方法は、非アルコール性脂肪性肝炎を治療する段階をさらに含む。いくつかの局面において、方法は、肝小葉の炎症を軽減する。他の局面において、方法は、肝臓癌のリスクを低下させる。本発明のさらに別の局面において、対象は肝臓癌を患っており、方法は、肝臓癌を治療する段階をさらに含む。

30

【 0 0 0 8 】

本発明のいくつかの局面において、クレミゾールおよび/またはR-クロロキンは、非アルコール性脂肪性肝炎を患っている対象に投与される。他の局面において、対象にクレミゾールまたはR-クロロキンを投与すると、ビヒクリ对照と比べて血漿中アラニンアミノトランスフェラーゼのレベルが低下する。他の局面において、対象にクレミゾールおよび/またはR-クロロキンを投与すると、肝臓組織の組織学的解析によって判定される非アルコール性脂肪性肝疾患活動性スコアが低下する。いくつかの局面において、クレミゾールおよび/またはR-クロロキンを投与すると、脂肪症が軽減する。他の局面において、クレミゾールおよび/またはR-クロロキンを投与すると、肝細胞の風船様拡大が軽減する。さらに他の局面において、クレミゾールおよび/またはR-クロロキンを投与すると、小葉の炎症が軽減する。

40

【 0 0 0 9 】

本発明のいくつかの局面において、クレミゾールおよび/またはR-クロロキンは、対象に投与されて、肝臓癌の発症リスクを低下させる。本発明の他の局面において、対象は、非アルコール性脂肪性肝炎と診断されている。本発明の他の局面において、クレミゾールおよび/またはR-クロロキンは、肝臓癌に罹患している対象に投与される。さらに別の局面において、クレミゾールおよび/またはR-クロロキンを投与すると、対象の腫瘍量が減少するか、または対象の生存期間が増える。

【 0 0 1 0 】

本発明のいくつかの局面において、0.5～50mg/kgのクレミゾールが、対象に投与される。いくつかの局面において、クレミゾールは、1日1回、1日2回、または1日3回投与され

50

る。他の局面において、クレミゾールは、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、またはそれ以上の間、毎日投与される。

【0011】

本発明のいくつかの局面において、0.5～50mg/kgのR-クロロキンが、対象に投与される。他の局面において、R-クロロキンは、1日1回、1日おきに1回、または1週1回、投与される。いくつかの局面において、R-クロロキンは、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、またはそれ以上の間、投与される。さらに別の局面において、R-クロロキンは、治療の最初の2日間は2倍負荷用量として毎日、続いて、治療の残りの期間、2倍負荷用量の半分である1回量として、投与される。

[本発明1001]

10

有効量のクレミゾールを対象に投与する段階を含む、治療を必要とする非アルコール性脂肪性肝炎を患っている該対象の肝臓の炎症を治療するための方法。

[本発明1002]

前記有効量が、0.5mg/kg～50mg/kgの用量を含む、本発明1001の方法。

[本発明1003]

前記有効量が、毎日、1日2回、または1日3回投与される0.5mg/kg～50mg/kgの用量を含む、本発明1001の方法。

[本発明1004]

前記投与によって、対象において肝臓癌が発症する確率が有意に低下する、本発明1001の方法。

20

[本発明1005]

前記投与が経口的である、本発明1001の方法。

[本発明1006]

前記投与が1日1回、1日2回、または1日3回である、本発明1001の方法。

[本発明1007]

前記炎症が、正常な健常対照集団に関連付けられているレベルと比べて、対象の血漿中のアラニンアミノトランスフェラーゼ血漿レベルが高いことを特徴とする、本発明1001の方法。

[本発明1008]

30

前記対象の炎症が、組織学的試料における浸潤免疫細胞の複数の集中を特徴とする小葉の炎症である、本発明1001の方法。

[本発明1009]

前記対象の炎症が、肝生検から得られた試料の検査から診断される、本発明1001の方法

—

[本発明1010]

前記対象の炎症が、超音波、コンピュータ断層撮影法、磁気共鳴画像法、血液検査、または過分極¹³C-NMR分光法を含むNMR分光法によって診断される、本発明1001の方法。

[本発明1011]

前記治療によって、対象のアラニンアミノトランスフェラーゼ血漿レベルが有意に低下する、本発明1001の方法。

40

[本発明1012]

前記対象が、有効量の抗NASH作用物質によっても治療される、本発明1001の方法。

[本発明1013]

抗NASH作用物質が、FXRアゴニスト、LOXL2阻害剤、カスパーゼプロテアーゼ阻害剤、システィアミン重酒石酸塩、ガレクチン-3阻害剤、CCR2およびCCR5経路阻害剤、システィン枯渴剤、SGLT-2阻害剤、GLP-1、胆汁酸、合成脂肪酸および胆汁酸の結合体、セチュイン刺激薬、免疫調節薬、またはPPARアゴニストを含む、本発明1033の方法。

[本発明1014]

対象のインスリン感受性を高める有効量の薬剤を該対象に投与することによって、該対

50

象のインスリン抵抗性を治療する段階をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1015]

前記薬剤が、メトホルミン、チアゾリジンジオン、ピオグリタゾン、またはロシグリタゾンを含む、本発明1014の方法。

[本発明1016]

対象のコレステロールおよび/または高トリグリセリドを低下させる有効量の薬剤を該対象に投与することによって、該対象の高コレステロールおよび/または高トリグリセリドを治療する段階をさらに含む、本発明1001の方法。

[本発明1017]

前記薬剤が、スタチン、胆汁酸封鎖剤、コレステロール吸収阻害剤、フィブリン酸誘導体、またはニコチン酸を含む、本発明1016の方法。

10

[本発明1018]

前記対象に、有効量のCYP3A4阻害剤も投与される、本発明1001の方法。

[本発明1019]

CYP3A4阻害剤が、リトナビルまたはコビシスタットを含む、本発明1018の方法。

[本発明1020]

前記対象が、有効量のR-クロロキンによっても治療される、本発明1001の方法。

[本発明1021]

前記対象が、有効量の、R-クロロキンの重水素化類似体、R-クロロキン代謝産物、R-ヒドロキシクロロキン、R-ヒドロキシクロロキンの重水素化類似体、またはR-ヒドロキシクロロキン代謝産物によっても治療される、本発明1001の方法。

20

[本発明1022]

有効量の、クレミゾールの重水素化類似体またはクレミゾール代謝産物を対象に投与する段階を含む、

治療を必要とする非アルコール性脂肪性肝炎を患っている該対象の肝臓の炎症を治療するための方法。

[本発明1023]

前記有効量が、0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1022の方法。

[本発明1024]

前記有効量が、毎日、1日2回、または1日3回投与される0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1022の方法。

30

[本発明1025]

前記投与によって、対象において肝臓癌が発症する確率が有意に低下する、本発明1022の方法。

[本発明1026]

前記投与が経口的である、本発明1022の方法。

[本発明1027]

前記投与が1日1回、1日2回、または1日3回である、本発明1022の方法。

[本発明1028]

前記炎症が、正常な健常対照集団に関連付けられているレベルと比べて、対象の血漿中のアラニンアミノトランスフェラーゼ血漿レベルが高いことを特徴とする、本発明1022の方法。

40

[本発明1029]

前記対象の炎症が、組織学的試料における浸潤免疫細胞の複数の集中を特徴とする小葉の炎症である、本発明1022の方法。

[本発明1030]

前記対象の炎症が、肝生検から得られた試料の検査から診断される、本発明1022の方法

—

[本発明1031]

前記対象の炎症が、超音波、コンピュータ断層撮影法、磁気共鳴画像法、血液検査、ま

50

たは過分極¹³C-NMR分光法を含むNMR分光法によって診断される、本発明1022の方法。

[本発明1032]

前記治療によって、対象のアラニンアミノトランスフェラーゼ血漿レベルが有意に低下する、本発明1022の方法。

[本発明1033]

前記対象が、有効量の抗NASH作用物質によっても治療される、本発明1022の方法。

[本発明1034]

抗NASH作用物質が、FXRアゴニスト、LOXL2阻害剤、カスパーゼプロテアーゼ阻害剤、システィアミン重酒石酸塩、ガレクチン-3阻害剤、CCR2およびCCR5経路阻害剤、システィン枯渴剤、SGLT-2阻害剤、GLP-1、胆汁酸、合成脂肪酸および胆汁酸の結合体、サチュイン刺激薬、免疫調節薬、またはPPARアゴニストを含む、本発明1033の方法。

[本発明1035]

対象のインスリン感受性を高める有効量の薬剤を該対象に投与することによって、該対象のインスリン抵抗性を治療する段階をさらに含む、本発明1022の方法。

[本発明1036]

前記薬剤が、メトホルミン、チアゾリジンジオン、ピオグリタゾン、またはロシグリタゾンを含む、本発明1035の方法。

[本発明1037]

対象のコレステロールおよび/または高トリグリセリドを低下させる有効量の薬剤を該対象に投与することによって、該対象の高コレステロールおよび/または高トリグリセリドを治療する段階をさらに含む、本発明1022の方法。

[本発明1038]

前記薬剤が、スタチン、胆汁酸封鎖剤、コレステロール吸収阻害剤、フィブリン酸誘導体、またはニコチン酸を含む、本発明1037の方法。

[本発明1039]

前記対象に、有効量のCYP3A4阻害剤も投与される、本発明1022の方法。

[本発明1040]

CYP3A4阻害剤が、リトナビルまたはコビシスタットを含む、本発明1039の方法。

[本発明1041]

前記対象が、有効量のR-クロロキンによっても治療される、本発明1022の方法。

[本発明1042]

前記対象が、有効量の、R-クロロキンの重水素化類似体、R-クロロキン代謝産物、R-ヒドロキシクロロキン、R-ヒドロキシクロロキンの重水素化類似体、またはR-ヒドロキシクロロキン代謝産物によっても治療される、本発明1022の方法。

[本発明1043]

有効な量のR-クロロキンを対象に投与する段階を含む、治療を必要とする非アルコール性脂肪性肝炎を患っている該対象の肝臓の炎症を治療するための方法。

[本発明1044]

前記有効量が、0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1043の方法。

[本発明1045]

前記有効量が、毎日、1日おき、または毎週投与される0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1043の方法。

[本発明1046]

治療法の最初の2日間、毎日の2倍負荷用量も含む、本発明1043の方法。

[本発明1047]

前記投与によって、対象において肝臓癌が発症する確率が有意に低下する、本発明1043の方法。

[本発明1048]

前記投与が経口的である、本発明1043の方法。

[本発明1049]

10

20

30

40

50

前記投与が毎日、1日おき、または毎週である、本発明1043の方法。

[本発明1050]

前記炎症が、正常な健常対照集団に関連付けられているレベルと比べて、対象の血漿中のアラニンアミノトランスフェラーゼ血漿レベルが高いことを特徴とする、本発明1043の方法。

[本発明1051]

前記対象の炎症が、組織学的試料における浸潤免疫細胞の複数の集中を特徴とする小葉の炎症である、本発明1043の方法。

[本発明1052]

前記対象の炎症が、肝生検から得られた試料の検査から診断される、本発明1043の方法

10

[本発明1053]

前記対象の炎症が、超音波、コンピュータ断層撮影法、磁気共鳴画像法、血液検査、または過分極¹³C-NMR分光法を含むNMR分光法によって診断される、本発明1043の方法。

[本発明1054]

前記治療によって、対象のアラニンアミノトランスフェラーゼ血漿レベルが有意に低下する、本発明1043の方法。

[本発明1055]

前記対象が、有効量の抗NASH作用物質によっても治療される、本発明1043の方法。

[本発明1056]

抗NASH作用物質が、FXRアゴニスト、LOXL2阻害剤、カスパーゼプロテアーゼ阻害剤、システィアミン重酒石酸塩、ガレクチン-3阻害剤、CCR2およびCCR5経路阻害剤、システィン枯渴剤、SGLT-2阻害剤、GLP-1、胆汁酸、合成脂肪酸および胆汁酸の結合体、サチュイン刺激薬、免疫調節薬、またはPPARアゴニストを含む、本発明1055の方法。

20

[本発明1057]

対象のインスリン感受性を高める有効量の薬剤を該対象に投与することによって、該対象のインスリン抵抗性も治療される、本発明1043の方法。

[本発明1058]

前記薬剤が、メトホルミン、チアゾリジンジオン、ピオグリタゾン、またはロシグリタゾンを含む、本発明1057の方法。

30

[本発明1059]

対象のコレステロールおよび/または高トリグリセリドを低下させる有効量の薬剤を該対象に投与する段階を含む、該対象の高コレステロールおよび/または高トリグリセリドも治療される、本発明1043の方法。

[本発明1060]

前記薬剤が、スタチン、胆汁酸封鎖剤、コレステロール吸収阻害剤、フィブリン酸誘導体、またはニコチン酸を含む、本発明1059の方法。

[本発明1061]

前記対象が、有効量のクレミゾールによっても治療される、本発明1043の方法。

[本発明1062]

前記対象が、有効量の、クレミゾールの重水素化類似体またはクレミゾール代謝産物によっても治療される、本発明1043の方法。

40

[本発明1063]

有効な量の、R-クロロキンの重水素化類似体、R-クロロキン代謝産物、R-ヒドロキシクロロキン、R-ヒドロキシクロロキンの重水素化類似体、またはR-ヒドロキシクロロキン代謝産物を対象に投与する段階を含む、治療を必要とする非アルコール性脂肪性肝炎を患っている該対象の肝臓の炎症を治療するための方法。

[本発明1064]

前記有効量が、0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1063の方法。

[本発明1065]

50

前記有効量が、毎日、1日おき、または毎週投与される0.5mg/kg～50mg/kgの用量を含む、本発明1063の方法。

[本発明1066]

治療法の最初の2日間、毎日の2倍負荷用量も含む、本発明1063の方法。

[本発明1067]

前記投与によって、対象において肝臓癌が発症する確率が有意に低下する、本発明1063の方法。

[本発明1068]

前記投与が経口的である、本発明1063の方法。

[本発明1069]

前記投与が毎日、1日おき、または毎週である、本発明1063の方法。

10

[本発明1070]

前記炎症が、正常な健常対照集団に関連付けられているレベルと比べて、対象の血漿中のアラニンアミノトランスフェラーゼ血漿レベルが高いことを特徴とする、本発明1063の方法。

[本発明1071]

前記対象の炎症が、組織学的試料における浸潤免疫細胞の複数の集中を特徴とする小葉の炎症である、本発明1063の方法。

[本発明1072]

前記対象の炎症が、肝生検から得られた試料の検査から診断される、本発明1063の方法

20

—

[本発明1073]

前記対象の炎症が、超音波、コンピュータ断層撮影法、磁気共鳴画像法、血液検査、または過分極¹³C-NMR分光法を含むNMR分光法によって診断される、本発明1063の方法。

[本発明1074]

前記治療によって、対象のアラニンアミノトランスフェラーゼ血漿レベルが有意に低下する、本発明1063の方法。

[本発明1075]

前記対象が、有効量の抗NASH作用物質によっても治療される、本発明1063の方法。

[本発明1076]

30

抗NASH作用物質が、FXRアゴニスト、LOXL2阻害剤、カスパーゼプロテアーゼ阻害剤、システアミン重酒石酸塩、ガレクチン-3阻害剤、CCR2およびCCR5経路阻害剤、システィン枯渴剤、SGLT-2阻害剤、GLP-1、胆汁酸、合成脂肪酸および胆汁酸の結合体、サチュイン刺激薬、免疫調節薬、またはPPARアゴニストを含む、本発明1075の方法。

[本発明1077]

対象のインスリン感受性を高める有効量の薬剤を該対象に投与することによって、該対象のインスリン抵抗性も治療される、本発明1063の方法。

[本発明1078]

前記薬剤が、メトホルミン、チアゾリジンジオン、ピオグリタゾン、またはロシグリタゾンを含む、本発明1077の方法。

40

[本発明1079]

対象のコレステロールおよび/または高トリグリセリドを低下させる有効量の薬剤を該対象に投与する段階を含む、該対象の高コレステロールおよび/または高トリグリセリドも治療される、本発明1063の方法。

[本発明1080]

前記薬剤が、スタチン、胆汁酸封鎖剤、コレステロール吸収阻害剤、フィブリン酸誘導体、またはニコチン酸を含む、本発明1079の方法。

[本発明1081]

前記対象が、有効量のクレミゾールによっても治療される、本発明1063の方法。

[本発明1082]

50

前記対象が、有効量の、クレミゾールの重水素化類似体またはクレミゾール代謝産物によっても治療される、本発明1063の方法。

[本発明1083]

有効量のクレミゾールを対象に投与することによって、肝臓癌に罹患している該対象を治療するための方法。

[本発明1084]

肝臓癌が肝細胞癌である、本発明1083の方法。

[本発明1085]

前記対象が、非アルコール性脂肪性肝炎と診断されている、本発明1083の方法。

[本発明1086]

前記有効量が、0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1083の方法。

[本発明1087]

前記有効量が、1日1回、1日2回、または1日3回投与される0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1083の方法。

[本発明1088]

前記投与が1日1回、1日2回、または1日3回である、本発明1083の方法。

[本発明1089]

前記投与が経口的である、本発明1083の方法。

[本発明1090]

前記治療の結果が、腫瘍を小さくすること、腫瘍の増殖を抑制すること、腫瘍の進行までの時間を長くすること、対象の無病生存期間を延長すること、転移を減らすこと、該対象の無増悪生存期間を増やすこと、または該対象の全生存期間を増やすことである、本発明1083の方法。

[本発明1091]

前記対象に化学療法剤を導入する段階をさらに含む、本発明1083の方法。

[本発明1092]

前記対象がヒトである、本発明1083の方法。

[本発明1093]

有効量の、クレミゾールの重水素化類似体またはクレミゾール代謝産物を対象に投与することによって、肝臓癌に罹患している該対象を治療するための方法。

[本発明1094]

肝臓癌が肝細胞癌である、本発明1093の方法。

[本発明1095]

前記対象が、非アルコール性脂肪性肝炎と診断されている、本発明1093の方法。

[本発明1096]

前記有効量が、0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1093の方法。

[本発明1097]

前記有効量が、1日1回、1日2回、または1日3回投与される0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1093の方法。

[本発明1098]

前記投与が1日1回、1日2回、または1日3回である、本発明1093の方法。

[本発明1099]

前記投与が経口的である、本発明1093の方法。

[本発明1100]

前記治療の結果が、腫瘍を小さくすること、腫瘍の増殖を抑制すること、腫瘍の進行までの時間を長くすること、対象の無病生存期間を延長すること、転移を減らすこと、該対象の無増悪生存期間を増やすこと、または該対象の全生存期間を増やすことである、本発明1093の方法。

[本発明1101]

前記対象に化学療法剤を導入する段階をさらに含む、本発明1093の方法。

10

20

30

40

50

[本発明1102]

前記対象がヒトである、本発明1093の方法。

[本発明1103]

クレミゾールを含む有効量の薬学的組成物を対象に投与する段階を含む、肝臓癌を患っている該対象中の腫瘍細胞の数を減少させる方法。

[本発明1104]

前記投与により、前記腫瘍が小さくなるか、前記腫瘍の増殖が抑制されるか、前記腫瘍の進行までの時間が長くなるか、前記対象の無病生存期間が延長されるか、転移が減るか、前記対象の無増悪生存期間が増えるか、または前記対象の全生存期間が増える、本発明1103の方法。

10

[本発明1105]

前記対象に化学療法剤を導入する段階をさらに含む、本発明1103の方法。

[本発明1106]

前記対象がヒトである、本発明1103の方法。

[本発明1107]

対象への投与後に活性化されるようにクレミゾールが修飾されている、本発明1103の方法。

[本発明1108]

クレミゾールの重水素化類似体またはクレミゾール代謝産物を含む有効量の薬学的組成物を対象に投与する段階を含む、

20

肝臓癌を患っている該対象中の腫瘍細胞の数を減少させる方法。

[本発明1109]

前記投与により、前記腫瘍が小さくなるか、前記腫瘍の増殖が抑制されるか、前記腫瘍の進行までの時間が長くなるか、前記対象の無病生存期間が延長されるか、転移が減るか、前記対象の無増悪生存期間が増えるか、または前記対象の全生存期間が増える、本発明1108の方法。

[本発明1110]

前記対象に化学療法剤を導入する段階をさらに含む、本発明1108の方法。

[本発明1111]

前記対象がヒトである、本発明1108の方法。

30

[本発明1112]

対象への投与後に活性化されるようにクレミゾールが修飾されている、本発明1108の方法。

[本発明1113]

有効量のクレミゾールをさらに含む薬学的組成物を対象に投与する段階を含む、肝臓癌を発症するリスクを有している該対象において、肝臓癌発症の確率を有意に低下させるための方法。

[本発明1114]

前記対象が、非アルコール性脂肪性肝炎と診断されている、本発明1113の方法。

[本発明1115]

前記対象が、C型肝炎と診断されている、本発明1113の方法。

40

[本発明1116]

前記対象が、B型肝炎と診断されている、本発明1113の方法。

[本発明1117]

前記対象が肝硬変に罹患している、本発明1113の方法。

[本発明1118]

前記有効量が、0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1113の方法。

[本発明1119]

前記有効量が、毎日、1日2回、または1日3回投与される0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1113の方法。

50

[本発明1120]

前記投与が経口的である、本発明1113の方法。

[本発明1121]

前記投与が1日1回、1日2回、または1日3回である、本発明1113の方法。

[本発明1122]

前記治療によって、対象のアラニンアミノトランスフェラーゼ血漿レベルが有意に低下する、本発明1113の方法。

[本発明1123]

前記対象が、有効量の抗NASH作用物質によっても治療される、本発明1113の方法。

[本発明1124]

抗NASH作用物質が、FXRアゴニスト、LOXL2阻害剤、カスパーーゼプロテアーゼ阻害剤、システィアミン重酒石酸塩、ガレクチン-3阻害剤、CCR2およびCCR5経路阻害剤、システィン枯渴剤、SGLT-2阻害剤、GLP-1、胆汁酸、合成脂肪酸および胆汁酸の結合体、サチュイン刺激薬、免疫調節薬、またはPPARアゴニストを含む、本発明1123の方法。

[本発明1125]

対象のインスリン感受性を高める有効量の薬剤を該対象に投与することによって、該対象のインスリン抵抗性を治療する段階をさらに含む、本発明1113の方法。

[本発明1126]

前記薬剤が、メトホルミン、チアゾリジンジオン、ピオグリタゾン、またはロシグリタゾンを含む、本発明1125の方法。

[本発明1127]

対象のコレステロールおよび/または高トリグリセリドを低下させる有効量の薬剤を該対象に投与することによって、該対象の高コレステロールおよび/または高トリグリセリドを治療する段階をさらに含む、本発明1113の方法。

[本発明1128]

前記薬剤が、スタチン、胆汁酸封鎖剤、コレステロール吸収阻害剤、フィブリン酸誘導体、またはニコチン酸を含む、本発明1127の方法。

[本発明1129]

有効量の抗ウイルス薬を対象に投与することによって、該対象のウイルス感染症を治療する段階をさらに含む、本発明1113の方法。

[本発明1130]

インターフェロン-2b、ペグインターフェロン-2a、エンテカビル、ラミブジン、アデホビル、テルビブジン、テノホビル、ソフォスブビル、レジパスビル、オムビタスピル、パリタブレビル、リトナビル、ダサブビル、グラゾブレビル、エルバスビル、アスナブレビル、デクラタスピル、またはベクラブビルを含む、インターフェロン、ヌクレオシド類似体、直接作用型抗ウイルス薬、または他の抗ウイルス薬を、前記抗ウイルス薬が含む、本発明1129の方法。

[本発明1131]

有効量の抗線維化薬を対象に投与することによって、該対象の線維症を治療する段階をさらに含む、本発明1113の方法。

[本発明1132]

抗線維化薬が、炎症を軽減するか、コラーゲン1合成を減少させるか、コラーゲンの分解を増加させるか、細胞外マトリックスの分解を増加させるか、アンギオテンシン変換酵素を阻害するか、AT1受容体を阻害するか、ET-1型A受容体を阻害するか、PPARを阻害するか、またはTGF- β を阻害する、本発明1131の方法。

[本発明1133]

抗線維化薬が、コルチコステロイド、コルヒチン、ピルフェニドン、オルチプラス、およびシリマリンを含む、本発明1131の方法。

[本発明1134]

前記対象が、有効量のR-クロロキンによっても治療される、本発明1113の方法。

10

20

30

40

50

[本発明1135]

前記対象が、有効量の、R-クロロキンの重水素化類似体、R-クロロキン代謝産物、R-ヒドロキシクロロキン、R-ヒドロキシクロロキンの重水素化類似体、またはR-ヒドロキシクロロキン代謝産物によっても治療される、本発明1113の方法。

[本発明1136]

クレミゾールの重水素化類似体またはクレミゾール代謝産物の有効量をさらに含む薬学的組成物を対象に投与する段階を含む、

肝臓癌を発症するリスクを有している対象において、肝臓癌発症の確率を有意に低下させるための方法。

[本発明1137]

10

前記対象が、非アルコール性脂肪性肝炎と診断されている、本発明1136の方法。

[本発明1138]

前記対象が、C型肝炎と診断されている、本発明1136の方法。

[本発明1139]

前記対象が、B型肝炎と診断されている、本発明1136の方法。

[本発明1140]

前記対象が肝硬変に罹患している、本発明1136の方法。

[本発明1141]

前記有効量が、0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1136の方法。

[本発明1142]

20

前記有効量が、毎日、1日2回、または1日3回投与される0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1136の方法。

[本発明1143]

前記投与が経口的である、本発明1136の方法。

[本発明1144]

前記投与が1日1回、1日2回、または1日3回である、本発明1136の方法。

[本発明1145]

前記治療によって、対象のアラニンアミノトランスフェラーゼ血漿レベルが有意に低下する、本発明1136の方法。

[本発明1146]

30

前記対象が、有効量の抗NASH作用物質によっても治療される、本発明1136の方法。

[本発明1147]

抗NASH作用物質が、FXRアゴニスト、LOXL2阻害剤、カスパーゼプロテアーゼ阻害剤、システィン重酒石酸塩、ガレクチン-3阻害剤、CCR2およびCCR5経路阻害剤、システィン枯渴剤、SGLT-2阻害剤、GLP-1、胆汁酸、合成脂肪酸および胆汁酸の結合体、サチュイン刺激薬、免疫調節薬、またはPPARアゴニストを含む、本発明1146の方法。

[本発明1148]

対象のインスリン感受性を高める有効量の薬剤を該対象に投与することによって、該対象のインスリン抵抗性を治療する段階をさらに含む、本発明1136の方法。

[本発明1149]

40

前記薬剤が、メトホルミン、チアゾリジンジオン、ピオグリタゾン、またはロシグリタゾンを含む、本発明1148の方法。

[本発明1150]

対象のコレステロールおよび/または高トリグリセリドを低下させる有効量の薬剤を該対象に投与することによって、該対象の高コレステロールおよび/または高トリグリセリドを治療する段階をさらに含む、本発明1136の方法。

[本発明1151]

前記薬剤が、スタチン、胆汁酸封鎖剤、コレステロール吸収阻害剤、フィブリン酸誘導体、またはニコチン酸を含む、本発明1150の方法。

[本発明1152]

50

有効量の抗ウイルス薬を対象に投与することによって、該対象のウイルス感染症を治療する段階をさらに含む、本発明1136の方法。

[本発明1153]

インターフェロン -2b、ペグインターフェロン -2a、エンテカビル、ラミブジン、アデホビル、テルビブジン、テノホビル、ソフォスビル、レジパスビル、オムビタスピル、パリタブレビル、リトナビル、ダサビル、グラゾブレビル、エルバスビル、アスナブレビル、デクラタスピル、またはベクラブビルを含む、インターフェロン、ヌクレオシド類似体、直接作用型抗ウイルス薬、または他の抗ウイルス薬を、前記抗ウイルス薬が含む、本発明1152の方法。

[本発明1154]

有効量の抗線維化薬を対象に投与することによって、該対象の線維症を治療する段階をさらに含む、本発明1136の方法。

[本発明1155]

抗線維化薬が、炎症を軽減するか、コラーゲン1合成を減少させるか、コラーゲンの分解を増加させるか、細胞外マトリックスの分解を増加させるか、アンギオテンシン変換酵素を阻害するか、AT1受容体を阻害するか、ET-1型A受容体を阻害するか、PPAR を阻害するか、またはTGF- を阻害する、本発明1154の方法。

[本発明1156]

抗線維化薬が、コルチコステロイド、コルヒチン、ピルフェニドン、オルチプラス、およびシリマリンを含む、本発明1154の方法。

[本発明1157]

前記対象が、有効量のR-クロロキンによっても治療される、本発明1136の方法。

[本発明1158]

前記対象が、有効量の、R-クロロキンの重水素化類似体、R-クロロキン代謝産物、R-ヒドロキシクロロキン、R-ヒドロキシクロロキンの重水素化類似体、またはR-ヒドロキシクロロキン代謝産物によっても治療される、本発明1136の方法。

[本発明1159]

有効量のクレミゾールを対象に投与する段階を含む、治療を必要とする該対象の炎症性状態を治療するための方法。

[本発明1160]

前記炎症性状態が、臍炎、炎症性腸疾患、原発性硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変、関節炎、狼瘡、喘息、乾癬、アレルギー、貧血、および線維筋痛症を含む、本発明1159の方法。

[本発明1161]

前記有効量が、0.5 mg/kg ~ 50 mg/kgの用量を含む、本発明1159の方法。

[本発明1162]

前記有効量が、毎日、1日2回、または1日3回投与される0.5 mg/kg ~ 50 mg/kgの用量を含む、本発明1159の方法。

[本発明1163]

前記投与によって、対象において癌が発症する確率が有意に低下する、本発明1159の方法。

[本発明1164]

前記投与が経口的である、本発明1159の方法。

[本発明1165]

前記投与が1日1回、1日2回、または1日3回である、本発明1159の方法。

[本発明1166]

前記対象に、有効量のCYP3A4阻害剤も投与される、本発明1159の方法。

[本発明1167]

CYP3A4阻害剤が、リトナビルまたはコビシスタッフを含む、本発明1166の方法。

[本発明1168]

10

20

30

40

50

前記対象が、有効量のR-クロロキンによっても治療される、本発明1159の方法。

[本発明1169]

前記対象が、有効量の、R-クロロキンの重水素化類似体、R-クロロキン代謝産物、R-ヒドロキシクロロキン、R-ヒドロキシクロロキンの重水素化類似体、またはR-ヒドロキシクロロキン代謝産物によっても治療される、本発明1159の方法。

[本発明1170]

前記対象がヒトである、本発明1159の方法。

[本発明1171]

有効量の、クレミゾールの重水素化類似体またはクレミゾール代謝産物を対象に投与する段階を含む、

10

治療を必要とする該対象の炎症性状態を治療するための方法。

[本発明1172]

炎症性状態が、膵炎、炎症性腸疾患、原発性硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変、関節炎、狼瘡、喘息、乾癬、アレルギー、貧血、および線維筋痛症を含む、本発明1171の方法。

[本発明1173]

前記有効量が、0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1171の方法。

[本発明1174]

前記有効量が、毎日、1日2回、または1日3回投与される0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1171の方法。

20

[本発明1175]

前記投与によって、対象において癌が発症する確率が有意に低下する、本発明1171の方法。

[本発明1176]

前記投与が経口的である、本発明1171の方法。

[本発明1177]

前記投与が1日1回、1日2回、または1日3回である、本発明1171の方法。

[本発明1178]

前記対象に、有効量のCYP3A4阻害剤も投与される、本発明1171の方法。

30

[本発明1179]

CYP3A4阻害剤が、リトナビルまたはコビシスタットを含む、本発明1178の方法。

[本発明1180]

前記対象が、有効量のR-クロロキンによっても治療される、本発明1171の方法。

[本発明1181]

前記対象が、有効量の、R-クロロキンの重水素化類似体、R-クロロキン代謝産物、R-ヒドロキシクロロキン、R-ヒドロキシクロロキンの重水素化類似体、またはR-ヒドロキシクロロキン代謝産物によっても治療される、本発明1171の方法。

[本発明1182]

前記対象がヒトである、本発明1171の方法。

[本発明1183]

有効量のR-クロロキンを対象に投与する段階を含む、治療を必要とする該対象の炎症性状態を治療するための方法。

40

[本発明1184]

炎症性状態が、膵炎、炎症性腸疾患、原発性硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変、関節炎、狼瘡、喘息、乾癬、アレルギー、貧血、および線維筋痛症を含む、本発明1183の方法。

[本発明1185]

前記有効量が、0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1183の方法。

[本発明1186]

前記有効量が、毎日、1日おき、または毎週投与される0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を

50

含む、本発明1183の方法。

[本発明1187]

前記投与によって、対象において癌が発症する確率が有意に低下する、本発明1183の方法。

[本発明1188]

前記投与が経口的である、本発明1183の方法。

[本発明1189]

前記投与が、1日1回、1日おきに1回、または週に1回である、本発明1183の方法。

[本発明1190]

前記対象がヒトである、本発明1183の方法。

[本発明1191]

有効量の、R-クロロキンの重水素化類似体、R-クロロキン代謝産物、R-ヒドロキシクロロキン、R-ヒドロキシクロロキンの重水素化類似体、またはR-ヒドロキシクロロキン代謝産物を対象に投与する段階を含む、治療を必要とする該対象の炎症性状態を治療するための方法。

[本発明1192]

炎症性状態が、膵炎、炎症性腸疾患、原発性硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変、関節炎、狼瘡、喘息、乾癬、アレルギー、貧血、および線維筋痛症を含む、本発明1191の方法。

[本発明1193]

前記有効量が、0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1191の方法。

[本発明1194]

前記有効量が、毎日、1日おき、または毎週投与される0.5mg/kg ~ 50mg/kgの用量を含む、本発明1191の方法。

[本発明1195]

前記投与によって、対象において癌が発症する確率が有意に低下する、本発明1191の方法。

[本発明1196]

前記投与が経口的である、本発明1191の方法。

[本発明1197]

前記投与が、1日1回、1日おきに1回、または週に1回である、本発明1191の方法。

20

[本発明1198]

前記対象がヒトである、本発明1191の方法。

[本発明1199]

前記有効量が、1日3回経口投与される200mgの用量を含む、本発明1083の方法。

30

[本発明1200]

前記有効量が、1日3回経口投与される300mgの用量を含む、本発明1083の方法。

[本発明1201]

前記有効量が、1日3回経口投与される400mgの用量を含む、本発明1083の方法。

[本発明1202]

前記有効量が、1日3回経口投与される500mgの用量を含む、本発明1083の方法。

40

【図面の簡単な説明】

【0012】

本発明のこれらおよび他の特徴、局面、および利点は、以下の説明および添付図面を考慮すると、よりよく理解される。

【図1】R-クロロキンの合成プロセスのスキームが図示される。

【図2】クレミゾールおよびクレミゾール代謝産物の化学構造が示される。

【図3】薬剤の製造管理および品質管理に関する基準(GMP)に従うクレミゾール合成のための合成スキームを図示する。

【図4】クロロキン代謝産物の化学構造が示される。

50

【図5】ヒドロキシクロロキン(rac-1)およびR-ヒドロキシクロロキン(R)-1の化学構造が示される。

【図6】ヒドロキシクロロキンの鏡像異性体の合成プロセスのスキームが図示される。

【図7】ヒドロキシクロロキン代謝産物の化学構造が示される。

【図8】クレミゾール(化合物D)で処置したマウスにおける腫瘍形成の抑制を表しているマウス肝臓の代表的画像が示される。

【発明を実施するための形態】

【0013】

詳細な説明

利点および有用性

10

手短に言えば、下記により詳細に説明するように、クレミゾールおよび/またはR-クロロキンを用いて、非アルコール性脂肪性肝炎を治療するための、または肝臓癌のリスクもしくは重症度を低下させるための、組成物および方法が、本明細書において説明される。このアプローチの利点には、患者がクレミゾールおよび/またはR-クロロキンで治療されると、クレミゾールおよび/またはR-クロロキンで治療しない患者と比べて、炎症性状態を患っている対象における炎症が軽減すること、肝小葉の炎症が軽減すること、肝機能が改善すること、および肝臓癌の発症または進行のリスクが低下することが含まれるが、それらに限定されるわけではない。

【0014】

定義

20

特許請求の範囲および明細書中で使用される用語は、別段の指定が無い限り、以下に説明するように定義される。

【0015】

「治療」という用語は、疾患状態、例えば、肝臓の炎症性状態が原因で生じる疾患状態の治療における任意の治療的に有益な結果を指し、その予防、重症度の低下もしくは進行の減速、寛解、または治癒を含む。

【0016】

「インサイチュー」という用語は、生物から切り離されて増殖している、例えば組織培養状態で増殖している生細胞中で起こるプロセスを指す。

【0017】

30

「インビボ」という用語は、生物中で起こるプロセスを指す。

【0018】

本明細書において使用される場合、「哺乳動物」という用語は、ヒトおよび非ヒトの両方を含み、ヒト、非ヒト霊長類、イヌ科の動物、ネコ科の動物、ネズミ科の動物、ウシ亜科の動物、ウマ科の動物、およびブタが含まれるが、それらに限定されるわけではない。

【0019】

「有効量」という用語は、所望の効果をもたらすのに十分な量、例えば、対象において肝臓癌を予防するか、または肝臓癌の量を減らすのに十分な量を意味する。

【0020】

「対象」という用語は、細胞、ヒト、および非ヒト動物を指す。

40

【0021】

「治療的有効量」という用語は、疾患の症状を和らげるのに有効な量である。予防を治療法とみなすことができるため、治療的有効量は、「予防的有効量」であることができる。

【0022】

「投与」という用語は、本開示の作用物質を宿主に導入することを指す。作用物質の1つの好ましい投与経路は、経口投与である。別の好ましい経路は、静脈内投与である。しかし、局所、皮下、腹腔、動脈内、吸入、腔、直腸、鼻、脳脊髄液中への導入、または身体区画中への滴下注入などの任意の投与経路を使用することができる。

【0023】

「ビヒクル対照」という用語は、その中の(in which)活性成分が投与される任意の不活性

50

媒体を広く指し、活性成分のための溶媒、担体、または結合剤を含むが、それらに限定されるわけではない。

【0024】

「重水素化類似体」という用語は、化合物が少なくとも1つの重水素同位体を含む、本発明の化合物の修飾型または類似体を指す。

【0025】

「クレミゾール代謝産物」という用語は、本出願の図1に説明するようなクレミゾール代謝産物化合物M1、M12、およびM14を指す。

【0026】

「R-クロロキン代謝産物」という用語は、本出願の図6に説明するようなクロロキンの代謝産物化合物を指す。

10

【0027】

「R-ヒドロキシクロロキン代謝産物」という用語は、本出願の図7に説明するようなヒドロキシクロロキンの代謝産物化合物を指す。

【0028】

「抗NASH作用物質」という用語は、非アルコール性脂肪性肝炎または非アルコール性脂肪性肝炎に関連する状態を治療するのに使用される薬物または化合物を指し、FXRアゴニスト(例えば、オベチコール酸およびPX-104)、LOXL2阻害剤(例えばシムツズマブ(Simtuzumab))、カスパーゼプロテアーゼ阻害剤(例えば、エムリカサン(Emricasan)およびイコサペント酸エチルエステル)、システアミン重酒石酸塩(例えば、プロシスピ(Proscysbi)またはRP103)、ガレクチン-3阻害剤(例えば、GR-MD-02およびLJPC-1010)、CCR2およびCCR5経路阻害剤(例えばセニクリビロク(Cenicriviroc))、PPARアゴニスト(例えば、GFT505、DUR-928、サログリタザル(Saroglitazar)、およびピオグリタゾン(Pioglitazone))、システイン枯渇剤(例えばRP103)、SGLT-2阻害剤(例えばエタボン酸レモグリフロジン(remogliflozin etabonate))、GLP-1(例えばリラグルチド)、胆汁酸(ウルソデオキシコール酸)、合成脂肪酸および胆汁酸の結合体(例えばアラムコール(Aramchol))、サーチュイン刺激薬(例えばMB12066)、アポトーシスシグナル調節キナーゼ1(ASK1)阻害剤(例えばGS-4997)、ならびに免疫調節薬(例えばIMM124E)が含まれるが、それらに限定されるわけではない。

20

【0029】

本明細書において使用される場合、「炎症性状態」という用語は、炎症性サイトカインまたは炎症に関与している細胞が直接的な原因となって生じる医学的問題を指す。炎症性状態には、非アルコール性脂肪性肝炎、炎症性サイトカインによって破壊され、滑膜の病変ならびに関節の軟骨および骨の破壊が生じる関節炎;炎症性サイトカインによって血液循環が制限されネフロンが損傷する腎不全;炎症性サイトカインによって自己免疫攻撃が誘発される狼瘡;炎症性サイトカインによって気道がふさがれる喘息;炎症性サイトカインによって肺動脈圧力の上昇が誘発される肺動脈高血圧症;炎症性サイトカインによって皮膚炎が誘発される乾癬;炎症性サイトカインによって臍臍細胞の傷害が誘発される臍炎;炎症性サイトカインによって自己免疫反応が誘発されるアレルギー;炎症性サイトカインによって外傷を負った組織が生じる線維症;炎症性サイトカインによって治癒が妨げられる手術合併症;炎症性サイトカインによってエリスロポエチン産生が邪魔される貧血;ならびに炎症性サイトカインが線維筋痛症患者において増加する線維筋痛症が含まれるが、それらに限定されるわけではない。慢性炎症に関連している他の疾患には、慢性炎症によって引き起こされる癌;慢性炎症が冠状動脈のアテローム性動脈硬化症の一因となる心臓発作;慢性炎症によって脳細胞が破壊されるアルツハイマー病;慢性炎症によって心筋萎縮(wasting)が引き起こされるうっ血性心不全;慢性炎症によって血栓塞栓事象が促進される脳卒中;および慢性炎症によって心臓弁が損傷する大動脈弁狭窄が含まれる。動脈硬化症、骨粗しょう症、パーキンソン病、感染症、クローン病および潰瘍性大腸炎を含む炎症性腸疾患、ならびに多発性硬化症(典型的な自己免疫炎症関連疾患)もまた、炎症に関係している。進行期の一部の疾患は、生命を脅かす場合がある。このような炎症性疾患を治療するためのいくつかの

30

40

50

方法が利用可能である;しかし、有効性の不足およびそれらに付隨する薬物関連副作用によって証明されるように、通常、それらの結果は満足できるものではない。

【 0 0 3 0 】

本明細書において使用される場合、「非アルコール性脂肪性肝疾患活動性スコア」という用語は、脂肪症、肝細胞の風船様拡大、および/または小葉の炎症について組織を検査した際の、肝臓組織の組織学的検査の結果を指す。

【 0 0 3 1 】

本明細書において使用される場合、「肝臓癌」という用語は、肝細胞癌、線維層板肝細胞癌、胆管癌、血管肉腫、二次肝臓癌または転移性肝臓癌、および肝芽腫を非限定的に含む、肝臓の過剰増殖性疾患を指す。

10

【 0 0 3 2 】

本明細書において使用される場合、「化学療法剤」という用語は、疾患(例えは癌)の治療において有用であることができる化合物を指す。本発明の化学療法剤は、任意の適切な化学療法薬または化学療法薬の組合せ(例えはカクテル)を含んでよい。例示的な化学療法剤には、アルキル化剤、白金製剤(platinum)、抗代謝産物、アントラサイクリン、タキサン、カンプトセシン、ニトロソ尿素、EGFR阻害剤、抗生物質、HER2/neu阻害剤、血管新生阻害剤、キナーゼ阻害剤(例えはソラフェニブ)、プロテアソーム阻害剤、免疫療法剤(immunotherapy)、ホルモン療法剤、光力学的療法剤、癌ワクチン、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、スフィンゴ脂質修飾薬、オリゴマー、他の未分類の化学療法薬、およびそれらの組合せが含まれるが、それらに限定されるわけではない。癌に対して作用する例示的な化学療法剤にはまた、ダウノルビシン、ダクチノマイシン、ドキソルビシン、ブレオマイシン、マイトマイシン、ナイトロジエンマスター、クロラムブシル、メルファラン、シクロホスファミド、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン(CA)、5-フルオロウラシル(5-FU)、フロクスウリジン(5-FUDR)、メトトレキサート(MTX)、コルヒチン、タキソール、ピンクリスチン、ピンプラスチン、エトポシド、テニポシド、シスプラチン、およびジエチルスチルベストロール(DES)も含まれるが、それらに限定されるわけではない。

20

【 0 0 3 3 】

「薬学的に許容される賦形剤」、「薬学的に許容される希釈剤」、「薬学的に許容される担体」、または「薬学的に許容される補助剤」という用語は、薬学的組成物を調製する際に有用であり、一般に安全で、非毒性で、生物学的にも他の点でも有害ではない、賦形剤、希釈剤、担体、および/または補助剤を意味し、獣医学的使用およびまたはヒト薬学的使用のために許容される賦形剤、希釈剤、担体、および補助剤を含む。本明細書および特許請求の範囲において使用される場合、「薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、担体、および/または補助剤」は、このような賦形剤、希釈剤、担体、および補助剤のうちの1つまたは複数を含む。

30

【 0 0 3 4 】

「薬学的に許容される塩」とは、遊離塩基の生物学的有効性および任意で他の特性を保持しており、かつ無機酸または有機酸、例えは、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸、リンゴ酸、マレイン酸、コハク酸、酒石酸、およびクエン酸などの反応によって得られる、塩を指す。「薬学的に許容される塩」という用語はまた、遊離クロロキン塩基と組み合わせることができる化合物(例えはリン酸塩およびニリン酸塩)も指す。

40

【 0 0 3 5 】

開示される作用物質の態様が塩を形成する場合、これらの塩は、本開示の範囲内である。本明細書中の式のいずれかの作用物質に言及することは、別段の定めが無い限り、その塩に言及することを含むと理解される。本明細書において使用される場合、「塩」という用語は、無機および/または有機の酸および塩基と共に形成される酸性塩および/または塩基性塩を示す。さらに、作用物質が塩基性部分と酸性部分の両方を含む場合、双性イオン(「分子内塩」)が形成される場合があり、本明細書において使用される「塩」という用語の範

50

囲に含まれる。薬学的に許容される(例えば、非毒性で生理学的に許容される)塩が好ましいが、他の塩もまた、例えば、調製中に使用される場合がある単離段階または精製段階において有用である。

【0036】

本明細書において使用される場合、「薬学的組成物」という用語は、対象、例えば哺乳動物、特にヒトに投与するのに適した組成物を包含することが意図される。一般に、「薬学的組成物」は無菌であり、好ましくは、対象体内で望ましくない応答を誘発することができる汚染物質を含まない。

【0037】

「プロドラッグ」という用語は、生物学的に活性な形態にインビボで変換される、作用物質の不活性な前駆体を指す。本発明の化合物には、プロドラッグとして作用するR-クロロキンおよびクレミゾールの修飾型、重水素化クレミゾール、またはクレミゾール代謝産物が含まれる。プロドラッグを製造するのに使用され得る本発明の化合物の修飾の例には、エステル、グリコシド(糖誘導体)の付加、またはインビボでの代謝中に酵素によって変化する他の非毒性化学基の付加もしくは除去(例えば、リン酸化、脱リン酸化、脱アルキル化、脱ヒドロキシル化、もしくは糖誘導体の修飾)が含まれるが、それらに限定されるわけではない。一部の状況において、プロドラッグの方が親化合物よりも投与しやすい場合があるため、プロドラッグはしばしば有用である。例えば、プロドラッグは経口投与によって生物学的に利用可能であり得るのに対し、親化合物はそうではない。プロドラッグはまた、親薬物と比べて改善された、薬学的組成物への溶解性を有し得る。プロドラッグは、酵素的プロセスおよび代謝加水分解を含む様々なメカニズムによって、親薬物に変換され得る。

10

【0038】

略語

本出願において使用される略語には、以下のものが含まれる:

本明細書および添付の特許請求の範囲において使用される場合、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」は、文脈において特に規定が無い限り、複数の指示内容を含むことに留意しなければならない。

20

化合物A = R-クロロキンおよびS-クロロキンのラセミ混合物

化合物B = R-クロロキン

30

化合物C = S-クロロキン

化合物D = クレミゾール

ALT = アラニンアミノトランスフェラーゼ(Alanine aminotransferase)

HE = ヘマトキシリンおよびエオシン(Hematoxylin and eosin)

HFD = 高脂肪食(High fat diet)

NAFLD = 非アルコール性脂肪性肝疾患(Nonalcoholic fatty liver disease)

NASH = 非アルコール性脂肪性肝炎(Non-alcoholic steatohepatitis)

SD = 標準偏差(Standard deviation)

SPF = 特定病原体除去(Specific pathogen-free)

STZ = ストレプトゾトシン(Streptozotocin)

40

【0039】

本発明の化合物

R-クロロキンの式およびR-クロロキンの合成プロセスを図1に説明している。あるいは、R-クロロキンは市販されており、Chemical Entities of Biological Interest(ChEBI(商標))から購入することができる;(カタログ番号、CHEBI:48811)。

【0040】

クレミゾールならびに主なヒトクレミゾール代謝産物(M1、M6)およびげっ歯動物クレミゾール代謝産物(M12、M14)の構造を図2に示している。クレミゾール塩酸塩が、APExBIO(商標)から市販されている(カタログ番号A3316)。

【0041】

50

ヒト肝臓中で、クレミゾールは最初に中間体Aに変換され、いくつかのCYP450酵素(CYP3A4、CYP2C19、またはCYP2D6)は、中間体Aを酸化してM1にすることができる。CYP2C9またはCYP1A2の存在下では、M2が生成するが、これらはM1を生成することはできない。Cyp2C9は、ヒトでは微量の(minor)代謝産物であるM4の唯一の供給源であると思われる。CYP3A4は、ヒト肝臓中で最も豊富に発現されるCYP450酵素であり、この薬物生体内変化反応の大部分を媒介する。CYP3A4活性の阻害剤であるリトナビルがインビトロでクレミゾール代謝を阻害できることから、CYP3A4がヒトでのクレミゾール代謝において重要な役割を果たしていることが示唆された。対照的に、別のタイプ(CYP2C様)の芳香族酸化反応により、げっ歯動物肝臓におけるクレミゾール代謝の主要経路を通して、げっ歯動物で顕著な代謝産物(M12、M14、およびM15)が生成する。

10

【0042】

クレミゾール塩酸塩の合成

クレミゾール塩酸塩は、APExBIO(商標)から市販されている(カタログ番号A3316)。図3は、薬剤の製造管理および品質管理に関する基準(GMP)に従うクレミゾール製造のための合成スキームを説明している。特定の態様において、ピロリジアン出発物質の代わりに重水素化ピロロリジンを用いることによって、クレミゾールの重水素化類似体を製造することができる。ピロリジン-2,2,5,5-d₄は、(著作権)CDN Isotopes, Inc.から購入することができる(製品番号D-5946)。

【0043】

完全に置換されたピロリジン、すなわちピロリジン-2,2,3,3,4,4,5,5-d₈は、(著作権)CDN Isotopes, Inc.から購入することができる(製品番号D-3532)。

20

【0044】

R-クロロキンの合成

図1で説明したように、(R)-(-)-4-アミノ-1-(ジエチルアミノ)ペンタンを公知の4,7-ジクロロキノリンと縮合させることによって、(R)-(-)-クロロキンを調製した。公知のラセミ体(4-アミノ-1-(ジエチルアミノ)ペンタンを公知の(D)-(-)-マンデル酸との塩の形成を介して分割し、これら2種の鏡像異性体の(D)-(-)-マンデル酸塩を結晶化によって分別することによって、(R)-(-)-4-アミノ-1-(ジエチルアミノ)ペンタンを調製した。

【0045】

(R)-(-)-4-アミノ-1-(ジエチルアミノ)ペンタンの調製

30

350mLエチルアルコールに溶かした(D)-(-)-マンデル酸(100g、658mmol)の溶液に、ラセミ体4-アミノ-1-(ジエチルアミノ)ペンタン(98g、658mmol)をゆっくりと添加した。この混合物に標題化合物の(D)-(-)-マンデル酸塩の結晶を種晶として入れ、一晩静置した後、生じた固体をろ過によって採取し、氷冷エタノールを用いて速やかに2回洗浄して、標題化合物の(D)-(-)-マンデル酸塩を白色結晶として得た(生成物(Crop)1)。濁りが観察されるまで母液を濃縮し、次いで、均一な溶液が生じるまで再加熱した。種晶を入れ一晩静置した後、生じた固体をろ過によって採取し、氷冷エタノールを用いて速やかに2回洗浄して、所望の塩の第2の生成物を白色結晶として得た(生成物2)。これら2種の塩生成物(生成物1および2)を合一して、合計44gの標題化合物の(D)-(-)-マンデル酸塩を得た。

上記のプロセスを4回繰り返した。複数回分の標題化合物の(D)-(-)-マンデル酸塩(合計150g)を合一し、次いで、加熱および超音波処理を行いながらエチルアルコール中に溶解させた。この溶液に種晶を入れ、一晩静置した後、生じた固体をろ過によって採取し、氷冷エタノールを用いて速やかに2回洗浄して、標題化合物の(D)-(-)-マンデル酸塩を得た(再結晶化生成物1)。母液を濃縮し、加熱および超音波処理を行いながら、残留物をエチルアルコール中に溶解させた。次いで、この溶液に種晶を入れ、一晩静置した後、生じた固体をろ過によって採取して、標題化合物の(D)-(-)-マンデル酸塩の第2の生成物を得た(再結晶化生成物2)。母液を濃縮し、加熱および超音波処理を行いながら、残留物をエチルアルコール中に溶解させた。次いで、この溶液に種晶を入れ、一晩静置した後、生じた固体をろ過によって採取して、標題化合物の(D)-(-)-マンデル酸塩の第3の生成物を得た(再結晶化生成物3)。これら3種の再結晶化生成物(再結晶化生成物1、2、および3)を合一し

40

50

、減圧下で乾燥させて、合計100gの標題化合物の(D)-(-)-マンデル酸塩、[α]D=-56.2(H₂O中1%)を得た。この塩をジクロロメタン中に懸濁し、1M水酸化ナトリウム溶液で3回洗浄した。有機層を乾燥させ(Na₂SO₄)、減圧下で濃縮して標題化合物を得、これを次の段階で直接使用した。

【0046】

(R)-(-)-クロロキンの調製

上記から得られた粗製の(R)-(-)-4-アミノ-1-(ジエチルアミノ)ペンタン(約45g、285mmol、1.00当量)、4,7-ジクロロキノリン(56g、285mmol、1.00当量)、およびフェノール(53.6g、570mmol、2.0当量)の混合物を18時間、120°Cまで加熱し、次いで室温まで冷却し、ジクロロメタンを用いて希釈した。得られた混合物を1.5M水酸化ナトリウム溶液で洗浄し、その洗液(wash)をジクロロメタンで逆抽出した。合一した有機層を、1M塩酸を用いて抽出した。炭酸ナトリウム飽和溶液を用いて、この水性抽出物をpH12まで塩基性化し、ジクロロメタンを用いて抽出した。有機抽出物を乾燥させ(Na₂SO₄)、減圧下で濃縮した。次いで、カラムクロマトグラフィー(シリカゲル、2.5% 7N NH₃/MeOHを用いて溶離する)によって残留物を精製して、42.8gの標題化合物、[α]D=-101.3(EtOH中1%)を得た。

【0047】

42.8g(133mmol)の標題化合物をエチルアルコールに溶かした溶液を15分間90°Cまで加熱し、2当量(314g、267mmol)の85%リン酸を一滴ずつ添加することによって、この物質をその二リン酸塩に変換した。得られた懸濁液を(90°C)還流下で1時間加熱し、次いで室温まで冷却した後、固形物をろ過によって採取し、エタノールおよびジエチルエーテルで洗浄し、減圧下で乾燥させて、68gの(R)-(-)-クロロキンニリン酸塩、[α]D=-82.96(H₂O中2.1%)を得た。

【0048】

¹H NMR (メタノール-d4): δ 8.59 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 8.36 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.61 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.05–4.14 (m, 1H), 3.07–3.17 (m, 6H), 1.73–1.96 (m, 4H), 1.39–1.41 (m, 3H) および 1.27–1.31 (m, 6H)

【0049】

R-ヒドロキシクロロキンの合成および精製

鏡像異性体(R)ヒドロキシクロロキンおよび(S)ヒドロキシクロロキンの合成および精製のためのプロセスは、Blaney, P. et al., "A Practical Synthesis of the Enantiomers of Hydroxylchloroquine," *Tetrahedron: Asymmetry*, 1994, pp. 1815–1822, Vol. 5で十分に説明されている。このプロセスの概要を以下に含めた。

【0050】

図6に示したように、ラセミ体ジアミンrac-2を、S(+)マンデル酸との塩を結晶化することによって分割する。次に4,7ジクロロキノリンとの結合の結果、S(+)ヒドロキシクロロキン((S)-1a)が得られる。同様に、マンデル酸の反対の鏡像異性体を用いることにより、(R)-2およびR(-)ヒドロキシクロロキン((R)-1a)が得られる。(R)-2および(S)-2の分割は、そのジアステレオ異性マンデル酸塩をiso-プロパノールから結晶化することを伴う。0.5モル当量のS(+)マンデル酸を用い、45°Cで純粋なジアステレオマーを混合物に種晶として入れると、1回の結晶化後に67%の(S)-3が回収され、ジアステレオマー過剰率(d.e.)は92%である。その後、(S)-3または(R)-3を加水分解して、対応するジアミン(S)-2または(R)-2とする。比および収率は、(S)-2または(R)-2中の不定量(最大10%)の水の存在を考慮に入れずに、算出する。

【0051】

S(+)5-[N-エチル-N-(2-ヒドロキシエチル)アミノ]-2-ペンタンアミン((S)-2)の調製

2-プロパノール(350ml)中rac-2(200g、1.15mol)溶液を、2-プロパノール(500ml)中(+)-マンデル酸(87.4g、0.575mol)溶液に添加した。さらに2-プロパノールを添加して全

10

20

30

40

50

体積を900mlにし、この溶液を室温で一晩攪拌した。ろ過によって白色結晶(235g)を得、これをさらに2回、2-プロパノール(それぞれ1800mlおよび1600ml)から再結晶化させて、白色結晶として(S)-3(145.4g)を得た。固体物を35%水酸化ナトリウム水溶液(350ml)中に懸濁し、tert-ブチルメチルエーテルを用いて抽出した(5×600ml)。これらの抽出物を合一し、乾燥させ(MgSO₄)、濃縮して、無色の油として(S)-2(55.5g、55%)を得た。

¹H NMR (CDCl₃) δ 0.98 (3H, t, J = 7.1 Hz),
1.025 (3H, d, J = 6.3 Hz), 1.25-1.35 (2H, m), 1.35-1.55 (2H, m), ca. 1.9 (3H, brs),
2.42 (2H, t, J = 7.3 Hz), 2.51 (2H, q, J = 7.1 Hz), 2.54 (2H, t, J = 5.5 Hz), 2.85 (1H, tq, J = 6.3 および 5.2 Hz), 3.50 (2H, t, J = 5.5 Hz); MS (Cl, アンモニア) 175 ([M+]⁺)

C₉H₂₂N₂OについてのHRMS計算値：175.181039；実測値：175.180403。

【0052】

R(-)-5-[N-エチル-N-(2-ヒドロキシエチル)アミノ]-2-ペンタンアミン((R)-2)の調製

上記の第1の結晶化から得られた母液を濃縮した。残留物を35%水酸化ナトリウム水溶液(250ml)中に懸濁し、tert-ブチルメチルエーテルを用いて抽出した(5×550ml)。合一した抽出物を乾燥させ(MgSO₄)、濃縮して、黄色い油(70.6g)を得た。これを2-プロパノール(200ml)中に再溶解し、2-プロパノール(300ml)中(-)-マンデル酸(64.00g、0.421mol)溶液に添加した。さらに2-プロパノールを添加して全体積を600mlにし、この溶液を室温で一晩攪拌した。ろ過によって白色結晶(111g)を得、これをさらに2回、2-プロパノール(それぞれ1100mlおよび800ml)から再結晶化させて、白色結晶として(R)-3(77.2g)を得た。

¹H NMR DMSO-d₆) δ 0.92 (3H, t), 1.09 (3H, d), 1.35-1.55 (4H, m), 2.3-2.55 (6H, m), 3.03 (1H, tq), 3.43 (2H, t), 4.48 (1H, s), 7.1-7.25 (3H, m), 7.39 (2H, dd)

(R)-3を35%水酸化ナトリウム水溶液(200ml)中に懸濁し、tert-ブチルメチルエーテルを用いて抽出した(5×400ml)。これらの抽出物を合一し、乾燥させ(MgSO₄)、濃縮して、無色の油として(R)-2(29.3g、29%)を得た。

¹H NMR (CDCl₃) δ 0.97 (3H, t, J = 7.1 Hz), 1.025 (3H, d, J = 6.3 Hz), 1.25-1.35 (2H, m), 1.35-1.55 (2H, m), ca. 2.1 (3H, br s), 2.41 (2H, t, J = 7.3 Hz), 2.51 (2H, q, J = 7.1 Hz), 2.53 (2H, t, J = 5.5 Hz), 2.85 (1H, tq, J = 6.3 および 5.2 Hz), 3.49 (2H, t, J = 5.5 Hz);

C₉H₂₂N₂OについてのHRMS(CLアンモニア)計算値：175.181039、実測値：175.180390。

【0053】

S(+)-ヒドロキシクロロキン((S)-1a)の調製

(S)-2(55.47g、0.32mol)、4,7ジクロロキノリン(63.03g、0.32mol)、およびジイソプロピルエチルアミン(63.9ml、0.37mol)の混合物を窒素雰囲気中、還流下、125℃で4日間加熱した。冷却後、この混合物を、1M水酸化ナトリウム水溶液(500ml)およびジクロロメタン(500ml)を用いる分液漏斗に移した。有機相を分別し、ジクロロメタン(2×500ml)を用いて水相を再抽出した。有機相を合一し、乾燥させ(MgSO₄)、濃縮して、黄色い油(116g)を得、この黄色い油を95:3:2のジクロロメタン:トリエチルアミン:メタノールにおいて、シリカゲルを用いるクロマトグラフィーにかけて、淡黄色の油として(S)-1a(73g、78%)を得た。あるいは、粗生成物を、2:2:1アセトン:ヘキサン:メタノールにおいて、アルミナを用いるクロマトグラフィーにかけて、無色の油として(S)-1aを得た。

10

20

30

40

50

¹H NMR (CDCl₃) δ 0.99 (3H, t, *J* = 7 Hz, CH₂CH₃), 1.285 (3H, d, *J* = 6 Hz, CHCH₃), 1.45-1.85 (4H, m), 2.35-2.75 (6H, m), 3.4-3.95 (3H, m), 5.18 (1H, br d, *J*=8Hz,NH), 6.37 (1H, d,*J*=6Hz, 3-H), 7.28 (1H, dd, *J*_o = 9 Hz, *J*_m = 2 Hz, 6-H), 7.74 (1H, d, *J* = 9 Hz, 5-H), 7.91 (1H, d, *J* = 2 Hz, 8-H), 8.465 (1H,d, *J* = 6 Hz, 2-H); ¹³C NMR (CDCl₃) 11.5 (CH₂CH₃), 20.2 (CH-CH₃), 23.9 (CH₂CH₂CH₂N), 34.2 (CH₂CH₂CH₂N), 47.5 (CH₂CH₃), 48.3 (CH), 53.1 (CH₂H₂CH₂N), 54.9 (CH₂CH₂OH), 58.5 (CH₂CH₂OH), 99.0 (C3), 117.2 (C4a), 121.3 (C6), 125.0 (C8), 128.4 (C5), 134.7 (C7), 149.1 (C4), 151.65 (C2); MS (EI,70EV) 337,335 (15,44%, M⁺), 306,304 (20, 62%, [M-CH₂OH]⁺), 247 (81%), 102 (100%);

C₁₈H₂₆CIN₃OについてのHRMS計算値：335.176440、実測値：335.175518。

【0054】

R(-)-ヒドロキシクロロキン((R)-1a)の調製

(R)-2(29.34g、0.168mol)、4,7-ジクロロキノリン(33.34g、0.168mol)、およびジイソプロピルエチルアミン(33.8ml、0.194mol)の混合物を窒素雰囲気中、還流下、135度3日間加熱した。(S)-1aに関して説明した後処理および精製によって、淡黄色の油として(R)-1a(39.8g、84%)を得た。代替の精製手段:粗製の(R)-1a(18.7g)を塩酸(1M、50ml)中に溶解させ、酢酸エチル(2×50ml)を用いて洗浄して、2,7ジクロロキノリンを除去した。1M水酸化ナトリウム水溶液を用いてpH7.5に中和した後、酢酸エチル(2×50ml)を用いて水相を再び洗浄し、次いで、活性炭と共に一晩攪拌した。セライトに通してろ過した後、混合物をpH12まで塩基性化し、酢酸エチル(4×50ml)を用いて抽出した。これらの抽出物を合一し、乾燥させ(MgSO₄)、濃縮して、淡黄色の油(17.2g)として(R)-1aを得た。

¹H NMR (CDCl₃)

δ0.99 (3H, t), 1.285 (3H, d), 1.45-1.85 (4H, m), 2.35-2.75 (6H, m), 3.4-3.95 (3H, m), 5.18 (1H, brd), 6.37 (1H, d), 7.28 (1H, dd), 7.74 (1H, d), 7.91 (1H, d), 8.465 (1H, d); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 11.5, 20.2, 23.9, 34.2, 47.5, 48.3, 53.1, 54.9, 58.5, 99.0, 117.2, 121.3, 125.0, 128.4, 134.7, 149.1, 151.65;

MS(熱スプレー)338、336([MH]⁺);247(100%、[M-EtNHCH₂CH₂OH]⁺)、158に主要フラグメントイオン。

【0055】

(R)-2および(S)-2の鏡像異性体純度を分析するための手順

完全に分割された(R)-2または(S)-2の[]Dは、約6である。鏡像異性体純度を測定するための信頼性が高い方法は、(R)-2および(S)-2のジアステレオ異性誘導体の¹H-NMRを使用する。1モル当量の(R)-2-メトキシ-トリフルオロメチルフェニル酢酸(MTPA)を(R)-2および(S)-2のクロロホルム溶液に添加した結果、2種のジアステレオマー中のH^aに起因する共鳴の線幅が広がり、より高い周波数に移動し、一方、過剰なMTPAはジアステレオ異性塩を形成し、これらの塩では、H^aおよびH^bに起因する共鳴が位置を変える。後者の例では、2種のジアステレオマーのH^bに起因する共鳴の間に大きな隔たりがある。この技術によって、わずか1%の少数派の鏡像異性体の検出が可能になる。モノプロトン化によって、偽環状型で存在する種が生じるのに対し、ジプロトン化種は、非環状型で存在することが示唆されている。同様に、ジアステレオ異性カンファースルホンアミドの¹H NMRスペクトルにおいて、ジアミン部分の末端メチル基に起因する共鳴は、低い磁場強度でさえ、完全に分かれている(resolved)。分割されたジアミン(R)-2および(S)-2を、ヒドロキシ

10

20

30

40

50

クロロキンの鏡像異性体(R)-1aおよび(S)-1aに変換するには、ジイソプロピルエチルアミンの存在下で4,7-ジクロロキノリンと共に(R)-2および(S)-2を加熱することが必要である。これら2種の鏡像異性体に対する最適条件は異なっている:135 では、(S)-2は一貫して(R)-2よりも分解しやすい傾向があり、これに応じて、変換の純粋度は低くなる(less clean)。(R)-1aおよび(S)-1aの大規模な精製は、酸塩基抽出によって実施する。pH5未満で、過剰なジクロロキノリンを水相から除去し、残存する不純物は、pH7 ~ pH8の間でさらに抽出し、続いて水相を木炭で処理して微量の濃い色の物質を除去することによって、除去する。pH8を上回るpHで(最も好都合にはpHは約12である)、純粋なヒドロキシクロロキンを抽出する。(R)-1aおよび(S)-1aの両方とも油であり、保管中は遮光を必要とし、さもなければ黄色になる。精製後、鏡像異性体(R)-1aおよび(S)-1aは、リン酸(2モル当量)で処理することによって、ビス(リン酸二水素)塩((R)-bおよび((S)-1b)に変換する。先行するクロマトグラフィー段階からトリエチルアミンが残っている場合、アセトンを用いて粉碎することによってこれを除去して、潮解性の水和物を残す。氷で冷却しながらリン酸(19.7ml、0.29mol)を(S)-1a(43.4g、0.144mol)に加えて、反応を穏やかにした。結果として生じるゴム質をアセトン下ですりつぶし、得られた潮解性固体をすぐろ過し、新鮮なアセトン(200ml)中に直ちに懸濁し、次いで一晩攪拌した。エタノール性懸濁液中で加熱することによって脱水して、碎けやすい白色固体を得る。迅速なろ過によって白色粉末を得、これを、エタノール(200ml)を含むフラスコに直ちに移した。得られた懸濁液を4日間還流させ、次いでろ過し、固体をエタノールで洗浄した。一定重量になるまで減圧下で乾燥させた後、(S)-1bの収量は52.6g(69%)であった。同様の様式で、(R)-1aをビス(リン酸二水素)塩に変換する。無水試料および一水和物の両方とも、ラセミ体について報告されている融点168 ~ 170 よりも実質的に高い192 で融解する。鏡像異性体は、実質的かつ再現可能な回転を生じ、キラルAGP固定相を用いるHPLCによって、わずか0.5%の少数派の鏡像異性体を検出することができる。したがって、旋光分析およびHPLCの両方とも、鏡像異性体の光学的純度を測定するのに適している。ヒドロキシクロロキン硫酸塩もまた市販されており、3B Scientific Corporation(商標)から購入することができる(カタログ番号DR001622)。

【0056】

使用方法

炎症性状態、脂肪性肝炎、および炎症を伴う肝臓癌を治療するための方法もまた、本発明に包含される。本発明の該方法は、クレミゾールおよび/またはR-クロロキンの治療的有効量を、それを必要とする対象に投与する段階を含む。

【0057】

本発明はまた、1種もしくは複数種の化合物または本発明の1種もしくは複数種の化合物および薬学的に許容されるビヒクルを含む組成物を対象に投与する段階を含む、炎症性状態を治療するための方法も提供する。本発明はまた、臨床で現在使用されている抗炎症治療薬と組み合わせた、炎症性状態を治療または予防するための方法も提供する。抗炎症治療薬の例には、アスピリン、イブプロフェン、およびナプロキセンなどの非ステロイド系抗炎症薬、コルチコステロイド、プリンバギンのような抗炎症性生物活性化合物、または免疫選択的抗炎症性誘導体が含まれるが、それらに限定されるわけではない。

【0058】

本発明は、1種もしくは複数種の化合物または本発明の1種もしくは複数種の化合物および薬学的に許容されるビヒクルを含む組成物を対象に投与する段階を含む、非アルコール性脂肪性肝炎を治療するための方法を提供する。本明細書において使用される場合、「非アルコール性脂肪性肝炎」という用語は、肝臓中の脂肪蓄積を同時に伴う肝臓炎症を特徴とする肝疾患を意味する。本発明はまた、代謝症候群および/または真性糖尿病など、非アルコール性脂肪性肝炎に一般に関連する状態を治療するために臨床で現在使用されている治療薬と組み合わせて、非アルコール性脂肪性肝炎を治療するための方法も提供する。代謝症候群および/または真性糖尿病の治療薬の非限定的な例には、インスリン抵抗性、コレステロール、およびトリグリセリドを低下させるための治療薬が含まれる。インスリン抵抗

10

20

30

40

50

性を低下させる治療薬の例には、メトホルミン、チアゾリジンジオン、ピオグリタゾン、およびロシグリタゾンが含まれるが、それらに限定されるわけではない。高コレステロール血症の治療薬の例には、スタチン、胆汁酸封鎖剤、コレステロール吸収阻害剤、フィブリン酸誘導体、またはニコチン酸が含まれるが、それらに限定されるわけではない。

【0059】

本発明は、1種もしくは複数種の化合物または本発明の1種もしくは複数種の化合物および薬学的に許容されるビヒクルを含む組成物を対象に投与する段階を含む、肝臓癌を治療または予防するための方法を提供する。本明細書において使用される場合、「肝臓癌」という用語は、肝細胞癌、線維層板肝細胞癌、胆管癌、血管肉腫、二次肝臓癌または転移性肝臓癌、および肝芽腫を非限定的に含む、肝臓の過剰増殖性疾患を指す。本発明はまた、限定されるわけではないが化学療法剤を含む、肝臓癌の治療または予防のために臨床で現在使用されている治療薬と組み合わせて、肝臓癌を治療または予防するための方法も提供する。

10

【0060】

本発明の薬学的組成物

本発明のクレミゾールおよびR-クロロキンは、薬学的組成物中に配合することができる。これらの組成物は、クレミゾールおよび/またはR-クロロキンに加えて、薬学的に許容される賦形剤、担体、緩衝剤、安定化剤、または当業者に周知である他の材料を含んでよい。このような材料は、非毒性であるべきであり、かつ活性成分の有効性を妨害するべきではない。担体または他の材料の的確な性質は、投与経路、例えば、経口、静脈内、皮膚または皮下、鼻、筋肉内、腹腔内経路に依存し得る。

20

【0061】

経口投与用の薬学的組成物は、錠剤、カプセル剤、散剤、または液剤の形態であってよい。錠剤は、ゼラチンまたは補助剤のような固体担体を含んでよい。一般に、液状の薬学的組成物は、水、石油、動物油もしくは植物油、鉱油、または合成油などの液体担体を含む。生理的食塩水、デキストロースもしくは他の糖類の溶液、またはエチレングリコール、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が含まれてよい。

【0062】

静脈注射、皮膚注射、もしくは皮下注射、または苦痛部位への注射の場合、活性成分は、バイロジエンフリーであり、かつ適切なpH、等張性、および安定性を有している経口的に許容される水性液剤の形態である。当業者は、例えば、塩化ナトリウム注射液、リングル注射液、乳酸リングル注射液などの等張性ビヒクルを用いて、適切な液剤をうまく調製することができる。保存剤、安定化剤、緩衝剤、抗酸化剤、および/または他の添加剤が、必要に応じて含まれてよい。

30

【0063】

個体に与えられる本発明による有用な低分子化合物は、投与が、好ましくは「治療的有効量」または「予防的有効量」(場合による。とはいっても、予防は治療法とみなすことができる)で行われ、この量は個体への恩恵を示すのに十分である。投与される実際の量、ならびに投与速度および投与のタイムコースは、治療される状態の性質および重症度に依存すると考えられる。治療の処方、例えば、投薬量の決定などは、一般開業医および他の医師の責任の範囲内であり、典型的には、治療される障害、個々の患者の状態、送達部位、投与方法、および開業医に公知である他の因子を考慮する。前述の技術およびプロトコールの例は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Osol, A. (ed), 1980において見出すことができる。

40

【0064】

組成物は、治療される状態に応じて、単独でまたは他の治療薬と組み合わせて、同時にまたは逐次的に投与することができる。

【実施例】

【0065】

50

以下は、本発明を実施するための具体的な態様の例である。これらの実施例は、例示を目的として提供されるにすぎず、本発明の範囲を限定することを決して意図しない。使用する数値(例えば、量、温度など)に関しては正確性を徹底するよう努力を払ったが、当然、いくらかの実験上の誤差およびずれは、考慮すべきである。

【 0 0 6 6 】

別段の定めが無い限り、本発明の実践では、当業者の技能の範囲内であるタンパク質化学、生化学、組換えDNA技術、および薬理学の従来の方法を使用する。このような技術は、文献に十分に説明されている。例えば、T.E. Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* (W.H. Freeman and Company, 1993); A.L. Lehninger, *Biochemistry* (Worth Publishers, Inc., current addition); Sambrook, et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd Edition, 1989); *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); Remington's *Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey and Sundberg *Advanced Organic Chemistry* 3rd Ed. (Plenum Press) Vols A and B(1992)を参照されたい。

10

【 0 0 6 7 】

本明細書において直接的に定義されない任意の用語は、本発明の技術分野内で理解されるような、一般にそれらに関連付けられている意味を有していると理解すべきである。いくつかの用語は、本発明の局面の組成物、装置、および方法など、ならびにそれらを作製または使用するための方法を説明するにあたって開業医に補足的手引きを提供するために、本明細書において論じられる。同じ物を複数の様式で述べてよいことが認識されるであろう。したがって、本明細書において論じる用語の内の任意の1つまたは複数に対して、代替の専門用語および同義語が使用されてよい。ある用語が本明細書において詳しく述べられるか、または論じられるか否かは、重要視すべきではない。いくつかの同義語または代用可能な方法および材料などが提供される。1つまたは少数の同義語または相当語句を説明することは、明瞭に記載されない限り、他の同義語または相当語句の使用を排除することにならない。用語の例を含む、例の使用は、例示のためにすぎず、本明細書において本発明の局面の範囲および意味を限定しない。

20

【 0 0 6 8 】

方法

30

非アルコール性脂肪性肝炎の誘発

生後2日目に200 µgストレプトゾトシン(STZ、Sigma-Aldrich、USA)溶液を1回皮下注射し、4週齢後に高脂肪食(HFD、57kcal%脂肪、カタログ番号:HFD32、CLEA Japan, Inc.、日本)を与えることによって、55匹の雄マウスでNASHを誘発させた。この方法によって誘発されたNASHに罹患しているマウスを、以下、NASHマウスと呼ぶ。

【 0 0 6 9 】

薬学的組成物および薬物投与経路

化合物A、B、C、D、およびビヒクルを5mL/kgの体積で経口投与した。化合物Aは、R-クロロキンおよびS-クロロキンのラセミ混合物を含んだ。

40

【 0 0 7 0 】

化合物Bは、R-クロロキンを含んだ。化合物Cは、S-クロロキンを含んだ。

【 0 0 7 1 】

化合物Dは、クレミゾールを含んだ。試験化合物はすべて、計量し、ビヒクル(5%DMSO/水)中に溶解させた。

【 0 0 7 2 】

薬物の処置用量

化合物A、B、およびCは、最初の2日間は258mg/kg、その後は129mg/kgの用量で、1日1回経口投与した。化合物Dは、89mg/kgの用量で1日2回経口投与した。下記の表1は、処置スケジュールを要約している。

【 0 0 7 3 】

50

(表1) 各試験群の処置スケジュール

群	マウスの数	マウス	試験物質	用量 (mg/kg)	体積 (mL/kg)	レジメン	屠殺 (9週)	屠殺 (18週)
1	11	STAM	ビヒクル	-	5	経口、 1日1回、 6週間～ 18週間	6	4
2	11	STAM	化合物A (R-クロロキン および S-クロロキン)	258* 129	5	経口、 1日1回、 6週間～ 18週間	6	4
3	11	STAM	化合物B (R-クロロキン)	258* 129	5	経口、 1日1回、 6週間～ 18週間	6	4
4	11	STAM	化合物C (S-クロロキン)	258* 129	5	経口、 1日1回、 6週間～ 18週間	6	4
5	11	STAM	化合物D (クレミゾール)	89	5	経口、 1日2回、 6週間～ 18週間	6	4

* 258 mg/kg:最初の2日間のみ。

【0074】

動物

C57BL/6マウス(妊娠14日のメス)をJapan SLC, Inc. (静岡、日本)から入手した。この試験で使用した動物はすべて、動物使用に関する日本薬理学会指針に従って飼育し(housed)、世話をした。

【0075】

血漿試料採取ならびに全血および血漿の生化学的性質の測定

6週齢(投薬前)、7週齢、および8週齢に頸下から血を抜き取ることによって、抗凝血剤(ノボヘパリン、Mochida Pharmaceutical、日本)を入れたポリプロピレンチューブ中に非空腹時血液を採取した。採取した血液試料を遠心分離し、ヘパリン処理血漿として上清を回収した。

【0076】

LIFE CHECK(EIDIA Co. Ltd.、日本)を用いて、全血中の非空腹時血糖を測定した。FUJI DRI-CHEM 7000(Fujifilm Corporation、日本)を用いて、血漿ALTを測定した。

【0077】

組織病理学的解析

HE染色のために、ブアン液中で予め固定した肝臓組織のパラフィンブロックから切片を切り取り、リリー・マイヤーのヘマトキシリン(Muto Pure Chemicals Co., Ltd.、日本)およびエオシン溶液(Wako Pure Chemical Industries)で染色した。クライナー(Kleiner)の基準(Kleiner DE. et al., Hepatology, 2005;41:1313)に従って、NAFLD活動性スコア(NAS)を算出した。コラーゲン沈着を可視化するために、ピクロシリウスレッド溶液(Waldeck, Germany)を用いて、ブアン固定肝臓切片を染色した。

【0078】

線維化領域を定量的に解析するために、200倍の倍率でデジタルカメラ(DFC280;Leica、ドイツ)を用いて、肝臓の中心静脈の周囲のシリウスレッド染色切片の明視野画像を取得し、ImageJソフトウェア(National Institute of Health、USA)を用いて、切片1つ当たり5つの視野中の陽性領域を測定した。

10

20

30

40

50

【0079】

肝臓の肉眼的解析

肝臓表面に形成された、肉眼で見ることができる腫瘍結節の数を測定した。肝臓表面に形成された、肉眼で見ることができる腫瘍結節の最大径を測定した。

【0080】

統計的検定

GraphPad Prism 4(GraphPad Software Inc.、USA)においてボンフェローニ多重比較検定を用いて、統計学的解析を行った。p値 0.05を統計学的に有意とみなした。

【0081】

実施例1:S-クロロキンを投与すると、NASHマウスの肝臓重量および体重が減少する
いずれの群でも、処置期間中、体重は明らかには変化しなかった(表2)。ビヒクル群と全化合物群の間で、平均体重に有意な差はなかった。処置期間中、次のように、9週目に到達する前にマウスが死亡した;全群で、マウス11匹中1匹が死亡した。

【0082】

化合物C群では、殺する日に、平均体重が有意に減少していた(表2)。ビヒクル群と化合物A群、化合物B群、および化合物D群との間で、殺する日に、平均体重の有意な差はなかった。

【0083】

化合物C群では、平均肝臓重量が有意に減少していた(表2)。ビヒクル群と化合物A群、化合物B群、および化合物D群との間で、殺する日に、平均肝臓重量の有意な差はなかった。ビヒクル群と化合物A群、化合物B群、化合物C群、および化合物D群との間で、殺する日に、体重に対する肝臓重量の平均比率に有意な差はなかった。

【0084】

(表2) NASHマウスの体重および肝臓重量

ハラミーター	ビヒクル	化合物A	化合物B	化合物C	化合物D
(平均値±SD)					
体重(g)	16.9 ± 2.1	15.0 ± 1.9	14.5 ± 2.4	13.7 ± 1.3	15.5 ± 1.5
肝臓重量(mg)	1082 ± 130	1045 ± 243	934 ± 135	810 ± 77	1047 ± 76
体重に対する肝臓重量の比率(%)	6.5 ± 0.9	7.0 ± 1.4	6.5 ± 0.4	5.9 ± 0.4	6.8 ± 0.4

10

20

30

【0085】

実施例2:NASHマウスにおいてクロロキンまたはクレミゾールを投与されたマウスの全血の生化学的性質

ビヒクル群と化合物A群、化合物B群、化合物C群、および化合物D群との間で、試験期間中、全血グルコースレベルに有意な差はなかった。ビヒクル群ならびに化合物A群、化合物B群、化合物C群、および化合物D群において、殺時の血漿ALTレベルを測定した(表3)。

。

【0086】

(表3) 試験化合物で処置したNASHマウスのALTレベル

ハラミーター	ビヒクル	化合物A	化合物B	化合物C	化合物D
(平均値±SD)					
血漿ALT(U/L)	22 ± 11	21 ± 13	14 ± 6	9 ± 3	18 ± 10

40

【0087】

実施例3:R-クロロキン(cloroquine)またはクレミゾールで処置したNASHマウスにおいて、NAFLD活動性スコアの低下が観察される

試験化合物で処置したマウスから得た肝臓組織切片に対してヘマトキシリンおよびエオシン染色を実施し、NAFLD活動性スコアを算出した(表4)。化合物B群および化合物D群は、ビヒクル群と比べて、NASの有意な低下を示した。

【0088】

50

(表4) 試験化合物で処置したNASHマウスのNAFLD活動性スコア

群	スコア						スコア			スコア			(平均値±SD)
	脂肪症			小葉の炎症			肝細胞の風船様拡大						
ビヒクル	6	-	4	2	-	-	4	2	-	-	6	5.7 ± 0.6	
化合物A	6	1	5	-	-	-	1	5	-	3	3	5.2 ± 0.8	
化合物B	6	1	5	-	-	-	2	4	-	1	5	4.3 ± 0.5	
化合物C	6	-	6	-	-	-	4	2	-	-	6	5.3 ± 0.5	
化合物D	6	1	5	-	-	-	4	1	1	-	-	4.3 ± 1.0	

NAS構成要素の定義

項目	スコア	程度
脂肪症	0	<5%
	1	5-33%
	2	>33-66%
	3	>66%
肝細胞の風船様拡大	0	なし
	1	わずかな風船様細胞
	2	多数の細胞/顕著な風船様拡大
小葉の炎症	0	病巣なし
	1	<2病巣/200x
	2	2-4病巣/200x
	3	>4病巣/200x

【0089】

実施例4:NASHマウスにおいて、肝線維症領域は、試験化合物の投与の影響を受けない試験化合物で処置したNASHマウスの肝臓切片に対して、肝臓シリウスレッド染色を実施した(表5)。ビヒクル群と化合物A群、化合物B群、化合物C群、および化合物D群との間で、殺時の線維化領域に有意な差はなかった。

【0090】

(表5) 試験化合物を投与したNASHマウスの肝臓の線維化領域

パラメーター	ビヒクル	化合物A	化合物B	化合物C	化合物D
(平均値±SD)					
シリウスレッド陽性領域(%)	1.13 ± 0.17	0.87 ± 0.23	0.78 ± 0.35	0.90 ± 0.44	0.95 ± 0.39

【0091】

実施例5:試験化合物を投与した、NASHによって誘発された肝細胞癌に罹患したマウスの体重および肝臓重量

いずれの試験群の体重も、処置期間中、明らかには変化しなかった(表6)。ビヒクル群と全化合物群の間で、平均体重に有意な差はなかった(表6)。処置期間中、次のように、18週目に到達する前にマウスが死亡した;ビヒクルおよび化合物D群で、マウス4匹中1匹が死亡した。化合物B群および化合物C群では、マウス4匹中2匹が死亡した。化合物A群では、マウス4匹中3匹が死亡した。平均値±SDを表6に示した。

【0092】

(表6) 試験化合物で処置した、NASHによって誘発されたHCCマウスの体重に対する器官および肝臓の重量の比率

パラメーター	ビヒクル	化合物A	化合物B	化合物C	化合物D
(平均値±SD)					
体重(g)	24.6 ± 2.1	17.5 ± 0.0	20.4 ± 0.3	17.9 ± 2.8	18.6 ± 3.8
肝臓重量(mg)	2059 ± 667	1443 ± 0	1616 ± 635	1353 ± 178	1710 ± 113
体重に対する肝臓重量の比率(%)	8.3 ± 2.5	8.2 ± 0.0	7.9 ± 3.0	7.6 ± 0.1	6.3 ± 0.8

【0093】

実施例6:肝細胞癌マウスにクレミゾールを投与すると、肝臓腫瘍の直径および腫瘍結節の数が減少する

10

20

30

40

50

肝臓表面に形成された肉眼で見ることができる腫瘍結節の数を、測定した。肝臓表面に形成された肉眼で見ることができる腫瘍結節の最大径を、測定した(表7)。ビヒクル群で生き残ったマウスはすべて(n=3)、肝臓表面に目に見える腫瘍結節を示していた。化合物D(クレミゾール)群で生き残った3匹のマウス中2匹において、肝臓表面に目に見える腫瘍結節はないことが観察された(図8)。平均値±SDを表7に示している。

【0094】

(表7) 試験化合物で処置したHCCマウスにおける、目に見える腫瘍結節の最大径

ハラジークー (平均値±SD)	ビヒクル	化合物A	化合物B	化合物C	化合物D
結節の数	3.0 ± 2.0	2.0 ± 0.0	2.0 ± 1.4	1.5 ± 2.1	0.3 ± 0.6
結節の最大径 (mm)	7.3 ± 6.5	6.1 ± 0.0	11.1 ± 7.0	3.5 ± 5.0	0.7 ± 1.2

10

【0095】

実施例7:クレミゾールで処置した肝細胞癌(HCC)ヒト患者

肝臓移植を待っているか、または切除不能な病変を有している、肝細胞癌(HCC)を患っている対象に1日3回経口的に与えられる200mgおよび400mgおよび500mgのクレミゾール塩酸塩の安全性、忍容性、薬物動態学的活性、および薬力学的活性を試験するために、第IIa相の非盲検パイロット試験が行われている。完了した試験は、最大40名の患者を扱っている。200mgクレミゾールを3ヶ月間または5ヶ月間投与された肝細胞癌患者2名から得られた最初の臨床結果を下記に説明する。

20

【0096】

患者番号1の概要:

患者番号1は、70歳の男性であり、慢性B型肝炎によって誘発された硬変という状況でHCCと診断された。診断は、肝臓ダイナミックCTによって決定された。患者番号1は、2011年にHCCに対する高周波アブレーション治療を受けたが、治療後に疾患が進行した。患者番号1はまた、2015年の4月～5月および2015年6月に、3クールの経動脈的化学塞栓療法(TACE)も受けた。患者番号1は、HCCの進行前に、約5ヶ月の期間、安定な疾患を示していた。その後、この患者はクレミゾール治療を開始し、200mgクレミゾールを1日3回、経口投与された。3ヶ月間のクレミゾール治療後、この患者が、フォローアップの肝臓ダイナミックCT画像診断を受けたところ、いかなる治療法も行わない場合には腫瘍サイズの顕著な増大が予想されたであろうにもかかわらず、HCCは依然として変化していなかった。このとき、この患者は体調が良く、病訴も副作用もなかった。

30

【0097】

患者番号2の概要:

患者番号2は、77歳の男性であり、慢性B型肝炎によって誘発された硬変という状況で多病巣性HCCと診断された。診断は、肝臓ダイナミック磁気共鳴画像法によって決定された。患者番号2は、ソラフェニブ治療が失敗するか、かつ/またはソラフェニブ治療に耐えることができず、治療後に疾患の進行を示した。その後、患者番号2はクレミゾール治療を開始し、200mgクレミゾールを1日3回、経口投与された。5ヶ月間のクレミゾール治療後、この患者が、フォローアップの肝臓ダイナミック磁気共鳴画像法を受けたところ、いかなる治療法も行わない場合には腫瘍サイズの顕著な増大が予想されたであろうにもかかわらず、HCCは依然として変化していなかった。このとき、この患者は体調が非常に良く、病訴も副作用もなかった。

40

【0098】

少数の患者しかこれまで治療されていないが、使用された低用量クレミゾール(すなわち、その後の患者での最高500mgに対して200mg)で観察された有効性および忍容性は、特に、HCCに対して認可されている唯一の治療法であるソラフェニブと比較した場合に、それ自体で非常にわくわくするものである。ソラフェニブの第2相試験において(Abou-Alpha et al. Journal Clinical Oncology 2006, 24(26): 4293-4300)、無増悪期間(TTP)の中央値は4.2ヶ月であった。毒性には、疲労(9.5%)、下痢(8.0%)、および手足皮膚反応(

50

5.1%)などのグレード3/4の薬物関連毒性を含む、40%超での下痢、30%超での手足皮膚反応、および30%での疲労が含まれた。ソラフェニブの第3相試験において(Llovet et al. NEJM 2008;359:378-90)、放射線学的進行までの時間の中央値はソラフェニブ群で5.5ヶ月であり、プラセボ群で2.8ヶ月であった。治療に関連する有害事象の総発生率は、ソラフェニブ群で80%であった。これらは、主に胃腸、体質的、または皮膚科学的な性質のもの(グレード1または2の重症度)、ならびに低リン血症(11%、グレード3)、および血小板減少(4%、グレード3または4)であった。

【0099】

好ましい態様および様々な代替態様を参照して、本発明を具体的に示し説明してきたが、本発明の精神および範囲から逸脱することなく、これらの態様において形態および詳細を様々に変更できることが、関連技術分野の熟練者には理解されると考えられる。

10

【0100】

本明細書の本文内で引用された参照文献、発行済みの特許、および特許出願はすべて、あらゆる目的のために、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

20

30

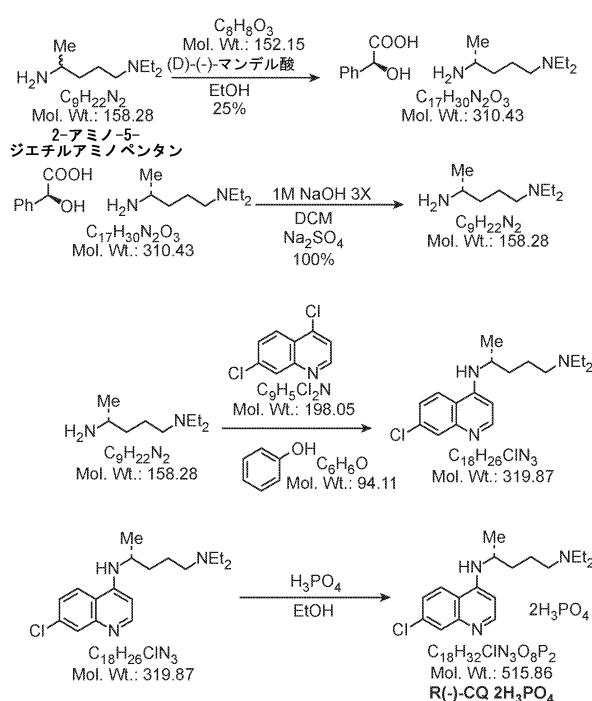
40

50

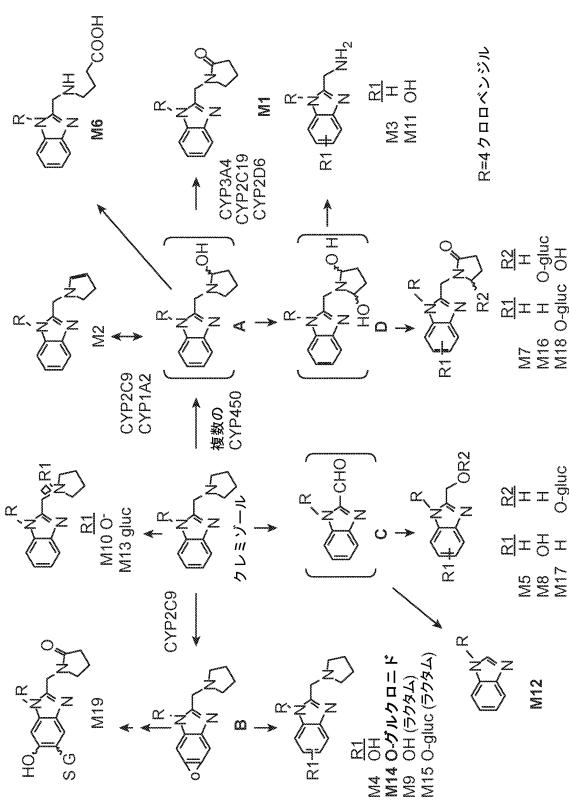
【四面】

【図1】

R-クロロキンの合成プロセス

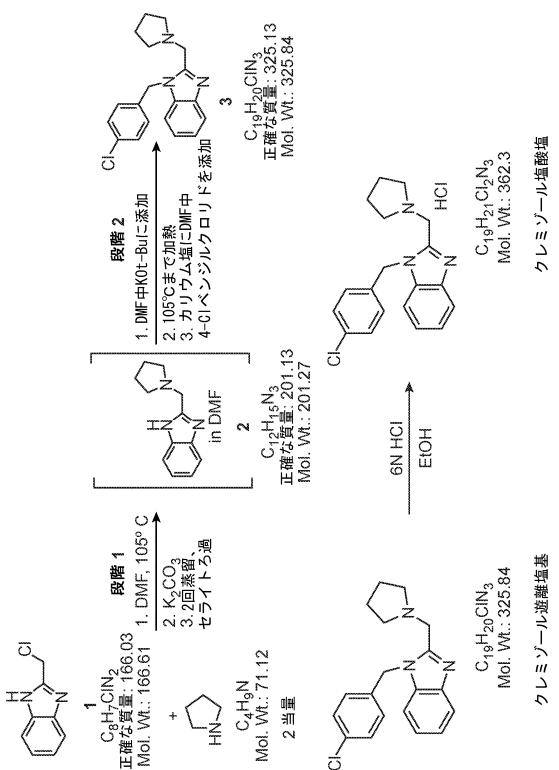


【図2】



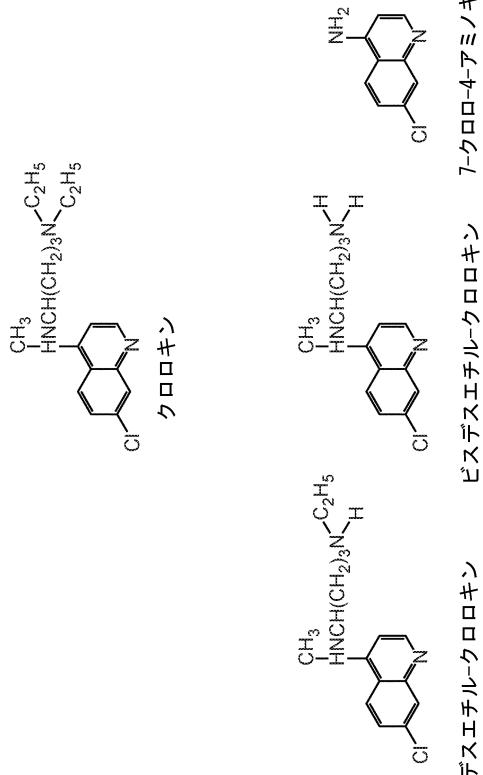
〔四三〕

レミゾール塩酸塩のGMP合成のための合成スキーム



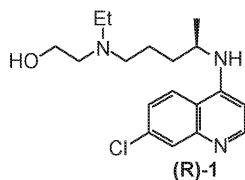
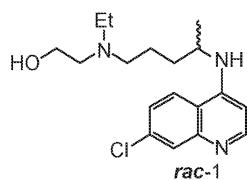
〔图4〕

クロロキン代謝産物の構造

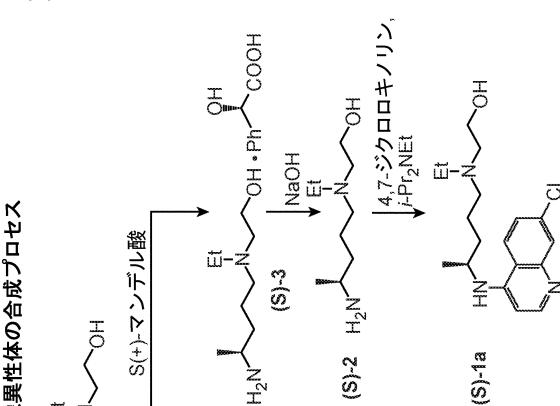


【図5】

ヒドロキシクロロキン(rac-1)およびR-ヒドロキシクロロキンの構造

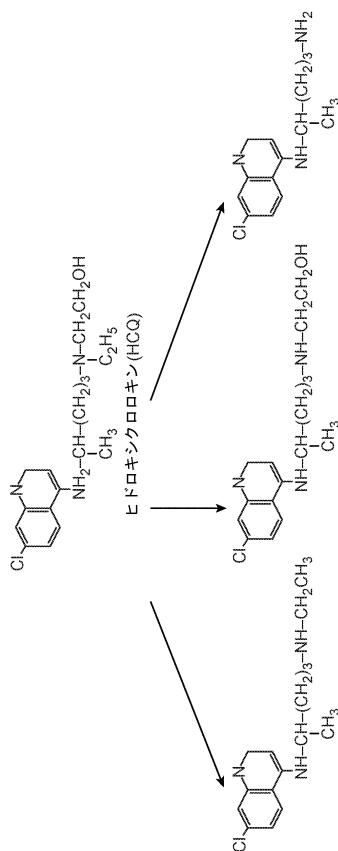


【図6】



【図7】

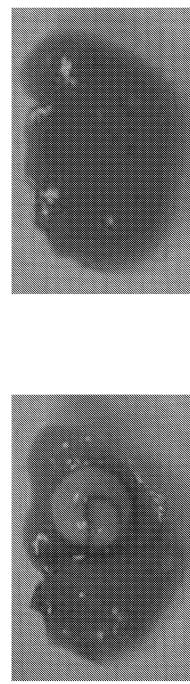
ヒドロキシクロロキン代謝産物の構造

DCQ デスエチルヒドロキシクロロキン
BDCCQ ヒドロキシクロロキン
DC DC
BDCD BDCD

【図8】

化合物Dによる腫瘍形成の抑制

群	マウスID	目に見える腫瘍結節の数	目に見える腫瘍結節の最大径 (mm)	目に見える腫瘍結節の平均数 (mm)
ビヒクル	101	3	14.4	3.0 ± 2.0
	102	5	5.4	7.3 ± 6.5
	111	1	2.0	
化合物D	501	0	0.0	0.3 ± 0.6
	506	1	2.0	0.7 ± 1.2
	510	0	0.0	



左葉後部—ビヒクル対照

フロントページの続き

(51)国際特許分類

	F I
A 6 1 P	1/18 (2006.01)
A 6 1 P	1/04 (2006.01)
A 6 1 P	19/02 (2006.01)
A 6 1 P	17/00 (2006.01)
A 6 1 P	11/06 (2006.01)
A 6 1 P	7/06 (2006.01)
A 6 1 P	37/08 (2006.01)
A 6 1 P	21/00 (2006.01)
A 6 1 K	31/155 (2006.01)
A 6 1 K	31/4439(2006.01)
A 6 1 K	31/517 (2006.01)
A 6 1 K	31/455 (2006.01)
A 6 1 K	31/427 (2006.01)
A 6 1 K	31/5377(2006.01)
A 6 1 K	31/4706(2006.01)
A 6 1 K	38/21 (2006.01)
A 6 1 K	31/165 (2006.01)
A 6 1 K	31/4412(2006.01)
A 6 1 K	31/497 (2006.01)
A 6 1 K	31/357 (2006.01)
A 6 1 K	31/522 (2006.01)
A 6 1 K	31/506 (2006.01)
A 6 1 K	31/675 (2006.01)
A 6 1 K	45/00 (2006.01)
	A 6 1 P 1/18
	A 6 1 P 1/04
	A 6 1 P 19/02
	A 6 1 P 17/00
	A 6 1 P 11/06
	A 6 1 P 7/06
	A 6 1 P 37/08
	A 6 1 P 21/00
	A 6 1 K 31/155
	A 6 1 K 31/4439
	A 6 1 K 31/517
	A 6 1 K 31/455
	A 6 1 K 31/427
	A 6 1 K 31/5377
	A 6 1 K 31/4706
	A 6 1 K 38/21
	A 6 1 K 31/165
	A 6 1 K 31/4412
	A 6 1 K 31/497
	A 6 1 K 31/357
	A 6 1 K 31/522
	A 6 1 K 31/506
	A 6 1 K 31/675
	A 6 1 K 45/00

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 グレン ジエフリー エス .

アメリカ合衆国 9 4 3 0 1 カリフォルニア州 パロアルト ウェブスター ストリート 2 0 6 1

(72)発明者 ファム エドワード エイ .

アメリカ合衆国 9 4 3 0 1 カリフォルニア州 パロアルト ウェブスター ストリート 2 0 6 1

審査官 六笠 紀子

(56)参考文献 特表2 0 1 2 - 5 2 0 8 8 4 (J P , A)

特開2 0 1 4 - 0 9 7 9 6 4 (J P , A)

特開2 0 1 5 - 1 1 7 1 8 5 (J P , A)

国際公開第2 0 1 3 / 1 8 0 1 4 9 (WO , A 1)

国際公開第2 0 1 3 / 1 7 7 2 1 9 (WO , A 1)

特表2 0 0 9 - 5 2 6 0 7 0 (J P , A)

特表2 0 0 7 - 5 0 9 9 5 0 (J P , A)

Viruses , 2010年 , Vol.2 , p.2481-2492

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B名)

A 6 1 K 3 1 / 3 3 - 3 3 / 4 4
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
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)